T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SAROZ KÖRFEZİ BALIK TÜRLERİNDE ARSENİĞİN HİDRÜR OLUŞTURMALI ATOMİK ABSORPSİYON VE GRAFİT FIRIN ATOMİK ABSORPSİYON SPEKTROMETRİ İLE TAYİNİ

MÜMÜN ŞENTÜRK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

DOÇ. DR. GÜLAY ŞEREN

EDİRNE-2013

SAROZ KÖRFEZİ BALIK TÜRLERİNDE ARSENİĞİN HİDRÜR OLUŞTURMALI ATOMİK ABSORPSİYON VE GRAFİT FIRIN ATOMİK ABSORPSİYON SPEKTROMETRİ İLE TAYİNİ

MÜMÜN ŞENTÜRK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİMYA ANA BİLİM 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, kapsam 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. Dr. Yıldız KALEBAŞI

Tarih: 31 / 05 / 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.

31 / 05/ 2013

Mümün ŞENTÜRK



Yüksek Lisans Tezi
Saroz Körfezi Balık Türlerinde Arseniğin Hidrür Oluşturmalı Atomik Absorpsiyon Ve Grafit Fırın Atomik Absorpsiyon Spektrometri İle Tayini
T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

ÖZET

Bu çalışmada Saroz Körfezi, Enez'de yaşayan ve besin kaynağı olarak da tüketilen balık örneklerinde bulunan arseniğin GFAAS ve HGAAS yöntemlerinin karşılaştırılması esas alınarak tayini söz konusudur. Balık türü olarak kırlangıç balığı üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Ancak şimdiye kadar Saroz Körfezinde, kırlangıç balığı (*Chelidonichthys lucerna)* ağır metal içeriği üzerine yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Literatürdeki bu boşluğu doldurmak için, bu araştırma ile Saroz Körfezi'nde kırlangıç balığı, arsenik içeriğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Analizi yapılacak olan balık numuneleri Enez'de daha önceden belirlenen bir balıkçıdan taze olarak alınmıştır. Balıkların çeşitli organlarından (bağırsak, böbrek, solungaç, kas, deri) alınan 1 g'lık 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. Çözünürleştirilen numuneler süzülerek ultra destile su ile 20 mL'ye tamamlandı ve analize kadar saklanmak üzere HDPE saklama kaplarına alındı ve derin dondurucuda -25 ºC muhafaza edildi.

Çözünürleştirilen balık dokuları optimum şartları belirlenen Grafit Fırınlı Atomik Absorpsiyon Spektrometri (GFAAS) ve Hidrür Oluşturmalı Atomik Absorpsiyon Spektrometri (HGAAS) ile analizlendi. Bu sonuçlara göre arsenik miktarı: bağırsak örneklerinde 0.887 µg/g (GFAAS) ve 0.058µg (HGAAS); böbrek örneklerinde 1.635 µg/g (GFAAS) ve 0.104 µg/g (HGAAS); solungaç örneklerinde 0.506 µg/g (GFAAS) ve 0.053 µg/g (HGAAS); kas örneklerinde 1.094 µg/g (GFAAS) ve 0.064 µg/g (HGAAS); deri örneklerinde 0.864 µg/g (GFAAS) ve 0.048 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 :83
Anahtar Kelimeler :Kırlangıç Balığı, *Chelidonichthys lucerna*, HGAAS, GFAAS, Arsenik

Master Thesis
Investigation of Arsenic Accumulation in Some Fish Species of the Gulf of Saros with by Hydride Generation and Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry Methods.
T.U. Institute of Natural Sciences
Department of Chemistry

ABSTRACT

In this study, arsenic contents of in fish tissues samples were determined by GFAAS and HGAAS at Gulf of Saros, Enez. Studies have been conducted on fish species, *Chelidonichthys lucerna*. However, until now the Gulf of Saros, *Chelidonichthys lucerna* have not been conducted on heavy metal content. To fill this gap in the literature, this research in the Gulf of Saros have been aimed to determine the arsenic content in *Chelidonichthys lucerna*.

Enez samples to be analyzed at a predetermined fisherman fresh fish which was taken as. Then the medium was brought to the laboratory for the preparation of fish samples analyzed samples. Fishes various organs (intestine, kidney, lung, and muscle, skin) samples taken on 1 g of H_2O_2 and 6 mL of 2 mL of HNO_3 was added. Then put in a microwave tube was subjected to various steps implemented solubilization. Preparation of samples for acid fragmentation analysis system was used to solve CEM microwave MARSXpress 5. Decomposed samples were completed to 20 mL with distilled water. Samples for analyses were taken up for storage and freezer storage containers HDPE at -25 °C. Samples were analyzed by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry (GFAAS) and Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry (HGAAS). According to these results, the amount of arsenic: intestinal samples 0.887 µg/g (GFAAS) and 0.058 µg/g (HGAAS); kidney samples 1.635 µg/g (GFAAS) and 0.104 µg/g (HGAAS); gill samples 0.506 µg/g (GFAAS) and 0.053 µg/g (HGAAS); muscle samples of 1,094 µg/g (GFAAS), and 0.064 µg/g (HGAAS); skin samples 0.864 µg/g (GFAAS), and 0.048 µg/g (HGAAS), respectively. RSD values below 8% in all analyze. In addition, fish tissue arsenic values: GFAAS method, Kidney> Muscle > Intestine> Skin> Gill HGAAS by the method of Gill and Kidney> Muscle> Intestine> Gill> Skin is listed in the form. The results were in agreement with literature values.

Year :2013
Number of Pages :83
Keywords :Tub gurnard, *Chelidonichthys lucerna*, HGAAS, GFAAS, Arsenic

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgisi ve tecrübesinden yararlandığım, insani değerlerini ve eğitimci kişiliğini örnek edindiğim, tez çalışmam boyunca öneri ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Gülay ŞEREN'e,

Bu çalışma boyunca manevi desteklerini her zaman hissettiren, çalışmanın her aşamasında yardımlarını ve katkılarını esirgemeyen hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Yıldız KALEBAŞI'na,

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

Tez çalışmam boyunca manevi destek ve yardımlarını biran olsun esirgemeyen arkadaşlarım Yusuf KAYAALP'e, Nilgün DAĞDELEN'e, Hasan KURNAZ'a, Uğur BALKAN'a, Onur GÖKSU'ya, Berfe YILDIZ'a ve diğer tüm bölüm arkadaşlarıma,

Bugünlere gelmemi sağlayan, maddi ve manevi her zaman yanımda olan annem Kalbiye ŞENTÜRK'e, babam Celal ŞENTÜRK'e ve kardeşim Murat ŞENTÜRK'e,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım...

İÇİNDEKİLER

ÖZET i
ABSTRACT ii
TEŞEKKÜR iii
SİMGELER DİZİNİ vi
ŞEKİLLER DİZİNİ vii
TABLOLAR DİZİN ix
BÖLÜM 1 1
GİRİŞ 1
BÖLÜM 2 3
ESER ELEMENTLER 3
2.1. Eser Elementler ve Önemi 3
2.2. Eser Element Analizlerinde Çözünürleştirme İşlemleri 5
2.2.1. Örnek Alma 5
2.2.2. Örnek Hazırlama 6
2.3. Arsenik (As) 11
2.3.1. Bazı Önemli Organik ve Anorganik Arsenik Bileşikleri 14
2.3.2. Metabolizma ve Toksisitesi 15
2.3.3. Arsenik Düzeyi Ölçüm Yöntemleri 17
BÖLÜM 3 21
ATOMİK ABSORPSİYON SPEKTROSKOPİSİ 21
3.1. Giriş 21
3.2. Atomik Absorpsiyon Spektormetrisi 21
3.2.1. Işın Kaynakları 23
3.2.2. Atomlaştırıcılar 26
3.2.3. Monokromatörler 35
3.2.4. Dedektörler 35
3.3. Atomik Absorpsiyon Spektrometrisinde Kantitatif Analiz 36
3.3.1. Lineer Kalibrasyon Yöntemi 36
3.3.2. Standart Ekleme Yöntemi 37

3.4. GFAAS'de Girişimler 38
3.4.1 Spektral Girişimler ve Düzeltilme Yöntemleri 38
3.4.2. Spektral Olmayan Girişimler 41
3.5. Hidrür Oluşturmalı Atomik Absorpsiyon Spektrometri (HGAAS) 43
3.5.1. Doğrudan Transfer Hidrür Oluşturma Yöntemleri 44
3.5.2. HGAAS Yönteminde Kullanılan Atomlaştırıcılar 45
3.5.3. Hidrürün Atomlaşma Mekanizması 48
3.5.4. HGAAS Yönteminde Girişimler 48
BÖLÜM 4 51
DAHA ÖNCE YAPILAN ÇALIŞMALAR 51
BÖLÜM 5 55
MATERYAL VE METOT 55
5.1. Saroz Körfezi ve Numunelerin Çalışma Alanından Toplanması 55
5.2. Numunelerin Analize Hazırlanması 56
5.2.1. Numunelerin Analizinde Kullanılan Cihaz ve Kimyasal Maddeler 56
5.2.2. Tez Çalışmasında İncelenen Balık Türü Kırlangıç (*Chelidonichthys lucerna*) 57
BÖLÜM 6 59
SONUÇLAR 59
6.1. Numunelerin Hazırlanması 59
6.2. Numunelerin Çözünürleştirmesi 60
6.3. GFAAS'de Çalışma Koşulları ve Metot Geliştirme 61
6.4. GFAAS'de Yapılan Analiz Sonuçları 63
6.5. HGAAS' de Yapılan Analiz Sonuçları 65
6.6. Balık Numunelerinde As Derişiminin GFAAS ve HGAAS Sonuçları Açısından Karşılaştırılması 67
KAYNAKÇA 77
ÖZGEÇMİŞ 83

SİMGELER DİZİNİ

I_0 : Gelen ışığın şiddeti

I : Absorpsiyon ortamından çıkan ışın şiddeti

A : Absorbans

k : Orantı katsayısı (absorpsiyon katsayısı veya absorptivite)

EDL : Elektrotsuz boşalım lambası

$Xort_1$: GFAAS ortalaması

$Xort_2$: HGAAS ortalaması

t : İstatistiksel faktör

s : Standart sapma

N_1 : GFAAS ölçüm sayısı

N_2 : HGAAS ölçüm sayısı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Sucul ortamdaki ağır metallerin balıklar tarafından bünyelerine alınması.....2
Şekil 2.1. Bir temel element için doz-tepki eğrisi.....4
Şekil 2.2. Elektromanyetik spektrum.....9
Şekil 2.3. Organik arsenik türlerine ait kimyasal formül ve yapılar.....14
Şekil 2.4. Kronik arsenik maruziyeti sonucu oluşan cilt hastalıkları.....17
Şekil 3.1. Bir atomik absorpsiyon spektrometresinin ana bileşenleri.....22
Şekil 3.2. Bir oyuk katot lambasının şematik yan kesiti.....24
Şekil 3.3. Elektrotsuz boşalım lambasının kesiti.....25
Şekil 3.4. Bir laminar akışlı bek.....27
Şekil 3.5. Alevde atomlaşma basamakları ve alevdeki diğer olaylar.....28
Şekil 3.6. Elektrotermal atomlaştırıcı ve grafit tüpün yapısı.....29
Şekil 3.7. Hidrür oluşturma sistemi.....33
Şekil 3.8. (a) Katı numunelerin akkor boşalımlı atomlaşması için kullanılan bir hücrenin kesiti, (b) İyonlaşan altı argon jetinin numune yüzeyinde açtığı kratercikler.....34
Şekil 3.9. Sürekli ışın kaynaklı zemin düzeltici bir atomik spektrofotometresinin şematik gösterimi.....40
Şekil 3.10. Magnetik alanda hatların yarılması.....41
Şekil 3.11. Hidrür oluşturma tekniğinde kullanılan yöntemlerin sınıflandırılması.....44
Şekil 3.12. Spektral olmayan girişimlerin sınıflandırılması.....49
Şekil 5.1. Saroz Körfezi.....55
Şekil 5.2. Balık Anatomisi.....56
Şekil 5.3. Kırlangıç Balığı.....58
Şekil 6.1. Mikrodalga çözünürleştirme sistemi.....60
Şekil 6.2. Külleme sıcaklığı optimizasyonu.....62
Şekil 6.3. Atomlaşma sıcaklığı optimizasyonu.....63
Şekil 6.4. GFAAS yöntemiyle bulunan As içeriklerinin organlara göre dağılımı.....65
Şekil 6.5. HGAAS yöntemiyle bulunan As içeriklerinin organlara göre dağılımı.....67
Şekil 6.6. Bağırsak için iki yöntemin karşılaştırılması.....68
Şekil 6.7. Böbrek için iki yöntemin karşılaştırılması.....69
Şekil 6.8. Solungaç için iki yöntemin karşılaştırılması.....70
Şekil 6.9. Kas için iki yöntemin karşılaştırılması.....71

Şekil 6.10. Deri için iki yöntemin karşılaştırılması 72
Şekil 6.11. İki yöntemin ortalamalarının karşılaştırılması 73

TABLOLAR DİZİN

Tablo 3.1. Alevli atomlaştırmada kullanılan gaz karışımları ve alev sıcaklıkları.....28
Tablo 6.1. Kırlangıç (*Chelidonichthys lucerna*) balığı ağırlık ölçümleri.....59
Tablo 6.2.Örneklerin çözünürleştirilmesinde kullanılan mikrodalga yakma programı ..61
Tablo 6.3. Yıkama metot parametreleri 61
Tablo 6.4. GFAAS'de çalışma koşulları.....61
Tablo 6.5. As örnekleri analizde uygulanan sıcaklık programı 62
Tablo 6.6. Külleme sıcaklığı optimizasyonu.....62
Tablo 6.7. Atomlaşma sıcaklığı optimizasyonu.....63
Tablo 6.8. GFAAS yöntemiyle balık örneklerindeki As içeriklerinin organlara göre dağılımı 64
Tablo 6.9. HGAAS yöntemiyle balık örneklerindeki As içeriklerinin organlara göre dağılımı 66
Tablo 6.10. Bağırsak için iki yöntemin bulunan As içerikleri (µg/g).....68
Tablo 6.11. Böbrek için iki yöntemin bulunan As içerikleri (µg/g) 69
Tablo 6.12. Solungaç için iki yöntemin bulunan As içerikleri (µg/g) 70
Tablo 6.13. Kas için iki yöntemin bulunan As içerikleri (µg/g).....71
Tablo 6.14. Deri için iki yöntemin bulunan As içerikleri (µg/g).....72
Tablo 6.15. İki yöntemin ortalamalarının karşılaştırılması.....73
Tablo 6.16. GFAAS ve HGAAS ölçüm sonuçlarının istatistiksel karşılaştırılması 74

BÖLÜM 1

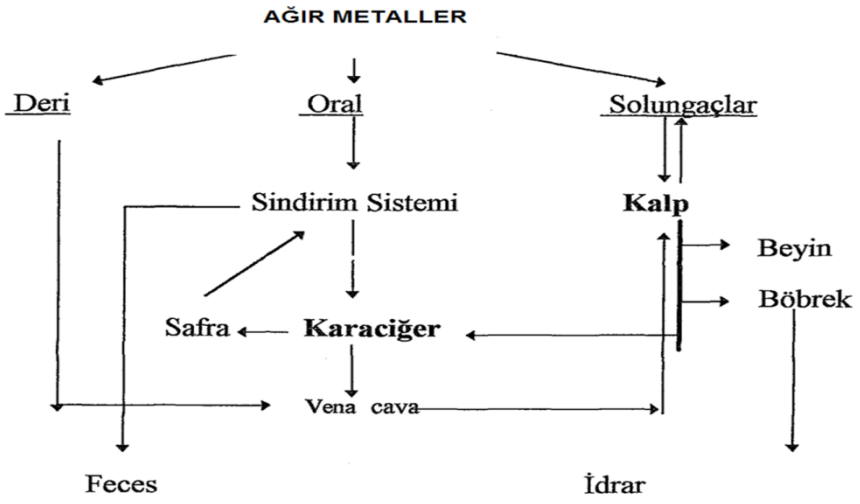
GİRİŞ

Balık ve diğer deniz canlıları, insanların en eski besin kaynaklarının başında gelmektedir. Bitkilerin ekilip yetiştirilmesi ve hayvanların besin olarak kullanımı için evcilleştirilmesinden önceki dönemlerde en kolay elde edilebilen ve bu nedenle de en çok tüketilen besinlerin balık ve diğer deniz ürünleri olduğu bilinmektedir. Bilim ve teknolojinin gelişmesine paralel olarak tarihin ilk dönemlerinde tüketilen bazı canlı türlerinin zaman içinde besin olarak tüketimi tercih edilmemişken, balık ve diğer deniz ürünleri tarihin ilk dönemlerinden günümüze kadar insanların beslenmelerinde yer almıştır. Bileşimleri genel olarak sığır, koyun, domuz etleri gibi kırmızı etlere ve kümes hayvanlarının etlerine benzer olmakla beraber; yağ, bazı mineral ve vitamin içerikleri açısından farklılık da göstermektedir [1].

Deniz ve iç sularımız yanlış yapılaşma, endüstriyel, evsel, komşu ülke akarsuların taşıdıkları atıklarla ve yaşanan kazalarla sürekli kirlenmektedir. Bu kirliliğin sonucu olarak kurşun (Pb), civa (Hg), bakır (Cu), çinko (Zn), selenyum (Se), arsenik (As), kadmiyum (Cd) gibi ağır metaller suya, dolaylı olarak da su ürünlerine nüfuz ederler. Pb, Hg, Cu, Zn gibi ağır metaller suda çok az miktarlarda bulunurlar. Bunların hepsi su hayvanları için toksiktir. Çoğu 1 ppm sınırında öldürücüdür [2].

Ağır metaller, doğal sularda eser miktarda bulunurken insan faaliyetleri sonucu özellikle endüstriyel atık suların içme sularına karışması veya ağır metalle kirlenmiş partiküllerin atmosfere oradan toprak ve suya geçmesiyle sulardaki konsantrasyonları artmaktadır. Ağır metaller beslenme zinciri ile üst seviyelere doğru birikirler [3, 4].

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. Balıkların ağır metal alımını Şekil 1.1'de görmek mümkündür. Sucul ortamdaki ağır metallerin balıklar tarafından bünyelerine alınması en fazla solungaçlar, vücut yüzeyi ve sindirim sistemi ile olmaktadır.



Şekil 1.1. Sucul ortamdaki ağır metallerin balıklar tarafından bünyelerine alınması

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.

Bu çalışmamızda Saroz Körfezi'nin Enez kısmında yaşayan ve besin kaynağı olarak da tüketilen kırlangıç balığında, ağır metal olan ve vücutta fazla olması durumunda toksik özelliği taşıyan arseniğin Grafit Fırın Atomik Absorpsiyon Spektroskopi (GFAAS) ve Hidrür Oluşturmalı Atomik Absorpsiyon Spektroskopi (HGAAS) yöntemlerinin karşılaştırılması esas alınarak tayini söz konusudur. Balık türü olarak kırlangıç balıkları üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Ancak şimdiye kadar Saroz Körfezinde, kırlangıç balığı (*Chelidonichthys lucerna)* ağır metal içeriği üzerine yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Literatürdeki bu boşluğu doldurmak için, bu araştırma ile Saroz Körfezi'nde kırlangıç balığı (*Chelidonichthys lucerna),* arsenik içeriğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

BÖLÜM 2

ESER ELEMENTLER

2.1. Eser Elementler ve Önemi

Eser element, bir sistemde diğer bileşenlere göre çok az bulunan elementlere denir. Eser element analizi terimi ise büyük miktardaki bileşenlerden oluşan ortam içindeki eser elementlerin tayini için kullanılmaktadır. İlk eser element tayini 1879'da Gutzeit tarafından nitel Marsh deneyi esas alınarak yapılan arsenik deneyidir. Analitik kimyanın en önemli araştırma alanı olan eser element tayini gün geçtikçe eser elementlerin yüksek saflıktaki malzemeler, jeokimya, hava, su ve toprak kirliliği, elektronik sanayi, ilaç ve çevre kimyası, insan vücudu ve metabolizmasına etkileri gibi değişik alanlardaki işlevlerinin anlaşılması ile daha da önem kazanmıştır.

Eser konsantrasyon olarak kabul edilen konsantrasyon aralığı, atomik absorpsiyon spektrometrisi, plazma emisyon spektrometrisi, gaz kromotografisi, kütle spektrometrisi gibi eser analiz tekniklerinin gelişmesiyle değişim göstermiştir. İkinci Dünya Savaşından önce, $\%10^{-1}$-10^{-2}, çok seyrek olarak da $\%10^{-3}$ eser olarak kabul edilirken 1950'de $\%10^{-3}$-10^{-5}, 1965'de ise $\%10^{-6}$-10^{-8} eser olarak belirtilmiştir. Bugünkü yaygın kullanım şekline göre ise;

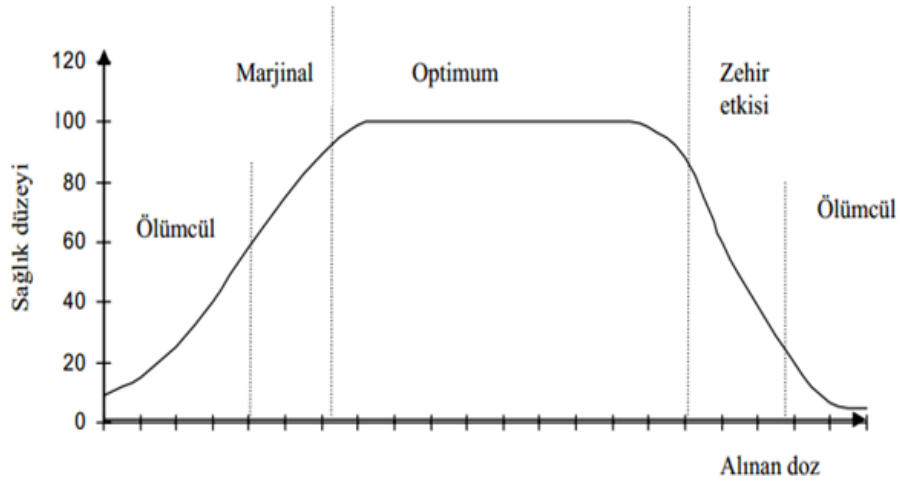
- Eser $\%10^{-1}$-10^{-3}
- Mikro eser $\%10^{-4}$-10^{-6}
- Ultramikro eser $\%10^{-7}$-10^{-9}
- Submikro eser $\%10^{-10}$-10^{-12}

Eser element konsantrasyon aralığı ile ilgili ilk sistematik yaklaşım 1973'de Kaiser tarafından yapılmış olup, eser konsantrasyon için milyonda, ppm ($\%10^{-4}$) ve milyarda ppb ($\%10^{-7}$) tanımları verilmiştir. Günümüzde ng/g ve pg/g mertebesinde elementler uygun analitik yöntemlerle yüksek doğruluk ve güvenilirlikte tayin edilebilmektedir.

Eser elementlerin canlı organizmaların sağlıklı olmasında önemi büyüktür. Bu anlamda “temel” ve “temel olmayan” elementler olarak ayrılırlar. Bir element, canlı organizmada bir eksikliği sendroma neden olup (fizyolojik ve yapısal bozukluk) bu bozukluk ilaçla tedavi edilebiliyorsa “temel element” olarak tanımlanır. Bir elementin canlı organizmada bulunması gereken seviyeden daha az veya çok yüksek derişimde olması da problem yaratabilir. Bundan dolayı bu tip elementlerin yiyeceklerle vücuda alınması belirli limitlerle sınırlandırılmıştır. Şekil 2.1 temel eser elementlerin alımı sonucu sağlık üzerindeki kalitatif etkilerini göstermektedir.

Makro ve mikro elementlere, H, C, N, O, Mg, P, S, Cl, K, ilaveten bazı eser elementlerin de, F, Si, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Mo, Sn ve I, temel olduğu düşünülmüştür. Canlı organizmada bulunan diğer tüm eser elementler de ‘temel olmayan eser elementler’ grubunu oluşturmaktadır. Cd, Hg ve Pb gibi, canlı organizmalarda çok düşük derişimlerde bile olumsuz etkilere neden olan toksik elementler de temel olmayan elementler grubuna girer [5].

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.



Şekil 2.1. Bir temel element için doz-tepki eğrisi [5]

2.2. Eser Element Analizlerinde Çözünürleştirme İşlemleri

2.2.1. Örnek Alma

Genel olarak, bir kimyasal analiz bileşimi ile ilgilenilen maddenin sadece küçük bir kısmı üzerinde yapılır. Açık olarak, sonuçların bir değer ifade edebilmesi için, bu kısmın bileşimi ana maddenin bileşimini mümkün olduğu kadar yansıtmalıdır. Genellikle numune alma, analitik işlemin en zor basamağı olup, analizin doğruluğunu sınırlar. Analiz işlemleri ne kadar dikkatli yapılırsa yapılsın elde edilen sonuç hatalı olacaktır. Örneğin nasıl alınması gerektiğine dair genel kurallar yoktur. Bu analizi yapılacak malzemenin cinsine ve miktarına bağlıdır. Genellikle katı malzemeler homojen değildir. Bu durumda öncelikle örnek iyice öğütülerek ya da parçalayıcılarla homojen hale getirilir ve bunun bir kısmı ile analiz yapılır.

