T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİK SIVILARDA İYON KROMATOGRAFİSİ İLE ANYON TAYİNİ

Fatih Ahmet ERULAŞ

Doktora Tezi

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. İbrahim YILMAZ

KASIM–2010

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİK SIVILARDA İYON KROMATOGRAFİSİ İLE ANYON TAYİNİ

DOKTORA TEZİ

Fatih Ahmet ERULAŞ
(06217202)

Anabilim Dalı: Kimya

Programı: Analitik Kimya

Danışman: Prof. Dr. İbrahim YILMAZ

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 02 Kasım 2010

KASIM–2010

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİK SIVILARDA İYON KROMATOGRAFİSİ İLE ANYON TAYİNİ

DOKTORA TEZİ

Fatih Ahmet ERULAŞ
(06217202)

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 02 Kasım 2010
Tezin Savunulduğu Tarih: 11 Kasım 2010

Tez Danışmanı : Prof. Dr. İbrahim YILMAZ (K.M.Ü.)
Diğer Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Alaaddin ÇUKUROVALI (F.Ü.)
Doç. Dr. Habibe ÖZMEN (F.Ü.)
Doç. Dr. Fırat AYDIN (D.Ü.)
Doç. Dr. Sevda KIRBAĞ (F.Ü.)

KASIM–2010

ÖNSÖZ

Son yıllarda biyolojik sıvılarda anyonların analizi için geliştirilen yöntem ve teknikler anyonlaraın vücut sıvıları içindeki konumları hakkında daha güvenilir ve daha pratik sonuçlar elde etmemize imkan sağlamıştır. Bu amaçla Tip 2 diyabetli hastalardan ve kontrol grubundan alınan serum, idrar ve tükürük örneklerinde bulunan bazı anyonlar (F^-, Cl^-, Br^-, BrO_3^-, NO_2^-, NO_3^-, PO_4^{3-}, SO_4^{2-}) İyon Kromatografisi ve UV-Vis Spektrofotometresi yardımıyla tayin edilmiştir.

Bu tez çalışmasının planlanmasında, yürütülmesinde ve çalışmalarım süresince destek ve ilgisini esirgemeyen bilgi, tecrübe ve hoşgörülerinden yararlandığım değerli hocam sayın Prof.Dr. İbrahim YILMAZ'a sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım. Biyolojik örneklerin temin dilmesinde yardımcı olan Prof.Dr. Emir DÖNDER'e, çalışmamda bana yol gösteren saygı değer hocam Prof.Dr. Fikret KARATAŞ'a, Prof.Dr. Alaaddin ÇUKUROVALI'ya ve Doç.Dr. Habibe ÖZMEN'e teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarım esnasında yardımlarını gördüğüm sayın Recai GÖKSU'ya ve Duygu ÇELİK'e ayrı ayrı teşekkür ederim.

Çalışmalarım boyunca manevi desteğiyle beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan sevgili aileme teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca bu tez çalışmasına 1791 nolu proje ile destek veren Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (FÜBAP)'a teşekkür ederim.

Fatih Ahmet ERULAŞ

ELAZIĞ- 2010

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ ..... **I**

İÇİNDEKİLER ..... **II**

ŞEKİLLER LİSTESİ ..... **V**

TABLOLAR LİSTESİ ..... **VII**

KISALTMALAR ..... **VIII**

ÖZET ..... **IX**

SUMMARY ..... **X**

1. GİRİŞ **1**

2. TEORİK BİLGİLER **3**

2.1. Anyonlar **3**

2.1.1. Florür **3**

2.1.2. Klorür **4**

2.1.3. Bromür ve Bromat **5**

2.1.4. Nitrit ve Nitrat **6**

2.1.5. Fosfat **8**

2.1.6. Sülfat **9**

2.2. Kromatografi **10**

2.2.1. Kromatografinin Temel Prensipleri **10**

2.2.2. Kromatografik Yöntemlerin Sınıflandırılması **13**

2.2.3. İyon Kromatografisi **14**

2.3. Ultraviyole ve Görünür Bölge Spektroskopisi **15**

2.3.1. UV ve Görünür Bölge Spektrofotometreleri **17**

2.3.2. Işık Kaynakları **17**

2.3.3. Dedektör **18**

2.3.4. Monokromatör **18**

2.3.5. Tek ışınlı spektrofotometreler **18**

2.3.6. Çift Işınlı Spektrofotometreler **19**

2.3.7. Lambert-Beer Yasası **19**

2.3.8. Lambert-Beer Yasasından Sapmalar **20**

2.3.9. UV Spektroskopisinin Analitik Uygulamaları **21**

2.4. Diabetes Mellitus Tanımı 23
2.4.1. Diabetes Mellitus' un Epidemiyolojisi 23
2.4.2. Diyabet ve Böbrek Fonksiyon Bozukluğu (Diyabetik Nefropati) 24
2.5. Litaretür Araştırması 24
3. MATRERYAL VE METOD 34
3.1 Materyal 34
3.2 Kullanılan Cihazlar 34
3.3 Kullanılan Kimyasal Maddeler 35
3.3. Kullanılan Çözeltiler 35
3.3.1. İyon Kromatografisi ile Anyon Tayininde Kullanılan Standart Çözeltilerin Hazırlanması 35
3.3.2. UV-Vis Spektrofotometre ile Anyon Tayininde Kullanılan Standart ve Reaktif Çözeltilerinin Hazırlanması 36
3.3.2.1. Standart PO_4^{3-} Çözeltisinin Hazırlanması 36
3.3.2.2. Standart NO_2^- Çözeltisinin Hazırlanması 36
3.3.2.3. Amonyum Molibdat Çözeltisinin Hazırlanması 36
3.3.2.5. Griess I Reaktifinin Hazırlanması 37
3.3.2.5. Griess II Reaktifinin Hazırlanması 37
3.3.3. İyon Kromatografisi ile Serum, İdrar ve Tükrük Örneklerinde Anyon Tayini 37
3.3.4. UV-Vis Spektrofotometresi ile Anyon Tayini 37
3.3.4.1. PO_4^{3-} Tayini 37
3.3.4.2. NO_2^- Tayini 38
3.5. Tayinleri Yapılan Anyonların Kalibrasyon Grafikleri 38
3.5.1. İyon Kromatografisi Yöntemiyle Tayini Yapılan Anyonların Kalibrasyon Grafikleri 38
3.5.2. Spektrofotometrik Yöntemle Tayini Yapılan Anyonların Kalibrasyon Grafikleri 41
4. BULGULAR 43
4.1. İyon Kromatografisiyle Anyon Tayininden Elde Edilen Çeşitli Kromatogramlar 43
4.3. İyon Kromatgrafisi Yöntemi ile Anyon Tayininden Ede Edilen Sonuçlar. 45
4.4. Spektrofotometrik Yöntemle Anyon Tayininden Elde Edilen Sonuçlar .. 46

4.5. İyon Kromatografisiyle Anyonların Tayininden Elde Edilen Sonuçların Grafiklerle Gösterimi 47
4.6. UV-Vis Spektrofotometresiyle Anyonların Tayininden Elde Edilen Sonuçların Grafiklerle Gösterimi 51
5. TARTIŞMA VE SONUÇ 53
6. KAYNAKLAR.....58
ÖZGEÇMİŞ.....70

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1. İyon kromatografisi cihazının şematik gösterimi.....15
Şekil 2.2. UV-Vis. Spektrofotometresinin temel bileşenleri.....17
Şekil 3.1. İyon kromatografisi ile F^- iyonu tayininin kalibrasyon grafiği 38
Şekil 3.2. İyon kromatografisi ile Cl^- iyonu tayininin kalibrasyon grafiği.....39
Şekil 3.3. İyon kromatografisi ile Br^- iyonu tayininin kalibrasyon grafiği.....39
Şekil 3.4. İyon kromatografisi ile BrO_3^- iyonu tayininin kalibrasyon grafiği.....39
Şekil 3.5. İyon kromatografisi ile NO_2^- iyonu tayininin kalibrasyon grafiği.....40
Şekil 3.6. İyon kromatografisi ile NO_3^- iyonu tayininin kalibrasyon grafiği.....40
Şekil 3.7. İyon kromatografisi ile PO_4^{3-} iyonu tayininin kalibrasyon grafiği.....40
Şekil 3.8. İyon kromatografisi ile SO_4^{2-} iyonu tayininin kalibrasyon grafiği.....41
Şekil 3.9. UV-Vis Spektrofotometresi ile NO_2^- iyonu tayininin kalibrasyon grafiği.....41
Şekil 3.10. UV-Vis Spektrofotometresi ile PO_4^{3-} iyonu tayininin kalibrasyon grafiği 42
Şekil 4.1. İyon kromatografisi ile anyon tayinlerinde kullanılan standartların kromatogramları 43
Şekil 4.2. İyon kromatografisi ile elde edilen hasta ve kontrol grubuna ait birer tükürük örneklerinin kromatogramlarının 44
Şekil 4.3. İyon kromatografisi ile elde edilen hasta ve kontrol grubuna ait idrar örneklerinin kromatogramları 44
Şekil 4.4. İyon kromatografisi ile elde edilen hasta ve kontrol grubuna ait tükürük, serum ve idrar örneklerinin kromatogramları 45
Şekil 4.5. İyon Kromatografisiyle tayin edilen F^- iyonunun hasta ve kontrol grubuna göre değişimi.....47
Şekil 4.6. İyon Kromatografisiyle tayin edilen Cl^- iyonunun hasta ve kontrol grubuna göre değişimi.....48
Şekil 4.7. İyon Kromatografisiyle tayin edilen Br^- iyonunun hasta ve kontrol grubuna göre değişimi.....48
Şekil 4.8. İyon Kromatografisiyle tayin edilen BrO_3^- iyonunun hasta ve kontrol grubuna göre değişimi.....49
Şekil 4.9. İyon Kromatografisiyle tayin edilen NO_2^- iyonunun hasta ve kontrol grubuna göre değişimi.....49

Şekil 4.10. İyon kromatografisiyle tayin edilen NO_3^- iyonunun hasta ve kontrol grubuna göre değişimi.....50
Şekil 4.11. İyon kromatografisiyle tayin edilen PO_4^{3-}iyonunun hasta ve kontrol grubuna göre değişimi.....50
Şekil 4.12. İyon kromatografisiyle tayin edilen SO_4^{2-}iyonunun hasta ve kontrol grubuna göre değişimi.....51
Şekil 4.13. UV-Vis Spektrofotometresi ile tayin edilen PO_4^{3-} iyonunun hasta ve kontrol grubuna göre değişimi 51
Şekil 4.14. UV-Vis Spektrofotometresi ile tayin edilen NO_2^- iyonunun hasta ve kontrol grubuna göre değişimi 52

TABLOLAR LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 3.1. Kullanılan kimyasal maddeler, temin edildikleri firmalar ve saflık dereceleri ..35
Tablo 4.1. İyon kromatografisi ile serum örneklerinin analizinden elde edilen sonuçlar....45
Tablo 4.2. İyon kromatografisi ile idrar örneklerinin analizinden elde edilen sonuçlar.....46
Tablo 4.3. İyon kromatografisi ile tükürük örneklerinin analizinden elde edilen sonuçlar .46
Tablo 4.4. UV-Vis Spekrofotometresiyle serum örneklerinin analizinden elde edilen sonuçlar 46
Tablo 4.5. UV-Vis Spekrofotometresiyle idrar örneklerinin analizinden elde edilen sonuçlar 47
Tablo 4.6. UV-Vis Spekrofotometresiyle tükürük örneklerinin analizinden elde edilen sonuçlar 47
Tablo 5.1. Hasta grubuna ait glikoz değerleri 53

KISALTMALAR

EPA : Çevreyi Koruma Ajansı
WHO : Dünya sağlık örgütü
DNA : Deoksiriboz Nükleik Asit
ATP : Adenozin Tri Fosfat
HPLC : Yüksek Performaslı Sıvı Kromatografisi
DM : Diabetes Mellitus
TURDEP : Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Projesinde
BGT : Bozulmuş Glikoz Toleransı
MDA : Malondialdehit
GC : Gaz kromatografisi
FIA : Florür İyon Seçici elektrot
MND : Motor nöron hastalığı
GS-MS : Gas kromatografisi-kütle spektroskopisi
PTH : Parat hormonu

ÖZET

Bu çalışmada serum, tükürük ve idrar gibi biyolojik sıvılarda F^-, Cl^-, Br^-, BrO_3^-, NO_2^-, NO_3^-, PO_4^{3-}, SO_4^{2-} iyonları iyon kromatografisi ile tayin edilmiştir. Ayrıca bu iyonlardan PO_4^{3-} ve NO_2^- iyonları ise spektrofotometrik metodla da tayin edilmiştir. Çalışmada kullanılan biyolojik sıvılar Tip 2 Diyabet teşhisi konmuş 30 hasta ile 30 kişilik konrol grubundan temin edilmiştir. Yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçların hasta ve kontrol grubuna ait örneklerdeki değişimleri istatistiksel olarak değerlendirilmiş, istatiksel çalışmalar SPSS 15.0 programı kullanılarak yapılmıştır.

Hasta grubuna ait serum örneklerinde F^-, Br^-, BrO_3^-, NO_2^-, NO_3^-, PO_4^{3-}, SO_4^{2-} anyonlarının konsantrasyonun kontrol grubuna göre yüksek olduğu buna karşlık Cl^- anyon konsantrasyonunun kontrol grubunda yüksek olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte Br^-, PO_4^{3-}ve SO_4^{2-} iyonlarının konsantrasyonlarının hasta grubuna ait serum örneklerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde ($p<0.05$) yüksek olduğu görülmüştür. Hasta grubuna ait idrar örneklerinde NO_3^-, NO_2^-, BrO_3^-, Br^-, F^- anyonlarının kontrol grubuna göre yüksek olduğu, Cl^-, SO_4^{2-}, PO_4^{3-} anyonlarınında kontrol grubunda yüksek olduğu görülmüştür. NO_3^- anyonu hasta idrar örneklerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek iken ($p<0.05$); Cl^-, SO_4^{2-}, PO_4^{3-} anyonları kontrol grubuna ait idrar örneklerinde anlamlı ($p<0.05$) bir şekilde yüksek olarak bunulmuştur. Hasta tükürük örneklerinde ise, NO_3^-, NO_2^-, BrO_3^-, Br^- anyonlarının konrol grubuna göre yüksek, buna karşılık F^-, Cl^-, SO_4^{2-}, PO_4^{3-} anyonlarının kontrol grubunda yüksek olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) olduğu tespit edilmiştir. Spektrofotometrik yöntemle yapılan çalışmalarda ise, NO_2^- anyonunun hasta grubuna ait serum, idrar ve tükürük örneklerindeki düzeyleri konrol grubuna göre yüksek olduğu, PO_4^{3-} anyonunun ise sadece hasta grubuna ait serum örneklerinde kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenmiştir. İstatistiksel olarak kontrol grubuna ait tükürük ve idrar örneklerinde PO_4^{3-} anyonu konsantrasonunun hasta grubuna göre anlamlı bir şekilde yüksek olduğu ($p<0.05$) görülmüştür. Bu anyonlardan özellikle NO_3^-, NO_2^-, BrO_3^-, Br^-, F^- anyonlarının Tip 2 diyabetli hastaların serumlarında takip edilmesinin faydalı olacağı kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: İyon kromatografisi, anyon tayini, biyolojik sıvılar, spektrofotometre

SUMMARY

Determination of Anions in Biological Fluids by Ion Chromatography

In this study, NO_3^-, NO_2^-, BrO_3^-, Br^-, F^-, Cl^-, SO_4^{2-}, PO_4^{3-} ions in biological fluids such as serum, saliva and urine were determined by ion chromatography. In addition, NO_2^- and PO_4^{3-} ions were determined by spectrophotometric method. Biological fluids used in the study were obtained from 30 patients diagnosed with type 2 diabetes and the control group of 30 people. The results obtained from the studies of the changes in the samples of the patients and control group were evaluated statistically. Statistical studies were performed using the SPSS 15.0 program.

Concentrations of the NO_3^-, NO_2^-, BrO_3^-, Br^-, F^-, SO_4^{2-}, PO_4^{3-} anions in serum samples belonging to the patient groups were higher than the control groups, in constrast, concentrations of Cl^- anion of control groups were higher than the patient groups. However, it was seen that, Br^-, PO_4^{3-} and SO_4^{2-} anions concentrations in the serum of the patient group were higher than the control group as statistically significant ($p<0.05$) Concentrations of the NO_3^-, NO_2^-, BrO_3^-, Br^-, F^- anions in urine samples belonging to the patient groups were higher than the control groups, whereas, concentrations of Cl^-, SO_4^{2-}, PO_4^{3-} anions of control groups were higher than the patient groups. NO_3^- anion concentrations in the patient urine samples were found higher than the control group as statistically significant, while, Cl^-, SO_4^{2-}, PO_4^{3-} anion concentrations in the control group's urine samples were found higher than the patient group as statistically significant. Concentrations of the NO_3^-, NO_2^-, BrO_3^-, Br^- anions in urine samples belonging to the patient groups were higher than the control groups, whereas, concentrations of F^-, Cl^-, SO_4^{2-}, PO_4^{3-} anions of control groups were higher than the patient groups as statistically significant. According to the results of the spectrophotometric studies, levels of the NO_2^- anion in serum, urine and saliva samples group of patients were higher than in the control groups, levels of the PO_4^{3-} anion of control groups were higher than the patient groups. Concentrations of the PO_4^{3-} anion in saliva and urine samples belonging to the control group were found higher than the patient group as statistically significant. These anions, especially NO_3^-, NO_2^-, BrO_3^-, Br^-, F^- anions in the serum of patients with Type 2 diabetes would be useful to assume that should be followed.

