ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KIZILIRMAK'TA YAŞAYAN BAZI BALIK ÇEŞİTLERİNDE SELENYUM TÜRLEMESİ

Merve YILMAZ

KİMYA ANABİLİM DALI

ÇANKIRI
2018

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Merve YILMAZ tarafından hazırlanan **"Kızılırmak'ta Yaşayan Bazı Balık Çeşitlerinde Selenyum Türlemesi"** adlı tez çalışması 26.01.2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman :

Jüri Üyeleri :

Başkan :

Üye :

Üye :

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Doc. Dr. Tamer KEÇELİ

Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KIZILIRMAK'TA YAŞAYAN BAZI BALIK ÇEŞİTLERİNDE SELENYUM TÜRLEMESİ

Merve YILMAZ

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Melike BİLGİ

Sunulan bu tez çalışmasında balıktaki farklı Se türlerinin tayinine imkan sağlayacak bir analitik metot kullanılmıştır. Metot, örneklerdeki Se türlerinin mikrodalga-yardımlı ekstraksiyonunun ardından hibrit HPLC-ICP-MS sistemle tayinine dayanmaktadır. Üç farklı selenyum türünün (SeIV, SeVI ve SeMet), anyon değişim prensibine dayanan bir kromatografik metot ile 3 dakikalık bir süre içerisinde tam olarak ayrımı gerçekleştirilmiştir. Analitiksel karakterizasyonlar sonucunda, SeMet, Se(IV) ve Se(VI) için gözlemlenebilme sınırları sırasıyla 16,90 ppb, 3,11 ppb ve 1,07 ppb bulunmuştur. Bu türlerin tayin sınırları ise sırasıyla 56,35 ppb, 10,38 ppb ve 3,58 ppb olarak hesaplanmıştır. Metot hızlı, basit, çevreci avantajlara sahiptir.

2018, 38 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: Selenyum türlemesi, Kızılırmak, HPLC-ICP-MS.

ABSTRACT

Master Thesis

SELENIUM SPECIATION IN SOME FISH SPECIES LIVING IN KIZILIRMAK

Merve YILMAZ

Cankiri Karatekin University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Melike BİLGİ

In the presented thesis, it was used an analytical method allowing determination of diverse forms of Se in fish. The method based on determination of Se species by the hyphenated HPLC-ICP-MS after the microwave-assisted extraction of samples. The entire separation of three different Se species (SeIV, SeVI ve SeMet) was performed within 3 minutes using an anion exchange chromatographic method. Limit of detections for SeMet, Se(IV) ve Se(VI) were found to be 16,90 ppb, 3,11 ppb and 1,07 ppb, respectively, after analytical characterizations. Limit of quantifications of this species were calculated to be 56,35 ppb, 10,38 ppb and 3,58 ppb, respectively. The method has advantages of fastness, simplicity, environmentally green.

2018, 38 pages

Key Words: Selenium speciation, Kızılırmak, HPLC-ICP-MS.

TEŞEKKÜR

Bu tezin başlangıcından bitimine kadar bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, bilimsel anlamda yetişmemde büyük katkıları olan, maddi ve manevi desteğini esirgemeyen değerli hocam Serhat DÖKER' e ve danışman hocam Yrd. Doc. Dr. Melike BİLGİ' ye teşekkürlerimi sunarım.

Çankırı Karatekin Üniversitesi Analitik Araştırmalar Laboratuvarı'nda tez ve proje çalışmalarımın yürütülmesinde ve lisansüstü eğitimim boyunca birçok konuda desteğini esirgemeyen tüm hocalarım ve arkadaşlarıma,

2011/26 kodlu projeyi destekleyen Çankırı Karatekin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi (BAP) Koordinasyon Birimi'ne, 112T365 kodlu projeyi destekleyen TÜBİTAK'a,

Eğitim hayatım boyunca beni yalnız bırakmayan, maddi ve manevi her türlü desteği esirgemeyen aileme en derin teşekkürlerimi sunarım.

Merve YILMAZ
Çankırı, Ocak 2018

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **i**
ABSTRACT ..... **ii**
TEŞEKKÜR ..... **iii**
SİMGELER DİZİNİ ..... **v**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **vi**
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **vii**
1. GİRİŞ **1**
1.1 Eser Element **4**
1.2 Selenyumun Doğada Bulunuşu **6**
1.3 Selenyum Bileşiklerinin Toksik Etkileri **7**
1.4 Toplam Selenyum Tayin Metotları **9**
1.5 Elementel Türleme **10**
1.6 Türleme Yöntemleri **10**
1.7 Balıklarda Se Türlemesi **12**
2. KAYNAK ÖZETLERİ **13**
3. MATERYAL VE YÖNTEM **15**
3.1 Cihazlar **15**
3.2 Kimyasallar **15**
3.3 Örneklerin Hazırlaması **15**
3.4 Toplam Selenyum Tayini **16**
3.5 Kromatografik Metotların Optimize Edilmesi **17**
3.6 Selenyum Türlerinin Ekstraksiyonu **19**
4. BULGULAR **20**
4.1 Toplam Selenyum Tayini **20**
4.2 Kromatografik Şartların Belirlenmesi **21**
4.3 Ekstraksiyon Şartlarının Belirlenmesi **30**
5. TARTIŞMA VE SONUÇ **33**
KAYNAKLAR **34**
ÖZGEÇMİŞ **37**

SİMGELER DİZİNİ

µg	Mikrogram
AAS	Atomik absorpsiyon spektroskopi
AC	Alternatif akım
AEC	Anyon değişim kromatografi
BEC	Gürültüye karşılık gelen derişim
C	Derişim
cps	Saniyedeki sayım (sinyal/gürültü)
Cr	Krom
CRC-ICP-MS	Çarpışma reaksiyon hücre-İndüktif eşleşmiş plazma kütle spektrometresi
CRM	Sertifikalı referans malzeme
CV	Soğuk buhar
DNA	Deoksiribo nükleik asit
ETAAS	Elektro termal atomik absorpsiyon spektroskopi
FAAS	Alevli atomik absorpsiyon spektroskopi
g	Gram
GP	Glutatyon peroksidaz
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografi
I	İyot
ICP-MS	İndüktif eşleşmiş plazma kütle spektrometresi
ICP-OES	İndüktif eşleşmiş plazma optik emisyon spektroskopi
kg	Kilogram
L	Litre
LOD	Gözlenebilme sınırı
LOQ	Tayin sınırı
m/z	Kütle/yük
mg	Miligram
min	Dakika
ml	Mililitre
mm	Milimetre
MS	Kütle spektrometre
MW	Mikrodalga
n	Ölçüm sayısı
ng	Nanogram
pg	Pikogram
ppt	Part per trillion
RE	Bağıl hata
RF	Radyo frekansı
RNA	Reoksiribo nükleik asit
RSD	Bağıl standart sapma
Se	Selenyum
SEC	Boyut eleme kromatografisi
SeMe	Selenometiyonin
TMSe	Trimetil selenyum

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1 Toplam Se için oluşturulan kalibrasyon grafiği.....21
Şekil 4.2 Se standartlarını içeren karışıma ait kromatogram. 22
Şekil 4.3 Se standartlarını içeren karışıma ait kromatogram. 23
Şekil 4.4 Se standartlarını içeren karışıma ait kromatogram. 23
Şekil 4.5 Se(IV), Se(VI) ve SeMet standartlarını içeren karışıma ait kromatogram. 24
Şekil 4.6 Se (IV), Se(VI) ve SeMet standartlarını içeren karışıma ait kromatogram. 25
Şekil 4.7 Se(IV), Se(VI) ve SeMet standartlarını içeren karışıma ait kromatogram. 26
Şekil 4.8 Se(IV), Se(VI) ve SeMet standartlarını içeren karışıma ait kromatogram. 26
Şekil 4.9 Se(IV), Se(VI) ve SeMet standartlarını içeren karışıma ait kromatogram. 27
Şekil 4.10 Anyon değişim kromatografik metotla elde edilmiş Se türlerine ait kalibrasyon grafikleri. 28
Şekil 4.11 DORM-2 sertifikalı referans örneği için enzimatik ekstraksiyon verimleri. .30
Şekil 4.12 Se türlerini içeren standartların karışıma ait kromatogram (üstte) ve sazan ekstraktına ait kromatogram (altta). 31

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1 Yaş ve cinsiyet gruplarına göre günlük selenyum ihtiyacı 2
Çizelge 1.2 Analit derişimine bağlı olarak yapılan kimyasal analizler.....4
Çizelge 1.3 Organik ve İnorganik Selenyum Arasındaki Bazı Farklılıklar 8
Çizelge 3.1 Toplam Se tayini için mikrodalga sıcaklık programı.....16
Çizelge 3.2 ICP-MS çalışma şartları.....17
Çizelge 4.1 Sertifikalı referans örneklerde (DORM-2 ve SELM-1) toplam selenyum tayini.....21
Çizelge 4.2 Toplam Se, SeMet, Se(IV) ve Se(VI) tayini için elde edilen analitiksel parametreler.....32
9Çizelge 4.3 Sazan balığı örneği için elde edilen toplam Se ve SeMet derişimleri (n=3).....32

1. GİRİŞ

Eser element canlı organizmalar için büyük önem taşımaktadır. Canlı organizmasında bir element, olması gereken miktardan daha az ise çeşitli fizyolojik ve yapısal bozukluklara neden olmaktadır. Bu bozukluklar ilaçla tedavi edilebiliyorsa temel element olarak adlandırılır. Eğer element yüksek derişimde olursa yine çeşitli sorunlar ortaya çıkabilir. Yüksek derişimdeki elementlerin vücuda alımı için limit getirilmiştir. Bu sebepten dolayı eser elementlerin tayini, hastalıkların teşhis ve tedavisi için önem taşımaktadır (Kurnaz 2013).

Son dönemlerde çevre kirliliğinin artmasıyla birlikte ağır metallerin çevreye verdiği zararlar gün geçtikçe artmaktadır. Deniz suyu, içme suyu, hava ve toprak kirlenmesiyle birlikte canlıların yaşamı tehlike altına girmektedir. Soluduğumuz havadan içtiğimiz suya kadar hayatımızın içine giren metal kirlenmeleri elementel analiz gerektirmektedir. Eser elementler endüstriyel ya da atmosferik kirliliğe sebep olup toprakta birikebilir. Bu da ekosistemi olumsuz yönde etkilemektedir. Toprak ve bitki örneklerinde yapılan eser element analizleri beslenme açısından da önem taşımaktadır. Özellikle besin gereksinimleri açısından önemlidir.

Eser element analizinin biyolojik örneklerde yapılması önem taşımaktadır. Biyolojik örnekler bitki ve hayvan dokularını ve yaygın türdeki bitki ve hayvan ürünlerini kapsamaktadır. Element konsantrasyonunu bulundukları ortam ve çevre şartlarına göre de farklılık göstermektedir.

Bitkiler için bu ortam toprağın yapısı, kullanılan gübreler, ürün koruyucular, endüstriyel ya da karayollarına olan yakınlık olarak ayrılır. Hayvanlarda ise hayvanların beslenmesi, hayvan yemleri ve bulundukları çevre olarak ayrılmaktadır.

Gerek toksik bir element olması gerekse vücut için gerekli olması sebebiyle biyolojik örneklerdeki selenyum tayini büyük rol oynamaktadır. Selenyumun toksik etkisi ve selenyum eksikliği arasında ince bir sınır vardır.

Selenyum, Glutatyon Peroksidaz (GP) enziminin yapısında bulunmakla birlikte bu enzimin etkinliği açısından önemli bir yere sahiptir. GP, doymamış yağ asitlerinin yükseltgenmesiyle oluşan peroksitleri suya dönüştürür. Hücre zarına zarar veren serbest radikalleri yok etmesi yönüyle antioksidan özelliğe sahip bir enzimdir. Dolayısıyla selenyum bağışıklık mekanizmasında rol almaktadır.

Selenyum ağır metallerin toksik etkilerini bertaraf etme özelliğine sahiptir. Bunlardan birisi de cıvadır. Deniz ürünlerinde cıva ve cıvanın metil esteri selenyumla birlikte bulunduğundan cıvanın toksik etkisini engellediği gözlenmiştir.

Uçucu özelliğinden dolayı selenyumun ısıl işlemlerde etkilenmekte olduğu saptanmıştır. E vitamini ile birlikte sürdürdüğü görevlerden birisi de antioksidan özellikte etki etmesidir.