Genellikle örnek alınırken dikkat edilmesi gereken noktalar aşağıda verilmiştir:

1) Numune alınırken numunenin kirletilmemesine ve temiz olarak alınmasına dikkat edilmelidir.

2) Numune almak için kullanılacak kaplar su ve yağ geçirmez bir malzemeden yapılmış olmalıdır.

3) Numune kabı kapaklarının contaları sağlam olmalı hava ve su sızdırmamalıdır.

4) Büyük ambalajlardan numune alırken bütün kütleyi temsil edecek nitelikte, homojen numune alınmalı ve etiket bilgileri tam olarak yazılmalıdır.

5) Numuneler serin ortamda, güneş ışınlarından etkilenmeyecek şekilde taşınmalıdır.

6) Kimyasal analiz için alınacak numunelerin konulacağı kaplar gıda ile temas ettiğinde herhangi bir reaksiyon vermeyecek nitelikte olmalıdır [6].

2.2.2. Örnek Hazırlama

Örnek alma basamağından sonraki basamak örneğin analize uygun hale getirilmesidir. Bu çalışmada Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi (AAS) ile eser element analizi yapıldığından örneklerin analiz öncesi hangi işlemlerden geçtiğinden bahsedilecektir. AAS ile element tayini çoğunlukla çözeltilerde yapılır. Bu nedenle örneğin inorganik asitler ile açıkta, yüksek basınçlı bombalarda, mikrodalga fırında veya eritiş vb. gibi yöntemler uygulanarak çözülmesi gerekir. Çözücü ve çözünürleştirme yöntemi analizin daha sonraki basamaklarına zarar vermeyecek şekilde seçilir ve örnek buna göre hazırlanır. Diğer önemli bir nokta da bu işlemler sırasında maddelerden hiçbirinin kaybolmamasıdır ve kullanılan asit, baz ve tuzların ultra saf olmasıdır. Bunun yanında AAS ile katı örnekleme sistemi kullanılarak direkt katı analizi de yapılabilir.

Örneklerin çözülmesinde genellikle üç temel yöntem kullanılır:

1. Yaş Çözünürleştirme Yöntemi,
2. Kuru Külleme Yöntemi,
3. Mikrodalgada Çözünürleştirme Yöntemi.

Bu yöntemlerden hangisinin seçileceği gıdanın tipine, kullanılacak ekipmana ve analizi yapılacak olan elemente bağlıdır. Kül etme yöntemleri aynı zamanda gıdalarda bulunan spesifik minerallerin analizi için örnek hazırlamanın ilk basamağı olarak kullanılır [7].

2.2.2.1. Yaş Çözünürleştirme Yöntemi

Bu teknikte örnekler, genellikle HCl, H_2SO_4, HNO_3, $HClO_4$, HF, H_2O_2 gibi yükseltgeyici kimyasallar veya bunların karışımlarında çözülür [8].

H_2SO_4 ile çözünürleştirme: Uçuculuğu diğer asitlere göre daha düşük olduğundan yüksek sıcaklığın istendiği durumlarda kullanılmaktadır.

HCl ile çözünürleştirme: Oksitler, karbonatlar, fosfatlar ve sülfürlerin çözünürleştirilmesinde etkilidir.

HNO_3 ile çözünürleştirme: Arsenik, antimon ve civa sülfürleri çözebildiğinden tercih edilmektedir.

HF ile çözünürleştirme: Silikatlar, tantalatlar ve niyobatlar için etkin bir uygulamadır [9].

Yaş yakma yöntemi, mineral asitlere (HCl, H_2SO_4, HNO_3, $HClO_4$, HF, H_2O_2) ve ısıya dayalı olarak yürütülen bir parçalama tekniği olarak günümüzde kuru yakma işleminden daha çok kullanılmaktadır. Bu teknik, açık ve kapalı kaplarda, farklı sıcaklıklarda yürütülmektedir. Örnek parçalama için bu asitlerin genellikle çeşitli kombinasyonları kullanılmaktadır. Örneğin; H_2O_2-HNO_3 karışımı organik örneklerin parçalanmasında en fazla kullanılan oksidasyon karışımıdır. Ayrıca, hidrojen peroksit yüksek saflığa sahip olduğundan eser element analizleri için oldukça uygundur. H_2SO_4-HNO_3 karışımı ise parçalama işlemleri için kullanılan bir diğer kombinasyondur. Fakat bu karışımın bazı dezavantajları vardır. Bunlardan en önemlisi parçalama işlemi sırasında baryum sülfat gibi çözünmeyen maddelerin oluşması ve bu maddelerin spektroskopik tayin sırasında girişim yapmasıdır. En etkili kombinasyon ise HNO_3-$HClO_4$ karışımıdır. Tehlikeli olmasına karşın en fazla kullanılan yükseltgeyici reaktif $HClO_4$'tür. Yaş yakma tekniğinde en önemli noktalardan biri de uygun bir ısıtma işleminin uygulanmasıdır. Özellikle nitrik asit kullanıldığında bu daha da önem kazanır. Çünkü nitrik asidin uçuculuğu sülfürik asit ve perklorik asidin uçuculuğundan daha fazladır. Isıtma yüksek sıcaklıklarda yapılırsa numune tamamen okside olmadan asit uçacaktır ve etkin bir yakma işlemi yapılamayacaktır. Aromatik hidrokarbon, yağ, protein ve diğer organik bileşenleri içeren örneklerdeki yakma işlemi ise daha fazla dikkat gerektirmektedir. Çünkü bu bileşenler nitrik asit ve sülfürik asitle etkileştirildiklerinde sülfat ve nitrat olacaklar ve bu formlarını yakma işlemi boyunca koruyacaklardır. İşte bu yüzden yaş yakma işlemine geçilmeden önce mutlaka kömürleştirme yapılmalıdır [10].

Yaş yakma işleminin kuru yakma işlemine göre daha fazla çözücü gerektirdiğinden reaktiflerden gelen kirlenmeler, örnek miktarında sınırlama ve daha fazla dikkat gerektirmesi gibi dezavantajları da vardır.

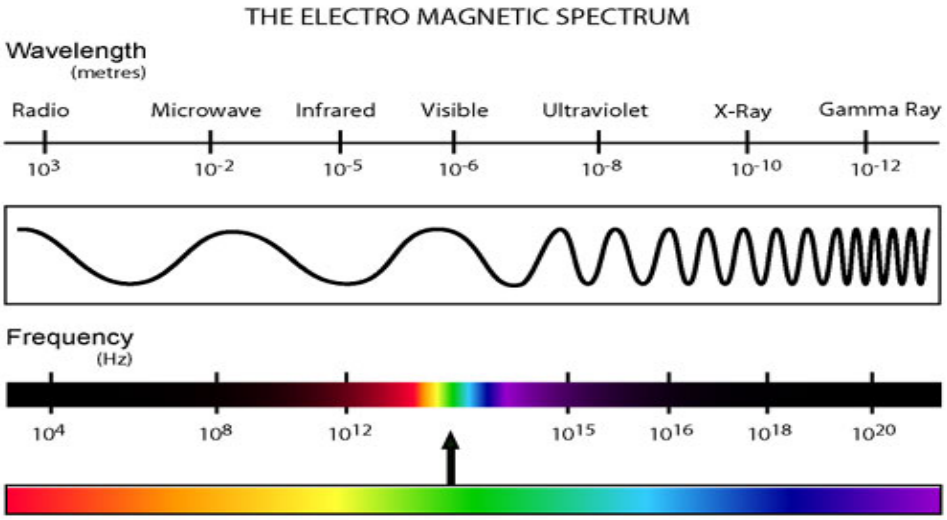
2.2.2.2. Kuru Külleme Yöntemi

En eski çözünürleştirme tekniğidir. Bu teknikte örnekteki organik kısım havada kömürleştirildikten sonra örnek, uygun bir kaba (kroze gibi) alınarak alevde veya kül fırında yakılır. Organik matriks genellikle önce kömürleşir, yanar ve kül şeklinde kalır. Kalan bu kısım inorganik maddeleri içermektedir. Bazı örneklerde ise oluşan CO_2 gazı karbonat şeklinde kül içinde kalabilir. Bunu önlemek için örnek, oksijence zengin alevde veya saf oksijenle yakılmalıdır. Yakma işlemi sırasında gerek hızı artırmak gerekse tam oksidasyonu sağlamak amacıyla ortama bazı reaktifler eklenebilmektedir. Elementel analizlerde gayet iyi bilinmelidir ki termal olarak kararlı karbon, silisyum ve bor bileşikleri matriks elementlerine dönüşebilmektedirler. Yanma sırasındaki bu tür sorunları gidermek için yanmadan hemen önce veya yanma sırasında ortama HNO_3, H_2SO_4, NH_4NO_3, $Mg(NO_3)_2$ gibi yükseltgeyici reaktifler katılır. Eğer belirli bileşenlerin kaybının engellenmesi isteniyorsa kül etme esnasında ortama bazı spesifik reaktifler de eklenebilir. Örneğin; bor elementinin borata dönüşerek buharlaşmasını engellemek amacıyla ortama CaO eklenmesi gibi.

Kuru yakma yöntemi genellikle pek tavsiye edilmemektedir. Bunun nedeni ise; selenyum ve civa gibi uçuculuğu yüksek olan elementlerin kayba uğramasıdır. Kuru yakmanın tam olabilmesi için gereken sıcaklık değerlerine ulaşıldığında sodyum ve potasyumda kayıplar da meydana gelebilmektedir [10].

2.2.2.3. Mikrodalga Çözünürleştirme Yöntemi

Bu teknik ilk defa 1975 yılında Abu Samra ve arkadaşları [11] tarafından biyolojik örnekleri parçalamak amacıyla kullanılmıştır. Diğer parçalama tekniklerine göre daha kontrollü, etkili, hızlı ve pratik olduğundan dolayı günümüzde oldukça popülerlik kazanmıştır. Ayrıca; American Society for Testing Materials (ASTM), The Environmental Protection Agency (EPA) ve The French Association of Standartization (AFNOR) gibi büyük laboratuvarlar da bu tekniğin kullanılmasını destekleyen kuruluşlar arasındadır. Bu tekniğin en önemli parçası olan mikrodalgalar, kızıl ötesi ışınlarıyla ultra yüksek frekanslı radyo dalgaları arasında kalan bölgede bulunan dalgalardır [8]. Elektromanyetik spektrum ve dalga boyu aralıkları Şekil 2.2'de görülmektedir.



Şekil 2.2. Elektromanyetik spektrum

Mikrodalgaların karakteristik özellikleri ise şunlardır:

- Elektromanyetik spektrumun üyesidir,
- Enine düzlem dalgalardır,
- Elektromanyetik spektrumda 300–300000 MHz arasındaki bölgeyi oluştururlar,
- İyonlaşmaya neden olmazlar ve ortama enerji salarlar.

Mikrodalga yardımıyla parçalamanın amaçlarını şöyle sıralayabiliriz:

- Tam çözünürleştirmeyi sağlamak ve daha berrak bir çözelti elde etmek,
- Girişimleri önlemek amacıyla matriksi tamamen gidermek,
- Çözünürleştirme sırasında her türlü analit kaybını önlemek,
- Bozucu etki yapan iyonları önleme yani daha düşük reaktif hacmi ile çalışmak.

Mikrodalga parçalama işlemi sırasında uygulanan güç, parçalama sıcaklığı, ortamda parçalamayla oluşan basınç, zaman ve parçalama reaktifinin kimyasal gücü mutlaka kontrol edilmesi gereken kritik parametrelerdir. Mikrodalga parçalama işlemi

açık ve kapalı kaplarda olmak üzere iki farklı şekilde uygulanabilmektedir. Açık sistemlerde asit/asit karışımı ile örnek birlikte bir tüp içine alınır ve mikrodalga enerjisi gönderilerek ısıtma yapmak suretiyle çözünürleştirme yapılır. Kapalı sistemde ise asit /asit karışımı ile örnek yüksek basınç altında teflon tüp içerisinde etkileştirilir ve mikrodalga enerjisi gönderilerek ısıtma yapmak suretiyle çözünürleştirme gerçekleştirilir. Bu teknikte, yaklaşık 0.500–1.000 g kuru ağırlıktaki örnekler, kademeli sıcaklık ve basınç değerleri uygulanarak çeşitli asit veya asit karışımları ile kapalı bir sistemde etkileştirilmek suretiyle çözünürleştirme yapılır [12].

Mikrodalga parçalama için bir mikrodalga ünitesinde bulunması gerekenler:

- 260 °C'ye kadar ısıtma sıcaklığı,
- 1.000 g'a kadar örnek alma imkanı,
- Her kapta sıcaklık kontrolü ve opsiyonel olarak her kapta basınç kontrolü,
- Tüm sıcaklık profillerini kaydedebilme.

Mikrodalga parçalama tekniğinde organik ve inorganik matrikslerin her biri için farklı reaktif/reaktif karışımları kullanılmaktadır [13].

Organik matrikslerin parçalanması için kullanılan reaktifler aşağıda verilmiştir.

HNO_3 (%65): Genellikle kolay oksitlenebilen maddelerin parçalanması için kullanılmaktadır. Nitrat veya azot, analize bozucu etki yapmaz.

HNO_3 (%65)/H_2O_2 (%30) 3:1 karışımı: Parçalama kalitesini artırmak için kullanılır. Plastikler gibi zor parçalanan örneklerde iyileşme sağlamaz.

H_2SO_4 (%98)/H_2O_2 (%30) 1:1 karışımı: Genellikle sulu numunelerin (atık su) parçalanmasında kullanılır.

HNO_3/H_2SO_4 1:1 karışımı: Plastikler gibi zor parçalanan numunelerde kullanılır. Matriksteki karbon, susuzlaştırma işlemi ile daha kolay giderilebilir.

Mikrodalga parçalama tekniğinde inorganik matriksler için seçilebilecek reaktifler ise şunlardır.

HCl, HCl/HNO_3(3:1) veya HCl/HF karışımı: Saf metallerin çözünürleştirilmesinde kullanılmaktadır.

H_2SO_4/HCl, H_3PO_4/HCl veya HF karışımları: Oksitlerin (Al_2O_3 dahil olmak üzere) parçalanmasında kullanılır. Orta derecedeki basınçlarda daha yüksek sıcaklıklara ulaşmak için yüksek kaynama noktasına sahip olan asidin yüksek oranda (%80) bulunması gerekmektedir.

Mikrodalga parçalama tekniğinin avantajlarını şöyle sıralamak mümkündür:

- Hızlı ve kolay uygulanabilirliği,
- Minimum enerji ve kimyasal sarfiyatı,
- Çevresel kirlilik oluşturmaması,
- Uçucu bileşenlerin kaybını engellemesi,
- Teflon çözünürleştirme kaplarının mikrodalga enerjisini absorbe etmemesinden dolayı enerji kaybının minimum olması,
- Yüksek sıcaklığa izin vermesidir.

Mikrodalga parçalama tekniğinde karşılaşılan problemler ise şunlardır:

- Sıcaklık ve basıncın daima kontrol edilmesi,
- Mikrodalga enerjisini absorbe edecek kapların kullanılması sonucu enerji kaybı,
- Basınç düşürme mekanizmasının gerekliliği.

2.3. Arsenik (As)

Arsenik, periyodik sistemin VA grubunun bir üyesi olup, atom numarası 33'tür. Tabiatta yaygın olarak bulunmaktadır. Yer kabuğunun yaklaşık %0.0005'ini oluşturur [14]. Gri ve sarı kristaller halinde iki ayrı biçimde bulunan ve bileşikleri İ.Ö. 4.y.y.'dan beri bilinen arsenik, element olarak ancak 17.y.y.'da tanımlanabilmiştir. Yazılı belgelere göre arseniği ilk kez serbest element halinde tanımlayan, 1649'da oksidini taş kömürü

ile ısıtarak arsenik elde etmiş olan Alman Eczacı Johann Schroeder'dir. Arsenik bakır, kurşun gibi metallerin eritilmesi ile yan ürün olarak da oluşabilmektedir.

Arseniğin buharı renksizdir. Ani soğutulduğu zaman şeffaf bal mumu yumuşaklığında, yoğunluğu 1.97 g/cm^3 olan plastik yapıda kristallerden ibaret sarı arsenik elde edilir. Sarı arsenik CS_2'de çözünür, su buharı ile uçucu olup şiddetli indirgendir. Yumuşak ve sarı arsenikten daha kararlı olan ve doğada daha bol bulunan gri ya da metalsi arsenik kolay kırılır, havada kararır ve hızla yüksek sıcaklıklara kadar ısıtıldığında süblimleşir. Arseniğin sarı ve griden başka biçimlerine de rastlanmıştır [13].

Arseniğin akut toksisitesi kimyasal formuna bağlıdır. Arsenik, elementel, gaz (arsin, AsH_3), organik ve inorganik formlarda bulunur. En toksik formu gaz formudur. Doğada en çok bulunan formu inorganik arseniklerden arsenik trioksittir (As_2O_3). İnsanlar günlük 300 µg alabilirler [15].

Arsenik çevrede yaygın olarak bulunmaktadır. Özellikle +5 değerlikli bileşikleri toprakta diğer arsenik türlerine oranla daha fazla bulunmaktadır ve toprakta 0.1-40 ppm aralığında rastlamak mümkündür. Topraktaki organik maddelere bağlı olarak da bulunan arsenik, organik maddelerin okside olmasıyla suya ve oradan bitkilere geçer. Denizlerde ve doğal su kaynaklarında değişen oranlarda arsenik bulunmaktadır. Suyun ısısının arttığı yerlerde arsenik oranının da arttığı bilinmektedir.

Bitkilerdeki arsenik oranı bitkinin bulunduğu coğrafi konum, topraktaki arsenik miktarı ve çevresel etmene bağlı olarak farklılık gösterir. Deniz bitkilerindeki arsenik derişimi daha yüksektir. Bazı yosun türlerinde bu oran daha da artmaktadır. Deniz ürünlerinde arsenik miktarı tolerans sınırı olan 2.6 ppm üstünde olabilir.

Element halinde arseniğin kullanım alanı oldukça kısıtlıdır. Daha çok tüfek saçmalarına yuvarlak biçim vermek için kurşuna element halinde arsenik katılmaktadır. Ayrıca tunç kaplamacılığında, fişekçilikte ve bazı alaşımların yüksek sıcaklıklara direncini artırmakta arsenikten yararlanılır. As-72, As-74 ve As-76 gibi radyoaktif izotopları ise tıpta tanı yöntemlerinde kullanılır.

Arsenik bileşikleri özellikle cilde, göze, solunum yollarına irritan etki gösterdiğinden savaş gazı olarak kullanılmıştır. Penisilinin keşfine kadar frengi gibi hastalıklara neden olan etkenlerle savaşmak için ilaçlarda da kullanılmıştır. Geçmişte

arsenikle zehirlenmeler intihar ve kasıtlı ölümlerde kullanılırdı. Orta çağda arsenik sözcüğü zehir sözcüğüyle eş anlamdaydı. Renksiz, kokusuz As_2O_3'in yiyecek ve içeceklerde fark edilmemesi ve zehirlenme belirtilerinin kolera, anemi gibi hastalıklara benzerliği nedeniyle zehirlenme etkeni olarak kullanılmıştır. Ancak analitik toksikolojideki zehirlenmenin kimyasal olarak tanımlanabilmesi ve diğer ilaçların da zehirleme etkeni olarak kullanılması ile arsenikle zehirlenmeler azalmıştır.

Arseniğin biyolojik olarak izlenmesi, akut ya da kronik arsenik zehirlenmesinin tanımlanması için gereklidir. Arsenik başlıca idrarla atılır. İdrardaki toplam arsenik konsantrasyonu genellikle yakın zamanda arsenik zehirlenmesinin bir göstergesidir. İnorganik arseniğin insanlardaki yarı ömrü dört gündür.

Absorbe olan organik ve inorganik arseniğin kandaki yarılanma ömrü çok kısa olduğundan kan, oral arsenik zehirlenmesinde kimyasal analizler için uygun bir biyolojik materyal değildir. Saç ve tırnak vücudun diğer dokularıyla kıyaslandığında arsenik konsantrasyonunun en yüksek olduğu bölgelerdir. İnorganik arsenik zehirlenmesinin ölçülmesinde daha çok saç kullanılmaktadır [16].

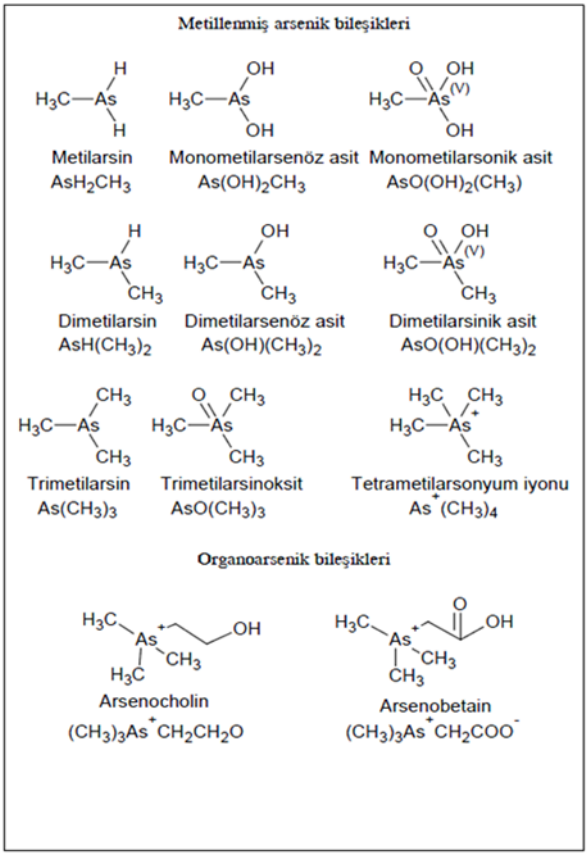
Arseniğin toksisitesi kimyasal yapısına bağlıdır ve genellikle çözünebilir inorganik arsenik türleri, organik arsenik türlerine göre daha toksiktir. Çünkü organik arsenik normal şartlarda vücuttan kolayca atılır. Ayrıca As(III) de As(V)'e göre daha toksiktir [17]. Bu yüzden farklı örneklerde arsenik tayini ve türlemesi oldukça önemlidir. Rastban veya beyaz arsenik olarak da bilinen arsenik trioksit (As_2O_3), en önemli arsenik bileşiği olup arsenik içeren maden cevherlerinin eritilmesi ile elde edilir [18].

Arsenik temel olarak;

- Pestisit (haşere öldüren kimyasal maddeler) üretiminde,
- Herbisit (zararlı otları öldüren tarımda kullanılan kimyasallar) üretiminde,
- Gıda katkı maddelerinde,
- Cam, fişek ve bazı lazer ekipmanlarının üretiminde,
- İlaç üretiminde (lösemi tedavisinde kullanılan arsenik trioksit yapımında) kullanılır [18].

2.3.1. Bazı Önemli Organik ve Anorganik Arsenik Bileşikleri

Arseniğin toksik etkisinde derişimin olduğu kadar türü de önemlidir. Sulu ortamlarda arsenik, başlıca organik ve inorganik sınıfların, birçok farklı türlerinde bulunabilir. Organik türleri, genellikle metilenmiş yapıları olan monometil arsonik asit, dimetil arsinik asit ya da diğer bilinen organoarseniklerden, arseno betain ve arsenocholin olarak bulunur. Organik arsenik türlerine ait kimyasal formül ve yapılar Şekil 2.3'de verilmiştir [19].



Şekil 2.3. Organik arsenik türlerine ait kimyasal formül ve yapılar

İnorganik arsenik hem As(III) hem de As(V) türlerini kapsayan bir terimdir İnorganik arsenik türleri arsenat ve arsenittir [20].

2.3.2. Metabolizma ve Toksisitesi

Kokusuz ve renksiz olan arsenik gastrointestinal sistem, solunum sistemi ve parenteral yollardan absorbe olur. İnorganik arseniğin gastrointestinal absorpsiyon hızı çok yüksektir. En fazla absorpsiyon ince bağırsaktan olur. Sütteki kazein absorpsiyonu azaltır. Solunum yoluyla alınan arseniğin %80'i sistemik absorpsiyonla sonuçlanır. Arseniğin cilt tarafından sistemik absorpsiyonu çok fazla değildir. İnorganik arseniğin insanlardaki yarı ömrü dört gündür, absorbe olan organik ve inorganik arseniğin kandaki yarılanma ömrü ise çok kısadır ve idrarla dışarı atılır. İdrardaki total arsenik konsantrasyonu genellikle yakın zamanda arseniğe maruziyetin bir göstergesidir [16].