Key Words: Ion chromatography, determination of anion, biological fluids, spectrophotometer

1. GİRİŞ

Son yıllarda yapılan bilimsel çalışmalarda, çevresel kirliliklerde, ilaçların metabolizasyonu sırasında ortaya çıkan metabolitlerde, yiyecek ve içeçek maddelerinin dayanıklılığının arttırılması amacıyla kullanılan katkı maddelerinde canlı üzerinde bir çok olumsuz etkiye sahip oldukları bilinen bazı anyonların (F^-, Cl^-, Br^-, BrO_3^-, NO_2^-, NO_3^-, PO_4^{3-}, SO_4^{2-}) bulunduğu tespit edilmiştir. Gıdalarda kullanılan katkı maddeleri tüketici sağlığına hiçbir şekilde zarar vermeyen bileşiklerden oluşmalı ve devamlı alındıklarında da hiçbir kötü etkisinin olmaması gerekmektedir. Yüksek miktarlarda nitrat ve nitrit kalıntısı taşıyan gıdalar tüketicilerde akut veya kronik zehirlenme riski oluşturmaktadır. Özellikle nitritin (NO_2^-) nitrata (NO_3^-) göre 10 kat daha zehirli olduğu ve nitratın potasyumlu tuzlarının da sodyum tuzlarına göre daha toksik olduğu bildirilmiştir [1].

Nitratın (NO_3^-) insan sağlığına olan zararlarına bakıldığında, nitrat daha ağız boşluğunda iken ağız florasını oluşturan bakteriler tarafından kısmen nitrite indirgenir, geri kalanı ise mide-bağırsak sistemine geçer. Dolaşıma katılan nitratın bir bölümü tükrük bezleri vasıtasıyla tekrar ağız boşluğuna salgılanır ve nitrite indirgenmesi devam eder. Bu mekanizma ile alınan nitratın %20' sinin nitrite dönüştürüldüğü bildirilmektedir [2,3]. Oluşan nitrit kandaki hemoglobini methemoglobine dönüştürerek O_2 taşıma fonksiyonunu bloke eder ve bunun neticesinde methemoglobinemi meydana gelir [4-7].

Yer altı sularının veya içme suyu kaynaklarının dezenfeksiyonu amacıyla kullanılan dezenfektanlarda bromat (BrO_3^-) ve bromidin (BrO_2^-) bulunması durumunda potansiyel bir kanserojen tehlikesi olduğu Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Çevreyi Koruma Ajansı (EPA) tarafından belirtilmiştir [8]. Çin Sağlık Kurulu, içme suyu arıtımından sonra su içerisinde en fazla 10 μg/L BrO_3^-, 200 μg/L ClO_2^-, 700 μg/L ClO_3^-ve 2 μg/L NO_2^- olması gerektiğini belirtmiştir [9].

Yüksek dozdaki florür (F^-), hem insanlarda hem de hayvanlarda çeşitli hastalıklara sebep olmaktadır [10,11]. XionZhi ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada içme suyundaki F^- konsantrasyonuna bağlı olarak çocuklarda karaciğer ve böbrek fonksiyonona olan etkisi incelenmiştir. Bu çaloşmada 210 çocuk 7 gruba ayrılmış, her gruba farklı miktarlarda F^- verilmiş, daha sonra karaciğer fonksiyonlarını gösteren total protein (TP),

albümin (ALB), aspartat transamilaz (AST), idrarda N- asetil-β-glokozamidaz ve γ-Glutamil transpeptitaz miktarları incelenmiştir. Sonuç olarak sularda 2 mg/L nin üzerindeki F^- konsantrasyonunun karaciğer ve böbrek fonksiyon bozukluğuna yol açabileceği belirtilmiştir. [12].

İnsan sağlığının korunması amacıyla içme sularının dezenfeksiyonunu uygun ölçüler içerisinda yapmak çok önemli bir olaydır. Dezenfeksiyonlamada amaç su içerisindeki patojenik ajanları fiziksel ve kimyasal olarak olarak yok etmektir. Bunun için kullanılan metodlar klorlama, ozonlama ve UV ışınları, filitreleme gibi tekniklerdir. Suların dezenfeksiyonu sırasında ortaya çıkan bazı kimyasallara örnek olarak; trihalometanlar, haloasetikasit ve bromat verilebilir [13]. Bu konuda Ferritti ve arkadaşları tarafından yaplan bir çalışmada, suyun klorlanması sonucu ortaya çıkan klorat anyonunun DNA üzerine olumsuz etkisi olduğunu ortaya koymuştur [14].

Çevresel bir kirletici olarak fosfata bakıldığında, toz deterjanların temel maddelerinden birisi olan sodyum polifosfatlar atık sularda yoğun olarak bulundukları zaman ortamda bulunması muhtemel azot bileşiklerinin de yardımı ile gübre etkisi göstermektedir. Bu ise, göllerde ve akıntısı olmayan deniz sularında bitkisel hayatı sağlıksız bir şekilde körükleyerek alg ve yosunların büyük oranda artmasına ve bunun sonucunda da ötröfikasyona sebep olmaktadır. Ötröfikasyon neticesinde su ortamında alglerin ve diğer bitkilerin büyümesi, sudaki inorganik element konsantrasyonlarında değişiklik meydana getirmektedir. Bunun sonucunda ise su içerisindeki ekolojik denge bozularak canlı çeşitliliğinin değişmesine sebep olmaktadır.

Sülfat (SO_4^{2-}), yer altı sularına jips ve anhidritten karışmaktadır. Sülfür bileşikleri çeşitli reaksiyonlar sonucunda oluşturdukları tat, koku, toksisite ve korozyon gibi problemleriyle önemli kirletici konumundadırlar. Sodyum sülfat ve magnezyum sülfat insanlarda müshil etkisi ortaya çıkaracağından 250 mg/L üst sınırla sınırlandırılmışlardır [15].

Bu çalışmada, biyolojik sıvı olarak alınan idrar, tükürük ve serum örneklerinde anyonlar (F^-, Cl^-, Br^-, BrO_3^-, NO_2^-, NO_3^-, PO_4^{3-}, SO_4^{2-}) bazı ön işlemlerden geçirildikten sonra iyon kromatografisi kullanılarak tayin edilmiş ve sonuçlar UV-VIS spektrofotometresi ile elde edilen verilerle istatistiksel olarak kıyaslanmıştır

2. TEORİK BİLGİLER

2.1. Anyonlar

2.1.1. Florür

İnsanın yapısında bulunan florürün (F^-) esas kaynağı yiyecek ve içeceklerdir. Yiyeceklerdeki konsantrasyon düşük miktardadır ve dolayısıyla asıl kaynağı sudur. F^- hem yüzey hem de yeraltı sularında mevcuttur. Yeraltı sularındaki doğal F^- konsantrasyonu suyun kaynaklandığı bölgenin jeolojik, kimyasal ve fiziksel özellikleri, toprağın içeriği, pH' ı ve ısısı gibi faktörlere bağlı olarak litrede 1 ile 25 mg gibi geniş limitler içinde değişmektedir. Sindirim ya da solunum yoluyla alınan F^- hepsi absorbe edilemez. Absorbe edilenlerin bir kısmı, yarısı idrarla olmak üzere ter, dışkı ve tükürük ile atılır. İçme suyu kaynaklarındaki düşük F^- düzeyi ile diş çürükleri arasında bir ilişki bulunurken, yüksek F^- düzeylerinde ise F^- iyonu konsantrasyonundaki artışa paralel olarak artan bir şekilde fluorosise neden olduğu saptanmıştır. Florürün diş ve kemiklerin kristal yapısının dayanıklılığını arttırıcı etkisi olduğu gibi kalsiyum ve fosfor gibi ihtiyaç halinde geri çözülmesi yoktur. Dişleri asit etkisinden koruyarak dişlerin de mineralize olmasını, çürük oluşmasını önler. Ayrıca kemiklerde kalsiyumu tutarak kalsiyum kaybına engel olur. Kesinleşmemiş olmakla birlikte büyümeye etkisi olduğu, demirin emilimini arttırdığı, kandaki alyuvar hücrelerinin üretimine katkı sağladığı düşünülmektedir [16-17].

Florürün yetersiz alınması durumunda oluşan iki sorun vardır. Dişlerin dayanıklılığı azalır kolay çürükler ve diş kayıpları oluşur. Kemikler zayıflar ve kolay kırılır. Fakat bu durumun oluşabilmesi için osteoporoz zemini olması gereklidir. Üzerinde spekülasyonlar yapılması sonucu gereksiz yere fazla alınması daha sık olarak görülmektedir. İçme sularında 1 ppm dozunda bulunması, gerçekten diş çürüklerini önlemede etkilidir. Florür miktarı 8-20 ppm arasındaki sular dokularda, kemik ve eklemlerde skleroz denilen sertleşmelere yol açar, 20 ppm aştığında çok daha ciddi sorunlar oluşur. Büyüme durur, karaciğer, böbrek, böbrek üstü bezi, üreme organları gibi metebolik olarak aktif dokularda hücresel hasarlar meydana gelir. 50 ppm üzerinde ölümcül olaylar gerçekleşir. Günde 1.5-4.0 mg F^- alınması yeterlidir [18].

2.1.2. Klorür

Klorür (Cl^-) anyonu vücutta en fazla bulunan hücre dışı anyondur. Diyetle alınan Cl^- iyonunun çoğu bağırsakta absorbe edilir ve idrarla da atılarak vücut içerisindeki düzeyi kontrol edilir. Anormal Cl^- düzeyinin en önemli nedeni serum CO_2 düzeyindeki değişikliktir. Metabolik asidoz durumunda ya da respiratuar alkalozun metabolik kompanzasyonunda serum CO_2 düzeyi düşer ve bu duruma cevap olarak Cl^- düzeyi artar. Buna karşılık tersi durumlarda da (metabolik alkaloz ya da respiratuar asidozun metabolik kompanzasyonu) vücut CO_2 düzeyi artarken serum Cl^- düzeyi düşer. Aşırı kusma ya da tuz kaybına yol açan böbrek hastalıklarında serum Cl^- düzeyinde düşme görülür. Bu durum klinik olarak kalıcı bir metabolik alkaloz durumuna yol açabilir ve oldukça önemlidir. Cl^- ölçümünden en çok anyon açığının hesaplanmasında faydalanılmaktadır. Bu test vücutta normalde bulunmayan bazı anyonların varlığının araştırılmasında uyarıcı bilgiler verir.

Cl^- iyonu vücudun elektrolit, asit-baz dengesini ve su metabolizmasını değerlendirmede kullanılır. Acil durumlar dışında açlık kanı tercih edilmelidir. Çünkü yemeklerden sonra Cl^- düzeyinde düşme olur. Genellikle hipernatremiye yol açan durumlar hiperkloremiye de neden olur. Serum düzeyinin arttığı durumlar; dehidrasyon, renal tubuler asidoz, akut böbrek yetmezliği, diabetes insipidus, uzamış diyare ve $NaHCO_3$ kaybıyla beraber metabolik asidoz, salisilat zehirlenmesi, respiratuvar alkaloz, hiperparatiroidizm, kafa travması ile hipotalamik hasar, adrenokortikal hiperfonksiyon durumlarında serum Cl^- düzeyi de artar. Serum düzeyinin azaldığı durumlar ise; artmış terleme, uzun süreli kusma, tuz kaybettiren nefritler, addisson benzeri krizler, metabolik alkaloz, aldosteronizm, respiratuvar asidoz, su zehirlenmesi, akut intermitant porfiridir. Klörür anyonunun serumda bulunma aralığı 101-111 mEq/L. Klörür en çok; sofra tuzu**,** maden suları**,** kereviz**,** marul**,** zeytin**,** çavdar deniz suyu**,** deniz otu**,** domateste bulunur [18].

Vücuda alınan klörür anyonlarının bir diğer kaynağıda içme suyunu dezenfekte amaçlı klor kullanımıdır. Klor suya genellikle sıvı (Sodyum hipoklorit), gaz (saf klor) formunda kullanılmaktadır [19].

2.1.3. Bromür ve Bromat

Brom, klorür iyonu ile birlikte bromür iyonu (Br^-) halinde daha çok tuzlu sularda (deniz sularında yaklaşık olarak %0.01 kadar) ve bazı endüstri atıklarının karıştığı sularda bulunur. Doğal sularda ancak izlenebilecek miktarda bulunabilir. Kıyı kesimlerinde açılan kuyu sularında, deniz suyunun kuyu suyuna karışması ile çeşitli miktarda bromüre rastlanır. Normal koşullarda içme sularında bulunan bromür miktarı ender olarak 1 mg/L değerini aşar.

Bromürler, özellikle potasyum bromür (KBr) tıpta kullanılır. 1857 yılında Charles Locock tarafından bromürlerin merkezi sinir sistemine depresif etkisinin olduğu keşfedildi. Bromürler yaygın olarak uzun yıllar bilhassa epilepsi hastalığında kullanıldı. Fakat bugün bromürler yerini daha tesirli ilâçlara terk etmesine rağmen hâlâ baş ağrıları için kullanılmaktadır. Vücut üzerine bromürlerin genel etkisi rahatlama şeklindedir. İlâcın aktif kısmı olan Br^- iyonlarının etki etme tarzının nasıl olduğu gerçek olarak bilinmemektedir [20].

Klorürün klordioksit, kloramin gibi dezenfektanların ciddi bulaşıcı hastalıklara sebep olan *Gardia* ve *Cryptosporidium* protozoalarının giderimindeki yetersizliği, klorlama yerine alternatif dezenfektan olarak ozonun yaygınlaşmaya başlamasına sebep olmuştur. Güçlü bir oksidant olan ve hidroksil radikalleri oluşturan ozon, *Giardia* ve *Cryptosporidium* gibi diğer dezenfektantlara dayanıklı protozoaları inaktive etmede demir, sülfür ve manganının oksitlenip daha kolay çökmesinde ve böylelikle sudan filtrelenmesinde, etkin tat ve koku kontrolünde klordan çok daha üstündür. Ancak bromür bulunan suların ozonlanmasıyla insanlar için kanserojen olma potansiyeli yüksek olan BrO_3^- gibi dezenfeksiyon yan ürünlerinin oluşmasına neden olmaktadır. EPA (Çevreyi Koruma Ajansı) bromat için 10 µg/L limit değerini uygulamaya koymuştur. Dezenfeksiyon ajanı olarak ozon, dağıtım sisteminde bakteri büyümesi problemine yol açabilme potansiyeli olan parçalanabilir organik madde miktarının artmasına da sebep olur [21]. Dönüştürülmüş organik maddelerin biyo filtrede azaltılması ve nihai klorlama yapılması uygun olur. Öte yandan ozon üretimi pahalı bir süreçtir, elektrik enerjisi gerekir ve acil durumlardaki güç düşüşü sırasında sistem çalışmaz. Ozonlama sonucu oluşan kanserojen olarak düzenlenen organik bileşiklerden önemli kısmı aldehitlerdir [22].

Güçlü bir okside edici madde olan potasyum bromat ($KBrO_3$) çok uzun süren bir etkiye sahip olmakla birlikte, hamurun daha iyi işlenmesine izin vererek askorbik asitten sonra etki göstermeye başlamaktadır. Bu etkinin sonucu da iyi bir fermantasyon toleransı ve yüksek hacim verimi olmaktadır. Önceleri, gerçekte kendisi kanserojen bir madde olan bromatın, ekmek yapımı sırasında ısı etkisiyle zararsız bir madde olan bromite dönüştüğü kabul edilmekte ve bu nedenle un katkı maddesi olarak kullanımına izin verilmekteydi. Ancak, yeni duyarlı yöntemlerin geliştirilmesi sonucu ekmekte iz miktarda da olsa bromatın kaldığının belirlenmesi sonucu kademeli olarak birçok ülke de yasaklanmaya başlamıştır. Bununla birlikte, ekmeğin uygun şekilde pişirilmesi sonucu veya bazı ekmek yapım yöntemlerinde bromatın tamamen dönüştüğü iddiaları bu konudaki tartışmaların hala devam etmesine neden olmaktadır. Uzun dönem toksikolojik ve kanserojenik çalışmaların, bu maddenin genotoksik kanserojen olduğu sonucuna varılmasına neden olduğu ve ayrıca, yeni duyarlı yöntemlerin kullanıldığı deneylerin, un katkı maddesi olarak kabul edilebilir düzeyde kullanıldığı zaman bromatın ekmekte mevcut olduğunu gösterdiği bildirilmiştir [23].

2.1.4. Nitrit ve Nitrat

Nitrit tuzları endüstride korozyonu engelleyici madde olarak kullanılır. Suda nitritin (NO_2^-) bulunması organik kirlilikle etkilenen aktif biyolojik proseslerin işaretidir. Sodyum ve potasyum nitrit koruyucu olarak et ürünlerine ilave edilebilir. Nitritler endüstri ve lağım suları ile deşarj edilir. Yüksek NO_2^- konsantrasyonu genellikle endüstriyer döküntünün belirtisidir. Patlayıcı madde imalatı ve madencilikte kullanılması önemli nitrit kaynakları olabilir. Nitritler hayvanların işkembesinde ve yeni hasat edilmiş saman veya ıslak yemlerde oluşabilir. Çünkü organik azotların ara oksidasyon ürünüdür. Oksitleyici koşullarda nitrit nitrata dönüştüğünden, atmosferdeki nitrit konsantrasyonu muhtemelen son derece düşük olacaktır. Nitrit (NO_2^-) iyonu nitrat iyonuna kıyasla daha az kararlıdır. Çünkü nitritler hızla nitratlara yükseltgenir ve çok nadir olarak yüzey sularında yüksek konsantrasyonlarda bulunur.