Eksikliğinde GP enziminin de yetersizliği ile metabolik işlevlerde bazı eksiklikler meydana gelmektedir. Yaygın kullanımı ise kanser ve kalp hastalıklarından korunmayı hedeflemektedir. Deri sağlığını korumak ve kuvvetli bir bağışıklık sistemi kazanmak içinde kullanılmaktadır. Özellikle de Keshan Hastalığı olarak tanımlanan kalp damar hastalığı için de dikkate değer şekilde etki göstermektedir.
Avrupa Birliği'nin günlük alınmasını tavsiye ettiği selenyum miktarı 55 µg 'dır. Bu oran yaş ve cinsiyete göre değişmektedir. Yaş grupları ve cinsiyete göre günlük alınması gereken selenyum miktarı Çizelge 1.1 de verilmiştir.

Çizelge 1.1 Yaş ve cinsiyet gruplarına göre günlük selenyum ihtiyacı (Kurnaz 2013).

Çocuklar (µg)	**Kadınlar (µg)**	**Erkekler (µg)**
0-6 yaş 20 7-10 yaş 30	11-14 yaş arası kadınlarda 45 15-18 yaş arası kadınlarda 50 19-51 yaş ve üstü kadınlarda 55	11-14 yaş arası erkeklerde 40 15-18 yaş arası erkeklerde 50 19-51 yaş ve üstü erkeklerde 70

Vücut için gerekli olan selenyum yüksek seviyelerde alındığı zaman toksik etkilere sebep olmaktadır. Haftada 30 mg'dan fazla selenyum tüketen insanlarda bazı fiziksel bozukluklar meydana gelmektedir. Bunlar zehirlenme, yorgunluk, nefesin sarımsaksı kokması, bulantı, kusma, ishal, saç dökülmesi ve tırnaklarda şekil bozukluğu olarak görülmektedir. Selenyumun her kimyasal bileşiği toksik etkiye sahip değildir (Kurnaz 2013).

Bir elementin farklı formlarını tayin etme işlemine elementel türleme adı verilmektedir. Elementel türleme gıda ve birçok farklı alanda rağbet görmektedir (Templeton vd., 2000). Selenyum çevresel örneklerde genellikle inorganik formlarda (selenit ve selenat iyonları gibi) biyolojik örneklerde ise organik formlarda da (selenoaminoasit, selenoproteinler ve bunların türevleri gibi) görülmektedir. Doğal sularda daha yaygın görülen inorganik formlarının nispeten daha toksik türler olduğu bilinmektedir.

Selenyum yüksek konsantrasyonlarda toksik etki gösterirken düşük konsantrasyonlarda vücuda alınması gereken elzem bir elementtir. Bu sebepten dolayı selenyumun farklı formlarının güvenilir ve duyarlı tayini büyük önem taşımaktadır (Ebdon 2001).

Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ve İndüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometrisi (ICP-MS) türleme analizlerinde birlikte kullanılan bir tekniktir. Türleme analizinde analit türünün örnek hazırlama kısmından analiz bitimine kadar türlerin bozulmadan kalması ya da türlerin başka türlere yahut birbirlerine dönüşmemeleri çok önemli bir husustur (Reyes vd., 2008).

Bu tez çalışmasında Kızılırmak nehrinden temin edilmiş balık örneklerinde selenyum türlerinin hızlı ve duyarlı tayinine olanak sağlayan bir analitik metot geliştirilmiştir. Metot, türlerin mikrodalga yardımlı enzimatik ekstraksiyonu ve HPLC-ICP-MS ile tayinine dayanmaktadır.

1.1 Eser Element

Eser element analitik kimya ve ilgili diğer alanlarda farklı şekillerde tanımlanmıştır. Numunedeki bileşenler tayin edilen analit derişimine göre sınıflandırılır. Numunedeki bileşenlerin derişimi 1 μg kg^{-1} -100 mg kg^{-1} (% 0,01) aralığında ise eser element , 1 μg kg^{-1} 'dan daha düşük ise ultra-eser bileşen olarak adlandırılmaktadır.

Çizelge 1.2 Analit derişimine bağlı olarak yapılan kimyasal analizler (Namiesnik 2002).

Analitin genel adı	**Analit derişimi**	**Kimyasal analiz**
Sub-mikro eser bileşen	< 1 pg/g (< % 10^{-8})	Eser analiz
Ultra-mikro eser bileşen	< 1 ng/g (< % 10^{-6})	
Mikro eser bileşen	< 1 μg/g (< % 10^{-4})	
Eser bileşen	< 100 μg/g	
İkincil bileşen	< % 1	Yarı mikro analiz
Birincil bileşen	% 1-100	Mikro analiz

Çizelge 1.2'de numunedeki analit derişimine bağlı olarak analitik teknik ve yöntemler sınıflandırılmış ve bununla ilişkili bazı bilgiler verilmiştir (Namiesnik 2002).

Ülkemizde nüfus artışındaki yoğunluk ve kentlere olan göçler sebebiyle kentlerde toprak, hava, su kirliliğine sebep olmaktadır. Modern teknolojinin yaygınlaşması ve artan enerji ihtiyacıyla birlikte çevreye yayılan atıklar canlılar için önemi büyük olan havayı, suyu ve toprağı kirletebilmektedir.

Atık sular bazen işlem görmeden, arıtma yapılmadan sulama suyu olarak kullanılabilmekte ve yetiştirilen tarım ürünleri bundan etkilenebilmektedir. Bitkilerin maruz kaldığı kirlilik sebebiyle bünyelerinde ağır metaller biriktirmektedir. Canlılarda toksik etkilere sebep olan ağır metaller evsel ve endüstriyel yollardan besinlere geçmektedir. Bu metaller beslenme yoluyla da canlılara geçmektedir.

Bu elementler etkili dozlarda vücutta zehirlenmelere yol açabilir hatta bu ölüme kadar gidebilir (Deveci 2012).

Canlı organizması için eser elementlerin miktarı önem taşımaktadır. Cıva, kadmiyum gibi toksik elementler her koşulda birçok canlı için zararlı (toksik) elementlerdir. Esansiyel elementler ise canlı organizmada yaşamsal bazı fonksiyonların sağlanmasında gerekli olan elementlerdir. Esansiyel elementlerin eksikliği durumunda genellikle canlıda bazı hastalıklar ve problemler görülür. Ancak bu problemler eksikliğin giderilmesiyle birlikte genellikle ortadan kalkmaktadır. Ancak yaşamsal olarak gerekli olsalar dahi, aşırı alınması durumunda esansiyel elementler de zehirlenmelere yol açabilmektedir. Bu nedenden dolayı da bu elementlerin vücuda alınmasında bazı sınırlandırılmalar yapılmıştır.

İnorganik madde olan iyot (I), demir (Fe), çinko (Zn), bakır (Cu), selenyum (Se), molibden (Mo), mangan (Mn), krom (Cr) ve kobalt (Co) esansiyel elemenlerdir. Ayrıca sağlıklı yaşamak için yeterli miktarda vücuda alınması gerekmektedir.

Organizmanın fizyolojik işlevlerini yapabilmesi için esansiyel elementler büyük önem taşımaktadırlar. Esansiyel elementler yeterli miktarlarda organizmada bulunmazsa gelişimini tamamlayamaz ya da organizma yaşam döngüsünü tamamlayamaz. Metalloenzimlerin yapısında da yine esansiyel elementler büyük rol oynamaktadır.

Ayrıca bazı önemli biyolojik fonksiyonların yerine getirilmesinde de görev almaktadır. Bunlar oksijen taşınması, hormonal aktivitelerin düzenlenmesi, serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesidir

Eser elementlerin güvenilir ve duyarlı metotlarla tayini özellikle son yıllarda hızla gelişmekte ve rağbet görmektedir. Başlıca tıp, fizik, kimya, biyoloji, ziraat, arkeoloji ve çevre bilimi alanlarında kullanılması sebebiyle de giderek yaygınlaşmaktadır (Kayaalp 2012).

1.2 Selenyumun Doğada Bulunuşu

Doğada keşfedilmiş 94 tane element bulunmaktadır. Bu elementlerin hemen hemen üçte biri insan yaşamı için gereklidir. Doğadaki elementler canlı bünyesinde az miktarlarda bulundukları için eser element olarak tanımlanmaktadır. Selenyum da bu eser elementlerden bir tanesidir (Ataman ve Aras 2006).

Selenyum tarihte ilk kez 1817 yılında Jons Jacob Berzelius tarafından bulunmuştur. Bakır piritlerinin ateşle olan temasında kırmızı renkte bir toz oluştuğunu gözlemlemiş ve bunun keşfedilmemiş yeni bir element olduğunu tanımlamıştır. Adını ise Yunan dilinde ay anlamına gelen 'seleno' kelimesinden almıştır. Selenyum doğada magma ve volkanik gazların bileşiminde bulunan minerallerde, bakır piritlerinde ve kükürt filizlerinde safsızlık şeklinde bulunduğu görülmüştür (Deveci 2012).

Selenyum periyodik tablonun VI A grubunda yer almaktadır. Atom ağırlığı 78,96 g/mol ve atom numarası 34, yoğunluğu 4,819 g/cm^3 ve oda sıcaklığında rengi gri, yarı metalik özellikte bir element olduğu bilinmektedir. -2, 0, +4, +6 yükseltgenme basamaklarına sahiptir (Kurnaz 2012).

Günümüzde selenyum bakırın elektrolizi ile oluşan anot çamurları ile elde edilerek toplanmaktadır. Ortamda sodyum karbonat varlığında bakır selenyum minerali yükseltgenir. Ürün olarak Na_2SeO_3 bileşiği elde edilir:

$$\mathbf{Cu_2Se + Na_2CO_3 + 2\ O_2 \rightarrow 2\ CuO + Na_2SeO_3 + CO_2}$$

Oluşan bu ürün sülfürik asit ile muamele edildiğinde selenöz asit (H_2SeO_3) meydana gelmektedir. H_2SeO_3'in SO_2 ile tepkimeye sokulduğu zaman ise Se elde edilir:

$$\mathbf{H_2SeO_3 + 2\ SO_2 + H_2O \rightarrow Se + 2\ H_2SO_4}$$

Selenyum yeryüzünde kütlece %7,10-5 oranında bulunmaktadır.

Selenyumun günümüzdeki kullanım alanlarından bazıları şu şekilde sıralanabilir:

- Çelik yapımında katkı maddesi olarak,
- Fotoiletken olma özelliği sayesinde fotokopi makinalarında,
- Elektrik iletkenliğinin ışık ile değişmesinden dolayı fotosellerde,
- Seramik ve renkli cam yapımlarında renk vermek veya renksizleştirmek için kullanılmaktadır (Kayaalp 2012).

Selenyumun atom ağırlığı 74, 76,77, 78, 80 ve 82 olan 6 izotopu bulunmaktadır. İnsan hayvansal ve bitkisel gıdalardan selenyum almaktadır. Bitkiler topraktan aldığı selenyumu bünyelerinde biriktirmektedirler. Killi toprakta yetişen bitkilerin selenyumca daha zengin olduğu bilinmektedir.

Balık, et ve deniz ürünleri de selenyumu bünyelerinde yeteri miktarda barındırmaktadır. Bunun yanı sıra süt ve süt ürünlerinde, yağ, meyve ve sebzelerde (mantar ve sarımsak hariç) selenyum miktarı yeterli değildir (Orak 2000).

Selenyum dünyanın her yerinde bulunmakta olup en çok rastlanan yerler ise volkanik kayalıklar olarak bilinmektedir. Yeryüzünde en çok bulunduğu ülkeler arasında ise A.B.D., İrlanda, Türkmenistan ve Çin Halk Cumhuriyeti'nin bazı bölgeleri yer almaktadır (Orak 2000).

1.3 Selenyum Bileşiklerinin Toksik Etkileri

Hemen hemen her elementte olduğu gibi selenyumun da fazla alınması toksik etki olarak yansımaktadır. Araştırmalar sonucu selenyumun haftada 30 miligramdan fazla alınması çeşitli yan etkilere sebep olmaktadır. Bu yan etkiler mide bulantısı, kusma, vücutta halsizlik, yorgunluk, nefesin sarımsak kokması, ishal, saç dökülmesi, tırnaklarda şekil bozukluğu ve zehirlenme olarak gözlenmiştir.

Aslında selenyumun bilinen birçok bileşiği toksik etki göstermemektedir. Selenyum sülfitin hayvanlar açısından kanserojen olduğu bilinirken, dimetilselenit ise insanlar açısından toksik etkiye sahip bir bileşiktir.

Son yıllardaki yapılan araştırmalarda selenyum zehirlenmesi, selenotrisülfitler ile glutatyonun etkileşmesi sonucunda toksik süperoksit ve hidrojen peroksite dönüşmesi ile ortaya çıktığı görülmektedir (Kurnaz 2013).