Arseniğin en yaygın akut toksik türü, enzim sistemlerini inaktive etmesindendir. Bu enzimler; biyolojik katalizör olarak görev yaparlar ve hücresel enerji üretiminden sorumludurlar. Arsenit tarafından, sitrik asit döngüsü ters biçimde etkilenir. İnhibitör aktivite; inorganik arsenitli komplekslerden dolayı pirüvat dehidrogenazın inaktive edilmesi üzerine kurulmuştur. Böylece ATP üretimi engellenir, bu hücrelerin ölmesine yada zarar görmesine neden olur. Arsenik (III) türlerinin (arsenit gibi) sülfidril grupları kaynaklı ve diğer protein bağlarına kuvvetlice bağlandığı düşünülmektedir. İçme sularında saptanan arsenik düzeylerine göre sağlık etkileri şöyledir, 50 μg/L ve daha düşük düzeylerde arseniğe maruz kalmanın insan sağlığı üzerindeki etkisi tartışmalıdır. 50 μg/L ve altındaki dozlarda arsenik alımına bağlı gelişen herhangi bir sağlık etkisi olsa bile bu klinik olarak ortaya konabilecek bir etki değildir. Daha yüksek derişimlerdeki etkiler ise; [18]

- 100 μg/L'in üzerinde mesane kanseri riskinde artış,
- 150 μg/L ve üzerinde cilt kanseri sıklığında artış,
- 200 μg/L ve üzerinde kronik etkilenim arsenikozis (arseniazis): (özellikle el ve ayak tabanında siğil benzeri deri oluşumları ve ciltte pigmentasyon değişiklikleri)
- 300-400 μg/L düzeylerinde uzun süre arsenik etkileşimi sonucunda mesane kanseri, akciğer kanseri, deri kanseri ve diğer cilt problemlerinin ortaya çıkabileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur,

- 400 μg/L üzerinde kolon, böbrek, mesane, karaciğer, akciğer ve deri kanseri sıklığında artış,
- 400-600 μg/L Damar Sistemi Hasarı (Black Foot) kangren,
- 700-930 μg/L Tip–2 diyabet hastalığı,
- 800-900 μg/L Akciğer kanseri gelişme riskinin önemli derecede yüksektir.

Maruz kalınan miktar çok yüksek ise (kan düzeyi 3000 μgL^{-1}) vücuda temas ettiği yerde dermatit oluşur. Konjuktivit, bronşit, dispne ile başlayan zehirlenme belirtileri kusma ve kardiyak tutulumla birlikte gelişen geri dönüşü olmayan şokla seyreder ve saatler içerisinde ölüm meydana gelebilir. Günümüzde bu tür akut zehirlenmeler görülmemektedir. Diğer taraftan her gün yaklaşık olarak 20 μg arsenik alımı insan için gereklidir [21].

Arseniğin iki tip toksisitesi vardır. Bunlar Akut ve Kronik toksisitelerdir [22].

2.3.2.1. Akut Arsenik Maruziyeti

Akut arsenik maruziyeti; tıbbi müdahaleyi gerektirir. Genellikle yüksek oranda arsenik içeren gıda ve içeceklerin alınmasıyla ortaya çıkar. Akut alımda en fazla dağılım karaciğer ve böbrekte olur, daha sonra beyindedir. Akut arsenik zehirlenmesinin ilk belirtileri; şiddetli karın ağrısı, ağızda metalik tat, boğazda sıkışma, kusma, koleradaki gibi diyare, bacaklarda kasılma, zayıf ve düzensiz nabız, solgun yüz, gözlerde çökme, soğuk ve ıslak bir cilt ve felçtir [22].

2.3.2.2. Kronik Arsenik Maruziyeti

Genel olarak kronik birikme akciğerde olur, kısa vadeli kronik maruziyette ise arsenik sistein içeren proteinlerce zengin olan saç, tırnak ve ciltte birikir. Kronik zehirlenme belirtileri; iştahsızlık, genel zafiyet, dişetlerinde kanama, dişetlerinde siyah çizgi, dermatit, hiperkeratozis, şiddetli deri döküntüsü, kolik, nefeste sarımsak kokusu, el ve ayak tırnaklarında açık lekelerdir. En önemli belirtileri; çeşitli organlardaki özellikle cilt, akciğer ve deri kanserlerinin varolmasıdır. Kronik arsenik

maruziyetiyetinin belirtileri, genellikle maruz kalındıktan 5-15 yıl sonra ortaya çıkar. Black Foot (kangren) hastalığı kronik arsenik maruziyetinin en kötü belirtisidir [23]. Fakat bu hastalık, içme sularındaki yüksek orandaki arseniğe uzun süre maruz kalındıktan sonra ortaya çıkabilir. Kronik As_2O_3 maruziyeti sonucu oluşan cilt hastalıkları Şekil 2.4'te görülmektedir.



Şekil 2.4. Kronik arsenik maruziyeti sonucu oluşan cilt hastalıkları

2.3.3. Arsenik Düzeyi Ölçüm Yöntemleri

2.3.3.1. Hidrür Oluşturmalı Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi

İnorganik arsenik tayini için en yaygın kullanılan yöntemlerden biridir. IVA ve VA grubu elementleri hidrür denilen kovalent hidrojen bileşikleri verirler. Arsin üretimi için sodyum veya potasyum tetrahidroborat kullanılır.

Arsenik bileşiklerinden arsin (AsH_3), oluşturmak için Zn ile indirgeme yöntemi kullanılır. Bu tür hidrürleri oluşturarak maddeleri gaz halinde atomlaştırıcıya göndermekle AAS yönteminin duyarlılığı 10-100 kat arttırılmış olur.

As(III)'ün tetrahidroborat ile As(V)'den daha yüksek pH da reaksiyona girmesine bağlı olarak hidrür oluşturma yöntemi As(III) ve As(V)'in seçimli tayininde kullanılabilir. Hidrür oluşturma yöntemi genellikle tayinin duyarlılığını arttırır örnek matriksindeki olası interferensleri azaltır.

Bu teknik işlem:

1. Uçucu hidrürün oluşturulması;

Kuvvetli indirgene gereksinim vardır. Bu amaçla Zn ve HCl karışımı kullanılabilir. Arsenikte Zn ile hidrür oluşturmadan önce As(V)'in As(III)'e

indirgenmesi gerekir. $NaBH_4$ ile hızlı hidrür oluşumu çok yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir.

$$As(OH)_3 + 3\,BH_4^- + 3\,H^+ \rightarrow AsH_3 + 3\,BH_3 + 3\,H_2O$$
$$3\,BH_3 + 3\,H_2O \rightarrow H_3BO_3 + 3\,H_2$$

2. Hidrürün ışın yoluna gönderilmesi;

Oluşan hidrürün soğurma sistemine gönderilmesi ya bir pompayla sürekli ya da bir toplama kabına toplandıktan sonra bir seferde olur.

3. Hidrürün atomlaştırılması;

Işın yolundaki hidrürler atomlaştırılır ve gaz halindeki bu atomların rezonans ışınları soğurması gerçekleşir. Soğurum işlemi Lambert-Beer yasasına göre gerçekleşir. Zamana karşı okunan sinyaller grafiğe geçirilir.

2.3.3.2. Grafit Fırın Atomik Absorpsiyon Spektoskopisi

Teknik, yüksek sıcaklıklara ısıtılabilen, küçük grafit tüp içerisinde tutulan örneklerden oluşan serbest atomların absorpsiyonuna dayanır. As tayini için belirtilen metotların çoğu duyarlılığı arttırmak için ön deriştirme işlemi gerektirir. Elektrikle ısıtılan fırın sistemi ışın yoluna yerleştirilir 2-200 µL. Örnek çözeltisi tüpe enjekte edilir ve fırının sıcaklığı kademeli olarak arttırılarak önce kurutulur, yakılır son olarak sıcaklık birden arttırılarak atomlaştırma gerçekleştirilir, gaz halindeki atomların rezonans ışınları soğurması belirlenir.

2.3.3.3. Nötron Aktivasyon Analizi

Bu yöntemde saç örneklerinin incelenmesi sonucunda saçta bulunan elementlere göre zehirlenmeler tespit edilir. Temel prensibi, kararlı bir izotopun nötronlar veya yüklü parçacıklarla bombardıman edilerek uyarılması sonucu yayınlanan ışınların dedeksiyonu ve bombardıman sonucu oluşan radyoaktif çekirdeğin parçalanması yarı ömrünün tayinine dayanır. Aktivasyon analizi, elementlerin nitel ve nicel analizinde kullanılan doğru ve incelikli sonuçlar veren ekonomik, süratli bir analiz metodudur.

2.3.3.4. X-Ray Flouresans Spektrometri

Bir atomun iç yörüngelerindeki elektronlar X ışınları bombardımanları ile daha aktif hale getirilebilirler. Bunun sonucunda yörüngelerdeki elektronlardan biri komşu dış yörüngeye sıçrar. Fakat elektronlar bu kararsız durumda fazla kalmayıp kararlı alt yörüngelere inmek isterler. Bu iniş esnasında her atom elektronu kendisine özgü karakteristik ikincil X ışınları (flouresans) yayar. Bu ışınlar analizör ve kolimatörler ile ayrılır ve bu ayrılan ışınlarda sintilizasyon veya gazlı sayaç yardımıyla ölçülebilir. Ölçülen bu ışın miktarı aynı zamanda elementin miktarı ile orantılı olduğu için elde edilen sonuç kantitatif bir sonuçtur. Bu yöntemle özelikle bazı elementlerin duyarlılık sınır oldukça büyüktür arsenik duyarlılık sınırı 100 ppm'dir.

X-ışınları fluoresans spektrokopisinde genellikle katı numunelerle çalışılır. Ancak çözeltilerin analizi de uygun düzenekler kullanılarak yapılabilir. Katı numuneler ya çelik analizinde olduğu gibi bir yüzeyi düzeltilerek numune doğrudan ışınlanır veya önce toz edilen baskı ile tablet yapılıp ışınlanır.

Yöntemin duyarlılığı oldukça yüksektir. Genellikle ppm derecesinde olan duyarlılık, küçük atom numaralı elementlerde biraz daha düşüktür. X-ışınları fluoresans analizinden alınan sonuçların yinelenebilirlikleri çok iyidir. Kullanılan işlemler oldukça yakındır ve sonuca çabuk ulaşılır. Elde edilen sonuçlardaki yanılgılar elemente, numunenin yapısına ve numune hazırlama yöntemine göre değişir. İyi çalışıldığında %1 kadar bağıl hata elverişsiz koşullarda %3–4 değerine ulaşır.

2.3.3.5. İndüktif Eşleşmiş Plazma (ICP) Teknikleri

ICP-MS (Inductively Coupled Plasma–Mass Spectrometer) katı ve sıvı örneklerde çok sayıda elementin hızlı, ucuz, hassas ve doğru biçimde, nitel, nicel ya da yarı-nicel olarak ölçülmesine olanak sağlayan ileri teknoloji ürünü bir analiz tekniğidir. Teknik elektromanyetik indüksiyonla 10,000 ºK sıcaklığa ulaştırılan argon plazması tarafından örneğin iyonize edilmesi; iyonize elementlerin kütle spektrometresi tarafından ayrıştırılması ve element derişimlerinin elektron çoklayıcı bir dedektör tarafından ölçülmesi aşamalarını içerir. Örnekteki tüm elementlerin derişimleri 1 ile 2 dakika arasında değişen oldukça kısa bir sürede ölçülür. ICP-MS ölçüm tekniğinde sıvı

örnekler Çözelti ICP-MS, katı örnekler ise çözeltiye alınarak Çözelti ICP-MS ya da doğrudan Lazer Aşındırma ICP-MS teknikleri ile ölçülebilirler.

Katyon ve elektron içeren elektriksel olarak iletken gaz karışımı olarak da tanımlanan plazma kullanılır ki, bu teknikte örnek asitlendirilir ve plazma içerisine püskürtülür. Plazmanın yüksek sıcaklığı, arseniğin türlerini atomize ve iyonize eder.

ICP MS tekniği arsenik tespiti için oldukça yaygın uygulanan analitik yöntemlerden biridir. As türlerin tayininde ICP MS yöntemi HPLC ile kombine edilerek de kullanılmıştır.

BÖLÜM 3

ATOMİK ABSORPSİYON SPEKTROSKOPİSİ

3.1. Giriş

Atomik spektroskopi 70 kadar metal ve yarımetalin eser miktarlarının analizinde kullanılan elektromanyetik ışının atomlar tarafından absorplanması prensibine dayanan bir metottur [24, 25].

Atomik türlerin spektroskopik tayini, analit atomlarının (veya bazen Fe^+, Mg^+, Al^+ gibi element iyonlarının) bulunduğu gaz ortamında yapılabilir. Dolayısıyla tüm atomik spektroskopik işlemleri için ilk basamak atomlaştırmadır; bu süreç sırasında örnek, atomik bir gaz oluşturacak şekilde buharlaştırılır ve parçalanır. Metodun duyarlılık, kesinlik ve doğruluk gibi nitelikleri, büyük ölçüde atomlaştırma basamağının verimliliği ve tekrarlanabilirliğine bağlıdır. Bu yüzden atomlaştırma atomik spektroskopide en önemli aşamadır [26].

Atomik spektroskopi teknikleri içerisinde atomik absorpsiyon spektroskopisi (AAS), 1950'lerden beri seçiciliği, basitliği ve kolaylığından dolayı en yaygın kullanılan tekniklerden biridir. AAS jeolojik, biyolojik, cam, çimento, yağ, sediment, farmakolojik ve atmosferik örneklerdeki eser metal analizlerinde sıklıkla kullanılmaktadır.

3.2. Atomik Absorpsiyon Spektormetrisi

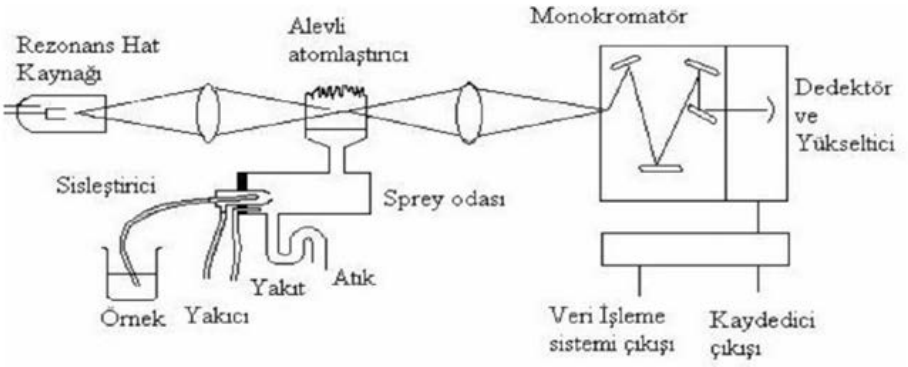
Hat spektrumlarında her hat "monokromatik" ışın olarak düşünülebilir. Işığın dalga karakteri dolayısıyla spektrumdaki her hat kendi dalga boyu (λ) cinsinden karakterize edilir. Işın absorpsiyonu veya emisyonu, atomdaki elektronun iki enerji seviyesi arasındaki bir geçişin sonucudur. En düşük enerji seviyesi, her atomda mevcut olan temel haldir. Daha yüksek enerjili seviyeler uyarılmış hale tekabül eder. Bir atom, ışığı sadece uyarılmış halde iken yayar. Atom daha düşük enerjili hale (ya da temel hale) dönerken ısı veya ışın şeklinde enerji açığa çıkar. Oda sıcaklığında atomların çoğu temel haldedir. Atomlar ancak uygun dalga boylu ışınla uyarıldıkları zaman absorpsiyon spektrumu elde edilebilir [27].

Atomik ve moleküler absorpsiyonda, bir absorpsiyon ortamından geçen ışığın şiddeti ile absorpsiyon ortamının kalınlığı "d" ve absorplayan türün derişimi "c", arasındaki ilişki Lambert-Beer yasasıyla ifade edilir.

$$A = \log I_0/I = kcd$$

I_0: Gelen ışığın şiddeti,
I: Absorpsiyon ortamından çıkan ışın şiddeti,
A: Absorbans,
k: Orantı katsayısı (absorpsiyon katsayısı veya absorptivite)

Eşitlikten de görüleceği gibi absorbans, A, ışığın geçtiği tabakanın kalınlığı ve absorplayan maddenin derişimi ile orantılıdır. Absorpsiyon katsayısı "k", absorplayan maddenin türüne ve dalga boyuna bağlı bir sabittir. Bu temele dayalı çalışan atomik absorpsiyon spektrometresinin bileşenleri Şekil 3.1'de bir gösterilmiştir. Bu bileşenler analit elementinin spektrumunu yayan bir ışın kaynağı, örneğin atomlarına ayrıştığı bir atomlaştırıcı, monokromatör, dedektör ve elektronik devrelerdir.



Şekil 3.1. Bir atomik absorpsiyon spektrometresinin ana bileşenleri

3.2.1. Işın Kaynakları

Atomik absorpsiyon spektrofotometresinde tayin edilen elementlerin absorpsiyon hat genişliğinden daha dar emisyon spektrumu veren ışın kaynakları kullanılmalıdır. Aksi halde hassasiyeti düşüren düşük absorbans değerleri elde edilir.

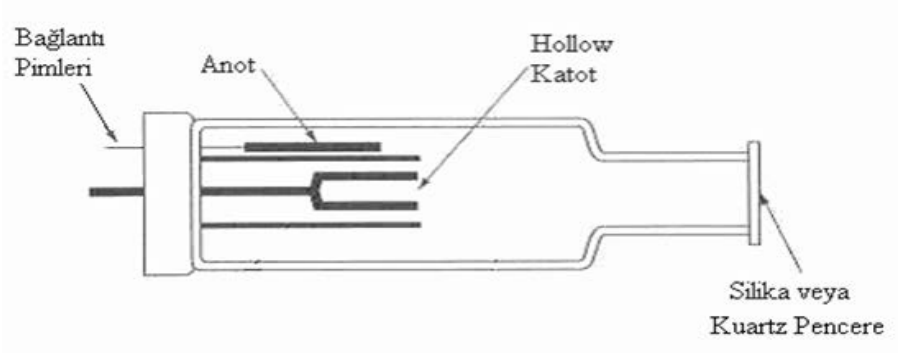
AAS'de kullanılan ışın kaynakları şu şekilde sınıflandırılabilir:

1) Oyuk katot lambaları,
2) Elektrotsuz boşalım lambaları,
3) Yüksek ışımalı lambalar,
4) Sürekli ışın kaynakları,
5) Buhar boşalım lambaları.

Bu kaynaklardan oyuk katot lambaları ve elektrotsuz boşalım lambaları en yaygın olarak kullanılanlardır [28].

3.2.1.1. Oyuk Katot Lambaları

Atomik absorpsiyon ölçmelerinde en yaygın olarak kullanılan ışın kaynağıdır. Düşük basınçta (1-5 mm Hg) argon veya neon gazıyla doldurulmuş cam tüp içine yerleştirilmiş bir tungsten anot ve silindirik bir katottan oluşan silindir biçiminde lambalardır (Şekil 3.2). Katot tayini yapılacak elementin metal veya alaşımından yapılmıştır. Anot ile katot arasına, 100-400 V'luk bir gerilim ve 5-15 mA arasında akım uygulandığında lamba içindeki gaz atomları iyonlaşır. Böylece ortamda iyonlar ve elektronlar oluşur, oluşan bu iyonlar ve eletronlar gerilim altında hızlanarak katoda çarpar ve yüzeydeki metal atomlarını koparır ve uyarırlar. Uyarılmış atomlar temel seviyeye dönerlerken karakteristik (rezonans) ışınlarını yayarlar. Katottan ayrılan metal atomları tekrar katot yüzeyine veya cam yüzeyine dönerler.



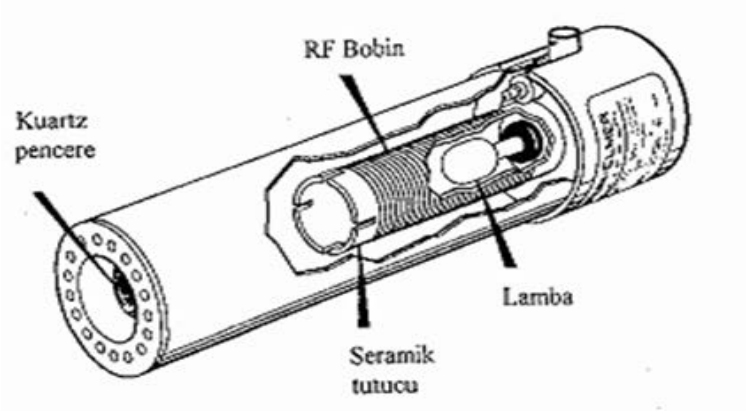
Şekil 3.2. Bir oyuk katot lambasının şematik yan kesiti [26]

Katodun silindirik ve oyuk şeklinde olmasının nedeni, uyarılmış düzeydeki atom sayısını artırmak için ışımanın yoğun bir şekilde tüpün belirli bir bölgesinde olmasını ve aynı zamanda atomik buluttaki metal atomlarının tekrar katot yüzeyine toplanmasını sağlamaktır. Oyuk katot lambasının etkinliği geometrisine ve çalıştırılma şartlarına bağlıdır. Yüksek gerilim ve bunun sonucu yüksek akımlar ışın şiddetinin artmasını sağlar. Bu üstünlük emisyon hatlarının Doppler genişlemesi ile sınırlıdır. Yüksek akımlar, atomik buluttaki uyarılmış atomların sayısını artırır ancak Doppler genişlemesi de artar. Bunun sonucu olarak uyarılmamış atomlar, uyarılan atomların temel hale dönerlerken verdikleri ışınları absorplarlar ki buna self absorpsiyon denir. Self absorpsiyondan dolayı emisyon hattının merkezinde ışın şiddetinde azalma olur. Düşük akımda çalışmakla self absorpsiyon önlenebilir, fakat bu da lambanın kararlılığını bozar [26].

3.2.1.2. Elektrotsuz Boşalım Lambaları

Elektrotsuz boşalım lambaları hem atomik absorpsiyon hem de atomik floresans spektrometresinde kullanılır. Elektrotsuz boşalım lambalarının ışın şiddeti oyuk katot lambasınınkinden daha fazladır. Ayrıca çok ucuza mal edilebilirler. Elektrotsuz boşalım lambaları 8-10 cm uzunluğunda, 0.5-1 cm çapında, birkaç mg tayin elementini içeren (saf metal veya metal bileşiği) ve birkaç mmHg basıncında argonla doldurulmuş kapalı kuartz tüplerden oluşmuşlardır. Tüp yüksek frekanslı bir jenaratörün sarımları arasına yerleştirilmiştir ve birkaç watt'tan 200 watt'a kadar bir güçle uyarılır (Şekil 3.3).

Elektrotsuz boşalım lambaları özellikle vakum UV bölgede büyük avantaja sahiptir, çünkü bu bölgede tayin edilen elementler için uygun ışın kaynağı yoktur. Ayrıca yine bu bölgede hava, alev ve merceklerin absorpsiyonu ve aynaların zayıf yansıtma özellikleri nedeniyle yüksek ışıma şiddeti oldukça önemlidir. Bu tür lambaların en büyük dezavantajı ise ömürlerinin kısa olmasıdır [27].



Şekil 3.3. Elektrotsuz boşalım lambasının kesiti [26]

Elektrotsuz boşalım lambaları atomik absorpsiyon spektrofotometrelerinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır hatta birçok element için diğer ışın kaynaklarının yerini almaktadır. As, Se, Sb gibi uçucu ve küçük dalga boylarında (<200 nm) absorpsiyon ve emisyon yapabilen elementler için elektrotsuz boşalım lambaları kullanılır.

3.2.1.3. Yüksek Işımalı Lambalar

Sullivan ve Walsh tarafından geliştirilen yüksek ışımalı lambalarda standart oyuk katottan başka bir çift yardımcı elektrot bulunmaktadır. Normal oyuk katot lambalarında katotta oluşan bütün atomlar uyarılmaz. Sadece uyarılan atomlar ışıma yapabileceklerinden yardımcı elektrotların amacı geriye kalan temel seviyedeki atomları uyarmak için gerekli ikinci akımı geçirmektir. Böylece ışın şiddetinde oyuk katot lambasına göre 50-100 kat bir artış görülür. Buna rağmen yüksek ışımalı lambalar yapısının karmaşıklığı ve ikinci bir güç kaynağı gereksinimi nedeniyle bazı özel çalışmalar dışında pek kullanılmaz.

3.2.1.4. Sürekli Işın Kaynakları

Yeterli parlaklıkta ışıma yapan ışın kaynakları (hidrojen, döteryum, yüksek basınçlı ksenon veya halojen lambalar) ilk bakışta bazı nedenlerden dolayı daha çekici görünebilir. Bunların emisyonu kararlıdır ve özellikle birden fazla element analizinde kullanışlı ve ucuzdurlar. Sürekli ışın kaynaklarının absorpsiyon hatlarının dar olması, yüksek kalitede bir monokromatörle bile analitik doğrusallıktan sapma gözlendiğinden ve yüksek absorbanslarla çalışılmak mümkün olmadığından dolayı çok kısa bir zamana kadar bu lambalar atomik absorpsiyon spektrofotometresinde kullanılmıyordu. Son yıllarda CCD (charge coupled device) dedektörlerinden yararlanarak sürekli ışın kaynaklarının kullanıldığı atomik absorpsiyon spektrofotometreleri geliştirilmiştir. Bu sayede çok sayıda element hemen hemen aynı anda tayin edilerek AAS'deki her element için lamba değiştirme dezavantajı ortadan kaldırılmaktadır [29, 30, 31, 32].