Gıdalarda kullanılan katkı maddeleri tüketici sağlığına hiçbir şekilde zarar vermeyen bileşikler olmalıdır. Gıdalarda katkı miktarları devamlı alındıklarında hiçbir kötü etkisinin

olmaması gerekir. Bu nedenle katkı maddelerinin genel anlamda şu özellikleri taşıması gerekir.

1) Gıdalara katıldıkları miktarlarda devamlı alındıklarında hiçbir kötü etkisi veya yan tesiri söz konusu olmamalıdır.

2) Tek başlarına veya başka katkılarla beraber kullanıldığında gıdalarda veya canlı organizmalarda oluşabilecek parçalanma ürünleri de zararsız olmalıdır.

3) Akut veya kronik hiçbir toksik özellik göstermemeli, kansorojen olmamalıdır.

4) Biyokimyasal olarak ve beslenme fizyolojisi bakımından (örneğin: respirasyon, madde alışverişi, bağırsak fonksiyonları gibi) riziko taşımamalıdır.

Gıdalara katılan nitrit ve nitrat toksik etkilerini, hayvansal ürünlerdeki sekonder aminlerle birleşerek oluşturdukları nitrozaminlerle de gösterirler [24-26]. Nitrozaminlerin hem insanlar ve hem de hayvanlarda karsinojenik tesirli olduğu çok sayıda araştırıcı tarafından bildirilmiştir [26-29]. Nitrozaminlerin mutajenik ile tetrajenik etkileride söz konusudur [30].

Et ürünlerinde kullanılan nitrat ve nitritin az olması bazı olumsuz renk değişikliklerine ve mikrobiyel bozulmalara sebep olurken, fazla olması da kalıntı nitrit miktarının artmasına ve nitrozaminlerin teşekkülüne neden olmaktadır [31]. Wirth yaptığı çalışmada, fermente et ürünlerinde sağlıklı bir fermantasyonla tüketim aşamasına gelmiş bir üründe 10 mg/kg dan daha fazla nitrit olamayacağını ortaya koymuştur. Fermantasyonun söz konusu olmadığı salam ve sosislerde ilave edilen nitritin tamamen parçalanmaması ve dolayısıyla da nitrozaminlerin oluşumu söz konusu olabilir. Bu yüzden salam ve sosis yapılacak et kuşbaşı yapılıp tuz ve nitritle karıştırılarak bir gece soğuk depoda bekletilir [32].

Nitrik oksit (NO^-) patolojik ve psikolojik, vücutta hücre içi ve hücre dışı patolojik olayların, proseslerin içinde yer alır. Vücut içerisinde farklı formlarda bulunabilir [33,34]. NO^- oldukça reaktif bir bileşik olduğu için bu bileşiğin ölçülebilmesi nitrit ve nitrat miktarlarının belirlenmesine bağlıdır. NO_2^- ve NO_3^- düzeyleri nitrik oksit seviyesini ve nitrit oksit sentetazın vücut içerisindeki seviyelerini gösterebilir [34-39]. Nitrik oksidin nörolojik bir hastalık olan epilepsi üzerine fonksiyonel bir etkisi olduğu son zamanlarda yapılan çalışmalarda belirtilmiştir. Fakat bu etkinin epileptik nöbetleri baskılaması veya tetiklemesi noktasında karmaşıklık ve tartışmalar sürmektedir [40,41].

Nitratın akut toksititesi çok seyrek görülmektedir. Çoğu olguda meydan gelen bulgular nitratın nitrite indirgenmesi sonucu ortaya çıkmaktadır. Yetişkinlerde 8-15g sodyum veya potasyum nitrat alınmasını takiben aniden ortaya çıkan şiddetli gastroenterit, karın ağrısı, idrar ve gaytada kan, halsizlik ve kollaps görülebilir. Ayrıca nitratın indirgenmesiyle meydana gelen nitritin endojen nitrozasyonu karsinojenik N- nitrozo bileşiklerini meydana getirilebileceğinin öne sürülmesi, nitratın olası bir karsinojenik etkiden sorumlu olduğunu düşünülmesine sebep olmuştur [42].

Nitrit ve nitrat zirai ilaçlamalar, endüstriyel ve evsel atıklar sonucunda yer altı ve yer üstü su kaynaklarını kirleten en yaygın bileşiklerdir Bu nedenle biyolojik sıvılarda, yiyeceklerde ve çevresel örneklerde insan sağlığı için bu anyonların tayini son derece büyük önem taşımaktadır.

2.1.5. Fosfat

Erişkin insan vücudunda yaklaşık 600 gram fosfor (P) bulunur. Total vücut fosforunun %85' i kemikte kristaloid yapıda % 15' i ekstraselüller sıvıda inorganik PO_4^{3-} esterleri olarak bulunur. Ekstrasellüler sıvıda bulunan bulunan fosfor, iyonize, proteine bağlı ve kompleks yapıda olmak üzere üç fraksiyonda bulunur. Serum inorganik PO_4^{3-} %10' u proteinlere bağlı, %35' i sodyum, kalsiyum ve magnezyum ile kompleks yapıda ve geriye kalan % 55' lik kısım ise iyonize olarak bulunur. Fizyolojik pH da serum inorganik fosfatın %90'ı filitrasyona uğrayabilir. Serum kalsiyumunun çok dar sınırlarda düzenlenmesine rağmen serum fosfor konsantrasyonu yaş, cinsiyet, diyet ve pH a bağlı olarak daha geniş sınırlarda düzenlenir. Normal mineralizasyon için serum fosfor konsantrasyonu normal sınırda bulunmalıdır. Ekstrasellüler sıvıda yaklaşık 550 mg PO_4^{3-} bulunur. İncebağırsaklar, kemik ve yumuşak doku ekstrasellüler PO_4^{3-} dengesinin korunmasını sağlar. Diyet ile alınan fosforun üçte ikisi gastrointestinal sistemden absorbsiyona uğrar. Gastrointestinal sistemden absorbe edilen fosfor günlük gereksinimin üzerinde olup, fazlalık idrar ile atılır. Fosforun gastrointestinal sistemden emiliminin düzenlenmesi kalsiyum emiliminin düzenlenme mekanizmasından daha zayıftır [43].

Hipofosfatemi fosfat seviyesinin 2,5 mg/dL'den az olmasına denir. Fosfat hücresel süreçte önemli bir role sahiptir. İskelet sisteminin ve kemik yapının önemli bir komponentidir. PO_4^{3-}, DNA ve RNA'nın da tamamlayıcı bir elemanıdır. ATP'nin hücresel sistemde enerji tasıması içinde gereklidir. Fosfatın artması veya azalması enzim ve proteinlerin genel mekanizmalarının ve aktivitelerinin düzenlenmesini etkiler. Bu mineralin bu etkileri karsısında vücut içindeki ayarlanmasının önemli olması sürpriz değildir. Serum PO_4^{3-} konsantrasyonu çocuklarda büyüklere göre yüksektir. Çocuklar da 4-7 mg/dL, yetiskinlerde 3-4,5 mg/dL'dir. Gün içinde fosfat öğlene yakın en yüksek seviyededir. Serum fosfat miktarı, diet; hormon ve fiziksel faktörlerle düzenlenir. PO_4^{3-} hücre içine giriş ve çıkısına etki eden birçok etken nedeniyle serum PO_4^{3-} konsantrasyonu doğru yansıtılmayabilir . Hipofosfatemide yetersiz alım nadir görülen bir sebep de olsa yine de düşünülmüştür ve uzun süre bu şekilde beslenenlerde bu rahatsızlık görülebilir. Ayrıca uzun süre alkol alanlarda bu durum ortaya çıkabilir. Serum PO_4^{3-} seviyesi genelde normal sınırlar içindedir. Benzer şekilde kritik hastalarda parenteral beslenme de hipofosfatemi yapar. Düzensiz beslenen, sosyoekonomik seviyesi düşük ve ağız problemi olan veya yutma güçlüğü olan hastalarda da hipofosfatemi görülür. Antiasit kullanımı PO_4^{3-} emilimini bozduğu için antiasit kullanan bu kişilerde de hipofosfatemi görülür. Benzer sekilde steatore, kronik diyare orta derecede hipofofatemi yapabilir. D vitamini eksikliğinde sekonder hiperperatiroidde fosfat azlığı görülür. D vitamini bağırsak ve böbrekten PO_4^{3-}emilimini azaltarak hipofosfatemi yapar [44,45].

2.1.6. Sülfat

Sülfatlar, doğada bulunan ağır metal sülfürlerinin atmosferik olayların etkisiyle kısmen oksitlenerek suda çözünmesinden oluşmuşlardır. Büyük kısmı sedimentar kayalaradan çözünse de doğada en yaygın olan minerali jibsdir. Sülfat tuzları (baryum, stronsiyum ve kurşun sülfat hariç) suda çözünürler. Çözünmüş sülfatlar sülfüre indirgenebilir veya hidrojen sülfür halinde buharlaşarak havaya verilir. Bir diğeri çözünmeyen bir tuz olarak çökebilir veya canlı organizmalarla birleşebilirler. Değişik sanayilerden atılan atıklarda sülfat suya verilir. Minerallerin kavrulması işleminden SO_4^{2-} fosil yakıtların yanmasıyla atmosferik kükürt dioksit meydana gelir. Kükürt, kükürt trioksit (SO_3^{2-}) in katalitik oksitlenmesiyle meydana gelir ve su buharıyla birleşerek H_2SO_4 oluşturur. Bu da asit yağmuru veya karı şeklinde yere iner. Suda sülfat genellikle yüksek konsantrasyonlarda

bulunabililir. Çünkü kayalardan çözeltiye geçen katyonlar genellikle sülfatla, suda çözünebilen bileşikler verirler. Günde alınan sülfat miktarı hakkında yeterli bilgi mevcut değildir. İnsanlarda sülfat bağırsaklarda az miktarda absorbe edilir. Hücre zarını çok yavaş geçer ve süratle böbreklerden atılır. SO_4^{2-}, insanlarda müshil etkisi göstererek bağırsakları temizler. Bu miktar çocuklar için 21 mg/kg/gün olarak verilmiştir. Tat veren en çok kullanılan sülfat tuzlarının tat başlangıç değerleri; 200-500 mg/L sodyum sülfat için, 250-900 mg/L kalsiyum sülfat için, 400-600 mg/L magnezyum sülfat için verilmiştir. Suda yüksek sülfat konsantrasyonu dağıtma sistemlerindeki, özellikle düşük alkalinite olduğu zaman, metallerin korozyonuna neden olur [15].

2.2. Kromatografi

Kromatografi, bir karışımda bulunan bileşenlerin birbirinden ayrılmasını gerçekleştiren ve bu sayede kalitatif ve kantitatif analizlerinin yapıldığı yöntemlerin genel adıdır. Bu yöntemlerde çalışma düzeneği temel olarak iki bileşenden oluşur. Bu bileşenlere sabit faz (stationary phase) ve hareketli faz ya da mobil faz (mobile phase) adı verilir. Mobil fazın içerisinde yer alan bileşenler, sabit faza ait dolgu maddesiyle etkileşmeleri sebebiyle, bir miktar tutulurlar. Bu tutulma, örnekteki farklı bileşenler için farklı miktarlarda olur. Böylece bileşenler sabit fazın sonlarına doğru, farklı hızlarda ilerledikleri için, birbirinden ayrılmış vaziyette sabit fazı farklı zamanlarda terk ederler. Bu şekilde sabit fazdan çıkan bileşenlerin derişimleri uygun bir biçimde ölçülür ve zamana veya mobil fazın kullanılan hacmine karşı y-ekseninde işaretlenerek "kromatogram" denilen grafikler elde edilir

2.2.1. Kromatografinin Temel Prensipleri

Mobil faz (Mobile Phase): Örnek bileşenlerini, sabit faz (kolon) boyunca taşıyan, çeşitli fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip çözelti veya çözücü karışımlarıdır. Kullanılacak mobil fazın seçiminde, analizi yapılacak örnek madde bileşenlerinin özellikleri, kullanılacak sabit faz ve dedektörün özellikleri vb. birçok parametreye dikkat edilmelidir.

Sabit faz (Stationary Phase): Mobil faz içerisinde gelen örneğe ait bileşenlerin etkileşime girdikleri ve belirli ölçüde alıkonuldukları fazdır. Kromatografi tekniğinin çeşidine göre tasarlanmış ve çok değişik materyallerden çok farklı ölçülerde imal edilmiş ve "kolon"

olarak adlandırılmış sabit fazlar mevcuttur. Özellikle gaz ve sıvı kromatografileri için ticari boyutta oldukça fazla marka ve boyutta kolon üretimi yapılmaktadır. Sıvı kromatografisinin bir çeşidi olan yüksek performaslı sıvı kromatografisi (HPLC) uygulamalarında kullanılan kolonlar daha çok 30-300 mm uzunluğunda yaklaşık 5 μm iç çapında metalik boru şeklinde olup iç yüzeyleri çok değişik özelliklerde kaplama materyalleri ile kaplanarak, analizi yapılacak madde grupları için modifiye edilebilmektedir.

Alıkonma (Retention): Mobil faz içerisinde gelen, analizi yapılacak maddeye ait bileşenlerin sabit faz ile etkileşime girerek belirli oranda tutulması daha doğrusu yavaşlatılması ve böylece daha geç olarak sabit fazı terk etmesi olayıdır. Bu özellikten yola çıkılarak, belirli sabit analitik koşullar altında, her kimyasal madde için parmak izi niteliği taşıyan alıkonma zamanı (retention time-t_R) tanımı türetilmiştir. Bu kavram belirli sabit deneysel koşullarda analizi yapılan maddenin sabit fazı terk etmesi için geçen süreyi göstermektedir.

t_0 = kolona ait ölü zaman (column dead time)

t_R = alıkonma zamanı (retention time)

t'_R = net alıkonma zamanı (net retention time)

$t_R = t_0 + t_R'$

Pompa (Pump): Sıvı kromatografisinde mobil fazı oluşturan çözücü karışımlarının, enjektör, kolon ve dedektör içerisinden belirli, sabit veya değişken bir hızda, belirli basınç altında geçmesini sağlar.

Dedektör (Dedector): Kolonda ayırımı yapılan analiz edilecek maddeye ait bileşenlerin alıkonma zamanlarına göre sırayla içerisinden geçerken miktar tayinlerinin yapıldığı donanımdır. Kullanılacak dedektörün türü analizlenecek maddenin fiziksel ve kimyasal özelliklerine göre seçilmelidir. Dedektörler ölçümünü yaptıkları, analizlenecek maddeye ait, fiziksel özelliğe göre şu şekilde sınıflandırılırlar:

1. Ultraviole/görünür bölge dedektörü (Ultraviolet/Visible Dedector-UV/VIS)

2. Fotodiyot array dedektörü (Photodiode Array Dedector-P-DAD)

3. Floresans dedektörü (Fluorescence Dedector-FLD)

4. İletkenlik dedektörü (Conductivity Dedector-CDD)

5. Refraktif indeks dedektörü (Refreactive İndex Dedector-RID)

6. Elektrokimyasal dedektör (Electrochemical Dedector-ECD)

7. Kütle dedektörü (Mass Dedector-MS)

8. Evaporatif ışık dağıtıcı dedektör (Evaporative Ligth Scattering Dedector-ELD)

Kromatogram (Chromotogram): Kromatografik analiz sonucunda elde edilen grafiktir. Y-ekseni, kullanılan dedektörün ölçtüğü fiziksel özelliği (absorbans, fluoresans, iletkenlik, akım, kırılma indisi vb.), X-ekseni ise zamanı göstermektedir (alıkonma zamanı için kolaylık olması bakımından genellikle dakika cinsinden). Zamana karşı Y-ekseninde ölçülen fiziksel özelliğin artıp tekrar azalması şeklinde oluşan pik şeklindeki eğrilerin her biri analiz edilen maddeye ait bir bileşeni göstermektedir. Bu piklere ait değerler (pik alanı, yüksekliği, vb.) kullanılarak kalitatif ve kantitatif analizler yapmak olasıdır.

Hacim akış hızı (Volume Flow Rate): F ile sembolize edilir, birimi cm^3/saniye veya cm^3/dakika olup, alıkonma zamanının alıkonma hacmine bölünmesiyle hesaplanır:

$$F=V_R / t_R$$

Lineer akış hızı (Linear Flow Rate): U ile sembolize edilir, kolon uzunluğunun (L) kolon ölü zamanına (to) bölünmesiyle hesaplanıp birimi cm/saniye'dir: U=L/t0. Lineer akış hızı, kolonun enine kesitinden bağımsız olup, çözücü moleküllerinin kolon boyunca hareketleri sırasındaki ortalama hızlarını gösterir.

Çözünürlük (Resolution): R ile sembolize edilir. Birbirini takip eden 2 adet bileşene ait piklerin birbirinden ayırımlarının başarısını (oranını) gösterir. Takip eden piklere ait maksimalar arası mesafenin 2 pike ait genişliklerin (birimi dakika) toplamına bölünmesiyle hesaplanır.

$$R= [2(t_{R2}-t_{R1})] / W_1+W_2.$$

Takip eden pikler için iyi bir çözünürlükten bahsedebilmek için hesaplanan R değerinin 1-1,5 civarında olması istenir .