Selenyumun toksisitesi organik selenyum ve inorganik selenyuma göre farklılık göstermektedir. İnorganik selenyumun toksisitesinin organik selenyuma göre daha yüksek olduğu bilinmektedir. Çizelge 1.2'de organik ve inorganik selenyumun bazı alanlarda karşılaştırılması yapılmıştır.

Çizelge 1.3 Organik Ve İnorganik Selenyum Arasındaki Bazı Farklılıklar (Ayaşan 2010)

Özellikler	Organik Se	İnorganik Se
Toksisitesi	İnorganik selenite göre 3 kez daha az toksiktir.	Yüksek toksisite olduğunda deri problemleriyle karşılaşılır.
Biyoyararlılığı	Yüksek.	Rumendeki mikropların neden olduğu azalma sebebiyle yararlılığı düşüktür.
Antioksidan Aktivitesi	SeMet antioksidan görev yapar.	GSH ile reaksiyona girdiğinde serbest radikal oluşumunu uyarır.
DNA Üzerine Etkisi	SeMet DNA' nın oluşumunu uyarır.	Selenit DNA'ya zarar verebilir.

Çizelge 1.3' de selenyum toksisitesi açısından inorganik formdaki selenyum türlerinin daha toksik olduğu belirtilmiştir. Biyoyararlanım, antioksidan özelliğinin olması ve

DNA üzerine olan etkileri sebebiyle canlı organizması besin kaynağı olarak organik formda selenyum tüketmesinde fayda vardır (Ayaşan 2010).

1.4 Toplam Selenyum Tayin Metotları

Selenyum eksikliğini gidermede, selenyum içeren sebze, meyve ve tahılların yanı sıra selenyumca zengin ortamda yetişen mayalara dayanan ürünlerin tüketimi de oldukça rağbet görmektedir. Katı örneklerin atomik spektrometri metotları ile tayini öncesi çözünürleştirilmeleri gerekmektedir (Szpunar 2017).

Toplam Se miktar tayinlerinde katı örneklerin çözünürleştirilmesine yönelik yaygın olarak kabul gören sistem mikrodalga yardımlı yakma sistemleridir. Liyofilize edilen veya yaş haldeki örnekler mikrodalga yakma işlemi ile çok kısa sürede analiz edilebilmektedir. Mikrodaga işleminde örnek, üzerine gerekli çözücüler (genellikle asitler ve yükseltgeyici maddeler) eklenerek belirlenen sürede mikrodalga ışımaya tabi tutulur. Bu işlem yüksek sıcaklık ve basınca duyarlı polimerik haznelerde yapılır. Işınlama sonrası çözünür hale gelmiş örnek gerekli oranlarda seyreltilerek ICP-MS ile veya diğer atomik spektrometri metotları ile analiz edilir (Moreno 2001).

Toplam Se tayinlerinde örneklerin seyreltilmesinde genellikle % 0,2'lik nitrik asit çözeltisi uygundur. Yöntemin doğruluğu standart ekleme metodu ve sertifikalı referans maddelerin analizi ile belirlenmektedir (Misra 2012).

1.5 Elementel Türleme

Elementin toksik veya yararlı etkileri toplam konsantrasyonuyla ilişkili değil, elementin bağlı bulunduğu liganttaki türlerden geldiği bilinmektedir. Elementel türlemenin nicel ve nitel analizi biyoyararlanım ve toksisite hakkında bilgi vermektedir. Bu sebeple bir analizde toplam element tayini yerine türlerinin ayrımı önem taşımaktadır (Cabanero 2005). Türleme analizinin başlıca önemli noktalarından biri de katı numuneden türlerin dönüşümü olmadan ekstrakt elde etmektir (Gutirrez 2000). Son zamanlarda biyolojik örneklerde biyokimyasal ve beslenme açısından toplam element miktarını belirlemek toksisite açısından tek başına yeterli bir bilgi ifade etmemektedir. Türleme analizinde bir diğer husus ise kararlılıktır. Kararsız formlar da çeşitli yöntemlerle kararlı hale dönüştürülebilir (Szpunar 2000).

HPLC, 20 den fazla Se çeşidini ayırabilmektedir. Kapiler elektroforez selenyum türleri mobil faz için ters fazda bile iyon ayırma gücü ile yüksek ayırma kabiliyetine sahip olmaktadır (Bendahl 2004). Günümüzde eser element türleme analizi birçok alanda (fizik, kimya, biyoloji, tıp, ilaç, gıda) kullanılmaktadır (Arslan 2013).

1.6 Türleme Yöntemleri

Türleme analizinde ayrılacak türler genellikle tayin öncesi belirlenip uygun ayırma yöntemi belirlenmektedir. Bu yöntemler kromatografik yöntemler ve kromatografik olmayan yöntemler olarak sınıflandırılabilmektedir.

Türleme analizi için yaygın olarak kullanılan kromatografik yöntemler, Gaz Kromatografisi-Atomik Floresans Spektrometrisi (GC-AFS) ve Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi-Atomik Absorpsiyon Spektrometrisi (HPLC-AAS) Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi-İndüktif Eşleşmiş Plazma-Optik Emisyon Spektrometrisi (HPLC-ICP-OES) ve Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi-İndüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometrisi (HPLC-ICP-MS)' dir.

HPLC tekniğindeki ilerlemeler ve ICP-MS in duyarlı bir elemente özgü dedektör olarak kullanılması farklı Se türlerini tayininde önemli ilerlemeler sağlanmasına yol açmıştır. HPLC' nin elektrosprey- MS ile destekleyen bu metotlar ise Se türlemede yeni moleküllerin tanımlanmasını sağladığı için hibrit metotların gücünü artırmaktadır. (Szpunar 2017).

Büyük moleküllü selenyum bileşiklerinin tayininde Boyutça Eleme Kromatografisi (SEC) kullanılmaktadır. SEC, ICP-MS ile birlikte kullanıldığı zaman molekül boyutu hakkında bilgi sunmaktadır. Düşük moleküllü selenyum tayinleri için ise farklı kromatografik yöntemler kullanılmaktadır (Daun 2004).

Ancak tayin adımından önce ek numuneye ayırma ve maskeleme yöntemleri uygulanarak, kromatografik yöntemlerden daha basit ve ucuz olan Soğuk Buhar Atomik Absorpsiyon Spektrometri (CVAAS), Soğuk Buhar Atomik Floresans Spektrometri (CVAFS) Soğuk Buhar Indüktif Eşleşmiş Plazma- Optik Emisyon Spektrometri (CV-ICP-OES) yöntemleri de elementel türleme için kullanılabilir (Türker 2013).

Elektrokimyasal metotlar kullanılan ilk analitik tekniklerdendir. Çözeltideki iyonik türleri metal türlerinden ayırmaktadır. Kromatografik ayırma tekniğinde ayrılması istenen türler kromatografik ünite boyunca ilerler ve dedektör elemente özgü sinyal vererek tayini yapılmaktadır (Szpunar vd., 2003). Atomik spektrometrik dedektörler yüksek duyarlılığa sahip olmasından dolayı yaygın kullanılmaktadır. Hibrit sistemlerde detektöre ilişkin en önemli hususlardan birisi de elemente özgü dedektörün mobil faz ile uyumluluğudur. Türleme analizinde bir diğer önemli husus ise örnek hazırlamadan analiz süresinin sonuna kadar geçen zamanda türlerin bozulmaması veya türlerin birbirine dönüşmemesidir. Deney basamaklarında türlerin orijinal formunu koruyacağı uygun ortam sağlanmalıdır (Yan vd., 2008; Dzurko vd., 2009).

1.7 Balıklarda Se Türlemesi

Birçok insan selenyum ihtiyacını tahıl, et ve balıktan karşılamaktadır. Selenyum biriktirme kapasitesi yüksek olduğundan dolayı balık selenyum açısından önemli bir besindir. İnsan beslenmesinde büyük önem taşıyan balıkta toplam selenyum tayininden ziyade selenyumun türlerinin tayini büyük önem taşımaktadır. Bunun sebebi organik ve inorganik selenyum türlerinin farklı etkilerinin olmasıdır. Selenyumun bazı kanser türlerine karşı koruma sağladığı bilinmektedir. Ancak yüksek konsantrasyonlarda toksik etki göstermektedir. Selenyumun inorganik formu yüksek derişimlerde insan sağlığını olumsuz yönde etkilemektedir. SeMet gibi organik türleri ise biyoyararlanım açısından önem taşımaktadır. Bu nedenle balıklarda selenyum türlemesi önem arz etmektedir.

Sunulan bu tezde de balıkta selenyum türlerinin orijinal formlarını koruyarak duyarlı tayini yapılmıştır. Türlerin birbirine dönüşmemesi ve kendi formunu koruyabilmesi için yumuşak şartlarda etkin ekstraksiyon yöntemi uygulanmıştır. Bu tezde balık örneklerinin mikrodalga yardımlı ekstraksiyonu yapılmış ve HPLC-ICP-MS ile güvenilir, hızlı ve duyarlı tayini yapılması hedeflenmiştir.

2 KAYNAK ÖZETLERİ

Daun ve arkadaşları 7 farklı hayvan türünün kasında selenyum türlerini tayin etmişlerdir. Bu çalışmada tavuk, hindi, ördek, kuzu, sığır, domuz ve deve kuşu etlerinin kas kısmı analiz edilmiştir. SEC-ICP-MS ile tayin yapılmıştır. Kuş cinsi olan tavuk, hindi, devekuşunda selenyum türleri yüksek oranda bulunmuştur (Daun 2004).

Hsieh ve diğerler gıda takviyelerinde selenyum bileşiklerinin tayinine yönelik çalışma yapmıştır. Selenyum tabletinin bir markasında γ-glutamyl-methyl-Se-cysteine tespit edilmiştir. Ekstraksiyonu mikrodalga yardımlı fırında 37˚C ve 30 dakika % 91 oranında ekstraksiyon verimi alınmıştır. Türleme metodu olarak HPLC-ICP-MS kullanılmıştır. Yöntem sertifikalı referans örnek olan buğday ununa da uygulanmış ve başarılı olunmuştur.

Hu ve arkadaşları serum örneğinde küçük moleküllü selenyum türlerinin tayinini yapmıştır. Anyon değişim kromatografi (AEC) kullanılmıştır. Bu çalışmada 7,5 dakikada 4 selenyum türü ayrılmıştır. Gözlenebilme sınırları sırasıyla SeCys, Se(IV), SeMet and Se(VI) için 0,34, 0,67, 1,38 and 0,63 μg/L' dir.

Bazı biyolojik dokulardaki selenyum türlerinin tayinine yönelik bir çalışma Moreno ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Boyutça eleme ve iyon değişim kromatografi ile ICP-MS tarafından gerçekleştirilmiştir. İnorganik selenyum olarak bilinen selenit, maya ve beyaz yoncada bulunurken (0,2-3 μg/g), selenat sadece mayada bulunmuştur (8 μg/g). Trimetilselenyum ise istiridye, midye, alabalık ve yoncada bulunmuştur (0,1-0,3 μg/g).

Selenyumca zenginleştirilmiş brokolinin kök, gövde ve meyve kısımlarında türleme analizi yapan Pedrero ve diğerleri enzimatik ekstraksiyon işleminden sonra hem boyutça eleme/iyon değişim kolon hem de anyon değişim kolon kullanarak analiz yapmıştır. LC-ICP-MS kullanılarak brokolinin kök kısmında bulunan en önemli türün Selenometiyonin (SeMet), meyve kısmında ise selenometilselenosistein (SeCys) bulunduğu ve insan beslenmesinde önemli bir selenoamino asit kaynağı olduğu vurgulanmıştır. Çalışmalar haşlanmış brokoliye de uygulandığı zaman

selenometilselenosisteinin ciddi derecede bozunduğu ortaya konulmuştur. Bu çalışmada gıda çeşitlerinin hazırlama esnasında (pişirme, haşlama vb.) tür istikrarı üzerine etkisini göstermeyi amaçlanmıştır (Pedrero 2007).

Tuna balığı ve midye numunelerinde HPLC-ICP-MS ile selenyum türleme analizi yapılmıştır. Türler proteaz enzimi kullanılarak enzimatik hidroliz ile ekstrakte edilmiştir. pH 2,8 ve 6,0' da fosfat tamponu ile çalışma yapılmıştır. Yöntem organik (trimetilselenyum, selenosistein, selenometiyonin and selenoetiyonin) ve inorganik (selenit and selenat) selenyum türleri için belirlenmekte olup sadece organik selenyum türleri tayin edilmiştir. Tuna balığı ve midyede trimetilselenyum iyonu ve selenometiyonin bulunmuştur. Selenyum geri kazanım %93-102 'dir (Quijano 2000).