3.2.1.5. Buhar Boşalım Lambaları

Buhar boşalım lambaları, genellikle kolay buhar haline geçen metaller için kullanılır. Bu tip lambaların içinde gaz olarak metal atomları bulunur. Böyle lambalar alkali metalleri ve cıva için kullanılır.

3.2.2. 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 [27].

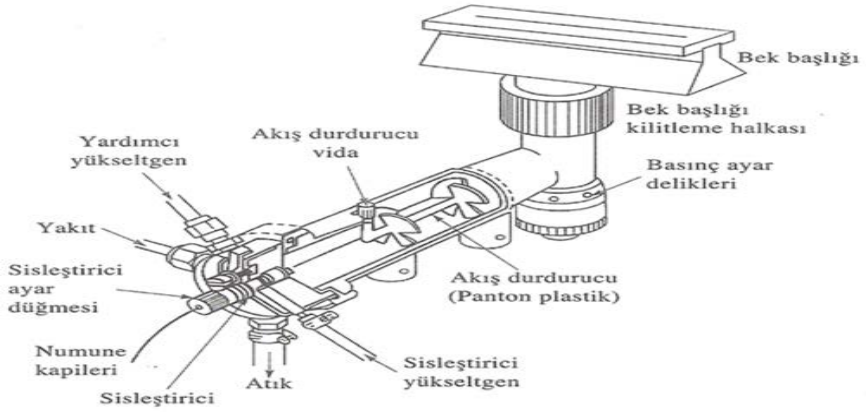
Atomlaştırıcılar genel olarak;

- Alevli atomlaştırıcılar,
- Elektrotermal atomlaştırıcılar,
- Hidrür oluşturmalı atomlaştırıcılar,
- Akkor boşalımlı atomlaştırma,
- Soğuk buhar atomlaştırma olmak üzere beşe ayrılır.

3.2.2.1. Alevli Atomlaştırıcılar (FAAS)

Alev atomlaşma sisteminin amacı serbest analit atomlarının üretilerek, karakteristik dalga boyu üreten ışık kaynağı altında uyarılmış hale getirmektir. Sistem bir nebulizer (sisleştirici), bir spray odası, bir burner (alevleştirici) ve bir alevden oluşur. Bu sistem tayinin hassasiyetinin, tayin sınırının, doğruluk ve kesinliğinin belirlenmesi açısından önemlidir.

Bir alev atomlaştırıcıda, atomlaşmanın oluştuğu alev içine numune çözeltisi yanıcı gaz ile karışan yükseltgen gaz akışıyla taşınır ve püskürtülür. İlk olarak çözücü buharlaşır ve çok ince dağılmış bir moleküler aerosol oluşur. Sonra bu moleküllerin çoğunun ayrışması sonucu atomik gaz oluşur. Bu şekilde oluşan atomlar karakteristik dalga boylarındaki ışığı absorplayabilirler. Tipik bir alev atomlaştırıcının yapısı Şekil 3.4'de gösterilmiştir.



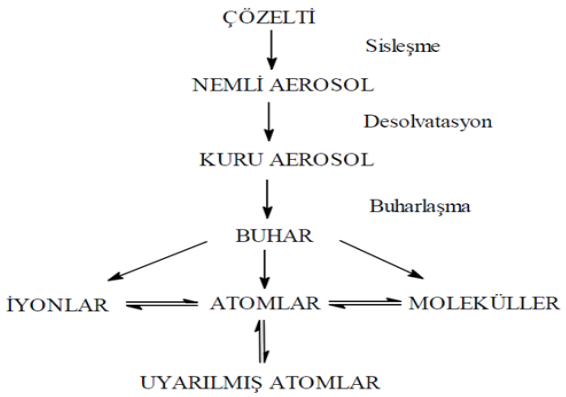
Şekil 3.4. Bir laminar akışlı bek [26]

Tablo 3.1'de alev spektroskopide kullanılan yanıcı ve yükseltgen gazlar ile bu gaz karışımları ile ulaşılabilen en yüksek sıcaklıklar verilmiştir.

Yanıcı Gaz	Yükseltgen Gaz	Sıcaklık (°C)
Doğal Gaz	Hava	1700-1900
Doğal Gaz	Oksijen	2700-2800
Hidrojen	Hava	2000-2100
Hidrojen	Oksijen	2550-2700
Asetilen	Hava	2100-2400
Asetilen	Oksijen	3050-3150
Asetilen	Nitröz Oksit	2600-2800

Tablo 3.1. Alevli atomlaştırmada kullanılan gaz karışımları ve alev sıcaklıkları

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 3.5'de gösterilmiştir:



Şekil 3.5. Alevde atomlaşma basamakları ve alevdeki diğer olaylar

Alev atomlaştırma tekniğinin performans özelliklerini şöyle sıralayabiliriz:

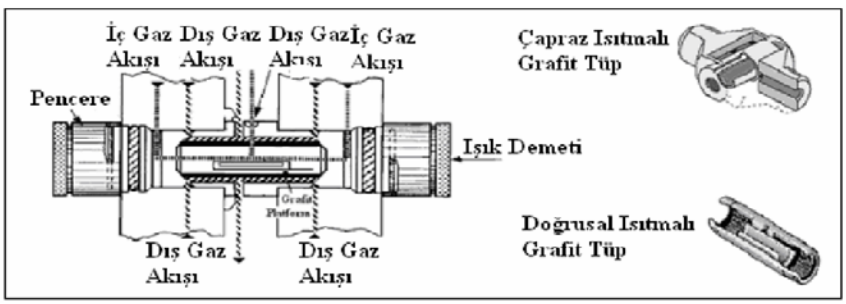
- Tekrarlanabilirlik yönünden şimdiye kadar atomik absorpsiyon ve floresans spektrometride sıvı numune girişi için geliştirilen diğer yöntemlere göre daha üstün görünür.

- Numune verme verimi ve dolayısı ile duyarlık yönünden diğer atomlaştırma yöntemleri belirgin olarak alev atomlaştırmadan daha iyidir. Bu ise iki sebebe dayandırılır. Birincisi, numunenin büyük bir kısmının atığa geçmesi ve ikincisi, alev içindeki optik yolda tek tek atomların kalma süresinin 10^{-4} s kadar kısa olmasıdır.

3.2.2.2. Elektrotermal Atomlaştırıcılar (ETAAS)

İlk defa 1970'lerde görülen alevsiz atomlaştırıcılar, elektrotermal atomlaştırıcı ya da grafit fırın olarak da adlandırılabilirler. Kısa sürede tüm numunenin atomlaştırılması ve optik yolda atomların ortalama kalma sürelerinin bir saniye veya daha fazla olması nedeniyle, duyarlılıkta artış sağladığı görülmektedir.

Tipik bir elektrotermal atomlaştırıcı ve grafit tüpün yapısı Şekil 3.6'da gösterilmiştir. Elektrotermal atomlaştırıcılarda grafit tüp iç yüzeyinde veya grafit platform yüzeyinde, elektriksel olarak ısıtılmak suretiyle, numunenin 10–20 µL'si önce kurutulur ve sonra kül edilir. Külleme aşamasından sonra yaklaşık 2000–3000 ºC'ye yükselen sıcaklık ile numune atomlarına ayrışır. Elektrotermal atomlaştırıcılar, kısa sürede tüm numunenin atomlaştırılması ve optik yolda atomların ortalama kalma sürelerinin bir saniye veya daha fazla olması sebebiyle hassasiyette artış sağlar.



Şekil 3.6. Elektrotermal atomlaştırıcı ve grafit tüpün yapısı

Numune enjeksiyonunun yapıldığı grafit tüp yaklaşık 5 cm uzunluğunda ve 1 cm'den daha az iç çapa sahiptir. Grafit tüp içinden geçen inert gaz (argon, azot v.b.) ortamı havadan arındırırken kurutma ve külleme aşamalarında oluşan numune matriks buharlarını da uzaklaştırır. Dış gaz akışı da yüksek sıcaklıklara çıkan grafit tüpün yanmasını engeller.

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 [27].

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 akışı 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 Ön İşlem 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 aynı 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 ön işlem sıcaklığı genellikle 470-770 ºK 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 buharlaşmayla 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 interferenslerden 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.

Soğutma Basamağı: Bu basamakta oda sıcaklığına kadar fırın soğutulur.

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.

Elektrotermal atomlaştırıcılar alevle karşılaştırdığımızda, avantajlarını ve dezavantajlarını şöyle özetleyebiliriz:

Avantajları:

1) Duyarlılık 10^2-10^3 kez daha büyüktür. Çünkü hem sisleştiriciye gelen örneğin çoğu aleve ulaşmaz hem de analit atomları ve alev gazlarının tutuşma ürünleri arasındaki birleşme reaksiyonu nedeniyle atomlaşma verimi düşüktür.

2) Grafit tüpe enjekte edilen numune miktarı 5–10 μL iken alevli atomlaşma için 1–2 mL numune gerekmektedir. Bu nedenle elektrotermal atomlaştırıcı kullanarak mikro analiz yapmak mümkündür.

3) Alevi söndüren viskoz sıvılar veya solventler elektrotermal analizde kullanılabilir.

4) Direk katı ve slurry analizleri mümkündür.

Dezavantajları:

1) Güç kaynağı ünitesi sebebiyle çok yer kaplayan bir alet,

2) Sistem daha karmaşık ve bozulma riski daha yüksek,

3) Elektrotermal atomik absorpsiyon spektrofotometresi (ETAAS) alevli atomik absorpsiyon spektrofotometresinden çok daha pahalıdır.

4) Çalıştırma masrafları çok daha fazladır.

5) Eğer temizleme gazı olarak azot kullanılırsa siyanür oluşma riski vardır. Ayrıca alev kullanılan durumlarda toksik yanma ürünleri oluşur.

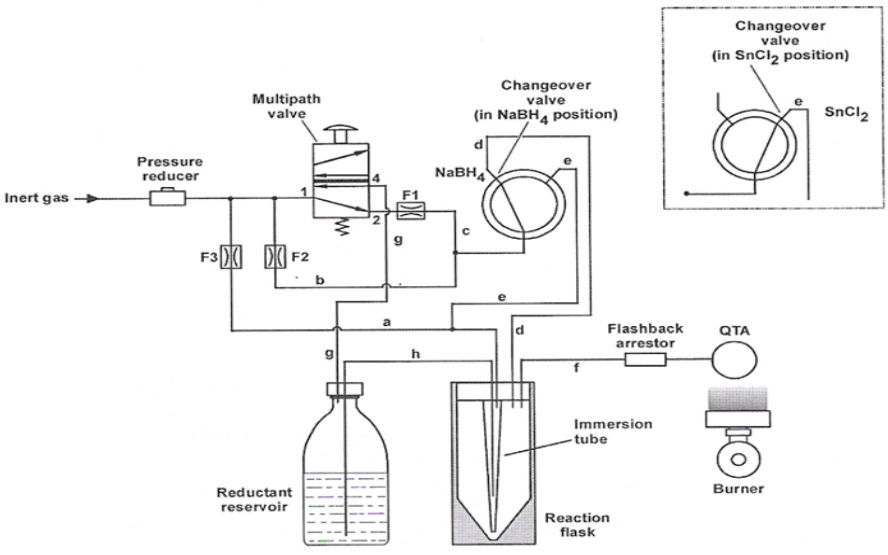
3.2.2.3. Hidrür Atomlaştırma

Hidrür atomlaştırma teknikleri arsenik, civa, kalay, selenyum, antimon, bizmut elementlerinin hidrür buharları şeklinde atomlaştırıcıya verilmesi yoluyla gerçekleştirilir. Bu elementlerin oldukça toksik olmaları sebebiyle düşük derişimlerinin tayininde hidrür atomlaştırıcılar kullanılır. Hidrür reaksiyonunu genellikle Şekil 3.7'da gösterilen akış-enjeksiyon sistemi kullanılarak taşıyıcı reaktif ($NaBH_4$ veya $SnCl_2$),

indirgen (HCl) ve analit çözeltisinin karışması sonucunda gerçekleşir. Yalnızca civa analizi için indirgen olarak $SnCl_2$ kullanılarak daha düşük tayin limitleri elde edilebilir.

$$3BH_4^- + 3H^+ + 4H_3AsO_3 \rightarrow 3H_3BO_3 + 4AsH_3\uparrow + 3H_2O$$

Bir peristaltik pompa yardımıyla çekilen taşıyıcı reaktif ve indirgen yaklaşık 500 µL analit çözeltisi ile karıştırılır ve karışma bloğuna gönderilir. Karışma bloğundan gaz–sıvı ayıracına gelen hidrür buharları atomlaşmanın gerçekleşeceği 'T' tüpe taşıyıcı argon gazı ile taşınır. Atomlaşma işlemi için alev başlığının yanı sıra elektrik yoluyla ısıtılan fırın da kullanılmaktadır ve hidrür fırını kullanımı hassasiyeti artırmaktadır.



Şekil 3.7. Hidrür oluşturma sistemi [33]

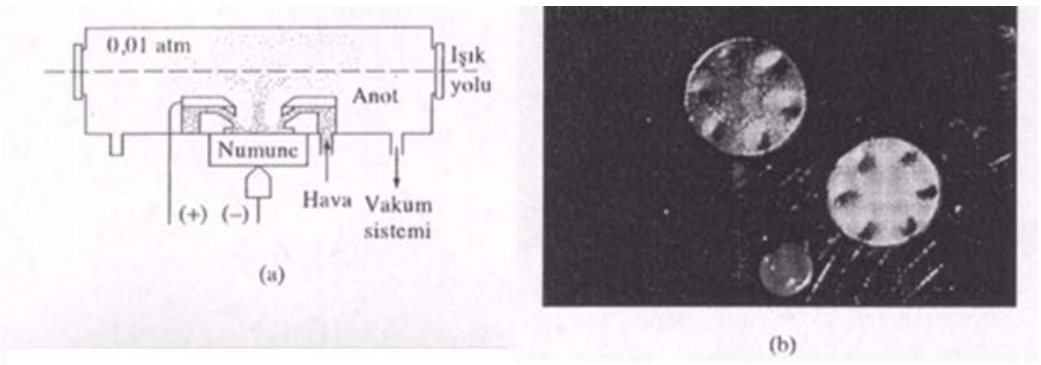
3.2.2.4. Soğuk Buhar Atomlaştırma

Soğuk buhar tekniği, yalnızca civa tayinine uygulanan bir atomlaştırma tekniğidir. Çünkü civa, düşük sıcaklıklarda yeterli buhar basıncına sahip olan tek metalik elementtir. Çeşitli organik civa bileşiklerinin zehirli olması ve çevredeki geniş dağılımları sebebiyle, birçok numunede civa tayini hayati öneme sahiptir. Bu analiz için seçilen yöntem, soğukta buharlaştırma ve sonra da atomik absorpsiyon spektrometri ile analiz etmedir. Bu yöntemde civa, önce yükseltgen bir karışımla muamele edilerek Hg^{2+}

haline dönüştürülür; sonra $SnCl_2$ ile metalik hale indirgenir. Elementel civa, oluştuğu karışımdan, bir inert gaz akımıyla uzun absorpsiyon tüpü içine sürüklenir. Analiz, 253.7 nm'de absorbans ölçümü ile tamamlanır. Gözlenebilme sınırı ppb aralığındadır.

3.2.2.5. Akkor Boşalımlı Atomlaştırma

Bir akkor boşalımlı düzenek, absorpsiyon ölçümlerinin yapıldığı hücre içine süpürülebilen atomlaşmış buhar oluşturur. Şekil 3.8.a, birçok alev absorpsiyon ölçümlerinde bir yardımcı olarak kullanılabilen ve 1987'den beri pazarlanan bir akkor boşalımlı hücreyi göstermektedir. Hücre, yaklaşık 17 cm uzunluğunda ve ortasına yakın bir yerde yaklaşık 2 cm çapında bir deliği olan silindirik bir borudan ibarettir. Deliği bir halka sarar. Numune, bu deliği kapatacak şekilde, bir mandal vida ile deliğe karşı bastırılır. Numune üzerinde dairesel şekilde düzenlenmiş ince uçlardan çıkan altı tane ince argon akıntısı hekzagonal şekilde numune yüzeyine çarptırılır. Katot olarak görev yapan numune ve ince uçları destekleyen bir anot arasındaki bir akım ile argon iyonlaştırılır. Argon iyonlarının aşındırması sonucu Şekil 3.8.b'de gösterildiği gibi, numune yüzeyinde, hızla altı kratercik oluşur. Aşınma sonucu oluşan atomlar, spektrometre kaynağından gelen ışınları absorpladığı hücre eksenine bir vakumla çeker.



Şekil 3.8. (a) Katı numunelerin akkor boşalımlı atomlaşması için kullanılan bir hücrenin kesiti, **(b)** İyonlaşan altı argon jetinin numune yüzeyinde açtığı kratercikler**.**

3.2.3. Monokromatörler

Spektroskopik yöntemlerin çoğunda aletin üstünlüğü doğrudan monokromatörün ayırıcılığına bağlı olduğu halde, atomik absorpsiyon spektroskopisi için bu o kadar önemli değildir.

Atomik absorpsiyon spektroskopisinde kullanılan monokromatörde ayırıcılık ve ışın miktarı ilişkisi göz önünde bulundurulmalıdır. AAS'nin elementleri ayırma ve spektral engellemeleri önleme yeteneği monokromatöre bağlı olmayıp oyuk katot lambasının yaydığı emisyon hatlarının genişliğine ve tayin elementinin absorpsiyon hatlarının genişliğine bağlıdır.

Monokromatörün esas görevi tayin elementinin rezonans hattını, oyuk katot lambasının yaydığı diğer hatlardan ayırmaktır.

Monokromatörler, iki yarık (bir giriş ve çıkış), bir dalga boyuna ayırma bileşeni (hemen hemen daima şebeke) ve yardımcı optik bileşenlerden oluşur. Giriş ve çıkış yarıkları, ışın kaynağından çıkarak monokromatöre giren ve dedektör üzerine düşen ışın oranını kontrol eder. Geniş giriş yarığı kullanılabildiğinde ışın enerjisinin daha büyük miktarı dedektöre ulaşır. Bu durumda gürültü, sinyale oranla küçüldüğünden sinyal kararlıdır, kesindir ve düşük derişimler ölçülebilir [34].

3.2.4. Dedektörler

Dedektörler ışın kaynağından gelen ışının şiddetinin ölçülmesi amacıyla kullanılan bileşenlerdir. Işığı elektrik sinyaline dönüştürürler.

Bir dedektörün;

- Işığa karşı duyarlı olması,
- Işın şiddeti ile doğru orantılı bir sinyal üretmesi,
- Üzerine düşen ışığa cevap verme yani sinyal üretme süresinin kısa olması,
- Kararlı olması,
- Üretilen elektriksel sinyalin yardımcı devrelerle çoğaltılabilmesi gibi özelliklere sahip olması istenir.

AAS'de ışın sinyalinin elektrik sinyaline dönüştürülmesi için fotoçoğaltıcılar kullanılır. Fotoçoğaltıcılar, ışığa duyarlı bir katot, bir anot ve oluşan akımı artıran dinot adı verilen katottan daha pozitif gerilimde elektrotlardan oluşur. Katot antimon, bizmut ve/veya gümüşlü alkali metal karışımları gibi kolaylıkla iyonlaşan bir malzemeyle kaplanmıştır. Bir fotoçoğaltıcının hassasiyeti, katodun kaplama maddesine bağlıdır. Pratikte ölçülebilen dalga boyu 193.7 nm (As) ve en yüksek dalga boyu da 852.1 nm (Cs)'dir.

Bu dedektörde, katot yüzeyine çarpan ışın tarafından koparılan bir fotoelektron birinci dinoda doğru çekilir ve gerilim farkı ile orantılı bir kinetik enerjiyle dinot üzerine çarpar. Bunun sonucunda birinci anot üzerinden çok sayıda ikincil elektronlar fırlatılır ve bu işlem diğer dinotlarda aynı şekilde birçok kez tekrarlanarak devam eder. Sonuçta elektronlar çoğaltılarak akım kuvvetlendirilmiş olur. Bu kuvvetlendirme elektrotlar arasındaki gerilime bağlıdır. Kuvvetlendirme (veya kazanç) anotlar (dinotlar) arası voltajla üstel olarak artar.

Ancak dinotlar arası gerilim artışı karanlık akımın ve fotoçoğaltıcı tüpün foton gürültüsünü de artıracaktır. Katot üzerine ışın düşmediği zaman yüksek gerilim altında fotoçoğaltıcı tüpten geçen akım "karanlık akım" olarak adlandırılır [34].

3.3. Atomik Absorpsiyon Spektrometrisinde Kantitatif Analiz

Atomik absorpsiyon spektrometrisinde, kantitatif analiz için iki yöntem kullanılır. Bunlar; Lineer kalibrasyon yöntemi ve standart ekleme yöntemleridir.

3.3.1. Lineer Kalibrasyon Yöntemi

Analiz edilecek elementin saf bir bileşiğinden hazırlanmış, derişimleri tam olarak bilinen bir dizi standart çözeltinin absorbansları ölçülür. Derişim değerleri x ekseninde, absorbans değerleri y ekseninde olmak üzere bir grafik çizilir. Elde edilen bu grafiğe "kalibrasyon grafiği" denir. Nicel analiz, kalibrasyon grafiğinin doğrusal olduğu bölgede yapılır. Kalibrasyon grafiğinin doğrusal olduğu bu bölgeye "çalışma aralığı" denir. Kalibrasyon grafiği çizildikten sonra, aynı koşullar altında içindeki analit derişimi

bilinmeyen örnek çözeltisinin absorbansı ölçülür. Daha sonra, kalibrasyon grafiğinden yararlanarak örnek çözeltisi içindeki analit miktarı belirlenir.

3.3.2. Standart Ekleme Yöntemi

Lineer kalibrasyon yöntemi ile yapılan analizlerde standartlar tayin elementinin tuzundan hazırlanmış olup içinde örnekteki matriks bileşenleri yer almaz. Dolayısıyla matriks varlığında analitin hassasiyetinin değişmesi halinde örnekteki ve standartlardaki analit absorbanslarının karşılaştırılması hatalı sonuçlara neden olur. Bu nedenle standartların örnek ile aynı matrikste hazırlanması ve analitlerin aynı bileşimde olması istenir. Ancak bu her zaman mümkün ve pratik değildir. Genellikle örneğin bileşimi tam olarak bilinmez. Bilinse bile matriks ile aynı bileşimdeki standartları hazırlamak için kullanılacak ve analiti eser olarak dahi içermeyen çok saf reaktiflerin elde edilmesi mümkün olmaz veya bu çok masraflı olacaktır. Bu nedenle, tayin edilen elementin birlikte bulunduğu yabancı maddelerden gelen etkilerin niteliği bilinmediğinde analitin örnek matriksindeki standardını hazırlamak için standart ekleme yöntemi uygulanır. Bu yöntemde, analiz çözeltisi uygun oranda seyreltikten sonra balon jojelere eşit hacimlerde alınır. Birinci kısım balon jojenin hacmine seyreltilip absorbansı ölçülür. Diğer kısımlara ise değişen miktarlarda (ya farklı derişimlerde eşit hacimde veya eşit derişimlerde farklı hacimlerde) standart analit çözeltisi ilave edilir ve balon joje hacmine tamamlanarak absorbanslar ölçülür. İlave edilen standart derişimleri x ekseninde, absorbans değerleri y ekseninde olmak üzere bir grafik çizilir. Çizilen grafikte elde edilen doğrunun, derişim eksenini kestiği noktanın absorbans eksenine olan uzaklığı örnek içindeki analit derişimini verir. Bu yöntemin başarısı analitin örnekte bulunan ve standart olarak ilave edilen formlarının aynı davranışı gösterip göstermediğine (yani hassasiyetlerinin farklı olup olmadığına) bağlıdır. Örneğin; örnekteki analit organik bileşiği halinde ancak standart olarak kullanılan analit inorganik bileşiği halinde ise ve bunların uçuculukları, kararlılıkları ve atomlaşma verimleri farklı ise sonuçlar hatalı olacaktır. Benzer farklı davranış aynı elementin farklı değerlikli türleri içinde geçerlidir [1, 24].

3.4. GFAAS'de Girişimler

Atomik absorpsiyon spektroskopisinde girişimler nedenlerine bağlı olarak spektral ve spektral olmayan girişimler olmak üzere iki ana grupta toplanmaktadır [24, 27].

3.4.1 Spektral Girişimler ve Düzeltilme Yöntemleri

Spektral girişimler, ölçüm yapılan dalga boyunda atomlaştırıcıda var olabilecek molekül ve radikallerin absorpsiyon yapması ve atomik buhardaki küçük parçacıkların ışığı saçması nedeniyle oluşur. Ayrıca analit hattına, monokromatör ayırıcılığından daha yakın hatta sahip elementler varlığında da ortaya çıkar. Bu olay GFAAS'de alevli AAS'ye oranla daha sık oluşur [27].