2.2.2. Kromatografik Yöntemlerin Sınıflandırılması

Kromatografik yöntemler kullanılan mobil fazın sıvı veya gaz olmasına göre; sıvı kromatografisi ve gaz kromatografisi olmak üzere başlıca 2 ana grupta sınıflandırılabilir. Bunun haricinde kromatografik yöntemler, alıkonulma mekanizması ve çalışma metoduna göre de 2 şekilde sınıflandırılabilir:

A) Alıkonma Mekanizmasına Göre

Adsorpsiyon Kromatografisi: Analizlenecek madde hem mobil faz hem de sabit fazı oluşturan moleküllerle etkileşim içerisindedir. (Polar maddeler polar, apolar maddeler ise apolar sabit faz tarafından daha fazla tutulurlar)

Dağılım Kromatografisi: Adsorpsiyon kromatografisinden farklı olarak bu yöntemde sabit fazda sıvıdır. Sıvı sabit fazın getirdiği zorluklar uygulama alanını kısıtlamaktadır.

Molekül boyutuna Göre Ayırma Kromatografisi: Analizlenecek maddelere ait moleküller boyutlarına göre ayrılmaktadır. Bu işlem için çok değişik por çapları içeren dolgu maddesiyle doldurulmuş kolonlar kullanılmaktadır. Böylece değişik çaplardaki porlar birer elek gibi davranarak maddeleri boyut-çaplarına göre alıkoymaktadır.

Afinite Kromatografisi: Alıkonma mekanizması maddeye özgün olmakta ve anahtar-kilit modeline uygun biyolojik materyaller dolgu malzemesi olarak kullanılmaktadır. Maliyetinin çok yüksek olması uygulama alanını kısıtlamaktadır.

İyon Değişim Kromatografisi: Yüklü bir maddenin ters yükle yüklenmiş katı bir sabit fazla tutulması prensibine dayanır.

B) Çalışma Metoduna Göre

Daha az kullanılan, örneğin kolondan uzaklaştırılma mekanizmasına göre yapılmış bir sınıflandırmadır.

- ✓ Elüsyon Oluşumu Kromatografisi (Elution Development Chromatography)

✓ Yerdeğiştirme Oluşumu Kromatografisi (Displacement Development Chromatography)

✓ Frontal Analiz Kromatografisi (Frontal Analysis Chromatography) [46].

2.2.3. İyon Kromatografisi

Kromatografi, karışımlardaki kimyasal bileşiklerin ayrılması, tanınması ve tayini için kullanılan bir analitik metottur. Bu yöntemlerde çalışma düzeneği temel olarak iki bileşenden oluşur. Bu bileşenlere sabit faz ve hareketli (mobil) faz adı verilir. Mobil fazın içerisinde yer alan bileşenler, sabit faza ait dolgu maddesiyle etkileşmeleri sebebiyle, bir miktar tutulurlar. Bu tutulma, örnekteki farklı bileşenler için farklı miktarlarda olur. Böylece bileşenler sabit fazın sonlarına doğru, farklı hızlarda ilerledikleri için, birbirinden ayrılmış vaziyette sabit fazı farklı zamanlarda terk ederler. Bu şekilde sabit fazdan çıkan bileşenlerin derişimleri uygun bir biçimde ölçülür ve zamana veya mobil fazın kullanılan hacmine karşı y-ekseninde işaretlenerek "kromatogram" denilen grafikler elde edilir.

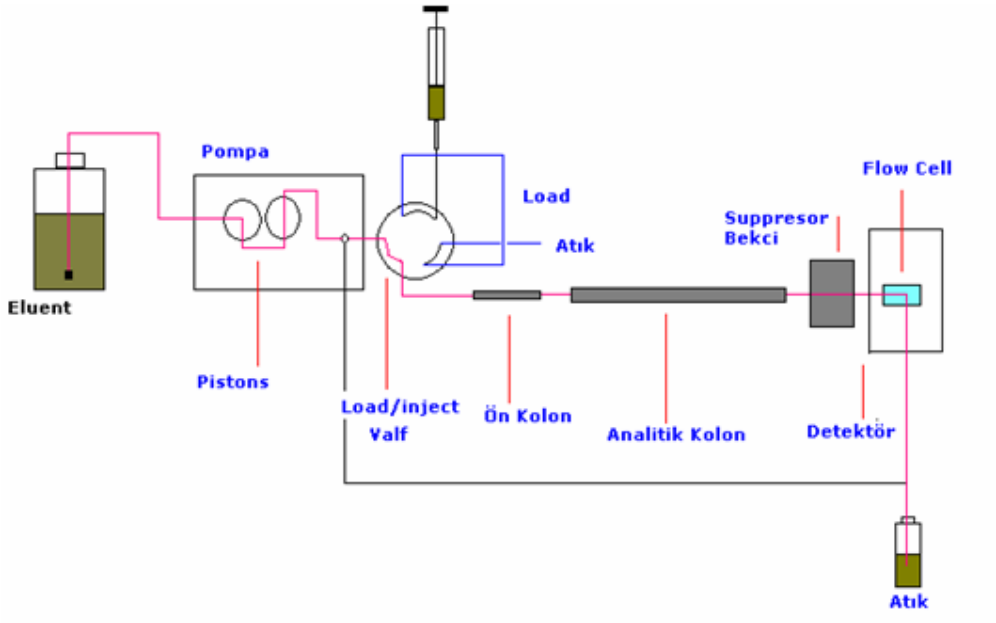
Kromatografi cihazı, 4 bileşenden oluşmaktadır. Bu bileşenler sırasıyla pompa, enjektör, kolon (sabit faz) ve dedektör'dür.

• **Pompa:** Hareketli fazı kolona gönderen, hareketli faz deposundan aldığı çözücüyü önce enjeksiyon sistemine oradan da örneğin çok uçlu bir vananın içerdiği kanala veren sistemdir.

• **Kolon:** Karışım halindeki örneklerin bileşenlerin birbirinden ayırımından sorumlu sabit fazdır. Kolonun ayırım gücü ve performansı yapıldığı materyalden çok, iç yüzeyine yapılan kaplamada kullanılan malzemenin kimyasal ve fiziksel özelliklerinden etkilenmektedir.

• **Enjektör**: Enjeksiyon işlemleri hem manuel hem de oto sampler vasıtasıyla yapılabilmektedir.

• **Dedektör:** Dedektör olarak iletkenlik dedektörü (Conductivity dedector-CD) bulunmaktadır. Kolondan çıkan maddenin derişimi kolon çıkışında bulunan bir dedektörle iletkenlik ölçümüne bağlı olarak belirlenmektedir. Kromatografik analizlerde sıcaklık kontrolü çok önemlidir bu sebeple kolon fırını içerisinde çalışılmaktadır [47].



Şekil 2.1: İyon kromatografisi cihazının şematik gösterimi

2.3. Ultraviyole ve Görünür Bölge Spektroskopisi

Atomların birbirine yeterince yaklaşması sonucu moleküller oluşurken, enerjileri birbirine eşit veya yakın olan benzer atomik orbitallerin örtüşmesi ile moleküler orbitaller ortaya çıkar. Moleküldeki elektronlar da bu moleküler orbitallere Hund kurallarına göre yerleşir. Diatomik bir molekülde, her bir atoma ait bir çift orbitalden bir çift moleküler orbital oluşur. Bunlardan birisi, enerjisi atom orbitallerinin enerjisinden daha az olan, dolayısıyla molekülü oluştuğu atomlardan daha kararlı kılan "moleküler bağ orbitali" diğeri ise, enerjisi atomik orbitallerden daha fazla olan "moleküler karşı bağ orbitalidir". Moleküler orbitaller σ ve π sembolleri ile gösterilir ve karşı bağ orbitalini belirtirken, sembollerin üzerine bir yıldız konur. σ orbitalinin başka bir σ orbitali ile örtüşmesinden σ ve σ^* moleküler orbitalleri oluşur. İki p_x orbitalinin örtüşmesi ile de başka bir çift σ ve σ^* orbitali oluşurken p_y ve p_z orbitalllerinin kendi türleri ile örtüşmesi sonucu π ve π^* sembolleri ile gösterilen moleküler orbitaller ortaya çıkar. Moleküllerde ayrıca bağlanmaya katılmayan serbest elektronların yerleştiği orbitallere n orbitali adı verilir. n orbitali bağ orbitali olmadığı için, enerjisi bağ orebitllerinin enerjisinden büyüktür ve buna ait bir karşı bağ orbitali yoktur.

İkiden fazla atomu olan moleküllerde birçok σ, π ve n orbitalleri vardır. Bu orbitallerde bulunan elektronlar, uygun enerjili fotonları absorplayarak σ* ve π^* orbitallerine geçerler. Çift bağ içeren alifatik bileşikler ile aromatik bileşiklerde en düşük enerjili geçiş $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişidir ve bu geçişin enerjisi sistemde konjugasyon artıkça daha uzun dalgaboylarına kayar. Heteroatom içeren bileşiklerde ise en uzun dalgaboylarında gözlenen geçişler $n \rightarrow \pi^*$ türü geçişlerdir. Bu geçişlerin şiddeti $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişlerine oranla daha azdır. $n \rightarrow \pi^*$ geçişlerine moleküldeki konjugasyonun artmasının etkisi de daha azdır çünkü n orbitalinin enerjisi konjugasyon ile değişmez. Çözücünün apolar bir türden polar bir türe değiştirilmesi ile $n \rightarrow \pi^*$ geçişlerinin dalgaboyu daha küçük değerlere kayar. n elektronlarının enerjisinin polar bir çözücü ile etkileşmesi sonucu azalmasına olan etkiye maviye kayma adı verilir. Apolar bir çözücünün yerine polar bir çözücü kullanıldığında π orbitaline göre daha polar olan π^* orbitalinin enerjisi de, n orbitalinde olduğu kadar olmasa bile, azalır ve bu nedenle $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişi için daha büyük dalgaboylu yani daha düşük enerjili fotonlar gerekir.

Bir molekülün absorpsiyon bandının daha uzun dalgaboylarına kaymasına kırmızıya kayma veya botokromotik etki, daha kısa dalgaboylarına kaymasına maviye kayma veya hipsokromik etki adı verilir. Absorpsiyon bandının şiddetinin azalması hipokromik etki, artması ise hiperkromik etki olarak tanımlanır. Bir bileşiğin absorplayabileceği bir foton ile etkileşmesi sonucu absorpsiyon olayının mutlaka gerçekleşmesi gerekmez. Bazı geçişlerin olasılığı küçük olduğundan bunlara ait bantların şiddeti de azdır. Örneğin ketonlardaki 300 nm civarındaki $n \rightarrow \pi^*$ bandı ile benzenin 250 nm yakınlarındaki bandının şiddeti çok azdır. Bir bandın absorpsiyon şiddeti, o bandın dalgaboyu maksimumundaki ε değeri ile belirlenir. Molar absorpsiyon katsayısının değeri söz konusu geçişin olasılığı arttıkça artar.

Organik moleküllerde ->C-C<- türü kromoforlarda $\sigma \rightarrow \sigma^*$ geçişi, >C=O türü kromoforlarda $\pi \rightarrow \pi^*$ ve $n \rightarrow \pi^*$ geçişleri, >C=C< türü kromoforlarda yine $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişi, -N<, -O- ve -S- türü kromoforlarda ise $n \rightarrow \sigma^*$ geçişi söz konusudur.

Moleküllerde UV ve görünür bölgede ışığın absorpsiyonu ile bir elektron daha yüksek enerjili bir orbitale geçtiği için bu bölgedeki spektroskopi dalına elektronik spektroskopi de denilir. Elektronik geçiş ile birlikte ayrıca titreşim ve dönme enerji düzeyleri arasındaki geçişlerde olduğundan, moleküllerde absorpsiyon hattı yerine absorpsiyon bantları

gözlenir. Herhangi bir molekülde, belli bir dalgaboyu aralığındaki ışığın absorpsiyonundan sorumlu olan fonksiyonel gruba kromofor grup, ışığı absorplamadığı halde kromofor grupların absorpladıkları ışığın dalgaboyunu daha büyük değerlere kaydıran ve absorpsiyon katsayısını arttıran gruplara ise, okzokrom grup adı verilir. Aslında okzokrom grup olarak adlandırılan gruplar, ışığı absorplayan kromofor grubun elektron yoğunluğunu derğiştirdiklerinden, bunların ışığı kromofor grup ile birlikte absorpladıkları düşünülmelidir.

2.3.1. UV ve Görünür Bölge Spektrofotometreleri

Maddenin ışığı absorplamasını incelemek için kullanılan düzeneğe absorpsiyon spektrometresi veya absorpsiyon spektrofotometresi adı verilir. Bir spektrofotometre düzeneği Şekil 2.2' de görüldüğü gibi başlıca, ışık kaynağı, dalgaboyu seçicisi, örnek kabı ve dedektörden oluşur. Dedektörde elektrik sinyaline çevrilen optik sinyal, bir kaydedici veya galvanometre ile ölçülür.



Şekil 2.2. UV-Vis. Spektrofotometresinin temel bileşenleri

Ana bileşenlere ek olarak spektrofotometrelerde ışığı toplamak, odaklamak, yansıtmak, iki demete bölmek ve örnek üzerine belli bir şiddette göndermek amacıyla mercekler, aynalar, ışık bölücüleri, ve giriş ve çıkış aralıkları vardır. Örnek ise, kullanılan dalgaboyu bölgesinde ışığı geçiren maddeden yapılmış örnek kaplarına konularak ışık yoluna yerleştirilir.

2.3.2. Işık Kaynakları

UV ve görünür bölgede D_2, W, H_2 ve Xe gibi sürekli ışık kaynakları kullanılır. Ultraviyole bölgede en çok kullanılan lambalar, hidrojen ve döteryum elektriksel boşalım lambalarıdır. Bu lambalar, 180 nm ile 380 nm arasında ışık yayar. UV ve görünür bölgenin tümünde

(150 nm-720 nm) kullanılabilecek bir başka şiddetli ve sürekli ışık kaynağı, Xe ark lambasıdır.

2.3.3. Dedektör

Maddenin ışığı absorplayıp absorplamadığını anlamak için, ışık kaynağından gelen ışığın şiddetinin ölçülmesi amacıyla kullanılan bileşene dedektör adı verilir. UV ve görünür bölgede kullanılabilen üç tür dedektör vardır. Fotovoltaik dedektörlerde ışık absorpsiyonu ile iletkenlik bandına çıkarılan elektronlar, ışık şiddeti ile orantılı bir elektrik akımı oluşturur. Fototüp adını alan ikinci tür dedektörler de ise alkali metal oksit filmlerden yapılmış fotokatotlar üzerine düşen fotonlar bu yüzeyden elektron koparır ve elektronlar bir anotta toplanarak elektrik akımına çevrilir. Fotoçoğaltıcı tüp olarak adlandırılan üçüncü tip dedektörlerde ise, fotokatot yüzeyinden foton çarpması ile fırlatılan elektronlar dinot denilen yüzeylere doğru elektriksel alanda hızlandırılır ve dinoda çarpan her bir elektron, dinot yüzeyinden 3-5 elektron daha koparır. Böylece sayıları giderek artan elektronlar en sonunda bir anotta toplanarak elektrik akımına çevrilir.

2.3.4. Monokromatör

Absorbansın ölçülmesi sırasında, ışık kaynağından gelen polikromatik ışıktan tek bir dalga boyunda ışık seçilerek örneğe gönderilir. Polikromatik ışıktan monokromatik ışık elde edilmesini gerçekleştiren düzeneğe monokromatör adı verilir. UV ve görünür bölgede, monokromatör olarak prizmalar kullanılır.

2.3.5. Tek ışınlı spektrofotometreler

Tek ışınlı Spektrofotometreler biraz ucuz, basit, taşınabilir ve kantitatif (nicel) analiz için ideal bir cihazdır. Bu tür bir cihazla spektrum taraması yapmak hem kaynağın şiddeti hem de dedektör tepkisi dalga boyuyla değiştiğinden dolayı mümkün değildir. Doğru değerler elde edebilmek için her defasında cihaz referans (kör) ile sıfırlanmalıdır. Çünkü böyle bir ölçüm tek dala boylu soğurum (absorbans) ölçümüdür.

2.3.6. Çift Işınlı Spektrofotometreler

Bu tür cihazlar tek ışınlı cihazlardan kaynaklanan problemleri elimine etmek için geliştirildi. Bundan dolayı diğerine göre biraz daha karmaşık ve pahalı cihazlardır. Bu tür cihazlar genellikle kolayca taşınabilir yapıda değildirler fakat spektrum taraması veya tek dalga boyunda ölçüm yapabilirler.

Kaynaktan gelen ışın dönen ayna veya diğer bir deyişle Chopper ile ikiye bölünür. Bu ışınlardan biri numuneden diğeri ise referans hücreden geçer. Dedektör dönüşümlü olarak bir numuneden bir referanstan gelen ışınları görür ve I' ın I_o' a oranını verir. Böylelikle referans düzeltmesi otomatik olarak yapılımış olur.