Bir diğer çalışma da ise Japonya'daki deniz ürünlerinde selenyum tayini yapılmıştır. Yapılan çalışmada toplam selenyumun büyük bir kısmı okyanus balığının kasında bulunmuştur. Çeşitli balık türleri ve kabuklu deniz hayvanlarının yenilebilir kısımları incelenmiş ve en çok selenyum içeren türün ise alfonsino kası olduğu belirlenmiştir. Analizlerde Atomik Absorbsiyon Spektroskopi (AAS) kullanılmıştır. Pasifik ringa ve tekir balığının tuzlanmış yumurtalık ürünlerinde de yüksek selenyum miktarına rastlanmıştır (1,20-1,07 mg/kg). Diğer balık kaslarında ise selenyum miktarı 0,12 ile 0,77 mg/kg arasında farklılık göstermiştir (Yamashita 2013).

Biyolojik numuneler için selenyum türlerini ayıran bir başka çalışmada HPLC-ICP-MS kullanılmış ve 7 farklı selenyum türünü ayırmayı başarmışlardır. Bu ayırma işlemi 6 dakika kadar kısa sürede yapmayı başarmışlardır. Yüksek hassasiyete sahip bu yöntem biyolojik örneklerdeki küçük moleküllü selenyum türleri için ideal bir yöntem olduğu belirtilmiştir (Yu 2006).

3 MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Cihazlar

Örnek ekstraksiyon veya yakma işlemlerinde bir Start D model mikrodalga sistem kullanılmıştır (Milestone, Sorisole, Italy). Kütle ölçümleri bir Mettler Toledo XP6 hassas terazi ile alınmıştır. Toplam Se tayinleri 7700x model ICP-MS (Agilent, Tokyo, Japan) ile gerçekleştirilmiştir. Cihaz bir oktopol çarpışma/reaksiyon hücresi ve bir CETAC ASX-520 model oto örnekleyici (Omaha, Nebraska, USA) içermektedir. ICP-MS çalışma şartları sıklıkla optimize edilmiştir. Çöktürme işlemleri bir Sigma 3-16L model santrifüj ile yürütülmüştür (New Delhi, India).

3.2 Kimyasallar

Se(IV) ve Se(VI) standartlarının hazırlanmasında sırasıyla sodyum selenit ve sodyum selenat tuzları, selenometiyonin (SeMet) standardı için ise selenometiyonin klorür tuzu (Sigma- Aldrich, USA) kullanılmıştır. Nitrik asit, hidroklorik asit ve metanol Merck firmasından temin edilmiştir (Darmstadt, Germany). Mobil faz çözeltileri, pH tamponları, hidrojen peroksit ve diğer kimyasallar Sigma marka kullanılmıştır (Sigma-Aldrich, USA). Yüksek saflıkta (99,999%) argon ve helyum Ankara Gaz firmasından (Ankara, Turkey) temin edilmiştir. Ultra saf su, Milli-Q sistem (Billerica, MA, USA) üzerinden üretilmiştir. Tüm cam ve plastik malzemeler, gün aşırı 10%'luk HNO_3 çözeltisine yatırılmış ve deiyonize su ile durulanarak kullanılmıştır.

3.3 Örneklerin Hazırlaması

Sazan balığı (*Cyprinus carpio*) örnekleri Çankırı Halk Pazarı'ndan temin edildi. Balık örneklerinin dış yüzeyi deiyonize su ile temizlendikten sonra kılçık, yüzgeçler, deri ve iç organlar ayrıldı ve yenilebilir kas dokusu kısımları bir araya getirilerek homojenize

edildi. Örnekler 48 saat boyunca 40 °C sıcaklıkta etüv içerisinde tutularak kurutuldu. Yaş ve kuru ağırlıkları tartılarak nem oranları hesaplandı (Ortiz vd., 2002). Kurutulan örnekler agat havanda küçük parçalara ayrılarak analize kadar -20 °C sıcaklıkta saklandı.

Sertifikalı doku örnekleri olan SELM-1 (Selenium enriched yeast) ve DORM-2 (Dogfish muscle) ise herhangi bir ön işleme tabi tutulmaksızın kullanıldı.

3.4 Toplam Selenyum Tayini

Kurutulmuş balık örneklerinden hassas tartım ile alınan yaklaşık 200 mg örnek mikrodalga kaplara alınarak üzerine 7,0 mL derişik HNO_3 ve 1,0 mL H_2O_2 eklendi. Mikrodalga programı aşağıdaki tabloda belirtilen şekilde uygulandı (Çizelge 3.1). Mikrodalga kapları oda sıcaklığına kadar soğutulduktan sonra açılarak toplam örnek hacmi 50,00 mL olacak şekilde seyreltildi. Selenyum derişimleri Çizelge 3.2'de verilen koşullarda ICP-MS ile tayin edildi. Aynı şartlarda elde edilen bir çözelti ise şahit örnek olarak hazırlandı.

Çizelge 3.1 Toplam Se tayini için mikrodalga sıcaklık programı

Süre (min)	**Sıcaklık (°C)**
0	Oda sıcaklığı
15	200
30	200
30-45	Vantilasyon

Çizelge 3.2 ICP-MS çalışma şartları

Plasma şartları	
Plazma gücü, W	1550
Plazma gaz hızı, L/min	15
Taşıyıcı gaz akış hızı, mL/min	1,02
Kon mesafesi, mm	9
Örnek çekme hızı, mL/min	0,3
Konlar	Nikel
Nebulizer	Micromist
Çarpışma hücresi şartları	
He akış hızı, mL/min	3,5
Octopole potansiyeli, V	-18
Kuadrupol potansiyeli, V	-15
Data toplama şartları	
Data toplama modu	Sıralı
Integrasyon süresi, ms	100
Pik örneklemi (points per peak)	Full
Tekrar sayısı	3

3.5 Kromatografik Metotların Optimize Edilmesi

HPLC-ICP-MS hibrit sistemi kromatografi kolonu çıkışının bir PEEK (polieter eterketon) kılcal boru yardımı ile ICP-MS cihazının sisleştirme ünitesine doğrudan bağlanması ile oluşturulmuştur (Döker vd., 2010; Döker ve Boşgelmez, 2015). Kromatogramların oluşturulmasında Microsoft Excel programı kullanılmıştır. Sisteme ilişkin genel tanımlar Çizelge 3.2'de belirtilmektedir.

Selenyum türlerinin kromatografik ayrımı için türlerin kromatografik davranışları incelendi. Bu amaçla Se türlerine ait standartlar ayrı ayrı ve çoklu karışım halinde hazırlandı ve HPLC-ICP MS hibrit sistem ile ayrılmaya çalışıldı. Farklı sulu mobil fazlar için çözelti pH'sı, mobil faz bileşen türü ve derişimi, organik bileşen miktarları

(metanol) değiştirilerek elde edilen kromatogramlar kaydedildi.

Selenyum stok çözeltileri 1000 mg/L derişimde hazırlandı ve +4 °C sıcaklıkta karanlıkta muhafaza edildi. Çalışma çözeltileri ve standartlar günlük hazırlandı, seyreltme işlemlerinde mobil faz çözeltisi kullanılmıştır. Fazların metanol içerikleri, pH'ları ve mobil faz içerisindeki maddelerin derişimleri hedef analitlerin kimyası göz önünde bulundurularak değiştirildi. Kullanılan kimyasalların en yüksek saflıkta kullanılmasına özen gösterildi.

Sabit faz olarak, 250x4,1 mm ebatında 10 mikron tanecik boyutuna sahip bir PRP-X100 analitik kolon kullanılmıştır. Mobil fazlar dörtlü pompaya sahip HPLC sistemden istenilen oranlarda karıştırılarak oda sıcaklığında (20-23 °C) tutulan kolona verilmiştir. Enjeksiyonlar otomatik örnekleyici vasıtası ile yapılmıştır.

ICP-MS sistem parametreleri sıklıkla ayarlanmış ve ayarlamada oksit ve iki yüklü iyonların oranları, sinyal şiddeti (intensite) ve çok elementli türlerden kaynaklanan olası girişimler takip edilmiştir. Se derişimi ^{78}Se izotop sinyali üzerinden izlenmiş ve kaydedilmiştir. Mobil faz içerisine uygun oranlarda organik çözelti eklenmiş ve sinyal şiddetini iyileştirmesi nedeniyle bu oran çalışılmıştır.

Selenyum türleri olarak Se(IV), Se(VI), SeMet (Selenit, selenat, selenometiyonin) olmak üzere üç bileşik kullanılmıştır. Bu üç türün seçilmesinin nedeni bu bileşiklerin balıklarda en fazla görülen Se türleri olmasıdır. Kromotogramlarda sol dikey eksende daima Se sinyal şiddeti, cps (count per second) cinsinden belirtilmiştir. Kromatogramların elde edildiği deneysel şartlar şekil altlarında ayrıntılı olarak verilmiştir. Şekil altlarındaki yazılarda bir önceki deneye göre değiştirilmiş olan şartlar kalın (bold) harflerle yazılmıştır. Farklı Se türlerine ilişkin derişimler ifade edilirken bileşikte yer alan Se bakımından derişimler verilmiştir.

3.6 Selenyum Türlerinin Ekstraksiyonu

Ekstraksiyon deneylerinde 100 mg liyofilize doku üzerine 20 mg Pronase E ve 10 mg Lipaz enzimi içeren 0,1M Tris-HCl tamponundan (pH:7,5) 4,0 mL eklenerek aşağıdaki şartlar uygulanmıştır. Her iki enzimin optimum çalışma sıcaklığı 37 °C olduğu için sıcaklık bu değerde sabit tutulmuştur.

A) Su banyosunda 10 dakika sonikasyon
B) Su banyosunda 20 dakika sonikasyon
C) Su banyosunda 10 dakika sonikasyon
D) 10 dakika mikrodalga yardımlı ekstraksiyon
E) 20 dakika mikrodalga yardımlı ekstraksiyon
F) 10 dakika mikrodalga yardımlı ekstraksiyon
G) Çalkalayıcı içerisinde 24 saat süreli ekstraksiyon

Enzimatik işlem sonunda örnekler 6000 x g gravitasyon değerinde 10 dakika santrifuj edilerek önce 10 kDa moleküler ağırlıklı süzekten (cut-off) süzülmüştür. Ekstraktlarının bir kısmı toplam miktarın tayini için kullanılmıştır. Çözünürleştirme işleminde 400 µL örnek üzerine 400 µL HNO_3 (%70, Ultrapur saflıkta) ve 400 µL H_2O_2 (%30, Ultrapur saflıkta) eklenerek 60 °C sıcaklıktaki su banyosunda 4 saatlik ısıtma yapılmıştır. Çözünürleştirilen ekstraktlara Se derişimleri tayin edilmiştir.

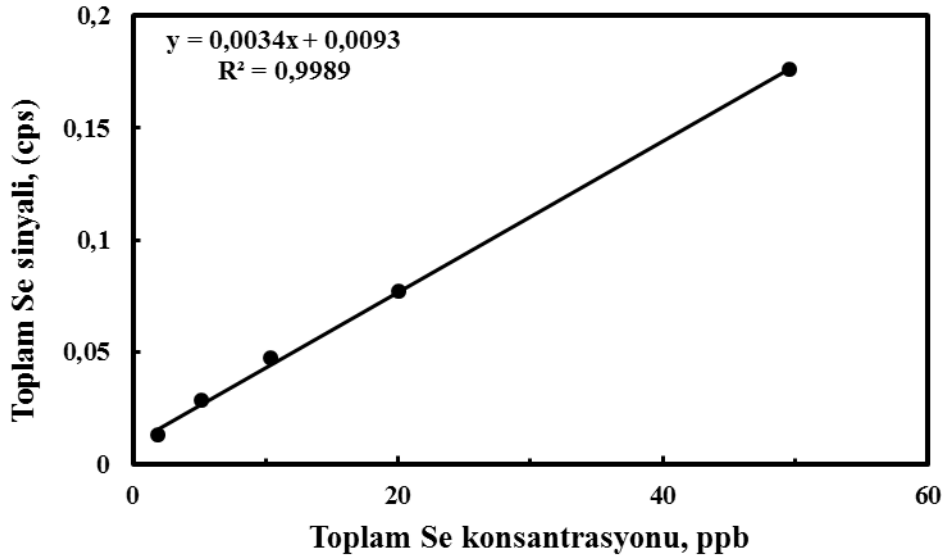
4 BULGULAR

4.1 Toplam Selenyum Tayini

Toplam Se düzeylerine ilişkin analizler öncelikle DORM-2 (Dogfish muscle) ve SELM-1 (Selenium enriched yeast) sertifikalı referans örneklere uygulanmıştır. Analizler mikrodalga yardımlı çözünürleştirme işlemi sonrasında ICP-MS ile yapılmış ve toplam selenyum tayinlerine ilişkin metot sonuçların doğruluğu açısından karşılaştırılmıştır.