Grafit fırında soğuk uçlardaki örnek kalıntılarının tekrar buharlaşmasıyla oluşan partiküller veya tüp duvarlarından gelen karbon tanecikleri ışık saçılmasına sebep olur. Işık saçılması azalan dalga boyuyla hızla artar. Moleküller, radikaller veya atomlaştırıcıda oluşan (veya buharlaşan) moleküler iyonlar geniş bant moleküler absorpsiyon oluşmasına sebep olur.

Grafit fırın tekniğinde matriks modifikasyonu ile spektral girişimler azaltılabilir. Tayin elementini daha kararlı yapmak veya matriks bileşenlerinin daha uçucu olmalarını sağlamak için örneğe yüksek derişimde bir reaktif ilave edilerek (matriks modifier) atomlaşma basamağından önce iyi bir ayırım gerçekleştirilir. Spektral girişimleri azaltmanın diğer bir yolu da analiz elementini içermeyen fakat diğer matriksleri içeren ve örnek ile aynı zemin absorpsiyonunu oluşturan bir boş (blank) numunenin hazırlanarak absorbansının ölçülmesidir. Bu işlem pratikte çok kullanılmaz. Çünkü sentetik olarak blank numune hazırlanması her bir bileşenin yüksek saflıkta olması gerektiğinden oldukça zordur.

Spektral girişimler aletsel olarak da düzeltilebilir. Gerçek aletsel zemin düzeltme yöntemleri şu şekilde sıralanabilir:

- Çift hat yöntemi
- Self absorpsiyonla zemin düzeltme yöntemi
- Sürekli ışın kaynaklı zemin düzeltme yöntemi
- Zeeman etkili zemin düzeltme yöntemi

3.4.1.1. Çift Hat Yöntemi

Çift hat yönteminde ilk ölçüm analiz elementinin atomik absorpsiyon tayini için kullanılan dalga boyunda yapılır. Bu ölçüm analit absorbansı ile zemin sinyalini oluşturan türlerin absorbanslarının toplamını oluşturur. İkinci ölçüm analiz elementinin absorpsiyon yapmadığı ama absorpsiyon dalga boyuna en yakın dalga boyunda absorpsiyon yapan aynı ve başka bir oyuk katot lamba ile yapılır. İkinci ölçüm sadece zemin absorpsiyonu verir [27].

3.4.1.2. Self Absorpsiyon ile Zemin Düzeltme Yöntemi

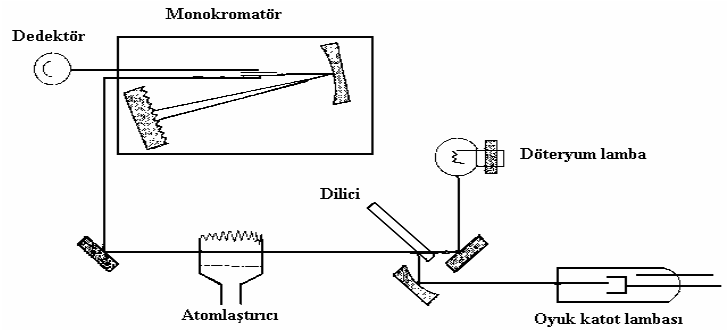
Smith-Hieftje Yöntemi olarak da bilinen bu yöntem, yüksek akım uygulayarak katot lambadan yayılan ışığın self absorpsiyon ya da self reversalına dayanır. Yüksek akım uygulayarak büyük miktarda uyarılmış atom üretilir ve bunlar uyarılmış atomlarından gelen emisyonun absorplanmasını sağlar. Ayrıca yüksek akım uyarılmış türlerin emisyon bandını belirgin bir şekilde genişletmektedir. Sonuçta absorpsiyonun meydana geldiği orta kısmın minimum olduğu bir bant oluşur. Düzeltilmiş absorbansı ölçmek için lamba birkaç milisaniye düşük akımda çalıştırmak için programlanır ve daha sonra yaklaşık 300 μs yüksek akım uygulanır. Düşük akım uygulandığında toplam absorbans, yüksek akım uygulandığında ise zemin absorpsiyonu ölçülür. Elektronik aletler ile toplam absorpsiyondan, zemin absorpsiyonu çıkartılır ve düzeltilmiş değer elde edilir [35].

3.4.1.3. Sürekli Işın Kaynaklı Zemin Düzeltme Yöntemi

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 arka arkaya 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 [27].

Şekil 3.9'da sürekli ışın kaynaklı zemin düzelticili bir atomik absorpsiyon spektrofotometresi şematik olarak gösterilmiştir. Burada dilicinin görevi, oyuk katot lambasından ve sürekli ışın kaynağından gelen ışının atomlaştırıcıdan sıra ile geçmesini sağlamaktır.

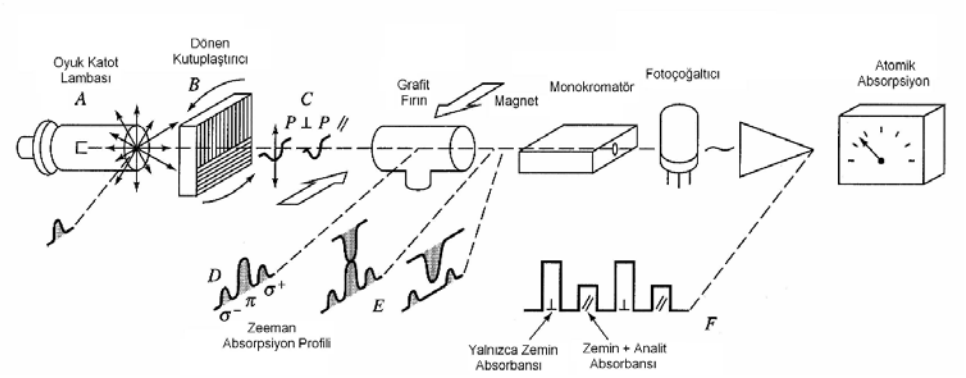


Şekil 3.9. Sürekli ışın kaynaklı zemin düzeltici bir atomik spektrofotometresinin şematik gösterimi

3.4.1.4. Zeeman Etkili Zemin Düzeltme Yöntemi

Zeeman yöntemi, bir manyetik alanın uygulanması ile atomik enerji düzeylerinin yarılması olayıdır. Manyetik alan etkisindeki analite ait hatlar 3 bileşene ayrılır. Birinci bileşen π-hattı, manyetik alansız analit hattıyla aynı dalga boyundadır. İkinci bileşenler σ_+ ve σ_- bileşenleri olup π'nin iki yanında simetrik (π'den ~0.01 mm farklı) olarak yer alır. π ve σ bileşenlerinin polarizasyon düzlemleri farklı olup, birbirine diktirler. OKL'nın önüne chopper yerine (ışık biçici) bir döner polarizör yerleştirilirse, belirli periyotlarda atomlaştırıcıya polarizasyon düzlemleri dik olan ışınlar ard arda gönderilir.

Bu durumda gelen ışınlar sırasıyla, bir π-bileşeni, bir σ-bileşeni ile etkileşerek absorbans verir. π-bileşeni ile etkileşimle analit ve zemin absorbansları toplamı, σ-bileşeni ile etkileşim sonucu yalnızca zemin absorbansı ölçülür ve iki ölçüm farkı, düzeltilmiş absorbanstır (Şekil 2.10).



Şekil 3.10. Magnetik alanda hatların yarılması

Bu tekniğin avantajları:

- Sadece bir ışın kaynağı kullanılır
- Sadece UV bölgesinde çalışan zemin düzeltici ışın kaynakları ile sınırlı değildir.

Dezavantajları ise:

- Sıradan atomik absorpsiyon spektrometrelerindeki gibi ışın kaynağından gelen başka hatlar olmamalıdır.
- Özellikle zemin değerinin büyük olduğu durumlarda zayıf düzeltme olacağından, zemin değeri doğrudan ölçülmez.
- Kuvvetli manyetik alanda oyuk katot lambasını çalıştırmak çok zordur.

3.4.2. Spektral Olmayan Girişimler

Spektral olmayan girişimler analiz elementinin sinyalini doğrudan etkiler. Atomik absorpsiyon spektrometrisi numune ve referans absorbanslarının karıştırılması prensibine dayanan bir yöntem olduğundan örnek içindeki analiz elementinin davranışının referansınkinden farklı olması girişime neden olur. Ancak oluşan bu girişimlerin nedeni tam olarak belli değildir.

Çözücünün buharlaştırılması ve ön atomlaşma sırasında analiz elementinin yeni bir kimyasal bileşiğe dönüşmesi ve bu bileşiğin atomlaşma öncesi moleküler veya atomal halde fırından uzaklaşması sonucu oluşan girişimler yoğun faz girişimleri olarak adlandırılır. Grafit fırın tekniğinde gözlenen yoğun faz girişimleri özellikle matriks

varlığında analiz elementinin daha düşük sıcaklıkta atomlaşması sonucu kayıpların oluşmasına neden olur.

Gaz fazı girişimleri ise ya analiz elementinin matriksle buhar fazda daha zor ayrışan bir bileşiği halinde olması veya oluşan atomların gaz fazında matriks bileşenleri ile reaksiyona girmesidir. Grafit fırındaki taşıyıcı gaz ile ya da alev gazları ile analiz elementi atomlarının reaksiyonu bir girişime neden olmazken bu tip reaksiyonlarda bir matriks bileşeninin gaz faz girişimlerine neden olur. Gaz faz girişimleri, atomlaştırıcıda atomların önemli bir miktarının uygulanan sıcaklıkla iyonlaşması sonucu ortaya çıkar. Bu durum sinyalin küçülmesine neden olur. Gaz faz girişimleri, atomlaştırıcı sıcaklığının çok yüksek olduğu durumlarda oluştuğundan atomlaşma sıcaklığı düşürülerek iyonlaşma bir ölçüde engellenebilir. Fakat sıcaklık düşürüldüğünde de birçok element atomlaşamadığından bu yol tam bir çözüm değildir.

Genel olarak spektral olmayan girişimler örnek ve referans çözeltilerinin matriks ortamlarının mümkün olduğunca birbirine benzer hale getirilmesi ile yok edilir. Bunun sonucunda örnek ile referans çözeltilerin her ikisinin de analiz elementi üzerine matriks etkisinin aynı derecede olması nedeniyle hiçbir girişim gözlenmeyecektir. Bununla birlikte pratikte bu ideal duruma nadiren rastlanır. Bunun için hem matriks bileşenlerinin hem de örneğin çözülmesi sonucu analitin hangi kimyasal bileşiği olarak bulunduğunun tam olarak bilinmesi gerekir. Ayrıca referans çözelti hazırlanırken yüksek saflıkta reaktiflerin kullanılması gerekmektedir. Özellikle alev tekniğinde ana matriks bileşeninin benzemesi ve aynı çözücünün kullanılması yeterlidir. Hatta rutin analizler doğrudan basit referans çözeltilere karşı yapılabilmektedir. Örneğin kompozisyonu tam olarak bilinmiyorsa veya aynı matriks standartlar için hazırlanamıyorsa standart ekleme metodu tavsiye edilmektedir. Grafit fırın tekniğinde ligandların ve kimyasal bağların bir elementin termal davranışı ve uçuculuğu üzerine etkisi olduğu için ilave edilen element farklı bir kimyasal bir bileşiği olarak bulunuyorsa davranışı örneğin davranışından tamamen farklı olabilir, bu durumda girişim yok edilemeyecektir. İdeal olarak standart ekleme metodu alev tekniğinde gözlenen fiziksel girişimler gibi girişimleri yok etmekte kullanılır. Öte yandan iyonizasyon derişime bağlı olduğundan standart ekleme yöntemi bu girişim için çare değildir. İyonlaşma girişimlerini elimine etmek için standartlara ve örneğe kolayca elektron veren yani

iyonlaşma enerjisi düşük bir element eklenerek ortamın elektron basıncı arttırılır ve analitin iyonizasyon denge reaksiyonu bastırılarak daha az iyon oluşturması sağlanır. Diğer yöntem sıcaklığın düşürülmesidir ancak analit içeren moleküllerin parçalanmasını engeller ve gazı fazı birleşme reaksiyon verimini arttırır. Grafit fırın tekniğinde, gaz faz girişimlerinin ve buharlaşmanın yok edilmesi ya da azaltılması için matriks modifikasyonu çok sık kullanılır. Bu amaçla analiz elementinin fiziksel ve kimyasal özelliklerini iyileştirmek için standartlara ve örnek çözeltisine bir reaktif ilave edilerek ya analiz edilecek elementi daha az buharlaşabilen bir şekle dönüştürülür ya da matriks bileşenlerini daha uçucu hale getirilir. Böylece daha yüksek ön atomlaşma sıcaklığı uygulanarak analiz elementi henüz buharlaşmadan önce girişimlere neden olabilecek matriks bileşenlerinin ortamdan ayrılması sağlanır [1, 29].

3.5. Hidrür Oluşturmalı Atomik Absorpsiyon Spektrometri (HGAAS)

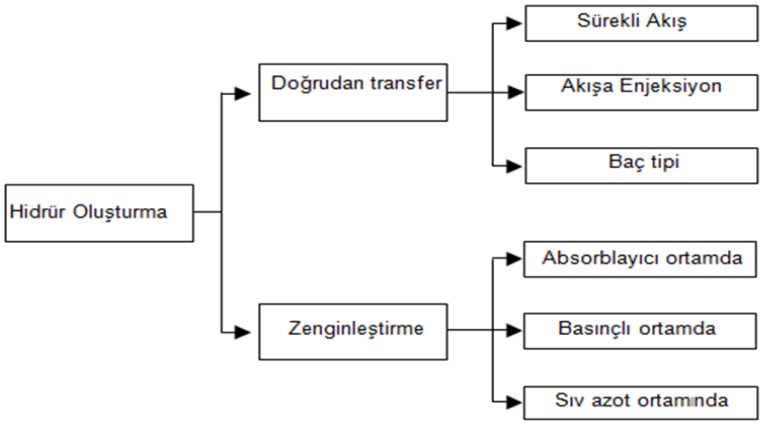
İlk kez 1969 yılında kullanılan Hidrür Oluşturma, günümüzde As, Sb, Sn, Te, Se, Ge, Pb, Bi gibi hidrür oluşturan elementler için oldukça yaygın olarak kullanılan bir numune aktarma yöntemidir.

Son yıllarda klasik hidrür oluşturan elementlerin dışındaki bazı elementlerin de (Cu, Ag, Zn, Ni, Pd, Rh, Pt, Ir, Ti, Mn, Co, Fe, Cr) asidik ortamda katı veya çözeltideki $NaBH_4$ ile reaksiyonu sonucunda uçucu türlerin oluşabileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur [36, 37, 38].

HGAAS yönteminde analit, elektrolitik veya kimyasal yollarla uçucu türlere dönüştürülmekte ve oluşan uçucu türler azot, argon gibi gazlar yardımıyla atomlaştırıcıya taşınmaktadır. Basit ve ucuz bir yöntem olmasının yanında konvansiyonel püskürtmeye göre yüksek aktarma verimliliğinden dolayı yüksek duyarlılığa sahiptir. Ayrıca analitin matriksten seçici olarak ayrılması sonucu atomlaştırma aşamasında matriks kaynaklı girişimler de azaltılmaktadır.

HGAAS yönteminde atomlaştırıcı olarak çoğunlukla dışarıdan ısıtmalı kuvars T-tüp kullanılmaktadır. Ancak Hg ve Cd elementlerinin tayini için atomlaştırıcının ısıtılmasına gerek yoktur; çünkü bu iki element oda sıcaklığında serbest halde bulunabildiği için atomik sinyal oluşturabilmektedir. Analitin zenginleştirilmesi ve

türleme analizleri de akışa enjeksiyon veya sürekli akış modlarında HGAAS yöntemiyle gerçekleştirilebilmektedir [39]. Dedina ve Tsalev, HGAAS tekniğini Şekil 3.12' de gösterildiği gibi sınıflandırmışlardır [40, 41].



Şekil 3.11. Hidrür oluşturma tekniğinde kullanılan yöntemlerin sınıflandırılması [40, 41]

3.5.1. Doğrudan Transfer Hidrür Oluşturma Yöntemleri

Sürekli akış hidrür oluşturma sistemleri 1973 yılında önerilmiştir [42]. İlk akışa enjeksiyonlu hidrür oluşturma sistemi ise 1982'de Aström tarafından açıklanmıştır [43]. Akışa enjeksiyonlu ve sürekli akış hidrür oluşturma yöntemleri kullanım kolaylığı, otomasyona uygunluğu, duyarlılığı ile en uygun yöntemlerdir. Akışa enjeksiyon yönteminin sürekli akış yöntemine göre dezavantajı ise duyarlılığın biraz daha düşük ve sistemin biraz daha karmaşık olmasıdır. Fakat akışa enjeksiyonlu sistemler örnek hacminin artırılması ile kolaylıkla sürekli akış sistemine dönüştürülebilir.

Baç tipi düzenekleri akış sistemlerinden ayıran en önemli fark, kullanılan kabın hem gaz-sıvı ayırıcı olarak hem de reaksiyonun gerçekleştiği yer olarak işlev görmesidir. Asit içerisinde hazırlanan analit genellikle cam bir kap içerisine konularak şırınga veya pompa yardımıyla gönderilen $NaBH_4$ çözeltisi ile karıştırılır ve taşıyıcı gaz ile atomlaştırıcıya gönderilir. Akış sistemlerinin günümüzde oldukça popüler olmasından dolayı bu sistemler çok fazla kullanım alanı bulamamaktadır. Çok daha basit ve ucuz düzenekler olmaları ise akış sistemlerine karşı avantaj sağlamaktadır.

3.5.2. HGAAS Yönteminde Kullanılan Atomlaştırıcılar

HGAAS kullanılmaya başlandığı ilk yıllarda oluşan hidrür, hava-asetilen alevine gönderilmekteydi. Özellikle kısa dalga boylarında alevin yüksek absorpsiyonu sonucu N_2-H_2, Ar-H_2 alevleri alternatif olarak kullanılmıştır. Günümüzde HGAAS yönteminde 4 tip atomlaştırıcı kullanılmaktadır:

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

3.5.2.1. İnert Gaz-H_2 Difüzyon Alevi

Hidrür oluşturmalı atomik absorpsiyon spektrometrinin geliştirildiği ilk yıllarda argon-hidrojen alevi yaygın olarak kullanılmıştır [44]. Oluşturulan hidrür, taşıyıcı gaz ile birlikte aleve aktarılmıştır. Sistem, alevli atomik absorpsiyon spektrometrinin standart alev başlığının dışında bir düzenek gerektirmemektedir. Bu alev tipinin hava-asetilen alevine kıyasla avantajı, düşük dalga boylarında çalışılan hidrür elementlerinde zemin sinyalinin çok daha az olmasıdır. Buna rağmen zemin düzeltme tekniklerinin kullanımı zorunludur. Alevin kararlılığını artırarak gürültüyü azaltmak amacıyla yalıtılmış alev kullanılmıştır. Difüzyon alevinin hidrür ile kullanımında önemli bir dezavantaj ise hidrürün alev gazları ile önemli derecede seyrelmesidir. Bu nedenle günümüzde daha az zemin sinyali fakat daha yüksek duyarlılık sağlayacak atomlaştırıcılar tercih edilmektedir.

3.5.2.2. Kuvars Tüp Atomlaştırıcılar

Bu atomlaştırıcılar arasında en yaygın olarak kullanılan alev ile veya direnç teli ile ısıtılan kuvars T-tüp atomlaştırıcılardır. Bunlar, ışık yolundaki uzunluğu 10-15 cm, ortasından T bağlantısı ile hidrür girişi olan kuvars tüplerdir. Isıtma elektrikle [45] veya tüpün hava-asetilen [46] alevinin üzerine yerleştirilmesi ile olabilmektedir. Bazı tasarımlarda ışık yoluna yerleştirilmiş atomlaştırıcı tüpün iki ucu kolaylıkla çıkarılıp

takılabilen kuvars pencerelerle kapatılmıştır. Atomlaştırıcının ısıtılmasında alev kullanıldığında kuvars pencereler grafit conta yardımı ile sabitlenmektedir. Kuvars pencereler ve grafit conta, tüpün iç kısımlarına yayılan hidrojen gazının yanmasını önleyerek özellikle As ve Se için gürültü oluşmasını engellemektedir. Elektrikle ısıtılan kuvars atomlaştırıcılar direnç teli ile sarılır ve dış yüzeyi sıcaklık kaybını azaltacak şekilde yalıtılır. Çoğu zaman aynı kuvars tüp tasarımları hem elektrikle hem alevde ısıtılarak kullanılabilmektedir.

Kuvars tüplerin sıcaklıkları kuvarsın termal dayanıklılığına, elektrikle ısıtılanlarda ise ısıtıcı aparata bağlıdır. Maksimum duyarlılıklar grafit fırınla ulaşılabilen sıcaklıklardan daha düşük sıcaklıklarda elde edilir.

Kuvars tüp atomlaştırıcıların bir türevi olan tüp içinde alevli atomlaştırıcılar da uygulanan sürekli hidrojen akışı dışarıdan ısıtmalı sistemlerde gerekli değildir. Fakat verimli atomlaştırmanın sağlanması için hidrojen gazının gerekli olduğu bilinmektedir. Dışarıdan ısıtmalı atomlaştırıcılarda tetrahidroborat ile asit çözeltisinin reaksiyonunda açığa çıkan hidrojen gazı yeterli olmaktadır. Günümüzde kuvars tüpler en sık kullanılan atomlaştırıcılardır ve alevli atomlaştırıcılara kıyasla daha yüksek duyarlılık sağlamaktadır. Önemli dezavantajları ise kuvars yüzeyinin atomlaştırma sırasında neden olduğu girişimlerdir. Akışa enjeksiyon yönteminde ortamda bulunan radikallerin yetersizliği karşılaşılan girişimlerdeki esas problem değildir. Esas mekanizma girişim yapan türlerin kuvars yüzeyde birikmesi sonucu yüzeyin değişikliğe uğrayarak analitin bozunmasına neden olmasıdır.

3.5.2.3. Grafit Tüp Atomlaştırıcılar

Grafit tip atomlaştırıcılar ilk kez L'vov tarafından kullanılmıştır. Bu atomlaştırıcı 2900 ºC'ye kadar ısıtılabilmektedir ve 2-4 ºC/ms ısınma hızına sahiptir. Atomların ışık yolunda kalış süresi daha uzun olduğu ve atomlaştırıcı hacmi küçük olduğu için alevli AAS'ye göre daha duyarlı bir tekniktir. Matriksten kaynaklanan girişimler bu yöntem için en önemli dezavantajdır. Matriks değiştiriciler kullanılarak bu girişimlerin önüne geçilebilmektedir [24]. Grafit tüp atomlaştırıcılar elektrotermal buharlaştırıcı (ETV) olarak ICP-MS, ICP-OES gibi yöntemlerde numune aktarma aracı

olarak ve HGAAS'de yerinde önzenginleştirme için de sıklıkla kullanılmaktadırlar. Grafit tüp atomlaştırıcılar hidrür oluşturmalı AAS tekniğinin kullanılmaya başladığı ilk zamanlardan itibaren atomlaştırıcı olarak kullanılmaktadır. İlk uygulama Knudson ve Christian tarafından 1973'de rapor edilmiştir [47]. Grafit fırın atomlaştırıcı olarak kullanıldığında hidrürün grafit tüp içinde tuzaklanması veya on-line atomizasyonu olarak iki tür kullanımı mevcuttur. On-line atomlaştırma, oluşturulan hidrürün önceden atomlaştırma sıcaklığına ısıtılmış grafit tüpe doğrudan transferi ile gerçekleştirilir. Sürekli akış hidrür oluşturma [40], baç tipi [48] kullanılmıştır. Oluşturulan hidrür genellikle grafit fırınların iç gaz hattı vasıtasıyla atomlaştırıcıya gönderilmektedir. Düzenek oldukça basit olmasına rağmen hidrürün soğuk metal veya grafit yüzeylerinde tuzaklanması gibi problemler ile karşılaşılmıştır. Alternatif olarak grafit tüpün numune girişinden kuvars veya boronitrit tüp bağlantısı kullanılmıştır. Grafit fırın on-line atomlaştırıcı olarak kullanıldığında duyarlılığı kuvars tüp atomlaştırıcılar ile kıyaslanabilir düzeydedir. Hidrürün doğrudan sıcak grafit atomlaştırıcıya transferi sonucunda hidrojen alevi oluşması [40] ve 2000 ºC'nin üzerindeki sıcaklıklarda karbon ile reaksiyona girerek asetilen oluşturması [49] zemin sinyaline ve grafit tüpün ömrünün kısalmasına neden olmaktadır.