2.3.7. Lambert-Beer Yasası

Maddenin ışığı soğurma (absorplama) derecesini ölçmek ve bundan yararlanarak derişimi saptamak için, soğurma ile derişim arasındaki ilişki bilinmelidir. Monokromatik (tek dalgaboylu ışıma) ve Io şiddetindeki bir ışık demeti, kalınlığı b cm olan bir tüpte bulunan çözeltideki herhangi bir molekül tarafından absorplandığında şiddeti azalır ve tüpü I şiddetinde terkeder. Moleküllerin seçilen dalgaboyundaki ışımayı absorplaması sonucu ortaya çıkan azalma Beer- Lambert eşitliği ile verilir.

$$\log Io/I = \varepsilon bC = A$$

I_0: Örnek kabına giren ışık şiddeti
I : Örnek kabını terkeden ışık şiddeti
ε : Molar absorpsiyon katsayısı (L / mol.cm)
b: Örnek kabının kalınlığı (cm)
C: Derişim (mol / L)
A: Absorbans

Örnek kabını terkeden ve kaba giren ışık şiddetleri arasındaki orana geçirgenlik (T) denir.

$$I / Io = T = 10^{-\varepsilon bc}$$

Absorbans ile geçirgenlik arasında ,

$$A = - \log T = 2 - \log \% T$$

İlişkisi vardır ve %T , yüzde geçirgenlik adını alır.

Çözeltide, uygulanan dalgaboyundaki ışığı absaorplayacak birden fazla molekül varsa, A toplamsal olduğundan,

$A = A_1 + A_2 + \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots = \varepsilon_1 bc_1 + \varepsilon_2 bc_2 +$ eşitliği geçerlidir.

Beer-Lambert eşitliğinin geçerli olması için; uygulanan ışık monokromatik olmalıdır, örnek homojen olmalıdır (absorpsiyonun örneğin her yerinde eşit olması) ve birden fazla bileşen varsa, her bir bileşen diğerlerinin absorpsiyonunu etkilememelidir

2.3.8. Lambert-Beer Yasasından Sapmalar

Lambert-Beer yasasının çoğunlukla hiçbir istisnasının olmadığı düşünülür. Halbuki bu yasanın bazı sınırlayıcı yanları olduğunu görülüt ve ona göre önlem alınabilirler. Bu yasanın başarısız ve yetersiz kaldığı, doğrusal kalibrasyon grafiklerinin elde edilememesinin üç temel nedeni vardır:

Derişim Etkisi: Yasanın kendisi sınırlayıcıdır; Güvenirliğin kaybolduğu bir konsantrasyon sınırı vardır ve bu limit analitten analite değişim gösterir fakat bu sınır kabaca 0.01 M olarak verilebilir. Bu sınırın nedeni ise yüksek derişimlerde veya elektrolit varlığında birbirlerine komşu moleküllerin elektrostatik etkileşimlerle enerji düzeyleri arasında bozulmalar meydana gelir. Hatırlarsanız bu enerji düzeyleri arasındaki elektronik geçişler molekülün absorpsiyon karakteristiklerini verir. Dolayısıyla bu bozulmalarla analiz dalgaboyunda molekülün absorpsiyonunda artış veya azalış olması beklenebilir. Her iki durumda da absorbans & Konsantrasyon arasında doğrusal olmayan bir bağıntı elde edilecektir. Özellikle doğrusallığın çok düşük derişimlerde bile elde edilemediği büyük organik iyonların analizinde çok dikkatli çalışılmalıdır. Örneğin Metilen mavisi için, derişim 0.000001 M ‘dan daha az olmadıkça kalibrasyon grafiği doğrusal hale gelmez.

Kimyasal Sapmalar: Eğer analizi yapılan sistem kimyasal olarak değişimlere uğruyorsa analiz başarısız olacaktır. Bu sapma en çok pH değişikliği yapıldığı zaman rastlanmaktadır. Örneğin, dikromat gerçekte diğer iki krom türüyle denge halindedir ve bunların herbirinin kendine has molar soğurum değerleri vardır. pH değerinde oynama yapıldıkça bu üç krom türünün miktarlarında değişme olur ve ilgili dalgaboyundaki absorpsiyonda değişir. Bu türler arasındaki oran seyrelme ile dahi değişecektir. Bu ve diğer pH duyarlı sistemlerde ortamdaki türlerin mikterını dengede tutabilmek için sistem tamponlanmalıdır.

Enstrümental Sapmalar: Lambert-Beer yasası monokromatik ışıma (tek dalgaboyu) temeline dayanılarak türetildi. Pratik manada monokromatör tarafından seçilen dalgaboyu aralığı ne kadar küçük olursa cihaz o kadar pahalı olur. Bu problemi çözmek için monokromatörden geçen dalgaboylarının molar soğurumlarının birbirine çok benzer olduğu spektrum bölgesinde ölçümlerin yapılması gerekir. Bu maksimum absorpsiyondaki sebeptir. Diğer sebepler ise doğrudan ışık ve kirli, uygun olmayan numune hücreleridir

2.3.9. UV Spektroskopisinin Analitik Uygulamaları

Çeşitli kromoforların absorbsiyon bantlarının birbiri ile örtüşmesi ve absorpsiyon bantlarının genellikle oldukça geniş olması nedeni ile, ultraviyole ve görünür bölge spektroskopisi ile nitel analiz pek yapılamaz. Fakat bu yöntem nicel analiz için çok uygundur. Bir maddenin nicel analizinin yapılacağı dalga boyu ve kullanılacak çözücüyü kararlaştırmak için, örneğin absorpsiyon spektrumunu bilmek gerekir.

Nicel analiz için öncelikle çalışılacak dalgaboyunun ve kullanılacak çözücünün belirlenmesi gerekir. Bunun için belirli bir dalgaboyu aralığında incelenecek örneğin absorpsiyon taraması yapılarak absorbans değerleri dalgaboyuna karşı grafiğe geçirilir. Böylece maddenin absorpsiyon spektrumu çıkarılmış olur. Bu spektrum incelenerek Beer-Lambert eşitliğine uyulan ve maksimum absorbans veren bir dalgaboyu seçilir. Çözeltide analizi yapılacak maddeden başka maddeler de bulunuyorsa bunların ve aynı zamanda çözücünün de absorpsiyon yapmayacağı bir dalgaboyu seçilmelidir. Bu değer saptandıktan sonra analizi yapılacak maddeyi içeren ve derişimleri bilinen bir dizi standart çözelti hazırlanır ve seçilen dalgaboyunda absorbans değerleri ölçülür. Absorbans değerleri,

standart çözeltilerin bilinen derişimlerine karşı grafiğe geçirilir ve böylece bir kalibrasyon doğrusu elde edilir. Bundan sonra, bilinmeyen örneğin absorbans değeri ölçülür ve kalibrasyon doğrusunda bu değere karşı gelen derişim saptanır.

Diğer bir yöntem de standart ekleme yöntemidir. Bu yöntemde ilk olarak örneğin absorbansı ölçülür ve bu değer grafiğin y-eksenine yerleştirilir. Daha sonra derişimi bilinen ve aynı maddeyi içeren bir çözeltiden belirli hacimlerde örneğe eklenir ve her defasında absorbans değeri ölçülür. Okunan absorbans değerleri eklenen madde hacmine veya mol sayısına karşı grafiğe geçirilerek y-eksenini kesen bir doğru elde edilir. Bu doğru sola uzatılarak x-eksenini kestiği değer bulunur ve bu değerin işaretinin (-), ters çevrilmesi ile bilinmeyen derişim saptanmış olur.

Absorbans değerlerinin toplamsallığından yararlanarak karışım halinde bulunan ve ışığı absorplayan iki bileşenin de analizleri yapılabilir. Öncelikle yine bileşenlerin absorpsiyon spektrumları incelenerek, birinci bileşenin ışığı çok absorpladığı ve ikinci bileşenin az absorpladığı bir dalgaboyu (λ_1) seçilir. Bu dalgaboyunda her iki bileşen için derişimi bilinen çözeltiler kullanılarak absorbans ölçülür ve Beer- Lambert eşitliğine göre molar absorpsiyon katsayıları ${}^1\varepsilon_{\lambda1}$ve ${}^2\varepsilon_{\lambda1}$ bulunur. Daha sonra ikinci bileşenin ışığı çok absorpladığı ve birinci bileşenin az absorpladığı bir dalgaboyu (λ_2) seçilir ve bu dalgaboyunda da derişimi bilinen çözeltiler kullanılarak her iki bileşen için absorbans değerleri ölçülür ve ${}^1\varepsilon_{\lambda2}$ve ${}^2\varepsilon_{\lambda2}$ bulunur. En son olarak da, C_1 ve C_2 derişimlerinde karışım halinde bulunan örneğin absorbansı λ_1 ve λ_2 dalgaboylarında okunarak iki absorbans değeri, $A_{\lambda1}$ ve $A_{\lambda2}$ bulunur.
Ölçülen bu absorbans değerleri ve hesaplanan ε değerlerinden yararlanarak,

$$A_{\lambda1} = {}^1\varepsilon_{\lambda1}bc_1 + {}^2\varepsilon_{\lambda1}bc_2$$
$$A_{\lambda2} = {}^1\varepsilon_{\lambda2}bc_1 + {}^2\varepsilon_{\lambda2}bc_2$$

Eşitlikleri yardımıyla C_1 ve C_2 hesaplanır [48].

2.4. Diabetes Mellitus Tanımı

Diabetes mellitus kanda glikoz seviyesinin artması ve glikozüri ile karakterize kronik bir hastalıktır. Sebebi endojen insülinin mutlak veya göreceli eksikliği veya periferik etkisizliğidir. Bunun sonucu olarak kronik hiperglisemi, karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması bozuklukları, kapiller membran değişiklikleri ve hızlanmış arteryosklerozis oluşur. Bu hastalarda en özgün klinik semptomlar polidipsi, polifaji ve poliüridir. Bazı hastalarda izah edilemeyen kilo kaybı, bazılarında da kronik komplikasyonlara bağlı göz, merkezi sinir sistemi, kardiyovasküler sistem veya ürogenital sistemle ilgili yakınmalar ön planda olabilir [49-52].

2.4.1. Diabetes Mellitus' un Epidemiyolojisi

Diabetes mellitus, bütün toplumlarda ve ırklarda görülen bir hastalıktır. Dünyanın bazı yörelerinde görülme sıklığı daha azdır. Grönland ve Alaska eskimolarında DM prevalansı çok düşüktür ve saptanan olguların çoğu Tip 2 DM'dur. Buna karşılık Amerika'da yaşayan Pima Kızılderilileri'nde prevalans %55'in üstündedir ve dünya üzerindeki en yüksek diyabet prevalansı bu ırktadır. Ülkemizde 1999 yılında tamamlanan Dünya Sağlık Örgütü destekli Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Projesinde (TURDEP) %7,2 oranında diyabet, %6,7 oranında bozulmuş glikoz toleransı (BGT) saptanmıştır. Tüm diyabetlilerin % 80'den fazlası Tip 2 diyabet olup ülkemizde Tip 2 diyabet sıklığı %2,5-6 civarındadır . Dünyada endüstrileşmekte olan tüm ülkelerde Tip 2 diyabet sıklığı artmaktadır. Tip 1 diyabet doğumdan sonraki ilk 6 ayda son derece nadir görülür. İnsidansı dokuzuncu aydan sonra giderek artar ve 12-24 yaşlarında en yüksek düzeye erişir. Bu tepe değerden sonra yaş ilerledikçe insidans azalır. 30 yaş üzerinde yeni olgu çok azdır. Tip 2 diyabette ise yaş ilerledikçe insidans artmaktadır. Kadınlarda Tip 2 diyabet prevalansı 65 yaşına kadar erkeklerden daha yüksek bulunur, 65 yaş üzerinde fark ortadan kalkar. Ülkemizde yapılan diyabet taramalarında Tip 2 diyabetli hastalarda bilinen diyabetliler/bilinmeyen diyabetliler oranının 1/3 dolayında olduğu görülmüştür. Taramalar ile Tip 2 diyabet preklinik dönemde saptanırsa hastalığın komplikasyonları ve erken ölüm riski büyük ölçüde azaltılabilir [53].

Tip 2 diyabet hastaların önemli bir bölümü tipik olarak obez ve hiperinsülinemik iken, insülin hiposekresyonunun görüldüğü obez olmayan Tip 2 diyabet hastaları da

bulunmaktadır. Tanıyı izleyen birkaç ay veya yıl içinde oral hipoglisemik ilaçlarla yapılan tedavi başarısız olmakta, bunun sonucunda da insülin bağımlılığına doğru bir ilerleme olmaktadır. Diğer bir deyişle klasik Tip 1 diyabet ve Tip 2 diyabet, sadece diğer bir sınıflandırma ölçeğinin zıt kutuplarıdır. Bunun bir göstergesi olarak Tip 2 diyabet grubundaki bazı kişiler ilk klinik prezentasyonda Tip 2 diyabet olarak tanınırlar fakat gerçekte yavaş ilerleyen bir Tip 1 diyabet hastasıdırlar **[**54].

2.4.2. Diyabet ve Böbrek Fonksiyon Bozukluğu (Diyabetik Nefropati)

Diyabetik nefropati son dönem böbrek yetersizliğinin en sık nedeni olarak günümüzde giderek artan bir öneme sahiptir. Amerika'da son dönem böbrek yetersizliği etyolojilerinin %40'ını oluşturmaktadır. Diyabetik nefropati idrarla atılan protein miktarında artış ile ilişkilidir. Proteinürideki artış sadece nefropatinin gelişeceğinin habercisi olmakla kalmayıp aynı zamanda diyabetik hastaların kardiyovasküler hastalık nedeni ile erken dönemde ölme olasılıklarını güçlü bir biçimde ortaya koyar [55]. Aynı zamanda kardiyovasküler hastalıklar tedavi gören son dönem böbrek yetersizliği hastalarının morbidite ve mortalitesinin majör nedeni olarak tanımlanmaktadır. Hatta minimal renal yetersizlikte bile kardiyovasküler risk artmaktadır [56]. Arteryel yapı ve fonksiyondaki değişikliklerin altında yatan mekanizma tam olarak anlaşılamamakla beraber hipertansiyon ve hiperlipideminin büyük oranda rolü olduğu gösterilmiştir [55,56]. Yakın zamanda yapılan çalışmalar hiperfosfatemi, artmış kalsiyum-fosfat ürünleri ve hiperparatiroidizmin kardiyovasküler hastalık gelişmesindeki rollerine dikkat çekmektedirler [57].

2.5. Litaretür Araştırması

Çalışmamıza konu olan anyonların bulundukları ortamdaki (su, doku, kan, kan serumu, tükürük, idrar, göz yaşı, anne sütü vb) hakında daha fazla çalışma yapılabilmesi için çeşitli tayin yöntem ve teknikleri geliştirilmiştir. Bu anyonların özellikle biyolojik sıvılarada tayinine ilişkin son yıllarda geliştirilen yöntemlere tek tek anyon bazında bakıldığında BrO_3^- analizi ilk kez Dunn ve Mc Iynre tarafından 1949 yılında kalorimetrik yöntemle yapılmış ve tayin limiti olarak ta 500 mg/L saptanmıştır [58].

Sülfür bileşiklerinin böbrek kanallarında transportu ile ilgili çalışmalarda inorganik fosfat tayinin hızlı ve güvenilir bir şekilde yapılması büyük önem taşımaktadır. Serum sülfat tayini

ve idrardaki sülfat tayini titrimetrik ve kalorimetrik olarak yapılmaktaydı [59]. 1960 yılında Berglin ve Borbo serum ve idrardaki sülfat düzeyini türbidimetrik olarak tayin etmişlerdir [60].

SO_4^{2-} düzeyine bağlı olarak ortaya çıkan Sistik Fibrozis, yaygın bir kalıtsal hastalıktır ve kısaca CF olarak bilinir. CF Transmembran iletkenlik regülatörü (CFTR) genlerindeki mutasyon sonucunda ter ve sindirim salgılarındaki bozkluklarla ortaya çıkar ve solunum güçlüğü, zayıf büyüme, ishal ve sonuçta erken yaşta ölümle sonuçlanan bir süreçtir. Bu hastalıkta Pillion ve arkadaşları tarafından 1984 yılında yapılan bir çalışmada; CF hastası olan çocukların ve olmayan çocukların serumlarındaki SO_4^{2-} düzeyleri sırasıyla 0,27±0,03 mmol/L, 0,29±0,03 mmol/L olarak iyon kromatografisi yardımıyla tayin etmişlerdir [61].

Biyolojik örneklerdeki nitrat ve nitrit düzeyinin tespiti için yaygın olarak likit kromatografi (LC) teknikleri kullanılmaktadır [62-74]. Diğer kullanılan teknikler ise GS-MS ve spektrofotometrik yöntemlerdir [75,76]. Çevresel ve biyolojik örneklerdeki nitrit ve nitrat anyonunun analizi ilgili diğer bir çalışmayı da Broman ve arkadaşları 1989 yılında gerçekleştirmiş bu çalışmada Vanadyum (III) reaktifi yardımıyla örnekler spektrofotometrik olarak kemilüminisans yöntemiyle tayin edilmiştir [77].

Tükürükteki fosfat tayini için spektrofotometrik [78,79] ve kalorimetrik metodlar kullanılmaktadır [80-82]. Tükürük içerisindeki en önemli bileşenlerden biri inorganik fosfattır. Çünkü ağız ve diş sağlığında diğer bilimsel alanlarda önemli bir bileşendir. Tükürükteki fosfat konsantrasyonu kadınların ovulasyon dönemlerindeki en önemli göstergesi olmakla beraber dişlerdeki bozulmanında bir belirtisidir [83-84].

Politi ve arkadaşları tarafından1989 yılında yapılan bir çalışmada, serumdaki okzalat, fosfat, ve sülfatı tayin edebilmek amacıyla iyon kromatografi cihazı yardımıyla, iyon değişim kolonu ve iletkenlik dedektörü yardımıyla üç anyonu aynı anda tayin edilmiştir. Yapmış oldukları çalışmada serum fosfat, sülfat ve okzalat değerlerini sırasıyla 1,07 mmol/L, 0,35 mmol/L ve 21 µmol/L olarak belirlemişlerdir [85].