Sertifikalı referans örneklere toplam Se tayini için yöntem kısmında tarif edilen mikrodalga yardımlı asidik çözünürleştirme yöntemi uygulandı. Örneklere uygulanan seyreltme işleminden sonra ICP-MS ile analiz edildi. Balık örnekleri için de kurutulmuş örnekler aynı şekilde muamele edildi.

Şekil 4.1'de Se için oluşturulan kalibrasyon grafiği ve grafiğe ilişkin doğru denklemi ve doğruluk sabiti (R) değerleri ile birlikte görülmektedir. Nicel çalışma grafiği oldukça doğrusal bir tarzda elde edilmiştir ve korelasyon sabitleri 0,99'dan büyüktür. Kalibrasyon grafiklerinin oluşturulmasında iç standart kullanıldığında plazma dalgalanmaları gibi sinyal şiddetine olan etkiler azaltılabilmektedir. Bu nedenle Se için kalibrasyon grafikleri oluşturulurken germanyum (^{72}Ge) iç standart olarak kullanılmıştır. Şekil 4.1'deki grafikte y ekseni analite ait sinyal şiddetinin iç standardın sinyal şiddetine oranını göstermektedir.



Şekil 4.1 Toplam Se için oluşturulan kalibrasyon grafiği

Çizelge 4.1'de CRM örneklerine uygulanan toplam Se tayinlerinde elde edilen sonuçlar görülmektedir. Tayin edilen toplam Se değerleri sertifikalı değerler ile büyük bir uyum içerisinde olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.1 Sertifikalı referans örneklerde (DORM-2 ve SELM-1) toplam selenyum tayini

	Selenyum	
	Sertifika değeri	[a] Bulunan değer
	($\mu g\ g^{-1}$)	($\mu g\ g^{-1}$)
DORM-2	1,40±0,09	1,34±0,07
SELM-1	2059±64	1991±75

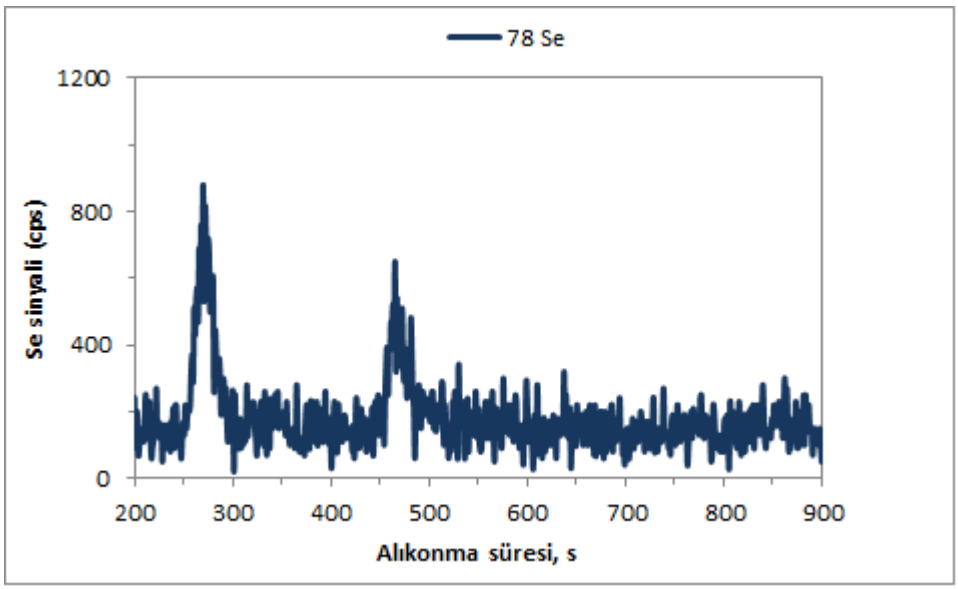
[a] değerler ortalama ± standart sapma şeklinde ifade edilmiştir (n=3)

4.2 Kromatografik Şartların Belirlenmesi

Aşağıdaki şekillerde selenyum standartlarının (selenit, selenat ve SeMet) PRP X-100 anyon değişim kolonu ile ayrımına ilişkin basamaklar ve kaydedilen kromatogramlar

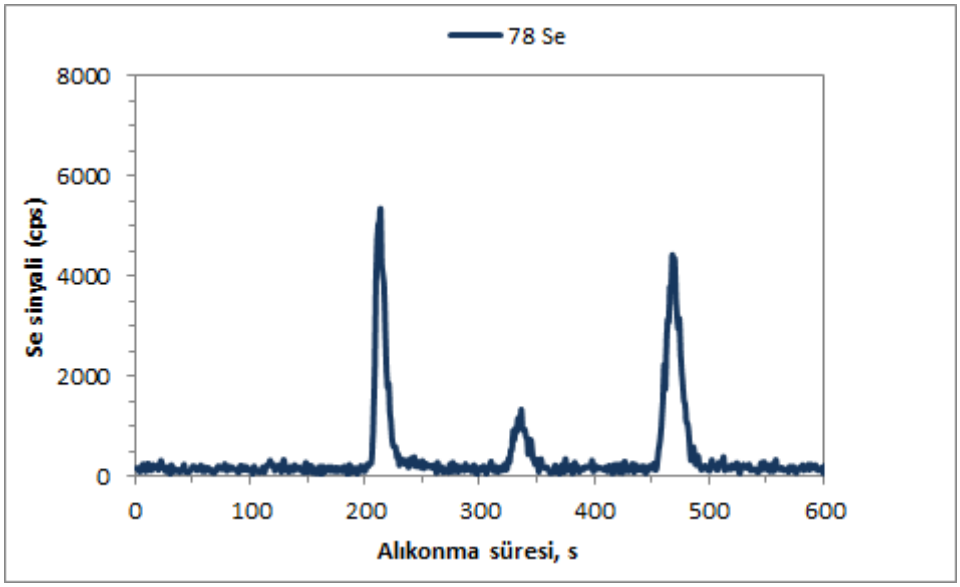
görülmektedir. Şekil 4.2 ve 4.3'de %2,0 metanol içeren 5,0 mM amonyum sitrat tamponunun pH değerleri sırasıyla 3,7 ve 8,0 olduğu durumda elde edilen kromatogramları göstermektedir.

İlk kromatogramda sisteme enjekte edilen model çözelti üç farklı Se türü içermesine rağmen, elde edilen kromatogramda yalnızca iki adet pik görülmektedir (Şekil 4.2).



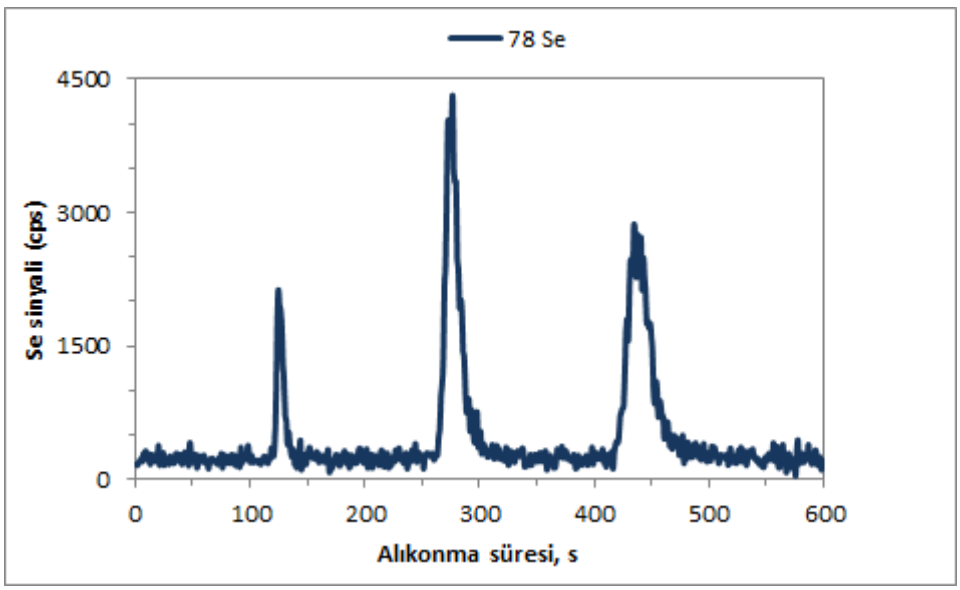
Şekil 4.2 Se standartlarını içeren karışıma ait kromatogram. Mobil faz: 5,0 mM amonyum sitrat, pH=3,7, %2,0 metanol; Akış hızı: 1,0 mL/min; Enjeksiyon hacmi: 50 µL.

Mobil faz pH 'sının 8,0'e çıkarılmasıyla birlikte her üç pik ayrılabilmiştir (Şekil 4.3). Bu davranışın negatif yüklü Se türlerinin kolonla etkileşiminin artması ve piklerin çözünürlüğünde iyileşme sağlandığından kaynaklandığı ifade edilebilir. Ayrıca, pH=8,0 deki kromatogramda piklerin daha keskin olması göze çarpmaktadır. Tekli standartların enjeksiyonu ve alıkonma sürelerinin eşleştirilmesiyle, Se türlerinin elüsyon sırası SeMet, selenit ve selenat olarak belirtilmiştir.

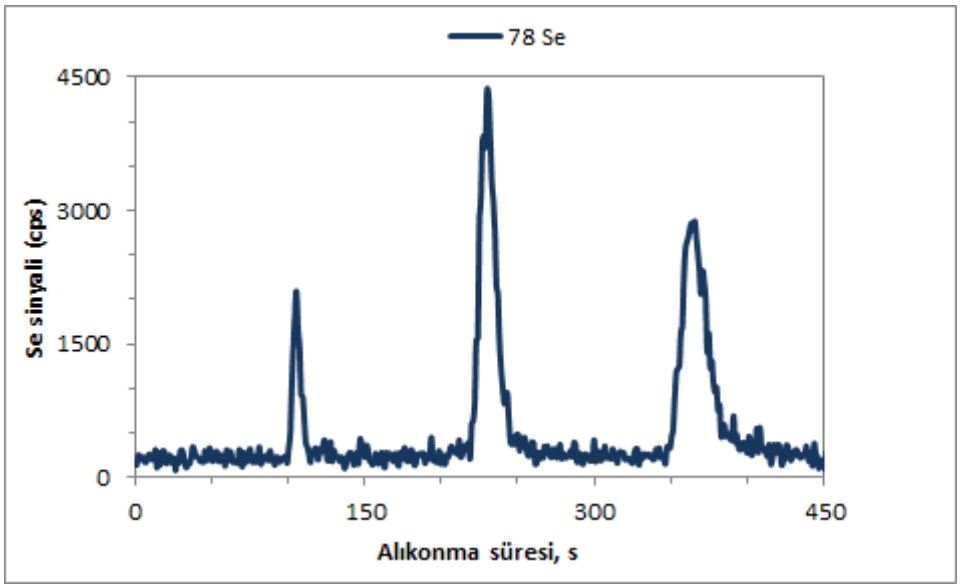


Şekil 4.3 Se standartlarını içeren karışıma ait kromatogram. Mobil faz: 5,0 mM amonyum sitrat, pH=8,0, %2,0 metanol; Akışhızı: 1,0 mL/min; Enjeksiyon hacmi: 50 µL.

Belirlenen şartları korumak suretiyle akış hızının artırılması analiz süresinin kısalmasını sağlayabileceği için, akış hızlarında optimizasyon çalışması yapılmıştır. Akış hızıın sırasıyla 1,1 ve 1,2 mL/min ya çıkarılması (Şekil 4.4 ve Şekil 4.5) toplam analiz süresinin yaklaşık 7-8 dakika civarlarına çekilebilmesini sağlamıştır.