3.5.2.4. Metal Atomlaştırıcılar

İdeal bir elektrotermal atomlaştırıcı materyalinin erime noktasının ve saflığının yüksek olması, yüksek ısınma hızı, stabilitesi, yüksek sıcaklıklarda inert olması gibi özelliklere sahip olması gerekmektedir. Grafit bu özellikleri ile elektrotermal atomlaştırıcılara iyi bir örnektir. Buna karşın pahalı olması, soğutma sisteminin gerekliliği ve yüksek sıcaklıklarda karbür oluşumu gibi sınırlamaları da mevcuttur; bu da tungsten, molibden, platin gibi çeşitli metal atomlaştırıcıların geliştirilmesine neden olmuştur. Bu atomlaştırıcılar arasında tungstenden yapılan atomlaştırıcılar önceliği almıştır.

Tungstenin yüksek erime noktası 3420 ºC, [50] sülfirik asit, hidroklorik asit, nitrik asit gibi birçok aside karşı dayanıklılığı ve ucuz olması AAS yöntemlerinde grafit atomlaştırıcılara alternatif olmasını sağlamıştır. Oksitlenmeyi önlemek için kullanılan $Ar+H_2$ gaz karışımı aynı zamanda soğutma işlemi için de yeterli olmakta dolayısıyla

grafit fırında soğutma için kullanılan su sistemine gerek kalmamaktadır [51]. Yine basit bir güç kaynağı bu metal atomlaştırıcının çalışması için yeterlidir bu da taşınabilir cihazlarla kullanılabilmesini sağlamaktadır. Analitin karbür bileşikleri oluşturmasının söz konusu olmaması yanında, zemin sinyali de grafite nazaran UV bölgede daha azdır ve grafit tüp atomlaştırıcılara göre 10 kat yüksek ısınma hızına sahiptir [52]. Çeşitli şekillerde olan tungsten atomlaştırıcılar arasında sarmal ve tüp şekilleri uygulamada yer edinmişlerdir. Tungsten atomlaştırıcıların yapısında safsızlık olarak bulunan Mo ve W hariç grafit tüp atomlaştırıcılı ETAAS'de tayin edilen tüm elementlerin tayin edilmesi mümkündür [52].

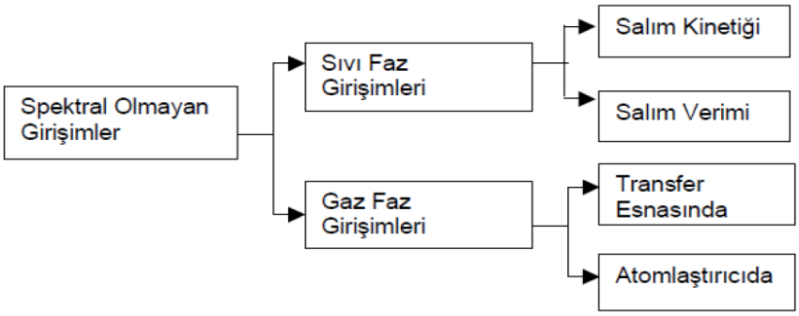
3.5.3. Hidrürün Atomlaşma Mekanizması

Hidrürün atomlaşma mekanizması iki şekilde olur. Bunlar hidrürün termal parçalanması ve radikal oluşumudur. Kuvars tüp atomlaştırıcılarda sıcaklık 1300 ºC'yi geçmemektedir. Bu sıcaklık hidrür oluşturan elementlerin ETAAS ile tayinlerinde anılan elementleri atomlaştırmak için yeterli değildir. Dedina [40] selenyum hidrür ile bu mekanizmayı aydınlatmaya çalışmışlar ve gerçekleşen atomlaşma mekanizmasında serbest hidrojen radikallerinin etkin olduğunu ve bu mekanizmanın tüp içinde alevli atomlaştırıcılar ve dışarıdan ısıtmalı kuvars tüp atomlaştırıcılar için aynı olduğunu öne sürmüşler ve sadece radikal oluşum mekanizmasının farklı olduğunu bildirmişlerdir.

3.5.4. HGAAS Yönteminde Girişimler

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 Şekil 3.13'de gösterildiği gibi

ya hidrür oluşumu sırasında sıvı fazda ya da gaz fazında analit ile etkileşerek gerçekleşmektedir.



Şekil 3.12. Spektral olmayan girişimlerin sınıflandırılması

Hidrür oluşturmalı atomik absorpsiyon spektrometride tayin edilen element gaz halinde hidrürü şeklinde numune ortamından ayrıldığı için genellikle bu sistemlerde spektral girişimler daha azdır.

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.

3.5.4.1. Sıvı Faz Girişimleri

Sıvı faz girişimleri analitin kimyasal formuna bağlı ve matriks kaynaklı olmak üzere ikiye ayrılır.

Analitin kimyasal formu nedeniyle gerçeklesen girişimler, numunede ve standart çözeltilerde bulunan analitin farklı formlarda olması sonucu hidrür salım kinetiğinin farklılık göstermesinden kaynaklanır ve standart ilave yöntemiyle düzeltilemez.

Matriks girişimleri, matriks bileşenlerinin hidrür salım verimliliğini etkilediği durumlarda gözlenir. Analitin hidrür oluşumunun engellenmesi veya çözeltide oluşan

hidrürün salımı gibi nedenlerden kaynaklanır. Standart ilave yöntemiyle bu tip girişimler düzeltilebilir.

Sıvı faz girişimlerinde sıkça karşılaşılan ve en önemli olan geçiş ve soy metallerinin yapmış olduğu girişimlerdir. Bu tür bir girişimde metal iyonun ya analit ile birlikte çöktüğünü ya da oluşan hidrürün metal tarafından absorplanarak çökelek oluşturduğunu ileri sürmüştür [53]. Bunun dışında ayrıca tetrahidroboratın girişim yapan katyonun indirgemek için analit ile yarıştığını ve bu esnada tetrahidrobaoratın tükendiği belirtilmektedir [54]. Ancak bu yaklaşım tetrahidrobaratın girişim yapan metal iyonundan çok daha fazla derişimde bulunması dolayısıyla böyle bir girişimin olamayacağı belirtilmiştir. Diğer kaynaklar ise yüksek asit derişimi 5 mol/L geçiş metallerinin çökelek oluşumunu azalttığını ve As için girişimin giderek ortadan kalktığını belirtmişlerdir [55].

3.5.4.2. Gaz Faz Girişimleri

Gaz faz girişimleri hidrürün taşınması esnasında gerçekleşebileceği gibi atomlaştırıcıda da gerçekleşebilmektedir. Atomlaştırıcıda gerçekleşen girişimlerin büyüklüğü, kullanılan atomlaştırıcıya bağlı olmanın yanında atomlaşma mekanizmasına da bağlıdır. Atomlaştırıcı olarak tüp içinde alevli atomlaştırıcı veya dışarıdan ısıtmalı kuvars tüp kullanıldığı durumlarda atomlaşma mekanizması benzerlik göstermektedir ve atomlaşma hidrojen radikallerine bağlı olarak gerçekleşmektedir. Girişim yapan tür, ya hidrojen radikallerini tüketerek ortamda analitin atomlaşması için yeterli miktarda hidrojen radikali kalmamasına ya da analitin bozunmasına neden olarak atomlaştırıcıdaki serbest atom miktarını azaltarak ışık yolunda daha az miktarda serbest atom kalmasına sebep olacak ve analitik sinyal azalacaktır. Dışarıdan ısıtmalı kuvars tüp atomlaştırıcılarda girişim mekanizmalarıyla ilgili çok fazla çalışma olmamakla beraber, girişimlerin diatomik (AsSb gibi) moleküller oluşması sonucu gerçekleştiğini ileri sürülmektedir [48].

BÖLÜM 4

DAHA ÖNCE YAPILAN ÇALIŞMALAR

Ubalua ve arkadaşları 2007 yılında Nijerya'da bulunan Aba Nehri'ndeki balık ve kabuklu deniz ürünlerinde yaptığı çalışmalarda 1 g numunede bulunan As miktarını 0.05 µg/L olarak belirlenmiştir. Numuneler yaş çözünürleştirme yöntemiyle çözünürleştirilmiş ve AAS ile ölçümü yapılmıştır.

Mormede ve arkadaşları 1999-2000 yılları arasında Kuzey Atlantik Okyanusu' nda bulunan kayalık parçaları arasında kalan ticari amaçla yakalanan dip balık türlerinde yapmış olduğu çalışmada kas dokusunda 1.25–8.63 mg/kg, karaciğer dokusunda 3.04–5.72 mg/kg As gözlenmiştir. Ölçümler AAS yöntemi ile yapılmıştır.

Çağlak ve arkadaşları 2010 yılında Türkiye'ye ithal edilen bir kalamar türünün mikrobiyal ve ağır metal yükünün belirlenmesi üzerine bir araştırma yapmışlardır. Bu çalışmada İspanya menşeli aylık olarak ithal edilen dondurulmuş kalamar üzerinde ağır metal, mikrobiyolojik ve sodyum metabisülfit değerleri tespit edilmiştir. Ağır metal analizleri için yaş yakma metodu, ölçüm ise ICP-Axial cihazı kullanılmıştır. Saptanan As miktarı 1.0 mg/kg'dır.

Shah ve arkadaşları 2008 yılında aynı balık dokularında zararlı etki yapan As'nin iki ekosistemden biriktirilmesi araştırılmıştır. Pakistan'da bulunan Indus Nehri'ndeki balıkların aynı dokularındaki As miktarı mikrodalga yöntemiyle çözünürleştirilmiş ve HGAAS yöntemi ile ölçüm yapılmıştır. Balıkların solungaçlarında 1.10–11.0 mg/kg, ağız kısmında 1.05–7.64 mg/kg, bağırsaklarında 1.90–11.4 mg/kg, karaciğerlerinde 7.30–12.5 mg/kg, kaslarında 2.11–14.1 mg/kg olarak tespit edilmiştir.

Bilandzic ve arkadaşları 2010 yılında Adriatik Denizi'nde dört balık türü üzerinde ağır metal düzeyleri araştırılmıştır. Hamsi, uskumru, kızılkanat ve izmarit türlerindeki ağır metal birikimleri AAS yöntemi ile tayin edilmiştir. Hamsi için gözlenen As miktarı 0.01–54.8 mg/kg, kızılkanat için As miktarı 0.01–70.9 mg/kg, uskumru için gözlenen As miktarı 0.01–36.4 mg/kg, izmarit için gözlenen As miktarı 0.01–54.6 mg/kg olarak tespit edilmiştir.

Bilgili ve arkadaşları 1997 yılında Van Gölü'nden avlanan inci kefali örneklerinde As düzeyleri araştırılmıştır. Bu amaçla dört mevsimi temsil edecek şekilde 120 örnek alınmıştır. Çözünürleştirme yöntemi olarak kuru külleme yöntemi kullanılmıştır. Ölçümler AAS ile yapılmıştır ve numunelerde ortalama 0.051 µg/L As gözlenmiştir.

Tüzen, Karadeniz'den alınan 10 farklı balık türünde bulunan toksik ve temel elementlerin belirlenmesi amacı ile ilk olarak mikrodalga yakma yöntemini daha sonra atomik absorpsiyon spektrofotometresini kullandı. Prosedür doğrulama relative standart sapmaları % 10 daha düşük olarak tespit etmiştir. Arsenik için tespit edilen değer 0.11 – 0.32 mg/kg'dır ve elde edilen arsenik değeri insan tüketimi açısından uygundur sonucuna varılmıştır.

Mache ve arkadaşları, 2008 yılında Piracicaba Nehrinin Tanquan bölgesinde içerisinde 16 balık türünün bulunduğu toplam 202 balık türünü incelemiştir. Analiz sırasında İndüktif Eşleşmiş Plazma–Optik Emisyon Spektroskopilerini kullanmışlar ve As, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, Sn, Sr, Zn ağır metallerinin birikimlerini tespit etmişlerdir. Sonuç olarak Mart ve Ekim aylarında yani yağışların çok fazla arttığı aylarda Al ve Sr'un son derece yüksek değerde biriktiğini, As, Zn, Ni, Mn, Pb ve Cr'un orta değerde biriktiğini belirlemişlerdir. Buna ek olarak metal birikiminin balık türüne bağlı olduğu belirlenmiştir. Curimbata türüne ait balıklarda ağır metaller düşük düzeylerde birikmişken Cascudos ve Piranha türü balıklarda ağır metallerin yüksek düzeyde biriktiği belirlenmiştir. Pacu ve Dourado gibi birkaç türde ağır metal birikimi en düşük seviyelerde ölçülmüştür. Arsenik Derişimi 0.17 mg/L olarak ölçülmüştür. Sonuç olarak Piracicaba nehir havzasının birçok toksik ağır metali yüksek düzeyde olduğu ve bu bölgeden yakalanan balıkların insan sağlığı açısından zarar oluşturduğu belirlenmiştir.

Wagner ve arkadaşları, Bu çalışmanın amacı; Vietnam Kuzey Kesiminde bir kömür yakma santralinin çevre ve tatlı su balıkları üzerindeki potansiyel etkisini araştırmak ve bu bölgede yakalanan balık türlerinin karaciğer ve kas dokularında biriken ağır metal birikim miktarını belirlemektir. Ağır metal birikimi X-Işını Floresans ve Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi kullanılarak belirlendi. Arsenik için ölçülen değer 6.1±1.1 olarak tespit edilmiş ve bu değerin kabul edilebilir limit değerin üzerinde

olduğu sonucuna varılmıştır. Cu, Zn, Se, Cd, Pb ve Cr için elde edilen değerlerin kabul edilen standart değerlerden küçük olduğu ve insan sağlık riski teşkil etmediği belirlenmiştir. Ağır metal birikiminin karaciğerde çok fazla, kaslarda ise daha düşük düzeyde biriktiği belirlenmiştir.

Ikem ve Egilla, 2008 yılında yaptıkları çalışmada Missouri doğal göletinde yaşayan Bluegill güneş balığının kaslarında (Lepomis macrochirus) biriken iz elementleri belirlenmiştir. Bu amaçla İndüktif Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektrometresi (ICP-QES) ve Doğrudan Civa Analizörü (DMA) kullanılmıştır. Köpek balığı kas ve Istakoz Hepatopankreas referans standartları, eser element iyileşme ve yöntem doğrulamaları kullanılmıştır. Balık yemi ortalama elementel konsantrasyonları; (mg/kg beslenme, kuru ağırlık) 1.81 As, Bluegill'in kaslarında ortalama elementel konsantrasyonları (mg/ kg ıslak ağırlık) 0.36 olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak yabani Bluegills, tüm örneklerin yaklaşık %85'i için herhangi bir sağlık riski oluşturmadığı belirlenmiştir.

William ve arkadaşları sürekli akış hidrür sitemi ile yiyeceklerde arsenik ve selenyum miktarlarını belirlemiştir. Mikrodalga yöntemiyle 22 yiyecekte numune parçalama işlemleri yapıldı. Ayrıca 9 referans materyal kullanılarak gerekli ölçümler yapıldı. Yapılan ölçümler sonucu 1 g numune için bulunan Se miktarı 0.02 mg/kg olarak belirlenmiştir.

Zhang ve arkadaşları sürekli akış hidrür sistemi ile As, Se ve Bi belirlemişlerdir. $NaBH_4$ çözeltisinin içerisine indirgenmeyi sağlamak ve EDTA ve tiyoüre ilavesi ile geçiş metallerinin girişimini engellemek için Selenyum için hidroksilamin hidroklorik, As ve Bi için ise askorbik asit ve potasyum iyodür kullanılmıştır. Sınır limit As için 0.2 ng/L , Bi ve As için 0.3 ng/L bulunmuştur.

Ashoka ve arkadaşları bir morina balığı filetosunda ağır metallerin dağılımını ICP-MS ile tayin etmişlerdir. Numuneler HNO_3 ve H_2O_2 asitleri ilavesinden sonra mikrodalga yöntemiyle çözünürleştirme işlemi yapılmıştır. Çoğu ağır metalin konsantrasyonları morina balığı filetosunda homojen olmayan bir dağılımı ile kaslardan filetonun kuyruğunun sonuna doğru lineer olmayan bir artış göstermiştir. Beyaz ve kırmızı kaslardaki As metali içerikleri farklı olarak tespit edilmiştir. Beyaz kas için As

içeriği 4.3±0.3 mg/kg olarak bulunmuştur. Kırmızı kas için ise As içeriği 5.2±0.2 mg/kg olarak bulunmuştur.

Renata ve arkadaşları, Brezilya'daki Rio de Janeiro yenilebilir deniz balıklarında inorganik eser element tayini yapmışlardır. 11 çeşit balık türünde Al, Zn, Fe, Mn, Co, Cu, As, Se, Cd, Ba, Pb ve Bi içeriği belirlemişler. Konsantrasyon oranları mg/kg olarak verilmiş ve diğer çalışmalarla karşılaştırılmıştır. Yaklaşık olarak her örnek için 0.5 g numune analiz edilmiştir. Örnekler HNO_3 ve $Mg(NO_3)_2$ ilave edilip kuru yakma metoduyla çözünürleştirme işlemi yapılmıştır. Bu karışım ilk önce bir hot plate üzerinde kuruyuncaya kadar muhafaza ediliyor ve daha sonra kül fırında 12 saat 450 ºC de bekletiliyor. Kalıntı 0.5 mL HNO_3 içinde çözülüp 14 mL polipropilen kaplara alınarak üzeri deiyonize su tamamlanmıştır. Yöntem olarak Se içerikleri ICP-MS belirlenmiştir. Yetişkin bireyler için önerilen günlük As içeriği 55 µg/g olarak önerilmiştir.(Tıp Enstitüsü, 2001). Brezilya'daki balıklarda As içeriği kabul edilebilir değerlerin altında olarak saptanmıştır. En yüksek As içeriği S.salar türünde 0.3 mg/kg olarak belirlenmiş en düşük As içeriği ise Paretnatus balığında 0.002 mg/kg olarak belirlenmiştir.

Yasumi ve arkadaşları Hazar Deniz'inin kıyılarında belirledikleri farklı noktalardaki istasyonlardan topladıkları balıklarda 13 tane (As, V, Mn, Cr, Co, Cu, Zn, Se, Mo, Ag, Cd, Hg, Tl ve Pb) ağır metal tayinleri yapmışlardır. 4 farklı istasyondan numuneler toplanmıştır. Doku numunelerine nitrik asit ilave edildikten sonra 12 saat 80 ºC'de mikrodalga yöntemiyle çözünürleştirme işlemi yapıldı. As içeriklerinin belirlenmesi için hidrür oluşturmalı atomik absorpsiyon spektroskopisi (HGAAS) yöntemi kullanılmıştır.

BÖLÜM 5

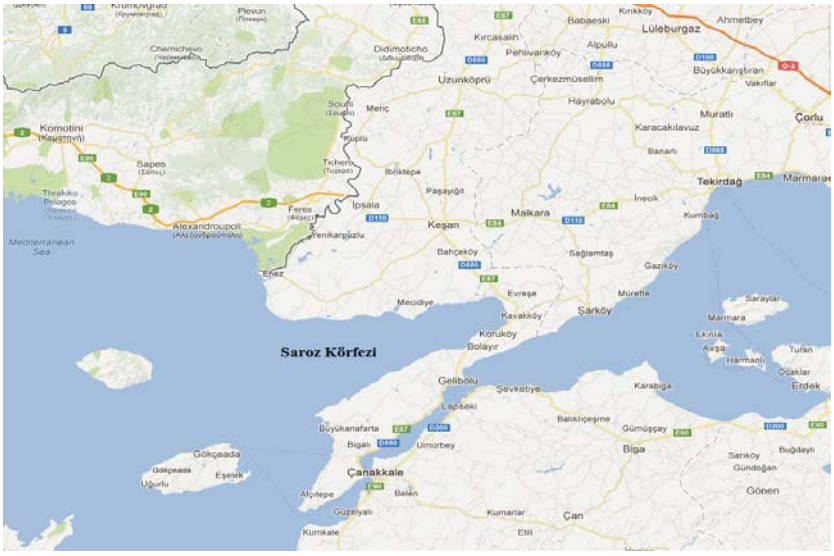
MATERYAL VE METOT

5.1. Saroz Körfezi ve Numunelerin Çalışma Alanından Toplanması

Trakya topraklarının Ege Denizi'ndeki kıyısı Saroz Körfezi, tertemiz kumsallarla kaplı bir kıyı şeridir. Saroz Körfezi su altı akıntılarının fazla olması, herhangi bir büyük yerleşimin ve sanayileşmenin olmaması sebebi ile Ege Denizi'nde yer alan en temiz bölgelerden biridir. Bu körfez hakkındaki iddia şudur; Saroz Körfezi dünya üzerinde kendi kendini temizleyen 3 körfezden biridir.

Ege Denizi'nin kuzeydoğusunda yer alan Saroz Körfezi'ni, güney ve doğusundan Çanakkale ilinin Gelibolu ve Eceabat ilçeleri, Edirne ilinin Keşan ve Enez ilçeleri çevreler. Körfezin Gelibolu yarım adası tarafında olan güney bölgeleri yerleşime olanak vermez. Çoğunlukla yerleşim doğu ve kuzey bölgelerinde yer almaktadır.

İlk çağlarda Xeros ve Melas olarak bilinen Saroz Körfezi'nin tüm kıyıları boyunca herhangi bir büyük yerleşim merkezi ve sanayileşmenin olmaması kadar su akıntılarının fazla olmasının Saroz Körfezi'nin her zaman temiz kalmasını sağladığı bilinmektedir. Ege Denizi'nin tuzluluk oranı en yüksek körfezlerinden biri olan Saroz Körfezi'nde, akarsuların taşıdığı besin ve mineraller sayesinde zengin bir balık çeşitliliği görülmektedir.

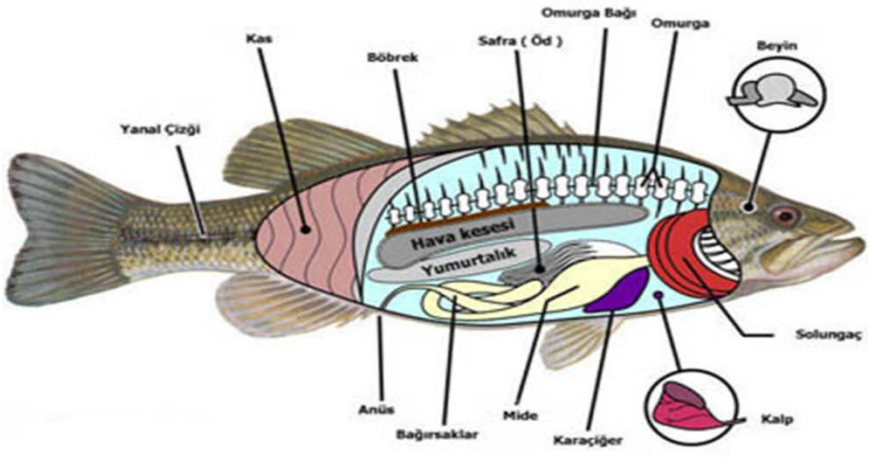


Şekil 5.1. Saroz Körfezi

Analizi yapılacak olan balık numuneleri Enez'de daha önceden belirlenen bir balıkçıdan taze olarak alınmıştır. Daha sonra balık numuneleri analiz numunelerin hazırlanması için laboratuvar ortamına getirildi.

5.2. 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, böbrek, solungaç, kas, deri) yaklaşık 1 g alınıp mikrodalga çözünürleştirme işlemi için hazırlandı.



Şekil 5.2. Balık Anatomisi

5.2.1. Numunelerin Analizinde Kullanılan Cihaz ve Kimyasal Maddeler

- Perkin Elmer AAnalyst 800 model AAS GF,
- Perkin Elmer AAnalyst 800 + Perkin Elmer MHS 15
- CEM MARSXpress 5 model mikro dalga fırın,
- Libror EB-330H Shimadzu model terazi,
- Konsantre $HN0_3$ (MERCK),
- Konsantre H_20_2 (MERCK),
- Polietilen saklama kapları,
- $NaBH_4$ (Merck),
- KI (Merck)

- L-(+)-Askorbik asit, %99 + (Alfa Aesar)
- NaOH (Merck)
- HCl, %37 (Merck)
- HF, %48 (Merck) kullanılmıştır.

5.2.2. Tez Çalışmasında İncelenen Balık Türü Kırlangıç (*Chelidonichthys lucerna*)

Sıcak ve ılık denizlerin kıyı kesimlerinden, 400 metreye kadar uzanan derinliklerinde yaşayan *Trigla* familyasından, kemikli balık türündendir. Vücudun yanlarında, sırttan karna doğru uzanan paralel çizgiler bulunur. Yandan görünüşü koni şeklindedir. Ağzı çok büyüktür. Dişleri kesici değildir. Göğüs yüzgeçlerinin ön yanında yüzgeçten ayrı üç adet sakal vardır (Şekil 5.3). Bu sakallar balığın dipte yürümesini, kumları, çakılları karıştırmasını sağlar. Yaşamını diplerde oturarak ve gezinerek geçirir. Bu nedenle karnı beyazdır. Boyu 35-40 cm'ye, ağırlığı da 4 kg'a kadar çıkar. Renkleri göz alıcıdır. Kırmızı, pembe ve mavinin değişik tonları, özellikle yelpaze şeklinde olan göğüs yüzgeçlerinde belirgindir. Göğüs yüzgeçlerini açtığında renkler bir gökkuşağını andırır.