F^- iyonunun diyabet üzerine etkisinin incelenmesi amacıyla Dunipace ve arkadaşları tarafından 1996 yılında yapılan bir çalışmada diyabetik ratların sularına 3 ile 6 ay süreyle F^- ilavesi yapılmış ve sonuç olarak F^- iyonuyla ratların fizyolojik, biyokimyasal veya genetik değişimi arasında ölçülebilinir bir etkinin olmadığı kanaatine varılmıştır [86].

Cantor 1997 yılında yapmış olsuğu çalışmada, bromat anyonunun güçlü bir yüksetgeyici olduğunu ortaya koyarak, DNA hasarına yol açtığını ve bunun sonucunda kansere neden olduğunu belirtmiştir [87].

Parslow ve arkadaşları tarafından 1997 yılında yapılan bir başka çalışmada ise çocuk diyabet hastaları ve içme suyu arasındaki ilişkiyi, su ve çocuklardan alınan kan serumunda nitrat, magnezyum, çinko, alüminyum, kalsiyum, demir ve mangan tayinleri yapılarak incelenmiştir. Bu çalışmanın sonucunda diyabet hastası olan çocukların çok olduğu bölgelerde ki suyun nitrat bakımından zengin olduğu ve nitratın pankreasa zarar veren öncü bir kimyasal olduğu, bu bölgelerdeki içme sularının ise çinko ve magnezyum açısından yetersiz olduğu belirtilmiştir [88].

1998 yılında Torrau ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, idrar ve serumdaki F^- konsantrasyonunun yaş, cinsiyet ve böbrek fonksiyon bozukluğuyla olan ilişkisi incelemiştir. Bu çalışmada böbrek fonksiyon bozukluğu olan 84 erkek, 68 kadın (20-81 yaş arası) ile kontrol grubu olarak 120 erkek, 128 kadın üzerine yapmış oldukları çalışmada hasta ve konrol grubundaki serum F^- konsantrasyonunu sırasıyla 17±9,5µg/L, 58±31 µg/L, idrarda ise sağlıklı kişilerde 671±373 µg/L olarak tayin etmişlerdir. Çalışma sonucunda hasta serum F^- konsantrasyonunun kontrol grubuna göre yüksek olduğu ve yaşla serum F^- konsantrasyonunu arttığını fakat cinsiyetle serum F^- konsantrasyonu arasında bir ilişkinin olmadığını belirtmişlerdir [89].

Whithforda ve arkadaşları 1999 yılında, yaşları 5 ile 10 arasında değişen 17 çocuğun tükürüklerindeki florür iyonu konsantrasyonuyla kan serumlarındaki F^- iyonu konsantrasyonu kıyaslanmış ve tükürükteki F^- konsantrsayonuyla serumdaki florür konsantrasyonu arasında bir korelasyon olmadığı sonucuna varmıştır. F^- iyonu tayini iyon seçici elektrot yardımıyla yapılmıştır [90].

Nitrit ve nitrat tayini üzerine Sohn ve arkadaşları tarafından 2000 yılında yapılan bir çalışmada ratların kan serumu ve idrarlarında 2-nitropropan yardımıyla dervatize edilen örnekler Griess reaksiyonuyla tayin edilmiştir. Bu yöntem daha önce biyolojik örneklere uygulanan kolorimetrik metottan daha hassas ve tekrarlanabilirliliği daha yüksek olduğunu ortaya koymuşlardır [91].

Serum ve idrardaki F^- konsantrasyonunun tayini çok önemlidir [92-94]. F^- iyonu konsantrasyonu serumda <1µmol/L olabilir. Bu yüzden serumdaki florür konsantrasyonu tayini için yeni metotlara ihtiyaç vardır [95-97]. Gaz kromatografisi (GC), potansiyometri ile flörür iyon seçici elektrot (FIA) yardımıyla hem serum hemde idrardaki flörür anyonu analizi için kullanılabilir [98,99]. 1960 ve 1970 yıllarda plazma F^- konsantrasyonun diretk olarak içme suyuyla ilgili olduğu düşünülürdü. Fakat günümüzde plasma F^- kaynağının çok çeşitli olduğu belirlenmiştir [100,101]. Vücut içerisinde florürün %99' u iskelet sisteminde alıkonur. İtai ve arkadaşları 2001 yılında yapmış oldukları çalışmada FIA yöntemi ile çok düşük konsantrasyondaki F^- miktarını idrarda ve serumda tayin etmişlerdir ve tayin limiti olarak serumda 0.016 µmol/L idrarda ise 0.16 µmol/L olduğunu göstermişlerdir [102].

Klorür iyonu miktarına bağlı olduğu bilinen Motor nöron hastalığı (MND) sinir sistemi ve beyin fonksiyonlarının yeterince görev yapmaması sonucu ortaya çıkan çok ciddi bir hastalıktır [103]. Bu hastalıkta solunum durması neticesinde insanlar hayatlarını kaybeder. Hadjikoutis ve arkadaşları tarafından 2001 yılında yapılan bir çalışmada motor nöron hastalığı teşhisi konmuş kişilerden kan serum örnekleri alınmış, bu örneklerde klörür ve bikarbonat konsantrasyonları incelenmiş ve sonuç olarak, yüksek bikarbonat konsantrasyonuna karşın düşük klorür konsantrasyonunun MND hastalarının solunumunun zayıflamasına yol açtığını belirtmişlerdir [104].

İnsüline bağımlı diyabet hastası çocuklarda yapılan araştırmalarda karbonhidrat ve protein içeren besinlerin içerisine katılan gıda katkı maddeleri (nitrosaamin gibi) insüline bağımlı çocuklarda insülin yakalama riskini etkileyen önemli foktörlerden bir tanesi olduğu İsveç çocuk hastalıkları araştırma hastanesi tarafından ortaya konulmuştur [105]. Üreme sağlığı ile diyabet arasındaki ilişkiyi diyabet hastalarından (22 kişi) ve kontrol grubundan (15 kişi) alınan kan serumlarında nitrat, nitrik oksit, MDA, glutatyon sevyeleri incelenmiş; sonuç olarak; diyabetik gruplarda nitrit, nitrat miktarlarının oldukça düşük, MDA ve glutatyon seviyelerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu gösterilmiş ve bunun sonucu olarak nitrik oksit eksikliğinin muhtemelen hücre memranlarını koruma görevini yerine getiremeyerek lipid peroksidasyonuna sebep olacağı ve antioksidant defans sistemini zaafa uğratarak diyabetik hastaların patojen bir özellik kazanmasına neden olacağı ortaya konulmuştur [106]. Kawakatsu ve arkadaşları tarafından 2002 yılında yapılan bir çalışmada tip 2 teşhisi konmuş 289 hasta üzerinde yapılan çalışmada kan serumunda bulunan nitrat ve nitritin kaynağını oluşturduğu nitrik oksit miktarının paralel bir artış gösterdiği, bunun

sonucu olarak da tip 2 teşhisi konmuş hastalarda hyperglycemic vasküler bozukluğun yüksek olduğu görülmüştür [107].

İnsan tükürüğü pek çok kimyasal bileşen içeren oldukça ilginç bir vücut sıvısıdır. Bu tür sıvıları analitik olarak çalışmak ve bileşenlerine ayırmak özel spesifik metodlar gerektirir [108-110]. İyon kromatografik sistemlerin gelişmesiyle beraber hem hızlı hem de güvenilir sonuçlar elde edilmiş ve bunun sonucunda iyon kromatografi cihazının klinik kimyada kullanım alanı genişlemiştir özellikle biyolojik örneklerde (serum, tükürük, idrar, göz yaşı vb.) anyon analizlerinde başarıyla kullanılmıştır [111-115]. Chen ve arkadaşları tarafından 2004 yılında yapılan bir çalışmada insan tükürüğünde klorür, fosfat, nitrat, sülfat, tiyosiyanat, laktat ve asetat anyonlarını iyon kromatografi cihazı kullanarak tayin etmede hassas ve aynı zamanda tekrarlanabilirlik açısından da iyi sonuçlar verdiğini göstermişlerdir [116].

Sudaki bromür konsantrasyonu öncelikli olarak o bölgedeki jeokimyasal yapıdan kaynaklanmaktadır. Su kaynakları çevresindeki bromür tuzlarının yoğunluğuyla sudaki bromür iyonu miktarı arasında direkt bir ilişki vardır [117]. Bunun yanı sıra bromür kaynağı olarak antropojenik etkide söz konusu olabilir [118]. Pestisitler ve yakıt atıkları bromür kirliliğinin nedenlerinden olabilir. Magazinoviç ve arkadaşları 2004 yılında Güney Avustralya' nın en önemli doğal su kaynaklarını, nehir ve göllerinde bromür tayinini iyon kromatografi cihazı yardımıyla tayin etmiş ve elde edilen sonuçlarla yine o bölgedeki su örneklerindeki klörür iyonu arasında matematiksel bir ilişki kurmuştur [119].

Velicky ve arkadaşları tarafından 2004 yılında yapılan bir çalışmada, guatr hastalığının tedavisinde önemli bir yer tutan iyotun troid tarfından daha iyi absorbe edilip, bu bezlerin daha iyi çalışması amacıyla belirli gruplara ayrılan ratlara düşük konsantrasyondan yüksek konsantrasyona doğru içme sularına bromür ilave edilmiştir. Bromür iyonunun iyot emilimini artırarak triod bezlerinin büyümesine ve dolayısıyla triod bezinin daha çalıştığını yapılan mikroskobik çalışmalarda göstermişlerdir [120].

Karabiber ve arkadaşları 2004 yılında epilepsi teşhisi konmuş 34 ve kontrol grubu olarak da 38 çocuk üzerinde yapmış oldukları çalışmada; antiepileptik ilaç olarak volporik asit ve karbamazepin kullanan çocukların serumlarındaki nitrit ve nitrat düzeyleri incelenmiş volporik asit alan çocukların serumlarında nitrit 2,66±2,11 µmol/L, nitrat 69±23,20 µmol/L,

karbamazepin kullanan çocukların serumlarındaki nitrit ve nitrat düzeyleri sırasıyla 1,89±0,55µmol/L, kontrol grubu çocuklarda ise nitrit 1,22±0,55µmol/L, nitrat ise 29,53±10,61µmol/L olarak tayin etmişlerdir. Bu çalışmada nitrit ve nitrat tayini Griess metoduna göre UV spektrofotemetresiyle yapılmıştır [121].

Süt içerisindeki nitrit ve nitrat miktarları yaklaşık olarak 0,5 mg/kg civarındadır. Gapper ve arkadaşları 2004 yılında iyon değişim kromatografisi yardımıyla spektrofotometrik tayin metodu geliştirerek süt örnekleri içerisindeki nitrit ve nitrat miktarlarını belirlemişlerdir [122].

Tip 2 diyabet en sık görülen diyabet formudur ve genel populasyon içerisindeki görünme sıklığı %3 ile %6 arasında değişmektedir [123]. Tip iki diyabetik hastalarda kan glukoz seviyesi olası komplikasyonlara karşı insülin terapisiyle dengelenir [124]. Kikuchia ve arkadaşları 2005 yılında yaptıkları çalışmada insülin hormonu yetersizliği tanısının ortaya konulmasında kan plazmasındaki Cl^- iyonu konsantrasyonunun yeni bir tanı belirteci olabileceğini ortaya koymuştur. Bu amaçla Tip 2 diyabetli kişilerin kan serumlarındaki klörür iyonu konsantrasyonuna paralel olarak insülin aktivitesindeki bozulma takip edilmiş ve aralarında bir korelasyon olduğunu ortaya koymuştur. Yapmış oldukları çalışmada insülin tedavisi gören kişilerin serumlarındaki Cl^- konsantrasyonunu 98 mEq/L, kontrol grubunda ise Cl^- iyonunu 101 mEq/L olarak tayin etmişlerdir [125].

Kwan ve arkadaşları tarafından 2005 yılında yapılan bir çalışmada insan tükürüğündeki fosfat miktarı amperometrik biyosensör yardımıyla tayin edilmiştir. Bu tayin metodunda prüvat oksidaz enzimi nafion polimeri üzerine imobilize edilerek bir elektrot oluşturulmuş ve bu elektrot yardımıyla tükürükteki PO_4^{3-} tayin edilmiş ve tayin limiti 3.6 µM olarak belirlenmiştir [126].

Virji ve arkadaşları tarafından 2006 yılında yapmış oldukları ve (63-58) yaş arası 58 kadın üzerinde yapılan çalışmada, menopoz sonrası FSH hormonuna bağlı olarak serum fosfat ve laktat düzeyleri incelenmiş ve sonuç olarak FSH ile serum fosfat düzeyi arasında bir korelasyon olduğunu ortaya koymuşlardır [127].

Cox ve arkadaşları 2006 köpek plazmasında bromür tayin etmek amacıyla iyon kromatografisi cihazıyla serumdaki bromür düzeylerini incelemişlerdir [128].

Delker ve arkadaşları 2006 yılında yapmış oldukları çalışmada, BrO_3^- anyonunun karsinojen özelliğini göstermek, dokulara bıraktığı hasarı ortaya koymak ve dokulara zarar vermeye başladığı eşik doz miktarını bulmak için ratlarla bir çalışma yapmıştır. Bu çalışmada ratlara suyla verilen potasyum bromat radyoaktif oksijen izotopuyla takip edilmiş ve böylece böbrek ve triod organları incelenerek bromat anyonunu doza bağlı olarak bırakmış olduğu hasar tespit edilmiştir. Yapılan çalışmada eşik doz olarak da 0,25 ile 50 mg/L aralığı bulunmuştur [129].

Savino ve arkadaşları tarafından 2006 yılında yapılan bir çalışmada, diyabet hastası çocuk ile ergenlerin kan serumu ve idrarlarındaki nitrat ve nitrit düzeylerini araştırmak amacıyla 42 tane Tip 1 diyabet hastası çocuk ve 41 tane sağlıklı çocuğun serum ve idrarlarındaki nitrik oksit (nitrit + nitrat) düzeyleri incelenmiştir. Hasta grubunda serum nitrik oksit 30,26±6,52 mmol/L kontrol grubunda ise 24,47±7,27 mmol/L, olarak hesaplanırken; hasta grubun idrarlarında nitrik oksit düzeyi 345,0±151,35 mmol/L, kontrol grubunda ise 245,86±80,25 mmol/L olarak hesaplamış ve sonuçta Tip 1 diyabetli çocularda yüksek glikoz düzeyi nitrik oksit artmasına yol açarak başta böbrek fonksiyonlarının aksamasına neden olduğunu ortaya konmuştur [130].

Bromat idrarda bulunabildiği gibi kan plazması ve tükürükte de bulunabilir. Bromat metabolizmasının anlaşılabilmesi için kanda bromür miktarının bilinmesi gerekir. Potasyum bromür (KBr), dokuları tahrip eden, pek çok sistemde mutajenik etki gösteren karsinojen bir maddedir. Özellikle hayvanlarla yapılan çalışmalarda potasyum bromürün böbrek ve triod tümürü oluşumunda etkisinin olduğu kanıtlanmıştır Qunones ve arkadaşları tarfından 2006 yılında ratların serumları alınarak yapılan bir çalışmada IC-ICP-MS cihazlarını kullanarak ve bromatı tayin limiti 5ng/mL olacak şekilde ortaya konulmuştur [131].

Korkmaz ve Uzunoğlu 2006 yılında 43 astım hastası ve 20 sağlıklı kişinin kan serumlarındaki nitrik oksit (nitrit + nitrat) miktarlarını Griess metoduna göre tayin etmiştir. Bu çalışmada astım hastaları hafif persiston ve ağır persiston olarak 2 gruba ayrılmıştır. Hafif persiston hastanlarda nitrit + nitrat düzeyleri 45,8 µmol/L olarak bulunurken ağır persiston hastalarında 54,3 µmol/L olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubunda ise nitrit ve nitrat değerleri sırasıyla 2,3 ve 46,6 µmol/L olduğu sonucuna varılarak serum nitrit ve nitrat düzeylerinin astım hastalığının tedavisinin izlenmesinde önemli bir belirteç olmadığı fakat yardımcı bir belirteç olabileceği yorumuna varmışlardır [132].

Singh ve arkadaşları tarafından 2007 yapılan bir çalışmada ise, Hindistan'ın 3 farklı bölgesindeki su kaynaklarında bulunan F^- konsantrasyonu, yine aynı 3 farklı bölgede yaşıyan yaşları 11 ile 16 arasında değişen 400 çocuğun idrarlarındaki F^- konsantrasyonu karşılaştırılmıştır. İdrardaki F^- konsantrasyonu tayininde iyon seçici elektrot kullanılmıştır. 1,2,3 bölgelerdeki F^- konsantrasyonu sırasıyla 1,68±0,35, 3,22±1,18 ve 1,78±0,12 mg/L olduğunu ortaya koymuşlardır. Çocukların idrarlarındaki konsantrasyonları ise sırasıyla 2,26±0,024, 2,48±0,77 ve 2,43±0,84 mg/L olduğunu ve sonuç olarak sulardaki florür konsantrasyonuna bağlı olarak çocukların idarlarındaki F^- konsantrasyonları arasında bir ilişki olduğu yapılan çalışmada gösterilmiştir [133].

Yılmaz ve arkadaşları tarafından 2007 tarihinde yapılan bir çalışmada ise, ratlara suyla verilen potasyum bromürün malon dialdehit (MDA), yağ asitlari, vitamin C üzerine etkisi incelenmiş sonuç olarak potasyum bromür verilen ratlarda ki MDA düzeyinin kontrol grubuna göre yüksek, vitamin C düzeyinin ise kontrol grubuna göre düşük olduğu tespit edilmiştir [134].