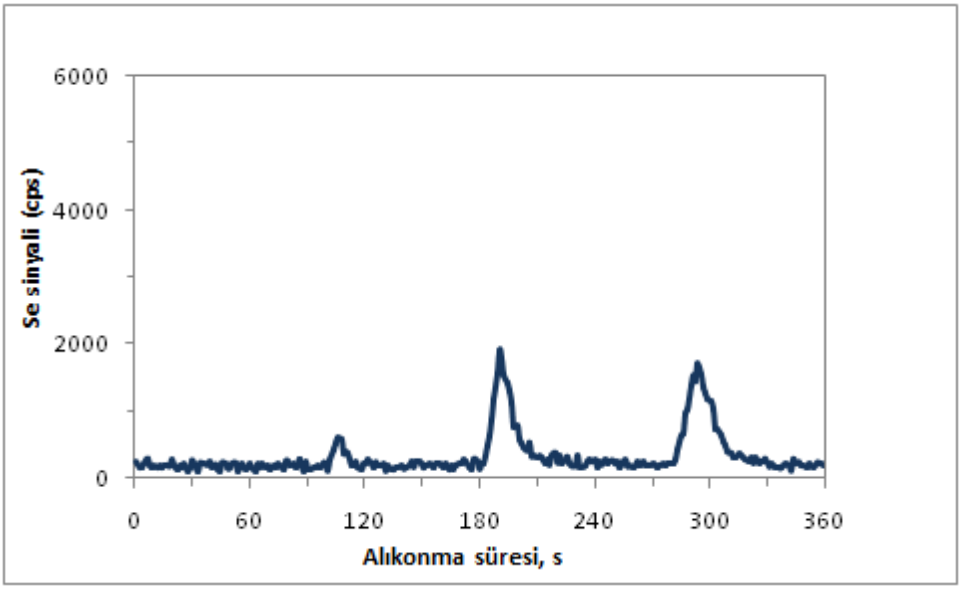
Şekil 4.4 Se standartlarını içeren karışıma ait kromatogram. Mobil faz: 5 mM amonyum sitrat, pH=8,0, %2,0 metanol; Akışhızı:1,1 mL/min; Enjeksiyon hacmi:50 µL



Şekil 4.5 Se(IV), Se(VI) ve SeMet standartlarını içeren karışıma ait kromatogram. Mobil faz: 5 mM amonyum sitrat, %2,0 metanol, pH=8,0; Akışhızı: 1,2 mL/min; Enjeksiyon hacmi: 50 µL.

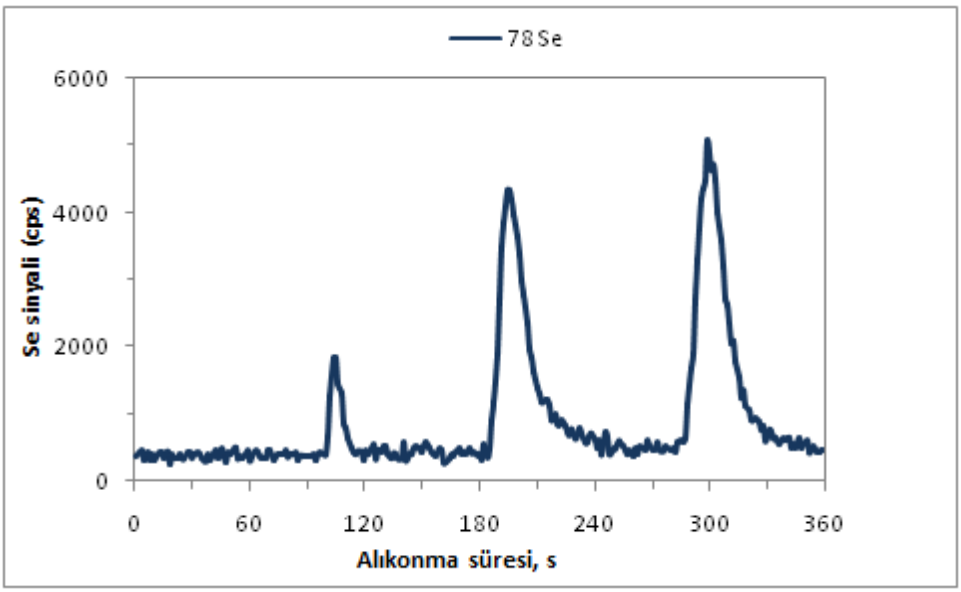
ICP-MS analizlerinde organik bileşenlerin sisleşme verimini artırdığı, ayrıca Se gibi iyonlaşma enerjisi yüksek elementlerin iyon oluşturmasını artırdığı bilinmektedir. Bu nedenle mobil faz içerisine belirli oranda organik madde katılması faydalı olabilmektedir.

Şekil 4.6'daki kromatogramda piklerin şiddetinde belirgin bir azalma olduğu görülmektedir. Bu durum mobil faz metanol içeriğinin başlangıçta %2,0 iken, sıfıra düşürülmesinden kaynaklanmaktadır. Bununla birlikte metanolün yalnızca Se sinyal şiddetini artırdığını, pik alıkonma sürelerinde bir değişime neden olmadığı gözlemlenmiştir. Şekil 4.6'teki kromatogramda görülen ayırım süresindeki azalma ise pH değerinin 9,5 değerine yükseltilmesinden kaynaklanmaktadır. Bu nedenle, %3,0'lük metanol oranı ile daha iyi bir sinyal şiddeti elde edilmiştir (Şekil 4.7). Daha yüksek metanol oranlarında kayda değer bir şiddet artışı görülmediğinden dolayı metanol oranının bu seviyede tutulması uygun bulunmuştur.



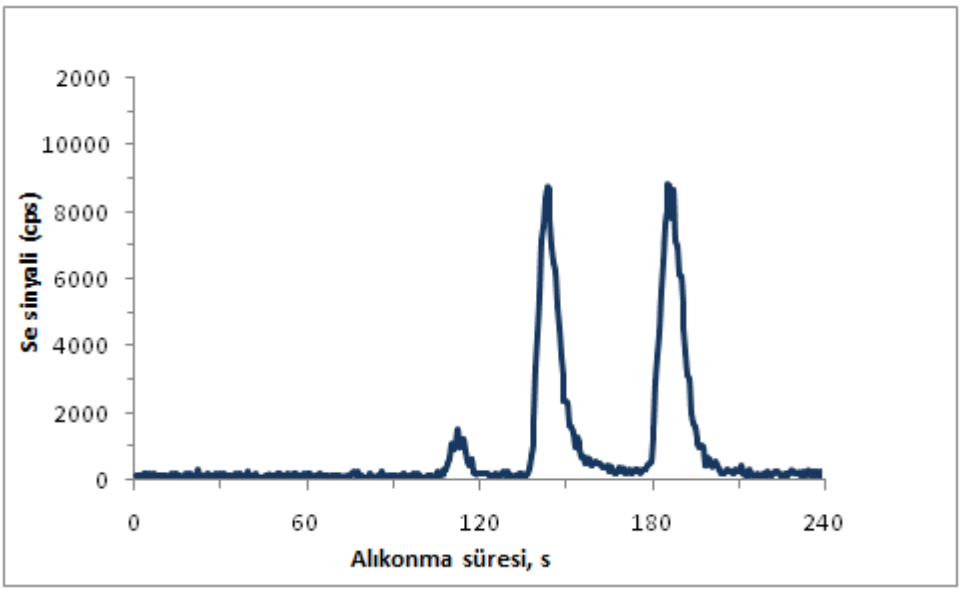
Şekil 4.6 Se (IV), Se(VI) ve SeMet standartlarını içeren karışıma ait kromatogram. Mobil faz: 5 mM amonyum sitrat, pH:9,5, %0,0 metanol; Akışhızı: 1,2 mL/min; Enjeksiyon hacmi: 50 µL

Şekil 4.6'da pH değerinin 9,5 yapılmasıyla toplam analiz süresinin 6 dakikanın altına düştüğü görülmektedir. Mobil faz pH'sındaki artış ile analitler üzerindeki negatif yükle birlikte kolonla etkileşimin kuvvetlenmesi ve alıkonma sürelerinin artması beklenebilir. Ancak diğer taraftan hidroksil iyonları sabit fazdaki pozitif yükler için yarışarak türlerin elüsyonunu hızlandırmıştır diyebiliriz.

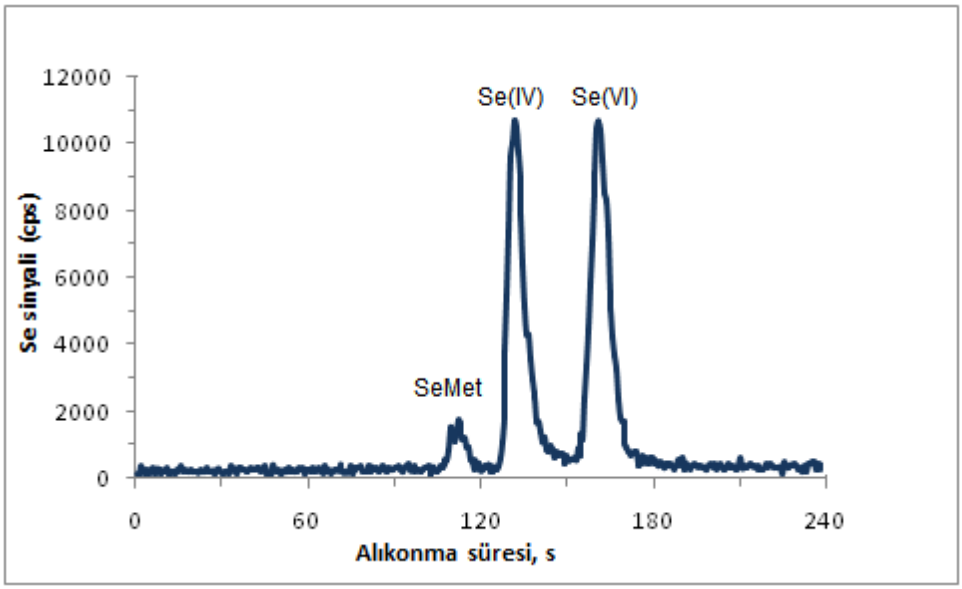


Şekil 4.7 Se(IV), Se(VI) ve SeMet standartlarını içeren karışıma ait kromatogram. Mobil faz: 5 mM amonyum sitrat, pH=9,5, %3,0 metanol; Akışhızı: 1,2 mL/min; Enjeksiyon hacmi: 50 µL

Şekil 4.8 ve Şekil 4.9'da sırasıyla 50,0 ve 100,0 mM amonyum sitrat içeren mobil faz çözeltileri kullanıldığı durumlarda elde edilen kromatogramlar yer almaktadır.



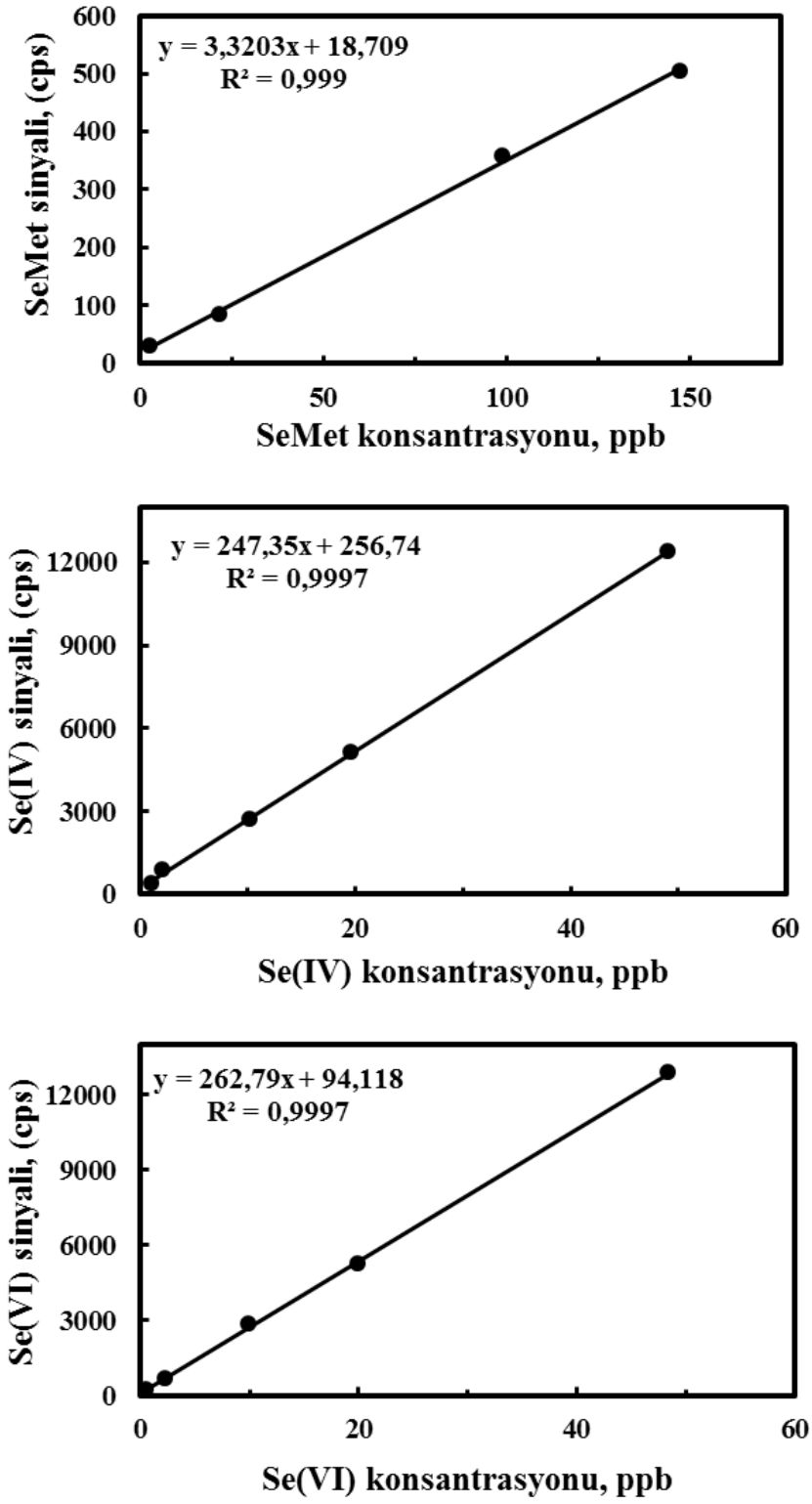
Şekil 4.8 Se(IV), Se(VI) ve SeMet standartlarını içeren karışıma ait kromatogram. Mobil faz: 50 mM amonyum sitrat, pH=9,5, %3,0 metanol; Enjeksiyon hacmi: 50 µL; Akışhızı: 1,2 mL/min.