Ülkemiz denizlerinde, Karadeniz'de daha az olmak üzere, bol bulunur. Başlıca beş türü vardır: Asıl kırlangıç, benekli kırlangıç, öksüz, dikenli öksüz, mazak. Asıl kırlangıç parlak kırmızı renkli ve büyüktür. Bazılarının 8-l0 kg ağırlığa çıktığı bile görülmüştür. Daha çok küçük sürüler halinde ve genel olarak da çift yaşarlar. Ufak balıklar, istakoz ve çağanoz yavruları yiyerek geçinir. Yerli balık olarak kabul edilmesine karşılık, Marmara ile boğaz arasında gezinir.

Kırlangıç, yakalanıp sandala alındığında (guruk guruk) diye sesler çıkarır. Bazı balıkçılar bunu ağladığına yorarlar. Oysa ki, çok büyük yüzme keseleri olduğundan bu ses, kesenin sıkışması sonucu dışarı çıkan havanın sesidir.

Benekli kırlangıç aşağı yukarı kırlangıcın aynısıdır. Yalnızca farklı olarak iki yanında benekleri vardır. Mazak, kırlangıçtan daha küçük bir türdür. En çok 25 cm boya ulaşabilir. Başının yandan görünüşü ile barbunyayı andırır. Rengi kırlangıca göre daha koyu kırmızıdır. Öksüz ise, renginin pembe olması ile kırlangıçtan ayırt edilir, Kırlangıç kadar iri olanları nadirdir. Dikenli öksüz ise sırtından uzanan dikenlerin büyüklüğü ile öksüzden ayırt edilir. Üremeleri yaz aylarında olur.



Şekil 5.3. Kırlangıç Balığı

BÖLÜM 6
SONUÇLAR

6.1. Numunelerin Hazırlanması

Numuneler Enez'de belirlenen yerel bir balıkçıdan balıkların tutulduğu gün alındı ve laboratuvara getirildi. Analizi yapılmadan önce bir cetvel yardımıyla boy uzunluğu ve hassas bir analitik terazi yardımıyla ağırlık ölçümleri yapıldı. Balık numunelerinden belirlenen organlardan (bağırsak, böbrek, solungaç, kas, deri) yaklaşık 1 g alınıp mikrodalga çözünürleştirme işlemi için hazırlandı.

Kırlangıç (*Chelidonichthys lucerna*) balığı için yapılan ortalama boy uzunluğu (13 balık) 26 cm olarak ölçüldü. Kırlangıç (*Chelidonichthys lucerna*) balığı için ağırlık ölçümleri Tablo 6.1'de verilmektedir.

Tablo 6.1. Kırlangıç (*Chelidonichthys lucerna*) balığı ağırlık ölçümleri

Numune No	Balık Ağırlığı (g)
1	167.43
2	100.93
3	106.61
4	114.51
5	104.48
6	90.77
7	153.31
8	116.65
9	95.17
10	86.91
11	81.21
12	76.97
13	108.05

6.2. Numunelerin Çözünürleştirmesi

Balıkların çeşitli organlarından (bağırsak, böbrek, solungaç, kas, deri) 1 g'lık numunelerin üzerine 2 mL H_2O_2 ve 6 mL HNO_3 ilave edildi. Daha sonra mikrodalga tüplerine konularak çeşitli basamaklar uygulanarak çözünürleştirme işlemine tabi tutuldu. Numunelerin asitte parçalanıp analize hazırlanması için CEM MARSXpress 5 mikrodalga çözme sistemi (Şekil 6.1) kullanıldı.

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 -25 ºC muhafaza edildi.

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 6.2 ve Tablo 6.3 verilmektedir.



Şekil 6.1. Mikrodalga çözünürleştirme sistemi

Tablo 6.2.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 6.3. Yıkama metot parametreleri

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

6.3. GFAAS'de Çalışma Koşulları ve Metot Geliştirme

Çözünürleştirilen örnekler GFAAS ile analizlendi. Analizlere başlamadan önce balık dokularındaki As içeriğini belirlemek amacıyla örneklere uygun metot belirlenmeye çalışıldı ve belirli sıcaklık aralıklarında tarama yapıldı. Numunelerimiz için belirlenen optimum külleme ve atomlaşma sıcaklık taramaları Tablo 6.6 ve Tablo 6.7'de verilmiştir. Optimum sıcaklıklar belirlendikten sonra tüm numuneler analiz edilmiştir.

Tablo 6.4. GFAAS'de çalışma koşulları

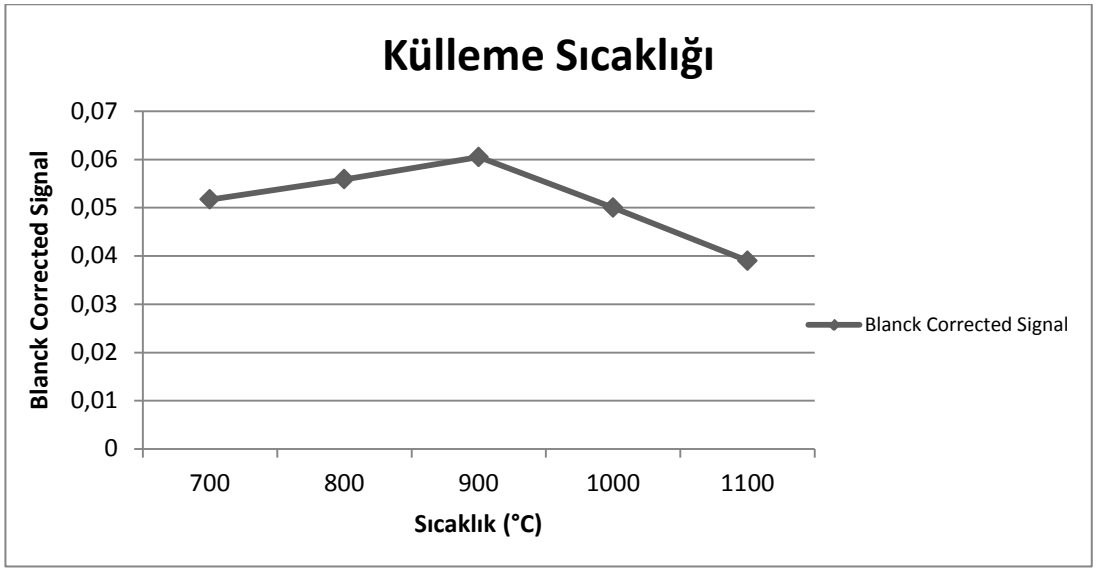
	As
Işık Kaynağı	EDL
Dalga Boyu	193.7 nm
Slit Genişliği	0.7 nm
Atomlaştırıcı	THGA
Enjeksiyon Hacmi	20 µL
Zemin Düzeltmesi	Zeeman zemin düzeltme
Kimyasal Modifier	Pd/Mg

Tablo 6.5. As örnekleri analizde 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	900	10	20	250
4	2000	0	5	0
5	2450	1	3	250

Tablo 6.6. Külleme sıcaklığı optimizasyonu

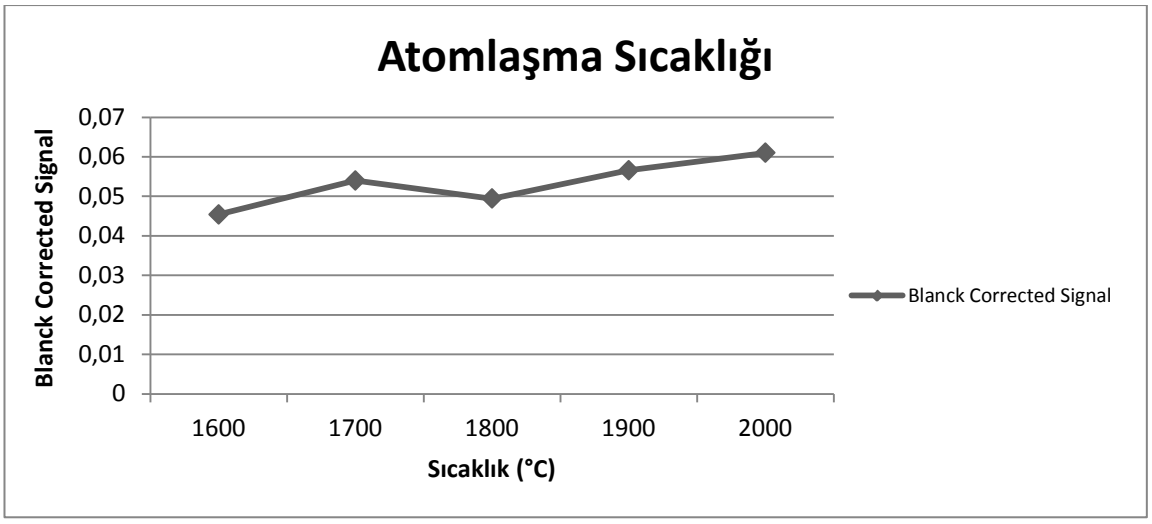
Sample ID	Step #	Temp. #1	Temp. #2	Blanck Corrected Signal	RSD (%)	Background Peak Height
Numune (700)	3	700		0.0517		0.8336
Numune (800)	3	800		0.0559		0.5621
Numune (900)	3	900		0.0605		0.3782
Numune (1000)	3	1000		0.0500		0.2829
Numune (1100)	3	1100		0.0390		0.3981



Şekil 6.2. Külleme sıcaklığı optimizasyonu

Tablo 6.7. Atomlaşma sıcaklığı optimizasyonu

Sample ID	Step #	Temp. #1	Temp. #2	Blanck Corrected Signal	RSD (%)	Background Peak Height
Numune (1600)	4	1600		0.0454		0.4230
Numune (1700)	4	1700		0.0540		0.2785
Numune (1800)	4	1800		0.0494		0.3854
Numune (1900)	4	1900		0.0566		0.3469
Numune (2000)	4	2000		0.0610		0.3158



Şekil 6.3. Atomlaşma sıcaklığı optimizasyonu

6.4. GFAAS'de Yapılan Analiz Sonuçları

Bu çalışmada, balık organ numunelerinde HGAAS tekniğinin arsenik 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

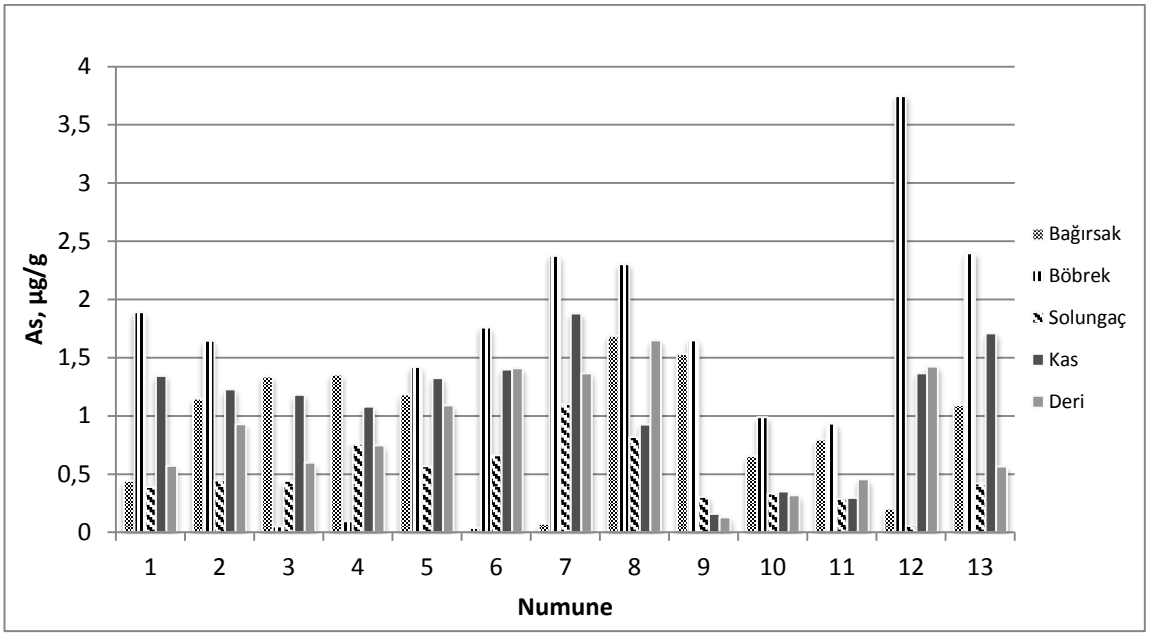
önünde bulundurarak $Pd(NO_3)_2$+$Mg(NO_3)_2$ karışımı matriks düzenleyici olarak kullanıldı.

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 6.8. GFAAS yöntemiyle balık örneklerindeki As içeriklerinin organlara göre dağılımı

Arsenik, µg/g (GFAAS)					
Numune No	**Bağırsak**	**Böbrek**	**Solungaç**	**Kas**	**Deri**
1	0.440	1.890	0.390	1.343	0.569
2	1.147	1.645	0.447	1.228	0.929
3	1.338	0.051	0.440	1.180	0.598
4	1.354	0.096	0.760	1.078	0.745
5	1.182	1.420	0.567	1.323	1.089
6	0.036	1.759	0.661	1.397	1.409
7	0.072	2.375	1.100	1.879	1.364
8	1.687	2.301	0.819	0.925	1.647
9	1.531	1.649	0.303	0.158	0.129
10	0.656	0.987	0.333	0.350	0.316
11	0.797	0.933	0.287	0.294	0.455
12	0.201	3.747	0.055	1.365	1.423
13	1.094	2.397	0.418	1.708	0.565
Ortalama ± SS	0.887±0.558	1.635±0.998	0.506±0.272	1.094±0.532	0.864±0.483



Şekil 6.4. GFAAS yöntemiyle bulunan As içeriklerinin organlara göre dağılımı

6.5. HGAAS' de Yapılan Analiz Sonuçları

Hidrür oluşturmalı AAS tekniği ile analiz yapabilmek için bazı değişkenlerin en uygun değerlerinin belirlenmesi gerekmektedir. Bu değişkenler; hidroklorik asit derişimi, sodyum bor hidrür derişimi ve taşıyıcı gaz akış hızıdır.

Hidroklorik asit (HCl), HGAAS sisteminde indirgen çözelti olarak kullanılmaktadır. Çözelti halindeki numunede bulunan As^{5+}'yi As^{3+}'ya dönüştürür ve burada numune, hidroklorik asit ve sodyum bor hidrür ile karışarak bir tepkime meydana gelir.

Sodyum bor hidrür ($NaBH_4$), hidrür oluşturucu bir maddedir. Burada $NaBH_4$, As(III) ile tepkimeye girerek arsenik hidrür (AsH_3) oluşmasını sağlar.

$$3BH_4^- + 3H^+ + 4H_3AsO_3 \rightarrow 3H_3BO_3 + 4AsH_3\uparrow + 3H_2O$$

HGAAS'de taşıyıcı gaz olarak ortamda bulunan diğer maddelerle tepkimeye girmeyen (inert) bir gaz kullanılmaktadır. Bu yöntem için genellikle argon veya azot gazı tercih edilir. Bu çalışmada argon gazı kullanılmıştır. Argon gazı, tepkime tüpünde hidrürüne dönüştürülen As^{3+}'ün atomlaştırıcıya taşınmasını sağlamaktadır.

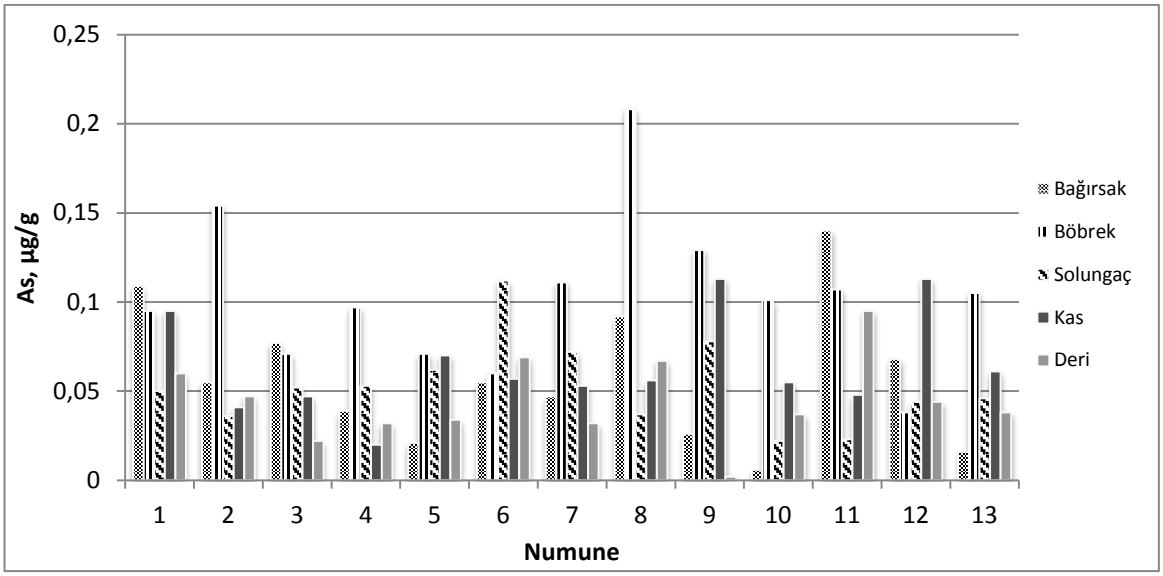
İndirgen: 0.25 M NaOH içerisinde hazırlanmış 0.8 M $NaBH_4$, 2.5 g NaOH ve 7.5 g $NaBH_4$ tartılarak balon jojeye alındı ve deiyonize su ile 250 mL'ye tamamlandı.

Ön indirgeme: 1 mL numune alınıp üzerine 1 mL potasyum iyodür (KI) ve askorbik asit karışımı ile 0.75 mL konsantre HCl ilave edilerek 30 dk beklendi. Bekleme sonucunda numune üzerine 7.25 mL deiyonize su ilave edilip 10 mL'ye tamamlandı.

Ön indirgeme yapmamızın sebebi numune içerisinde bulunan As^{5+} hidrürü haline dönüşmediği için bu işlemi yaparak As^{5+}, As^{3+}'ya indirgenir ve hidrürü oluşturarak okuma işlemi gerçekleştirilir.

Tablo 6.9. HGAAS yöntemiyle balık örneklerindeki As içeriklerinin organlara göre dağılımı

Arsenik, µg/g (HGAAS)					
Numune No	**Bağırsak**	**Böbrek**	**Solungaç**	**Kas**	**Deri**
1	0.109	0.095	0.050	0.095	0.060
2	0.055	0.154	0.036	0.041	0.047
3	0.077	0.071	0.052	0.047	0.022
4	0.039	0.097	0.053	0.020	0.032
5	0.021	0.071	0.062	0.070	0.034
6	0.055	0.060	0.112	0.057	0.069
7	0.047	0.111	0.072	0.053	0.032
8	0.092	0.208	0.037	0.056	0.067
9	0.026	0.129	0.078	0.113	0.002
10	0.006	0.101	0.022	0.055	0.037
11	0.140	0.107	0.023	0.048	0.095
12	0.068	0.038	0.044	0.113	0.044
13	0.016	0.105	0.046	0.061	0.038
Ortalama ± SS	0.058±0.039	0.104±0.043	0.053±0.0024	0.064±0.028	0.048±0.024



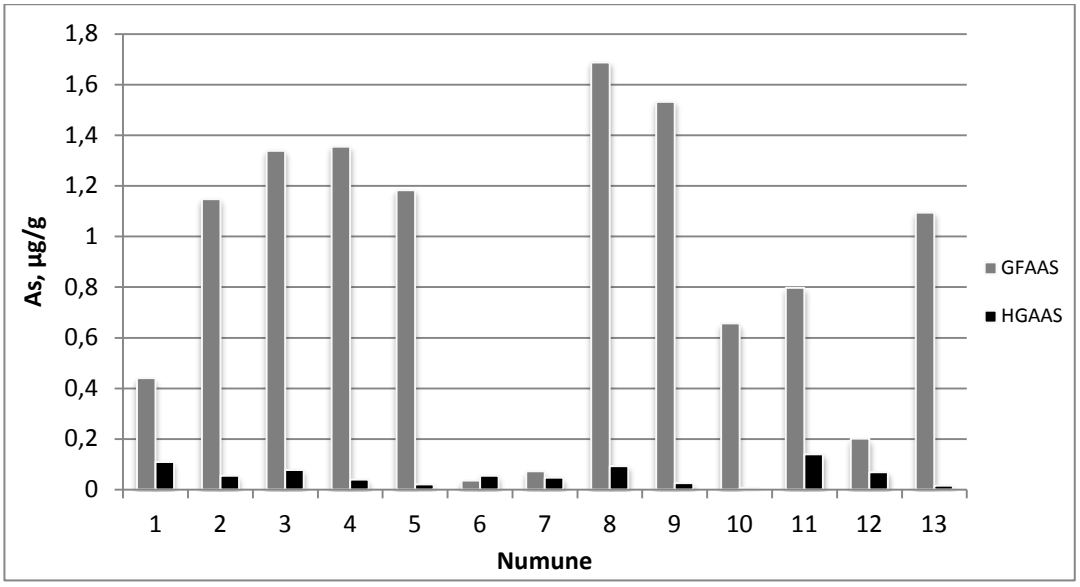
Şekil 6.5. HGAAS yöntemiyle bulunan As içeriklerinin organlara göre dağılımı

6.6. Balık Numunelerinde As Derişiminin GFAAS ve HGAAS Sonuçları Açısından Karşılaştırılması

Yapılan analizler için geçerli olan en önemli parametre çözünürleştirmenin tam anlamıyla gerçekleştirilmesidir. Bundan dolayı balık numunelerinin analizinde mikrodalga çözünürleştirme yöntemi ve GFAAS yöntemi çalışmamızın da temelini oluşturan yöntemlerdir. Amacımız As açısından optimum koşulları belirlenen yöntemi 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 6.10. Bağırsak için iki yöntemin bulunan As içerikleri (µg/g)

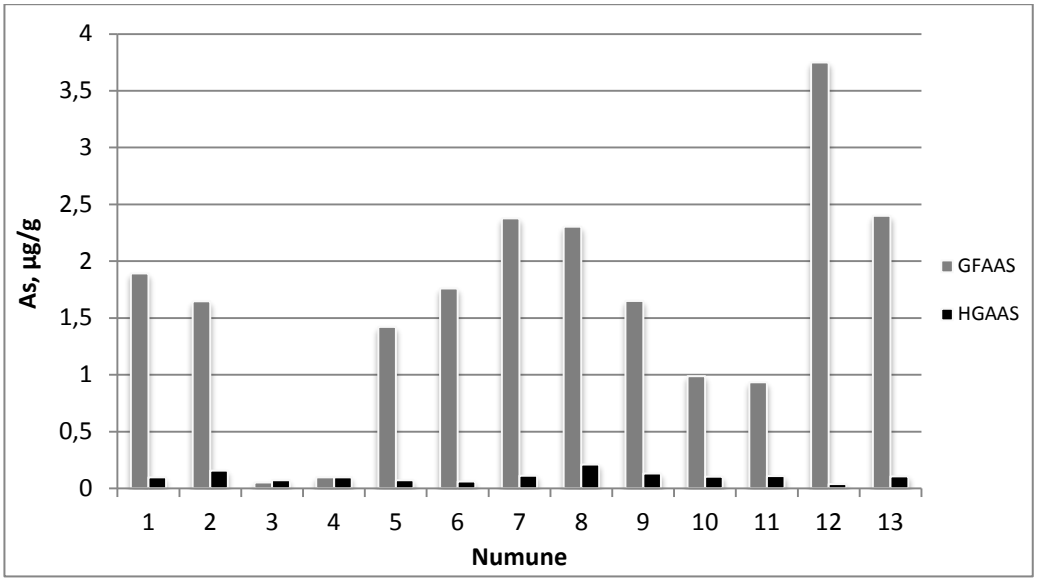
Numune No	GFAAS (µg/g)	HGAAS (µg/g)
1	0.440	0.109
2	1.147	0.055
3	1.338	0.077
4	1.354	0.039
5	1.182	0.021
6	0.036	0.055
7	0.072	0.047
8	1.687	0.092
9	1.531	0.026
10	0.656	0.006
11	0.797	0.140
12	0.201	0.068
13	1.094	0.016
Ortalama ± SS	0.887±0.558	0.058±0.039



Şekil 6.6. Bağırsak için iki yöntemin karşılaştırılması

Tablo 6.11. Böbrek için iki yöntemin bulunan As içerikleri (µg/g)