2008 yılında Cordoso ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, 5 kişiye düşük düzeyde F^- içeren diyet uygulaması yapılmıştır ve 5 gün boyunca gün içinde belirli zaman aralıklarında F^-, Ca, parat hormonu (PTH) ve fosfor düzeyleri incelenmiştir. 3 saat ve 11 saat aralıklarla yapılan analiz neticesinde 3 saat aralıklı analizde F^- değeri 0,55±0,11µmol/L, 11 saat aralıklı ölçümlerde ise 0,5±0,0611µmol/L olarak ölçmüşlerdir. Sonuç olarak F^- atılımıyla PTH arasında bir korelasyon olduğu fakat serum F^- ve Ca arasında bir korelasyonunun olmadığı sonucuna varmışlardır. Ayrıca günlük F^- konsantrasyonundaki dalgalanmaların boşaltım sistemi tarafından dengelendiği belirtilmiştir. F^- tayini iyon seçici elektrot aracılığıyla gerçekleştirilmiştir [135].

Kan serumu ve idrarda Br^- anyonu tayini iyon kromatografisi [136], gaz kromatografisi [137-143] gibi cihazlarla tayin edilebilir. Bromür kanda ve idrarda ara sıra analiz edilen bir anyondur. Analiz edilme nedenlerinden biri hidrokarbon ile bromürün birleşmesiyle oluşan halothan (CF_3HCIBr) ve kanserojen bir madde olan metil bromürdür. Halotan çocuklara primer anetezik ilaç olarak verilmektedir. Bu madde vücut içerisinde metabolize olduğunda ölümcül hepatit negrozise neden olmaktadır. Halotan toksititesi halotan metabolizasyonuyla doğrudan ilişkilidir. Halotan %50 oranında metabolize edilir [144].Epilepsi en çok köpeklerde görülen nörolojik hastalıktır [145]. Bu hastalığın giderilmesinde iki ilaç önerilir.

Bunlar fenobarbitaller ve potasyum bromür (KBr) dür [146]. Fenobarbitaller uzun süreli kullanımda ölümcül olabilir. Bromür iyonu tedavide tercih edilir. Fakat böbrek fonksiyon bozukluklarında bromür dikkatli bir şekilde kanda izlenmelidir [147]. Kage ve arkadaşlarıda 2008 yılında gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi (GS-MS) cihazı yardımıyla kan serumu ve idrarda Br^- tayini yapmışlardır. Bu çalışmada bromür anyonunun tayin limitini 1mg/L olarak belirlemişlerdir [148].

Ferritti ve arkadaşları tarafından 2008 yılında yaplan bir çalışmada, suyun klorlanması sonucu ortaya çıkan klorat anyonunun DNA üzerine olumsuz etkisi olduğunu ortaya koymuşlardır [149].

Wan Park ve arkadaşları tarafından 2009 yılında yapılan çalışmada, kronik böbrek hastalığı teşhisi konulmuş 46798 hastadan alınan serum örneklerindeki fosfat düzeyi incelenmiş ortalama olarak 3,49±0,44 mg/dL sonucu elde etmişlerdir. Plasmadaki fosfat konsantrasyonu tayini için immuno türbidimetrik yöntem kullanılmıştır. Bu çalışma neticesinde serum fosfat seviyesi ile kollestrol, lipoprotein, apolipoprotein A1, kalsiyum ve albumin arasında positif bir korelasyon; yaş, boy-kütle endeksi, insülin düzeyi arasında negatif bir korelasyon olduğunu belirtmşlerdir [150].

Hiperfostemi genelde plazmadaki inorganik fosfat konsantrasyonu 5 mg/dL (1.61mmol/L) yüksek olduğu durumlarda tanımlanmıştır [151]. Özellikle diyaliz hastalarında hiperfostemi ile kardiyovasküler ölüm olayları arasında bir ilişki olduğu yapılan çalışmalarda ortaya konuldu [151-154]. Son zamanlarda konuyla ilgili yapılan çalışmalarda serum fosfat seviyesi ile total kollestrol, yüksek yoğunluklu lipoprotein ile pozitif olarak bir ilişki olduğu, fakat yaş-kütle indeksi, bel çevresi, sistolik ve diastolik kan basıncı, glukoz sevyesi, insülin, trigliserit düzeyi arasında olumsuz bir ilişki olduğu belirtilmiştir [155-159]. Lippi ve arkadaşları tarafından 2009 yılında, 11288 hasta üzerinde 5 yıl süreli bir çalışma yapılmış ve sonuç olarak yüksek fosfat düzeyi diğer geleneksel risk faktörlerinden bağımsız olarak kardiyovasküler hastalık patofizyolojisini arttırdığını tespit etmişlerdir [160].

Amerika' da Rhode Island Hastanesinde bilim adamlarının son zamanlarda yapmış oldukları çalışmada özellikle salam, sucuk, sosis gibi et ve et ürünlerinin korunması amacıyla içine konulan nitrat ve nitrit tuzlarının (nitrozaminler) çok ciddi ve hatta ölümcül hastalıklara

sebep olduğu ortaya konmuştur. Bu hastalıkların başında alzhimer, parkinson ve tip 2 diyabet gelmektedir [161].

Akyüz ve arkadaşları tarafından 2009 yılında yapılan bir çalışmada, yüksek tansiyon hastalarından alınan kan serumu ve idrar, yiyecek örneklerinden (peynir, salam, sucuk), çevresel örnekler (kar, yağmur suyu, içme suyu) üzerinde nitrit ve nitrat tayinleri GS-MS ve LC ile florosan dedektör kombinasyonunu kullanarak iz miktardaki nitrit ve nitrat tayinini gerçekleştirmişlerdir [162].

Bütün bu bilgilerin ışığında, anyonların (F^-, Cl^-, Br^-, BrO_3^-, NO_2^-, NO_3^-, PO_4^{3-}, SO_4^{2-}) tayini iyon kromatografisi, PO_4^{3-} ve NO_2^- anyonları UV-VIS spektrofotometresi ile yapıldı. Çalışmada iki farklı cihaz ve yöntem kullanılarak elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak kıyaslanmıştır Litaretürlere genel olarak bakıldığında da biyolojik sıvılarda anyon analizlerinde kromatografik yöntemlerin ağırlıklı olarak kullanıldığı görülmektedir. Çalışmada iki farklı cihaz ve yöntem kullanılarak elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak kıyaslanmıştır. Tip 2 diyabet hastalığının vücudun birçok sistemi üzerinde etkili olması nedeniyle bu anyonların vücut içerisindeki dengesi oldukça önem arzetmektedir. Bundan dolayı bu çalışmada Tip 2 diyabet hastaları üzerinde çalışılmıştır.

3. MATRERYAL VE METOD

3.1 Materyal

Biyolojik sıvı örneklerinde (serum, idrar ve tükürük) çalışılabilmesi için öncelikli olarak Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırmalar Merkezinden etik kurul kararı alındı (Karar tarihi:06.01.2010 Sayı No:07 Karar no:07). Bu amaçla çalışmanın yürütülebilmesi için hastalık grubu olarak Diabetes Mellitus (Tip 2 diyabet) hastaları seçildi. Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Dahiliye bölümünde Tip 2 diyabet teşhisi konmuş 40 ile 60 yaş arası 30 tane hasta tespit edildi. Bu hastaların yaş ortalaması $58{,}000 \pm 9{,}090$ kontrol grubunun yaş ortalaması ise $52{,}857 \pm 6{,}660$ olarak belirlendi. Bu hastalara bilgilendirilmiş onay formu verilerek hastalar bilgilendirildi. Doktor gözetiminde aynı kişiden olmak üzere kan (2-3 mL), idrar (5-10 mL) ve tükürükleri (1-3 mL) sabah ve aç karına alındı. Kan örnekleri plastik tüplere alınarak santrifüj edildi ve serum kısmı ayrılarak derin dondurucuya saklandı. İdrar örnekleri de steril idrar kaplarına alınarak derin dondurucuda saklandı. Tükürük örnekleri alınmadan önce hastaların ağızlarını bol suyla iyice çarkalamaları istendikten 10-15 dk sonra steril kaplara tükürük örnekleri alındı. Alınan örnekler çalışılana kadar derin dondurucuda muhafaza edildi. Yine bu hastanede her hangi bir rahatsızlığı olmayan 40 ile 60 yaş arası 30 sağlıklı gönüllüden ve aynı kişiden olmak üzere doktor kontrolünde kan (2-3 mL), idrar (5-10 mL) ve tükürük (1-3 mL) örnekleri sabah ve aç karına alındı. Hastalaradan biyolojik örnek alımında uygulanan işlemlerin aynısı kontrol grubundan alınan biyolojik örneklere de uygulandı.

3.2 Kullanılan Cihazlar

Bu çalışmada anyonların tayin edilmesinde Dionex 3000 (IC 3000) model iyon kromatografisi cihazı kullanılmıştır. Bu cihaz, 4 temel bileşenden oluşmaktadır. Bu bileşenler sırasıyla pompa, enjektör, kolon (sabit faz) ve dedektör'dür.

Pompa: Kullandığımız sistemde Dionex SP pompası kullanılmıştır.

Kolon: Anyon analizlerinde kolon Dionex IonPac AS9-HC (4.6x250) mm analitik kolon, IonPac AG9 HC (4.6x50 mm) ön kolon ve karbonat mobil fazlı sistem kullanılmıştır. Anyon-exchange Ionpac AS9-HC analik kolon içerisindeki fonksiyonel grup alkil/alkanol quaterner amonyum iyonudur. Por büyüklüğü 2000 A^o, çapraz bağ oranı (divinilbenzen)

%5, pH uyumluluğu 0-12 arasındadır. Mobil fazın iletkenliğini düşürmek amacıyla kolon çıkışında supressor (ASRS 300 4mm) bulunmaktadır. Supressor mobil fazın iletkenliğini düşürerek iyon kromatografisi cihazının tayin limitlerini düşürmektedir. Böylelikle daha hassas ölçümler yapılabilmektedir.

Serumu ayırmak hem de enjeksiyona hazır hale getirilmiş örneklerdeki partiküllerin çöktürülmesi amacıyla Hettich EBA III marka santrifüj cihazı kullanılmıştır.

Spektrofotometrik ölçümler için ise PG instruments T80-UV-VIS marka UV-Vis Spektrofotometre kullanılmıştır.

3.3 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Bu çalışmada kullanılan kimyasal maddeler, temin edildikleri firmalar ve saflık dereceleri Tablo 3.1'de verilmiştir. Bu maddeler saflaştırılmadan kullanılmıştır.

Tablo 3.1. Kullanılan kimyasal maddeler, temin edildikleri firmalar ve saflık dereceleri

Maddenin Adı	Firmanın Adı	Saflık Derecesi (%)
Anyon Standardı: F^- 20 mg/L, Cl^- 100 mg/L, NO_2^- 100 mg/L, NO_3^-100 mg/L, Br^- 100 mg/L, PO_4^{3-} 200 mg/L, SO_4^{2-} 100 mg/L	Dionex	İyon kromatografisi için
BrO_3^- satandardı	Dionex	İyon kromatografisi için
Potasyum dihidrojen fosfat	Merck	98
Sodyum nitrit	Merck	99
Amonyum molibdat	Merck	99
Sülfirik asit	Merck	99
$SnCl_2.2H_2O$	Merck	97
Sülfanilik asit	Merck	98
α- Naftil amin	Merck	80

3.3. Kullanılan Çözeltiler

3.3.1. İyon Kromatografisi ile Anyon Tayininde Kullanılan Standart Çözeltilerin Hazırlanması

Standart çözeltiler konsansartyounları; F^- 20 mg/L, Cl^- 100 mg/L, NO_2^- 100 mg/L, NO_3^- 100 mg/L, Br^- 100 mg/L, PO_4^{3-} 200 mg/L, SO_4^{2-} 100 mg/L olacak şekilde 7' li Dionex

marka anyon standart çözeltilerinden seyrelltilerek hazırlandı. BrO_3^- çözeltisi ise konsantrasyounu 100 mg/L olan Dionex marka standart çözeltiden seyreltilerek hazırlandı. Standart çözeltiler hazırlanırken deiyonize su kullanıldı. Mobil faz olarak standart Na_2CO_3 çözeltisinden 8 mmol/L' lık çözelti hazırlandı.

3.3.2. UV-Vis Spektrofotometre ile Anyon Tayininde Kullanılan Standart ve Reaktif Çözeltilerinin Hazırlanması

3.3.2.1. Standart PO_4^{3-} Çözeltisinin Hazırlanması

0,1719 g Potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4) 100 mL de iyonize su içerisinde çözülerek 100 mg/L lik PO_4^{3-} stok çözelti hazırlandı. 100 ppm lik stok çözeltiden de 0.1, 0.2, 0.5, 1.0 2.0 3.0, 4.0 5.0, 10.0 mg/L lik standart çözeltiler hazırlandı. Standartlar hazırlanırken kullanılan deiyonize suyun iyon kromatografisi ile tayinlerde kullanılan standart çözeltilerin hazırlanmasında kullanılan deiyonize su ile aynı olmasına dikkat edildi.

3.3.2.2. Standart NO_2^- Çözeltisinin Hazırlanması

0,15 gr $Na(NO_2)$ 100 mL deiyonize suda çözülerek, 100 mg/L konsantrasyonda stok çözelti hazırlandı. Bu stok çözeltiden de 0.6, 0.8, 1.0, 1.2 mg/L'lik standart çözeltiler hazılandı.

3.3.2.3. Amonyum Molibdat Çözeltisinin Hazırlanması

7,111 g Amonyum molibdat ($(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$) tartılarak 50 mL deiyonize suda çözüldü. Ayrı bir beherde 3,5 mL derişik H_2SO_4 kullanılarak deiyonize su ile 50 mL' lik çözelti hazırlandı. Bu iki çözelti birleştirilerek üzerine 50 mL deiyonize su ilave edildi.

3.3.2.4. Kalay Klorür Çözeltisinin Hazırlanması

0,25 g $SnCl_2.2H_2O$' in 10 mL gliserin içerisine ilave edildikten sonra su banyosunda ısıtılarak çözülmesiyle hazırlandı

3.3.2.5. Griess I Reaktifinin Hazırlanması

0,5 gr Sülfanilik asit %15 lik 100 mL asetik asit (CH_3COOH) içerisinde çözülerek hazırlandı.

3.3.2.5. Griess II Reaktifinin Hazırlanması

0,166 gr alfa-naftilamin 20 mL deiyonize suya ilave edilerek bir beher içerisinde ağzı kapalı olacak şekilde kaynatıldı. Hazırlanan bu sıcak çözelti Griess I reaktifi üzerine süzülerek Griess II reaktifi hazırlandı.

3.3.3. İyon Kromatografisi ile Serum, İdrar ve Tükrük Örneklerinde Anyon Tayini

Örneklerdeki anyonları tayin edebilmek için öncelikle örnekler seyreltildi. Tayin koşullarına uygun olarak seyreltme, otomatik pipet yardımıyla 1 mL serum, 1 mL idrar ve 1 mL tükürük örnekleri plastik tüplere alınıp üzerlerine 9 mL ultra saf su ilave edilerek 10 kat olacak şekilde yapıldı. Daha sonra tüpe alınan örnekler, içerisindeki partiküllerin cihazda basıncı artırmaması ve kolonun uzun süreli kullanılabilmesi için 10 dk boyunca 3500-4000 rpm de santrifüjlendi. Bu işlemlerden sonra örneklerdeki anyonlar oto enjektöre konarak tayinleri yapıldı. Tayin boyunca akış hızı 0,7 mL/dk, kolon sıcaklığı ise 30 ˚C ve basınc ~2000 psi olarak ayarlandı. Her bir örnek için tarama süresi 30 dk olacak şekilde düzenlendi. Cihaz örneklermizdeki anyonları ayırdığı için örnekler üzerine seyreltme amaçlı de iyonize sudan başka herhangi bir kimyasal ön işleme ihtiyaç duyulmamıştır. Mobil faz olarak Na_2CO_3 konsantrasyonu 10 mM' dır. Sonuçlar, standartlar da okunduktan sonra cihazın yazılım programına (Chromelon Chromatography Manegement system) göre otomatik olarak hesaplandı [162].

3.3.4. UV-Vis Spektrofotometresi ile Anyon Tayini

3.3.4.1. PO_4^{3-} Tayini

Serum örneklerinden 0,5 mL, tükürük ve idrar örneklerinden ise 1 mL alınarak 25 mL' lik balon jojeler içerisine alındı. Deiyonize su ile son hacim 25 mL'ye tamamlandı. Daha

sonra örnekler ve standartlar üzerine 1 mL Amonyum molibdat çözeltisi ve 1 mL Kalay klörür çözeltisi ilave edildi. Spektrofotometrede 690 nm de tanık çözelti şahitliğinde standart ve örneklerin absorbansları okundu. Standartların okunması sonucunda elde edilen çalışma grafiğinden örnekler içerisindeki PO_4^{3-} miktarı belirlenmiştir [163].