Şekil 4.9 Se(IV), Se(VI) ve SeMet standartlarını içeren karışıma ait kromatogram. Mobil faz: 100 mM amonyum sitrat, pH=9,5, %3,0 metanol; Akışhızı: 1,2 mL/min; Enjeksiyon hacmi: 50 µL.

Son iki kromatogramda amonyum sitrat derişimi, pH ve organik bileşen oranı değerlerinin uygun şekilde ayarlanması sonucu toplam ayırma süresinin üç dakikanın altına indiği görülmektedir. Elde edilen son şartlarda gerek zaman kazanma gerekse ekonomik açısından avantaj elde edilmiştir. Böylece Se türlerinin net olarak ve zemin sinyali seviyesinde ayrıldığı (R>1,0) ve ilgili türlerin de kantitatif analizine imkan veren bir anyon değişim kromatografi metodu kullanılmıştır.

Anyon değişim kromatografik metotla elde edilen Se türlerine ait kalibrasyon grafikleri Şekil 4.10'da görülmektedir. Anyon değişim kromatografi için nihai şartları Şekil 4.9'un açıklamasında belirtilmektedir. Se türlerinin elüsyon sırası tekli standartların enjeksiyonu ve alıkonma sürelerinin eşleştirilmesiyle SeMet, selenit ve selenat olarak belirlenmiştir (Şekil 4.9). Toplam Se, SeMet, Se(IV) ve Se(VI) tayini için elde edilen analitiksel parametreler Çizelge 4.2'de verilmiştir.



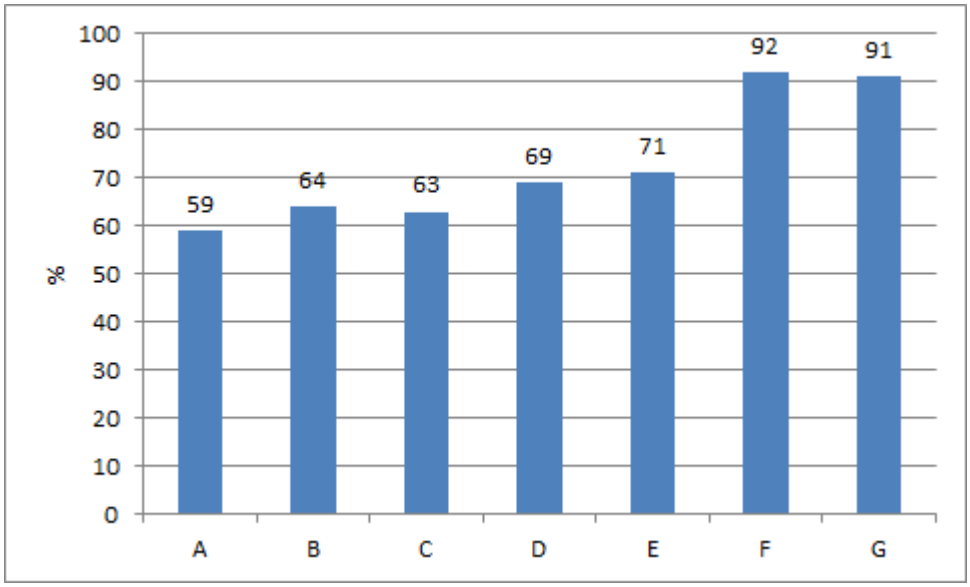
Şekil 4.10 Anyon değişim kromatografik metotla elde edilmiş Se türlerine ait kalibrasyon grafikleri. Mobil faz: 100,0 mM amonyum sitrat, pH=9,5, %3 metanol; Akışhızı: 1,2 mL/min; Enjeksiyon hacmi: 50 µL

Çizelge 4.2 Toplam Se, SeMet, Se(IV) ve Se(VI) tayini için elde edilen analitiksel parametreler

	Toplam Se	SeMet	Se(IV)	Se(VI)
Gözlemlenebilme sınırı (ppb)	8,27	16,90	3,11	1,07
Tayin sınırı (ppb)	27,56	56,35	10,38	3,58
Doğrusal aralık (ppb)	27,56-49,6	56,35-147,62	10,38-49,12	3,58-48,42
Duyarlık (sinyal.ppb^{-1})	3,37x10^{-3}	3,32	247,35	262,79
RSD (%)	1,91	2,21	0,94	1,01

DORM-2 (Dogfish muscle) örneği için uygulanan yedi farklı enzimatik ekstraksiyon metodu sonunda ulaşılan ekstraksiyon verimleri Şekil 4.11'de görülmektedir. Su banyosunda yürütülen ekstraksiyon metolarında (Metot A, B ve C) ekstraksiyon süresinin ve sayısının Se verimi üzerinde önemli bir artış ortaya koyamamıştır ve Se verimi en fazla %63 değerine ulaşabilmiştir.

Sonikasyon metotlarına nazaran mikrodalga yardımlı ekstraksiyonlarda (Metot C, D ve E) genel olarak daha yüksek verimler elde edilmiştir. Ekstraksiyon süresinin uzatılması Se geri kazanımını artırıcı bir etki göstermemiştir. Bunun yanında iki tekrarlı işlem sonucunda ekstraksiyon veriminde önemli bir artış gözlemlenmiş ve Se ekstraksiyon verimi %92 olarak belirlenmiştir.

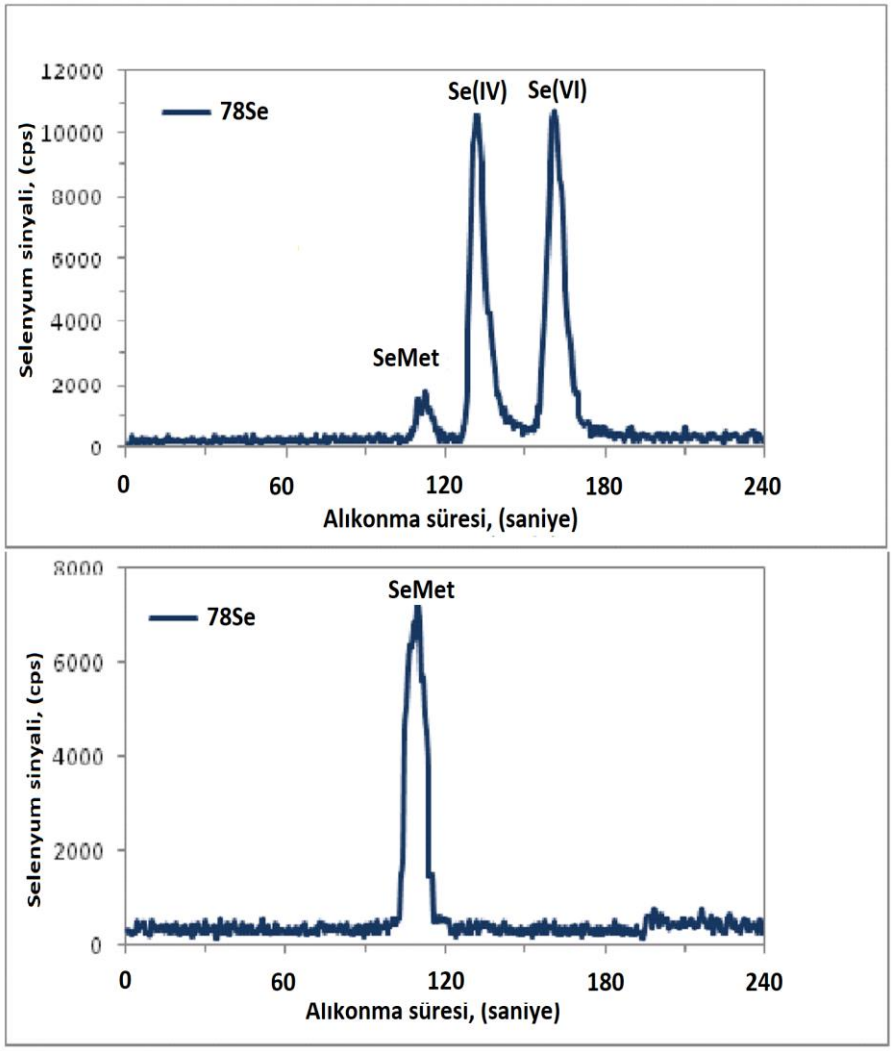


Şekil 4.11 DORM-2 sertifikalı referans örneği için enzimatik ekstraksiyon verimleri. A) su banyosunda 10 dakika sonikasyon; B) su banyosunda 20 dakika sonikasyon; C) su banyosunda 10 dakika sonikasyon; D) 10 dakika mikrodalga yardımlı ekstraksiyon; E) 20 dakika mikrodalga yardımlı ekstraksiyon; F) 10 dakika mikrodalga yardımlı ekstraksiyon; G) çalkalayıcı içerisinde 24 saat süreli ekstraksiyon. Verilen sonuçlar iki değerin ortalaması olup, sonuçların bağıl standart sapmaları %7'nin altında bulunmuştur.

Toplam Se içeriği sertifikalı diğer bir referans örnek olan SELM-1 için elde edilen ekstraksiyon veriminin %96 olarak hesaplanmıştır. SELM-1 için ekstraksiyon metodu olarak deneylerde en yüksek verimin elde edildiği Metot F (10 dakika süreli mikrodalga yardımlı ekstraksiyon) ugulanmıştır. DORM-2 örneğine SELM-1 için daha yüksek Se verimi elde edilmesi ekstraksiyon veriminin örnek matriksine doğrudan bağlı olmasından kaynaklanmaktadır (Pedrero ve Madrid, 2009).

4.3 Metodun Balık Örneklerine Uygulanması

Geliştirilen metot gerçek örneklere uygulanırken Çankırı ve çevresinde tüketimi yapılan ve Kızılırmak nehrinden tutulan sazan balığı (*Cyprinus carpio*) örnekleri kullanılmıştır. Analize hazırlanan örnekler kurutma işlemlerinden önce ve sonra tartılmış ve nem oranları %76 olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.12 Se türlerini içeren standartların karışıma ait kromatogram (üstte) ve sazan ekstraktına ait kromatogram (altta). Mobil faz: 100 mM amonyum sitrat, pH=9,5, %3,0 metanol; Akışhızı: 1,2 mL/min; Enjeksiyon hacmi: 50 µL

Enzimatik ekstraktın oluşturulan hibrit sisteme enjekte edilmesiyle elde edilen kromatogram Şekil 4.12'de görülmektedir. Türleme analizlerinde piklerin tanımlanması en başta alıkonma sürelerinin, standartların alıkonma süreleri ile karşılaştırılmasıyla yapılmaktadır. Balık örneğinden elde edilen ekstrakta ait kromatogramda bir adet Se türü görülmektedir ki bu tür SeMet standardının alıkonma süresi ile bire bir örtüşmektedir. Balıkta Se türlemesine ilişkin çalışmaların birçoğunda SeMet ana Se türü olarak karşımıza çıkmaktadır.