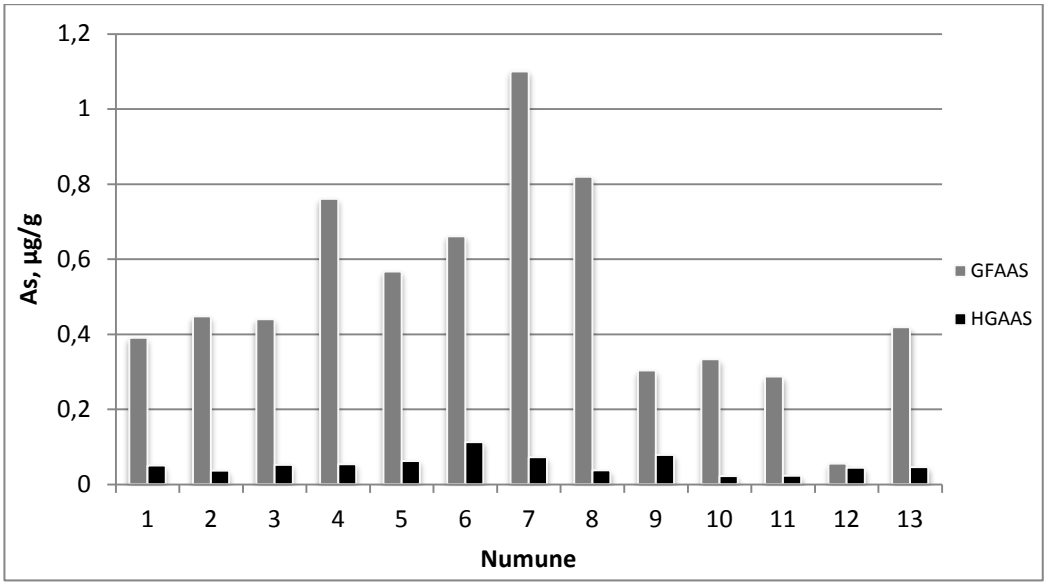
Numune No	GFAAS (µg/g)	HGAAS (µg/g)
1	1.890	0.095
2	1.645	0.154
3	0.051	0.071
4	0.096	0.097
5	1.420	0.071
6	1.759	0.060
7	2.375	0.111
8	2.301	0.208
9	1.649	0.129
10	0.987	0.101
11	0.933	0.107
12	3.747	0.038
13	2.397	0.105
Ortalama ± SS	1.635±0.998	0.104±0.043



Şekil 6.7. Böbrek için iki yöntemin karşılaştırılması

Tablo 6.12. Solungaç için iki yöntemin bulunan As içerikleri (µg/g)

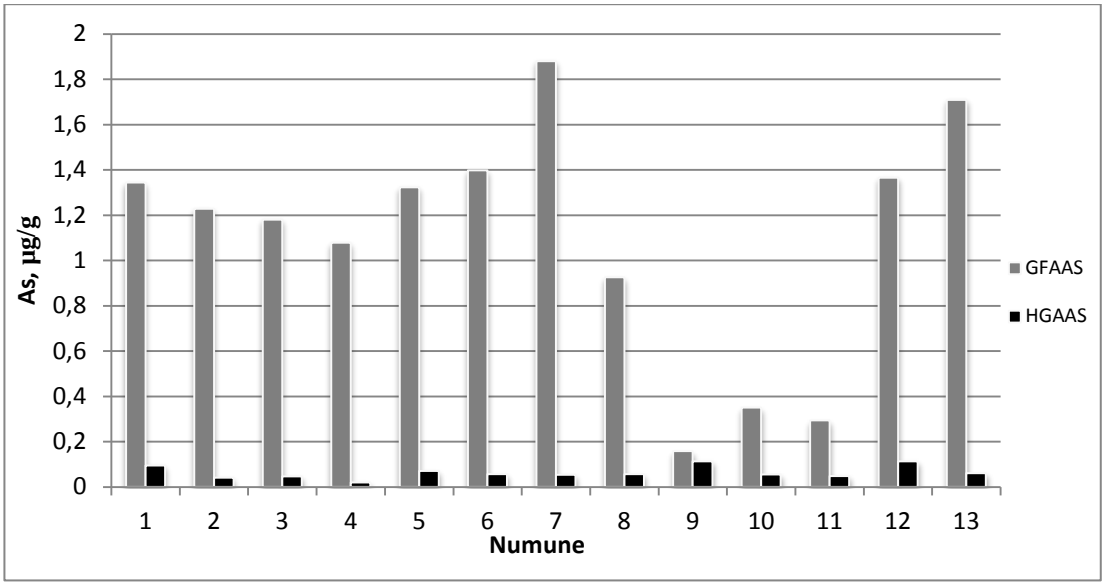
Numune No	GFAAS (µg/g)	HGAAS (µg/g)
1	0.390	0.050
2	0.447	0.036
3	0.440	0.052
4	0.760	0.053
5	0.567	0.062
6	0.661	0.112
7	1.100	0.072
8	0.819	0.037
9	0.303	0.078
10	0.333	0.022
11	0.287	0.023
12	0.055	0.044
13	0.418	0.046
Ortalama ± SS	0.506±0.272	0.053±0.0024



Şekil 6.8. Solungaç için iki yöntemin karşılaştırılması

Tablo 6.13. Kas için iki yöntemin bulunan As içerikleri (µg/g)

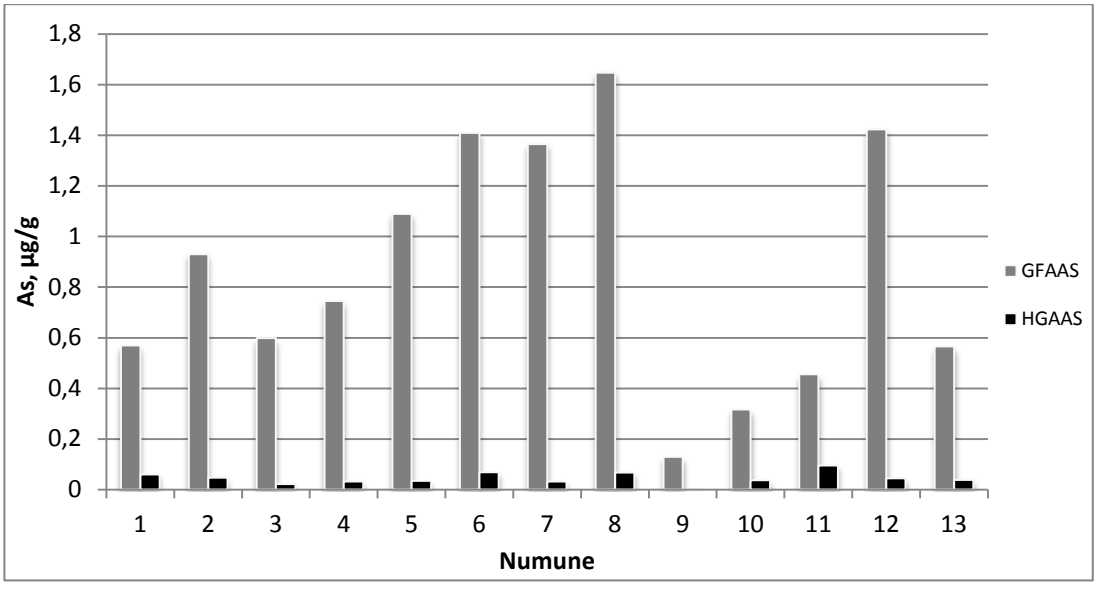
Numune No	GFAAS (µg/g)	HGAAS (µg/g)
1	1.343	0.095
2	1.228	0.041
3	1.180	0.047
4	1.078	0.020
5	1.323	0.070
6	1.397	0.057
7	1.879	0.053
8	0.925	0.056
9	0.158	0.113
10	0.350	0.055
11	0.294	0.048
12	1.365	0.113
13	1.708	0.061
Ortalama ± SS	1.094±0.532	0.064±0.028



Şekil 6.9. Kas için iki yöntemin karşılaştırılması

Tablo 6.14. Deri için iki yöntemin bulunan As içerikleri (µg/g)

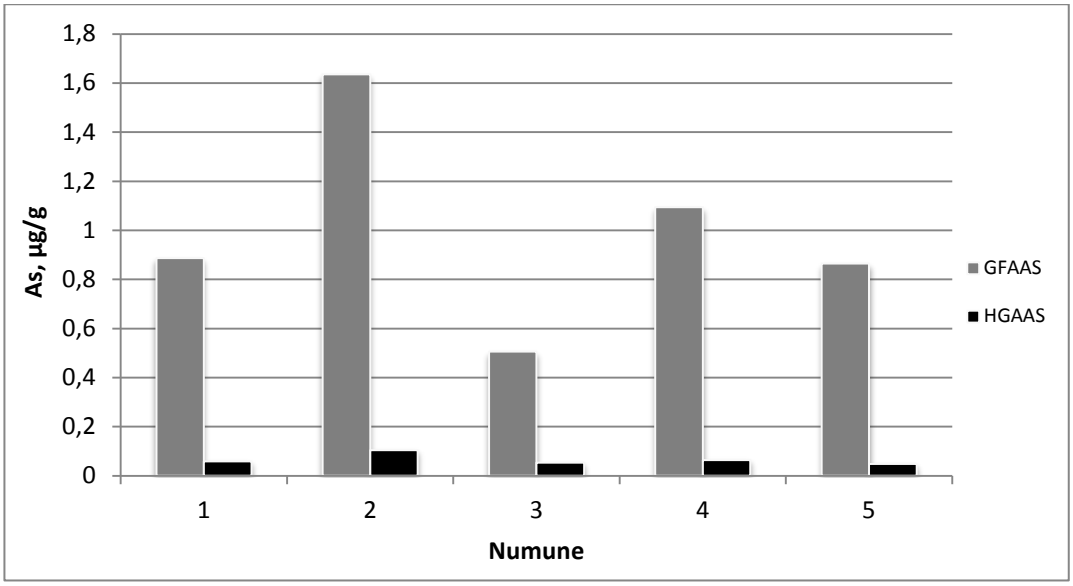
Numune No	GFAAS	HGAAS
1	0.569	0.060
2	0.929	0.047
3	0.598	0.022
4	0.745	0.032
5	1.089	0.034
6	1.409	0.069
7	1.364	0.032
8	1.647	0.067
9	0.129	0.002
10	0.316	0.037
11	0.455	0.095
12	1.423	0.044
13	0.565	0.038
Ortalama ± SS	0.864±0.483	0.048±0.024



Şekil 6.10. Deri için iki yöntemin karşılaştırılması

Tablo 6.15. İki yöntemin ortalamalarının karşılaştırılması

Numune	GFAAS (µg/g)	HGAAS (µg/g)
Bağırsak	0.887±0.558	0.058±0.039
Böbrek	1.635±0.998	0.104±0.043
Solungaç	0.506±0.272	0.053±0.0024
Kas	1.094±0.532	0.064±0.028
Deri	0.864±0.483	0.048±0.024



Şekil 6.11. İki yöntemin ortalamalarının karşılaştırılması

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

Böbrek > Kas > Bağırsak > Deri > Solungaç

HGAAS yöntemi için sonuçların sıralaması;

Böbrek > Kas > Bağırsak > Solungaç > Deri

İki yöntemin sonuçlarının karşılaştırılması amacıyla istatistiksel analiz yapıldı. Bu amaçla ortalamaların karşılaştırılması yapılarak iki yöntem sonuçlarının birbirinden farklı olup olmadığı değerlendirildi [26, 56].

$| Xort_1 - Xort_2 | \leq t\, s\, [(1/N_1) + (1/N_2)]^{1/2}$ 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.

$$| 0.887 - 0.058 | \leq 2.00\, s\, [(1/13) + (1/13)]^{1/2}$$

$$s = [(13 - 1)\,(0.558)^2 + (13 - 1)\,(0.039)^2 / (13 + 13 - 2)]\ ½$$

$$s = 0.395$$

$$0.829 \leq (0.395)\,(2.00)\,(0.392)$$

$$0.829 > 0.310$$

Tablo 6.16. GFAAS ve HGAAS ölçüm sonuçlarının istatistiksel karşılaştırılması

Numune	Arsenik
Bağırsak	0.829 > 0.310
Böbrek	1.531 > 0.554
Solungaç	0.453 > 0.150
Kas	1.03 > 0.296
Deri	0.816 > 0.342

Yapılan hesaplamalar sonucunda iki yöntem arasında istatiksel bir fark olduğu görülmektedir. 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.

HGAAS ile elde edilen sonuçlar literatür değerleri ile kıyaslandığında uyumlu oldukları görülmüştür.

Has-Schon ve arkadaşları tarafından, Hırvatistan'ın Neretva Nehri'nden yakalanan balıkların kaslarında 0.038-0.309 µg/g, solungaçlarda 0.005-0.255 µg/g ve karaciğerlerde 0.005-0.227 µg/g As tespit edildi [57].

Delgado-Andrade ve arkadaşları tarafından, İspanya'nın güneydoğusundan yakalanan 25 balığın kaslarındaki toplam As miktarı 0.396-12.58 µg/g olarak tespit edildi [58].

Rosemond ve arkadaşları tarafından, Kanada'da yakalanan balıkların kaslarında 0.57-1.15 µg/g, bağırsaklarında 1.48-8.92 µg/g ve karaciğerinde 0.42-2.25 µg/g As birikimi tespit edildi [59].

Jankong ve arkadaşları tarafından, Tayland'taki Tatlısu balıklarında yaptığı analizlerde balıkların kas dokusunda 0.051-0.806 µg/g As tespit edildi [60].

Al Rmalli ve arkadaşları tarafından, Birleşik Krallık'ta yemek için satılan balıkların kas dokularında 0.097-1.32 µg/g As olduğunu tespit edildi [61].

Shah ve arkadaşları tarafından, Pakistan'ın Manchar Gölü'nden 10 farklı tür balığın dokularındaki As miktarını araştırılmıştır. Balıkların solungaçlarında 1.11-11.0 µg/g, ağız kısmında 1.05-7.64 µg/g, bağırsaklarda 1.90-11.4 µg/g, karaciğerde 7.30-12.5 µg/g ve kaslarda 2.11-14.1 µg/g As tespit edildi [62].

Shah ve arkadaşları tarafından, balığın kas dokusundaki ortalama As^{3+} ve As^{5+} konsantrasyonunun 1.19-2.05 ve 0.17-0.46 µg/g arasında bulunmuştur [63].

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 sonuçlar birbiri ile uyumlu değildir.

3. As elementin 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 As gibi uçucu elementlerle çalışılırken önemli bir fark yaratmaktadır.

KAYNAKÇA

[1] A. Baysal, ***Slurry Tekniği ile Eser Elementlerin Zenginleştirilmesi ve Atomik Absorpsiyon Spektrometresi ile Tayini***, İTÜ Fen Bİlimleri Enstitüsü İstanbul Yüksek Lisans Tezi, 72, 3523-3531, 2005.

[2] F. B. Hu, E. Cho ve R. K. M., ***Fish and Long –Chain n-3 Fatty Acid Intake and Risk of Coronary Heart Disease and Total Mortality in Diabetic Women,*** Circulation, 107, 1852-1857, 2003.

[3] G. E. Üstün, ***The Assessment of Heavy Metal Contamination in the Waters of the Nilufer Stream,*** Ekoloji, Bursa, 2011, 61-66.

[4] M. Türkoğlu, ***Van Gölünden Alınan Su, Sediment ve İnci Kefali (Chalcalburnus Tarichi, Pallas, 1811) Örneklerinde Bazı Ağır Metal Düzeylerinin Araştırılması,*** Van: Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı, 2008.

[5] C. Vandecasteele ve C. B. Block, ***Modern Methods for Trace Element Determination***, England: John Wiley&Sons Ltd., 1993.

[6] S. Akman, B. D. Öztürk ve N. Tokman, ***Atomic Absorption Spectroscopy,*** Food Toxicants Analysis: Techniques, Strategies and Developments, İstanbul, İTÜ, 354-367, 2007

[7] B. B. Kebbekus, ***Preparation of Samples for Metals Analysis***, New York: John Wiley&Sons, 2003.

[8] S. Erdoğan, ***Çeşitli Bakliyat Ürünlerinde Bazı Metallerin (Cu, Zn, Mn, Fe) Spektroskopik Tekniklerle Analizler***, Malatya: İnönü Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, 2002.

[9] C. Y. Zou, M. K. Wong, L. L. Koh ve Y. C. Wee, ***Microwaveassisted Dilute Acid Extraction of Trace Metals from Biological Samples for AAS Determination,***

Journal of Analytical Atomic Spectroscopy, 11, 585-590, 1996.

[10] R. Bock, ***Handbook of Decomposition Methods in Analytical Chemistry***, New York: John Wiley&Sons, 1979.

[11] A. Abu Samra, J. S. Morris ve S. R. Koirtyonhann, ***Wet Ashing of Some Biological Samples in a Microwave Oven***, Analiytical Chemistry, 47, 1475, 1975.

[12] M. Burgera ve J. L. Burgera, ***Microwave Assisted Sample Decomposition in Flow Analysis***, Analytical Chimica Acta, 80, 363-366, 1998.

[13] İ. Akdeniz, ***Toprak ve Su Gibi Çevre Örneklerinde Arsenik Tayini ve Spesiyasyonu (Türlemesi)***, Elazığ, Fırat Üniversitesi, Doktora Tezi, 76, 2002.

[14] ***Encyclopedia of Science and Technology***, McGraw-Hill, 1982.

[15] F. Dr. Yağmur ve İ. H. Dr. Hancı, ***Arsenik***, Sürekli Tip Eğitim Dergisi, 11, 7, 250-251, 2002.

[16] F. Yağmur ve İ. H. Hancı, ***Arsenik***, Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi, 2002.

[17] C. M. Barra, M. L. Cervera, M. d. l. Guardia ve R. E. Santell, ***Analytica Chimica Acta***, 407, 155-163, 2000.

[18] K. G. Brown ve G. L. Ross, ***Arsenic, Drinking Water, and Health (A Report Prepared for ACHS)***, Regulatory Toxıcology and Pharmacology, 36, 162-174, 2002.

[19] P. A. O'day, ***Chemistry and Mineralogy of Arsenic***, Elements, 76-83, 2006.

[20] D. Q. Hung, O. Nekrassova ve R. G. Compton, ***Talanta***, 64, 269-277, 2004.

[21] V. Campos ve P. M. Buchler, ***Trace Elements Removal from Water Using Modified Activated Carbon***, 29, 123-130, 2008.

[22] C. K. Jain ve I. Ali, ***Arsenic: Occurrence, Toxicity and Speciation Techniques***,

Water Research, 34 (17), 4304-4312, 2000.

[23] C. Ferreccio, C. Gonzalez, V. Milosavjlevic, G. Marshall, A. M. Sancha ve A. H. Smith, ***Epidemiology***, 11, 673-679, 2000.

[24] B. Welz ve M. Sperling, ***Atomic Absorption Spectrometry***, 3rd Completely Revised Edition, Germany: WILEY-VCH, 1999.

[25] A. Ege, ***Denizsuyu ve mineral sulardaki bazı eser elementlerin Al(OH)3 ile birlikte çöktürülerek ayrılması ve FAAS ile tayini***, İstanbul: Yüksek Lisans Tezi, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, 2005.

[26] D. A. Skoog, D. M. West ve F. J. Holler, ***Analitik Kimya Temelleri (7.Baskı)***, Ankara, Bilim Yayıncılık, 497-870, 1999.

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

[28] T. Gündüz, ***İnstrümantal Analiz***, Ankara: Gazi Kitabevi, 2002.

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

[30] J. M. Harnly, C. M. M. Smith, D. N. Wiechems, J. C. Ivaldi, P. L. Lundberg ve B. Radziuk, ***J. Anal. At. Spectrom.***, 12, 617-627, 1997.

[31] J. M. Harnly, ***J. Anal. At. Spectrom***.,14, 137-146, 1999.

[32] M. Schuetz, ***Investigations into the Effect of the Correction for Background Absorption in Continium Souce Atomic Absorption***, Berlin: Ph. D. Thesis, Technical University of Berlin, 1997.

[33] P. E. Handbook, ***Analytical Methods for Atomic Absorption Spectrometry***, 2000.

[34] B. Welz, ***Atomic Absorption Spectrometry***, 2nd Ed., Weinheim: Federal Republic of Germany, 1985.

[35] M. Özcan, ***Grafit Fırınlı Atomik Absorpsiyon Spektrometrisi ile Kalay Tayininde Bazı Anorganik Tuzların Girişim Mekanizmalarının İncelenmesi***, İstanbul: Doktora Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, 63, 2001.

[36] C. Moor, J. W. H. Lam ve R. E. Sturgeon, ***J. Anal. At. Spectrom.***, 15, 143-149, 2000.

[37] R. Sturgeon, J. Liu, V. J. Boyko ve V. T. Luong, ***Anal. Chem.***, 68, 1883-1887, 1996.

[38] A. S. Luna ve R. E. Sturgeon, ***De Campos RC***, 72, 3523-3531, 2000.

[39] D. L. Tsalev, ***J. Anal. At. Spectrom.***, 14, 147-162, 1999.

[40] J. Dedina, W. Frech, E. Lundberg ve A. Cedergren, ***J. Anal. At. Spectrom.***, 4, 143-148, 1998.

[41] D. L. Tsalev, A. D'ulivo, L. Lampugnani, M. Di Marco ve R. Zamboni, ***J. Anal. At. Spectrom***., 11, 979-988, 1996.

[42] K. T. Kan, ***Anal. Lett***, 6, 603-611, 1973.

[43] O. Aström, ***Analytical Chemistry***, 54, 190-193, 1982.

[44] T. Nakahara, ***Prog. Anal. At. Spectrosc.***, 6, 163-223, 1983.

[45] R. C. Chu, G. P. Barron ve P. A. W. Baumgarner, ***Analytical Chemistry***, 44, 1476-1479, 1972.

[46] K. C. Thompson ve D. R. Thomerson, ***Analyst***, 99, 595- 601, 1974.

[47] K. J. Knudson ve G. D. Christian, ***Anal. Lett.***, 6, 1039-1054, 1973.

[48] K. Dittrich ve R. Mandry, ***Part I Analytical Results, Analyst***, 111, 269-280, 1986.

[49] V. Krivan ve K. Petrick, ***Fresenius J. Anal. Chem***., 336, 480-483, 1990.

[50] D. R. Lide, ***CRC Handbook of Chemistry and Physics***, 75th Edition, CRC Press, Boca Raton, 1994.

[51] L. K. E. Hou X, A. Salido, B. T. Jones, M. Ezer, S. Elwood ve J. B. Simeonsson, ***Analytical Science***, 17, 175-180, 2001.

[52] X. Hou ve B. T. Jones, ***Spectrochim. Acta Part B,*** 57, 659-688, 2002.

[53] A. E. Smith, ***Analyst***, 100, 300-306, 1975.

[54] F. D. Pierce ve H. R. Brown, ***Anal. Chem.***, 48, 693-695, 1976.

[55] A. Dulivo, L. Lampugnani ve R. Zamboni, ***Spectrochim. Acta Part B***, 47, 619-631, 1992.

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

[57] E. Has-Schon, I. Bogut ve I. Strelec, ***Heavy Metal Profile in Five Fish Species İnclıded in Human Diet,*** Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 50, 545-551, 2006.

[58] C. Delgado-Andrade, M. Navarro, H. Lopez ve M. C. Lopez, ***Determination of Total Arsenic Levels by Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry in Foods from South-east Spain***, Food Additives and Contaminants, 20, 923-932, 2003.

[59] S. Rosemond, Q. Xie ve K. Liber, ***Arsenic Concentration and Speciation in Five Freshwater Fish Species from Back Bay Near Yellowknife***, Environment Moniter Assess, 10, 1007, 10661-007-0112, 2008.

[60] P. Jankong, C. Chalhoub, N. B. Kienzl, W. Goessler, K. A. Francescon ve P. Visoottiviseth, ***Arsenic Accumulation and Speciation in Freshwater Fish Living in Arsenic-Contaminated Waters***, Environmental Chemistry, 4, 11-17, 2007.

[61] S. W. Al Rmalli, P. I. Haris, C. F. Harrington ve M. Ayub, ***A Survey of Arsenic in***

Foodstuffs on Sale in the United Kingdom and Imported from Bangladesh, Science of the Total Environment, 337, 23-30, 2005.

[62] A. Q. Shah, T. G. Kazi, M. B. Arain, J. A. Baig, H. I. Afridi, G. A. Kandhro, S. Khan ve M. K. Jamalş, ***Hazardous İmpact of Arsenic on Tissues of Same Fish Species Collected from Two Ecosystem,*** Journal of Hazardous Materials, 167, 511-515, 2009.

[63] A. Q. Shah, T. G. Kazi, J. A. Baig, M. B. Arain, H. I. Afridi, G. A. Kandhro, S. K. Wadhwa ve N. F. Kolachi, ***Determination of Inorganic Arsenic Species (As III and As V) in Muscle Tissues of Fish Species by Electrotermal Atomic Absorption Spectrometry (ETAAS),*** Food Chemistry, 119, 840-844, 2010.

ÖZGEÇMİŞ

1986 yılında Bulgaristan'da doğdu. Ortaöğrenimini Edirne 1. Murat Anadolu Lisesinde tamamladı. 2009 yılında T. Ü. Fen Fakültesi Kimya Bölümü'nden mezun oldu. 2010 yılında T. Ü. Fen Fakültesi Kimya Bölümü'nde Yüksek Lisans eğitimine başladı.