Çizelge 4.3'de ise sazan örneği için elde edilen toplam Se ve SeMet derişimleri ile ekstraksiyon verimliliğine ilişkin değerler görülmektedir.

Çizelge 4.3 Sazan balığı örneği için elde edilen toplam Se ve SeMet derişimleri (n=3)

Toplam Se, µgSe/g	0,561±0,020
Ekstraktta Toplam Se, µgSe/g	0,516±0,019
Ekstraksiyon verimi, %	92
SeMet, µgSe/g [a]	0,513±0,063
Dokudaki % SeMet, [b]	99

a) SeMet yüzdesi SeMet yapısındaki Se miktarını belirtmektedir.

b) SeMet yüzdesi SeMet yapısındaki Se miktarının ekstrakttaki toplam Se miktarına oranlanmasıyla hesaplanmıştır.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

İnsan yaşamı için esansiyel elementler arasında yer alan selenyum, balıkta önemli düzeylerde bulunduğundan dolayı önemli bir Se kaynağıdır. Diğer taraftan selenyumun aşırı düzeyde vücuda alınması toksik etkiler oluşturmaktadır. Bu nedenle balık örneklerinde toplam Se düzeylerinin güvenilir tayini hayati önem taşımaktadır. Ancak selenyum tayininde daha ilgi çekici olan konu, toplam Se düzeyinin kantitatif analizinden ziyade, Se içeren moleküler türlerin eş zamanlı ve bireysel tayinidir. Bu analiz selenyum elementinin bulunduğu ortama bağlı olarak oluşacak elementel türler ve bu elementel türlerin kimyasal yapıları ile ilgilidir. Bunun nedeni farklı moleküler formlardaki Se türlerinin gerek toksisite gerekse biyoyararlanım açısından farklı potansiyellere sahip olmalarıdır.

Yapılan tez çalışmasında balık örneklerinde selenyum türlemesine yönelik kolay uygulanabilir, hızlı, ekonomik ve çevreci bir metot kullanılmıştır. Metot, örneklerdeki selenyum türlerinin mikrodalga-yardımlı ekstraksiyonunun ardından hibrit HPLC-ICP-MS sistemle tayinine dayanmaktadır. Bu metot, balık örneklerinin yanında diğer gıdaların elementel türleme analizlerine uyarlanabilir olması yönüyle önem taşımakta ve bu alandaki analizlerin gerçekleştirildiği laboratuvarlarda kullanılabilme potansiyeli taşımaktadır.

KAYNAKLAR

Aras, N.K. and Ataman, O.Y. 2006. Trace Element Analysis Of Food And Diet. The Royal Society Of Chemistry, 362 P., UK.

Ayaşan, T., Baylan, M., 2011. Çiftlik Hayvanlarının Beslenmesinde Organik Selenyumun Önemi, Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 6 (1), 34-43.

Bendahl, L., Gammelgaard, B. 2004. Separation Of Selenium Compounds By CE-ICP-MS İn Dynamically Coated Capillaries Applied To Selenized Yeast Samples. Journal Of Analytical Atomic Spectrometry. 19; 143-148.

Cabareno, A.I., Madrid, Y., Camara, C. 2005. Effect Of Animal Feed Enriched With Se And Clays On Hg Bioaccumulation In Chickens: In Vivo Experimental Study. Journal Of Agricultural And Food Chemistry. 53; 2125-2132.

Daun, C., Lundh, T., Önning, G., Akessson, B. 2004. Separation Of Soluble Selenium Compounds İn Muscle From Seven Animal Species Using Size Exclusion Chromatography And İnductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. Journal Of Analytical Atomic Spectrometry. 19;129-134.

Deveci, T. 2012. Gaziantep'te Atık Sulardan Etkilenen Toprak Ve Bitkilerde Eser Element (Cu, Co, Mn Ve Zn) Ve Fe Konsantrasyonlarının ICP-MS İle Tayini. Kilis 7 Aralık Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kilis.

Döker, S., Mounicou, S., Doğan, M., Lobinski, R. 2010. Probing The Metal-Homeostatis Effects Of The Administration Of Chromium(Vi) To Mice By ICP MS And Size-Exclusion Chromatography-ICP MS. Metallomics. 2; 549-555.

Döker, S., Boşgelmez, İ. 2015. Rapid Extraction And Reverse Phase-Liquid Chromatographic Separation Of Mercury (II) And Methylmercury İn Fish Samples With Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometric Detection Applying Oxygen Addition İnto Plasma. Food Chemistry, 184; 147-53.

Dzurko, M., Foucher, D. Hintelmann, H. 2009. Determination Of Compound-Specific Hg İsotope Ratios From Transient Signals Using Gas Chromatography Coupled To Multicollector İnductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (MC-ICP/MS). Analytical And Bioanalytical Chemistry, 393; 345–355.

Ebdon, L., Pitts, L., Cornelis, R., Crews, H. O.F.X. Donard, P. Quevauviller, (Eds.), Trace Element Speciation For Environment, Food And Health, Cambridge: The Royal Society Of Chemistry, Cambridge 2001, 232-240.

Hsieh, Y.J., Jiang, S.J. 2013. Determination Of Selenium Compounds İn Food Supplements Using Reversed-Phase Liquid Chromatography–İnductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. Microchemical Journal. 110; 1-7.

Hu, L., Dong, Z., Lı, Y.F., Qu. L.Y., Wang, G.P., Gao, Y.X., Chen, C.Y. 2011. Analysis Of Small Molecular Selenium Species İn Serum Samples From Mercury-Exposed People Supplemented With Selenium-Enriched Yeast By Anion Exchange-Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. Chinese Journal Of Analytical Chemistry. 39;466-470.

Kayaalp, Y. 2012. Saroz Körfezi Bazı Balık Türlerinde Selenyumun Hidrür Oluşturmalı Atomik Absorpsiyon Ve Grafit Fırın Atomik Absorpsiyon Spektrometre İle Tayini, Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne.

Misra, S., Peak, D., Chen, N., Hamilton, C., Niyogi, S. 2012. Tissue-Specific Accumulation And Speciation Of Selenium İn Rainbow Trout (Oncorhynchus Mykiss) Exposed To Elevated Dietary Selenomethionine. Comparative Biochemistry And Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology. 155; 560-565.

Moreno, P., Quijano, M.A., Gutierrez, A.M., Perez-Conde, M.C., Camara, C. 2001. Fractionation Studies Of Selenium Compounds From Oysters, And Their Determination By High-Performance Liquid Chromatography Coupled To İnductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. Journal Of Analytical Atomic Spectrometry. 9;1044-1050.

Namiesnik, J. 2002. Trace Analysis-Challenges And Problems. Critical Reviews İn Analytical Chemistry, 32(4); 271–300.

Orak, E., Yanardağ, R., Orak, H. 2000. Selenyum Ve Kalp Hastalıkları İle İlişkisi, Türk Kardiyoloji Derneği Arşivi. 28; 230-238.

Pedrero, Z., Encinar, R., Yolanda, M., Camara, C. 2007. Application Of Species-Specific İsotope Dilution Analysis To The Correction For Selenomethionine Oxidation İn Se-Enriched Yeast Sample Extracts During Storage. Journal Of Analytical Atomic Spectrometry. 22;1061-1066.

Quijano, M.A., Moreno, P., Gutierrez, A.M., Perez-Conte, M.C., Camara, C. 2000. Selenium Speciation İn Animal Tissues After Enzymatic Digestion By High-Performance Liquid Chromatography Coupled To İnductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. Journal Of Mass Spectrometry. 35; 878-884.

Rehber, T.A., Çabuk, D., Yalçınkaya, Ö. 2013. Preconcentration, Speciation, And Determination Of Mercury By Solid Phase Extraction With Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry. Analytical Letters. 46; 1155-1170.

Reyes, L.H., Rahman, G.M.M., Fahrenholz, T. And Kingston, H.M.S. 2008. Comparison Of Methods With Respect To Efficiencies, Recoveries, And Quantitation Of Mercury Species İnterconversions İn Food Demonstrated Using Tuna Fish. Analytical And Bioanalytical Chemistry, 390 (8), 2123–2132.

Szpunar, J. 2000. Trace Element Speciation Analysis Of Biomaterials By High-Performance Liquid Chromatography With İnductively Coupled Plasma Mass Spectrometric Detection. Trac Trends İn Analytical Chemistry. 19; 127-137.

Szpunar, J., Lobinski, R. And Orange, A. 2003. Hyphenated Techniques For Elemental Speciation İn Biological Systems. Applied Spectroscopy, 57 (3), 102A-112A.

Szpunar J., Lobinski R., Bierla, K., Godin, S. 2017. Advances İn Electrospray Mass Spectrometry For The Selenium Speciation: Focus On Se-Rich Yeast. Elsevier B.V.

Templeton, D.M., Ariese, F., Cornelis, R., Danielson, L.G., Muntau, H., Van Leeuwen, H.P. And Lobinski, R. 2000. Guidelines For Terms Related To Chemical Speciation And Fractionation Of Elements. Definitions, Structural Aspects, And Methodological Approaches (IUPAC Recommendations 2000). Pure And Applied Chemistry, 72 (8), 1453-1470.

Yamashita, Y., Yamashita, M., Iida, H. 2013. Selenium Content İn Seafood İn Japan. Nutrients. 5;338-395.

Yan, D., Yang, L. And Wang, Q. 2008. Alternative Thermodiffusion İnterface For Simultaneous Speciation Of M Organic And İnorganic Lead And Mercury Species By Capillary GC–ICP MS Using Tri-N-Propyl-Lead Chloride As An İnternal Standard. Analytical Chemistry, 80; 6104–6109.

Yu, H., Chen, C., Gao, Y., Li, B., Chai, Z. 2006. Selenium Speciation İn Biological Samples Using A Hyphenated Technique Of High-Performance Liquid Chromatography And Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. Chinese Journal Of Analytical Chemistry. 34; 749-753.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı	: Merve YILMAZ
Doğum Tarihi	: 27.06.1991
Doğum Yeri	: Ankara
Medeni Hali	: Bekar
E-Posta	: mrve0891@gmail.com
Yabancı Dili	: İngilizce
Telefon Nu	: 0531 393 48 94
Adres	: İlkadım mah. Yeşilvadi sok. Güzeltepe sitesi 22/43 Çankaya/ANKARA

Eğitim Durumu

Lise	: Dikmen Lisesi, 2010
Lisans	: Çankırı Karatekin Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, 2014
Yüksek Lisans	: Çankırı Karatekin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, 2018

Yayınları (SCI ve diğer)

Döker, S., and Yılmaz, M. 2017. Speciation of Arsenic in Spring, Well, and Tap Water by High-performance Liquid Chromatography–Inductively Coupled Plasma–Mass Spectrometry. Analytical Letters. 51; 254-264.

Ulusal Bildiriler

Yılmaz, M., Uslu, M. ve Döker, S. 2014. Çankırı Ilinde Toplanan Sebze Örneklerinde Selenyum Tayini, 3. Eser Analiz Çalıştayı, Tokat.

A. Yıldız, İ. İ. Boşgelmez, S. Döker, M. Yilmaz, G. Güvendik, ICP-MS Multi-element Fingerprinting Combined with Multivariate Statistical Analysis in Linden (Tilia sp.) Samples, TURKHELTOX-9th Congress of the Turkish Society of Toxicology with the participation of Hellenic Society of Toxicology, 21-24 Ekim 2015, İzmir, Turkey, Conference Abstracts, P-25, p.38, (Poster sunusu).

S. Döker, M. Yılmaz, İ.İ. Boşgelmez, Kızılırmak Nehri Cyprinus Carpio (Sazan Balığı) Örneklerinde Selenyum Türleme Çalışması, 4. Eser Analiz Kongresi, 19-22 Mayıs (2016), Sakarya. Özetler, P-65, 95 (Poster sunusu).

A. Yıldız, İ. İ. Boşgelmez, S. Döker, M. Yilmaz, G. Güvendik, Assessment of Multi-Elemental Composition in Different Types of Linden (Tilia sp.) Samples, 10th Aegean Analytical Chemistry Days, 29 September–2 October, 2016, Çanakkale, Turkey, Abstract Book, P1-51 p.128, (Poster sunusu).

S. Döker, Merve Yılmaz, Assessment of Toxic Trace Element Concentrations in Ground Water Samples Collected from Çankırı, Turkey, 10th Aegean Analytical Chemistry Days, 29 September–2 October, 2016, Çanakkale, Turkey, Abstract Book, P1-49 p.126, (Poster sunusu).