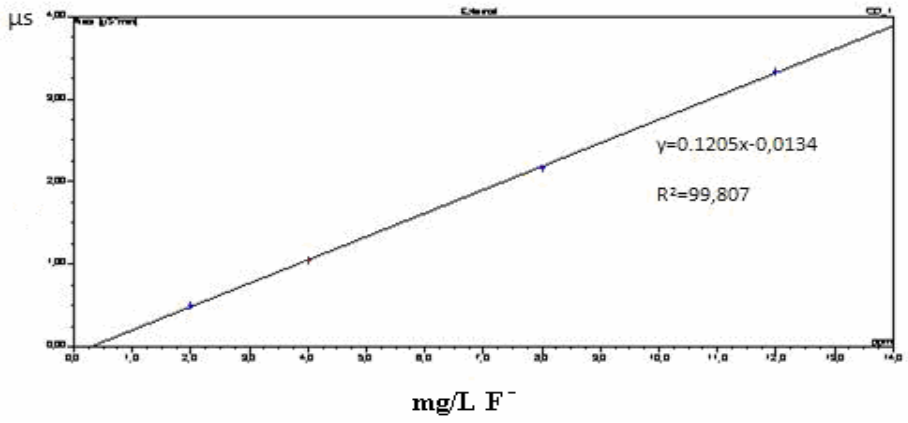
3.3.4.2. NO_2^- Tayini

2 mL serum, 5 mL idrar ve 1 mL tükürük örnekleri balon jojelere alınarak deiyonize su ile hacimleri 25 mL' ye tamamlandı. Örnekler ve standartlar üzerine daha önce hazırlanan Griees reaktifinden 1 mL ilave edilerek 1saat renk oluşumu için bekletildi. Sonra spetrofotometrede tanık çözelti şahitliğinde 520 nm de absorpsiyyonları ölçüldü. Çalışma grafiğinden örnekler içerisindeki NO_2^- miktarı hesaplandı[164].

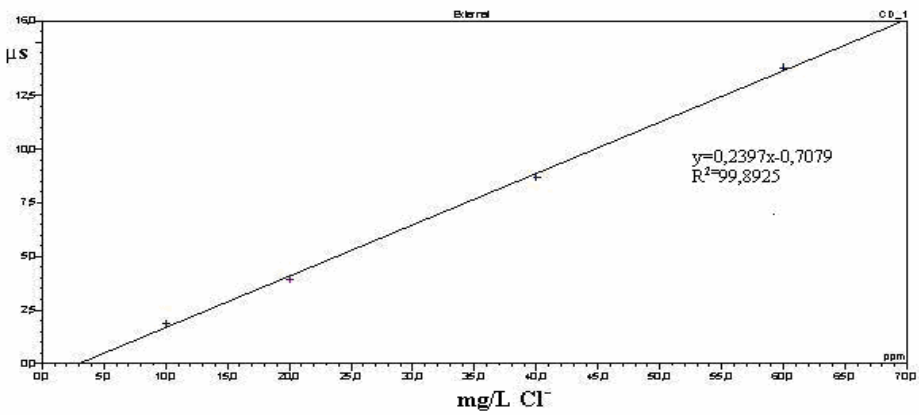
3.5. Tayinleri Yapılan Anyonların Kalibrasyon Grafikleri

3.5.1. İyon Kromatografisi Yöntemiyle Tayini Yapılan Anyonların Kalibrasyon Grafikleri

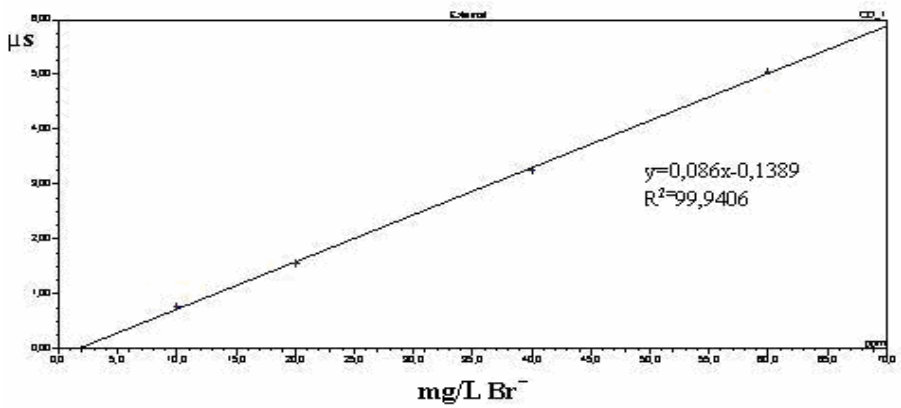
İyon kromatografisi yöntemiyle analizi yapılan F^-, Cl^-, Br^-, BrO_3^-, NO_2^-, NO_3^-, PO_4^{3-}, SO_4^{2-} iyonlarının konsantrasyonlarının tayin edilebilmesi için öncelikle satandart çözeltiler kullanılarak kalibrasyon grafikleri oluşturuldu. Çalışmamızda yer alan her bir iyon için kalibrasyon grafikleri **Şekil 3.1-3.8**' de verilmiştir.



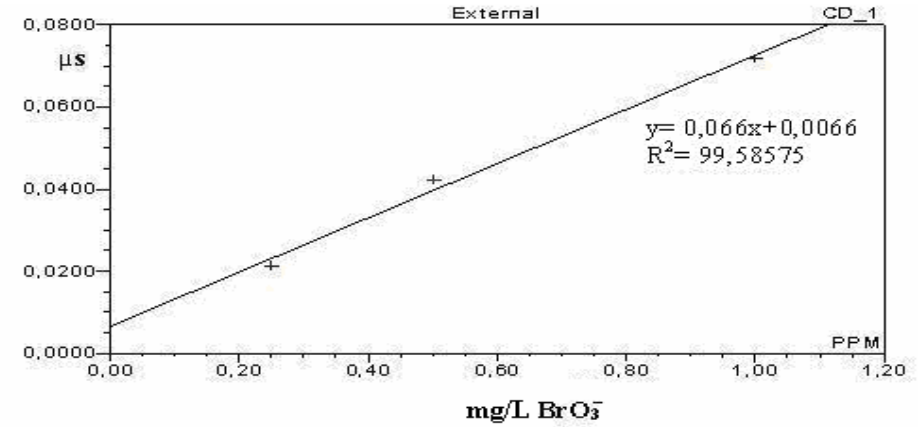
Şekil 3.1. İyon kromatografisi ile F^- iyonu tayininin kalibrasyon grafiği



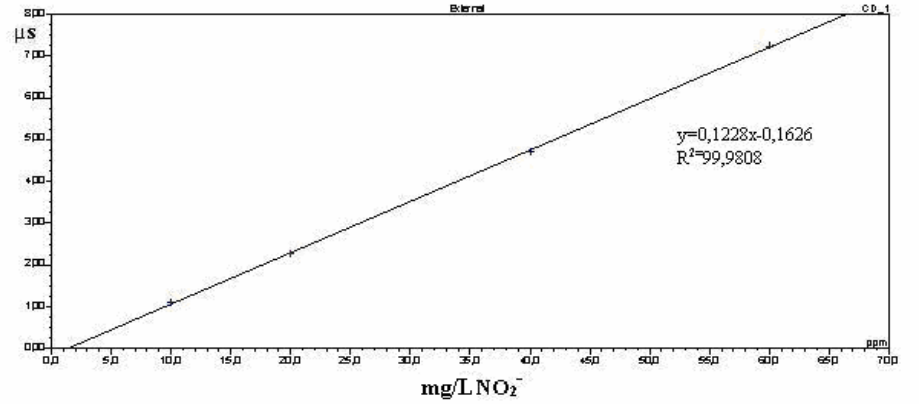
Şekil 3.2. İyon kromatografisi ile Cl^- iyonu tayininin kalibrasyon grafiği



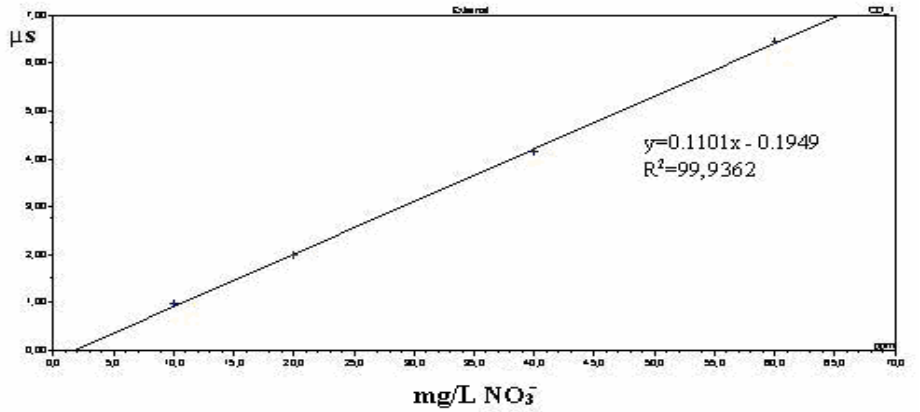
Şekil 3.3. İyon kromatografisi ile Br^- iyonu tayininin kalibrasyon grafiği



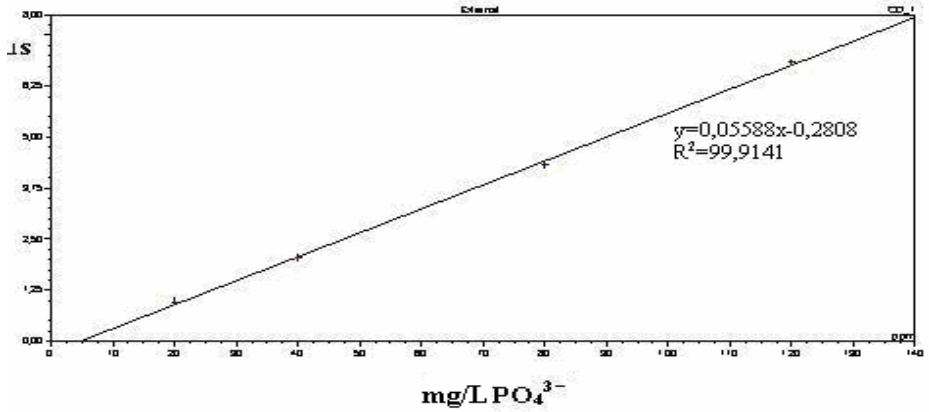
Şekil 3.4. İyon kromatografisi ile BrO_3^- iyonu tayininin kalibrasyon grafiği



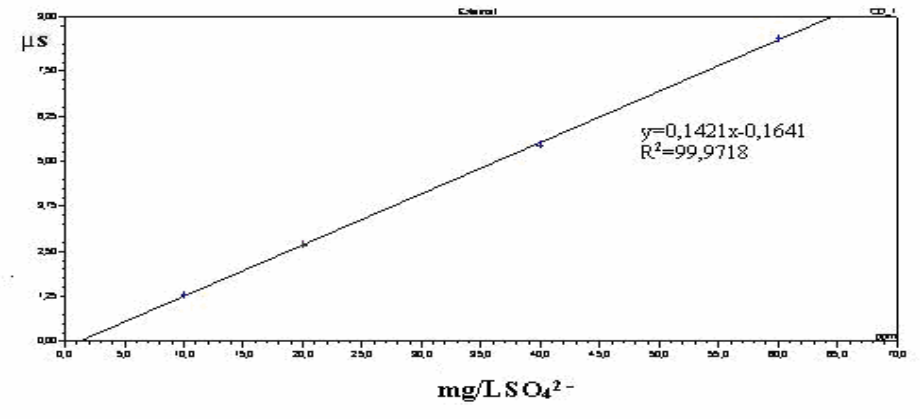
Şekil 3.5. İyon kromatografisi ile NO_2^- iyonu tayininin kalibrasyon grafiği



Şekil 3.6. İyon kromatografisi ile NO_3^- iyonu tayininin kalibrasyon grafiği



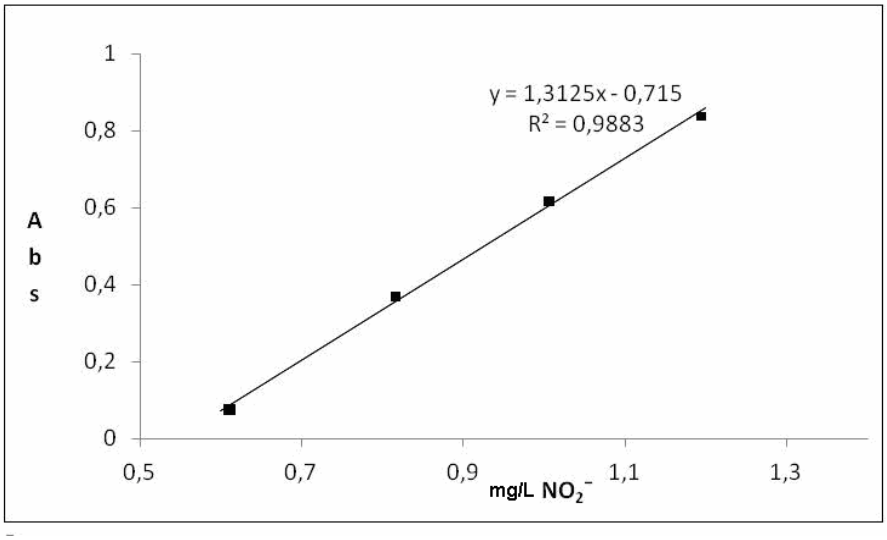
Şekil 3.7. İyon kromatografisi ile PO_4^{3-} iyonu tayininin kalibrasyon grafiği



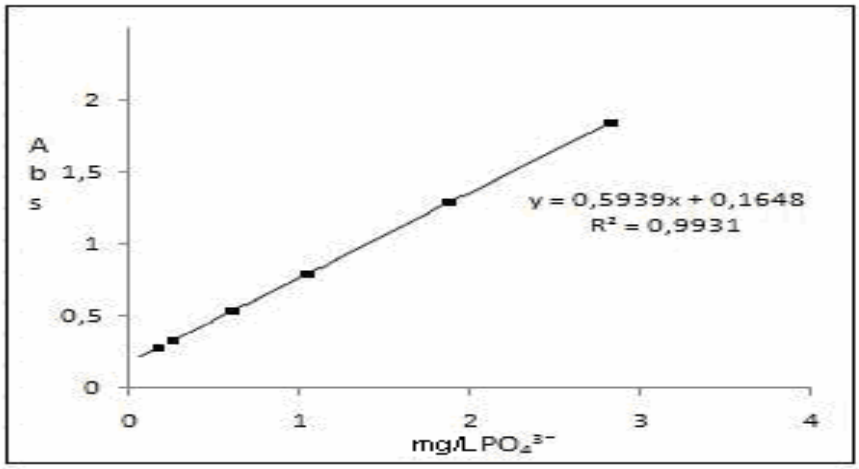
Şekil 3.8. İyon kromatografisi ile SO_4^{2-} iyonu tayininin kalibrasyon grafiği

3.5.2. Spektrofotometrik Yöntemle Tayini Yapılan Anyonların Kalibrasyon Grafikleri

UV-Vis Spektrofotometresi ile analizi yapılan NO_2^- ve PO_4^{3-} iyonlarının konsantrasyonlarının tayin edilebilmesi için öncelikle satandart çözeltiler kullanılarak kalibrasyon grafikleri oluşturuldu. Çalışmamızda yer alan her bir iyon için kalibrasyon grafikleri **Şekil 3.9-3.10**' da verilmiştir.



Şekil 3.9. UV-Vis Spektrofotometresi ile NO_2^- iyonu tayininin kalibrasyon grafiği

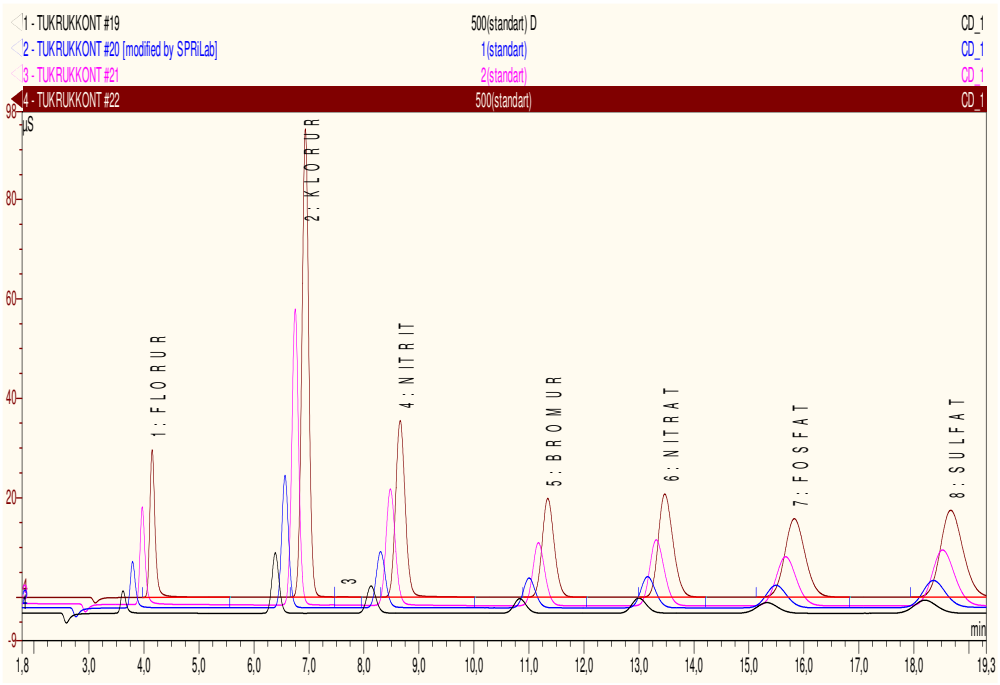


Şekil 3.10. UV-Vis Spektrofotometresi ile PO_4^{3-} iyonu tayininin kalibrasyon grafiği

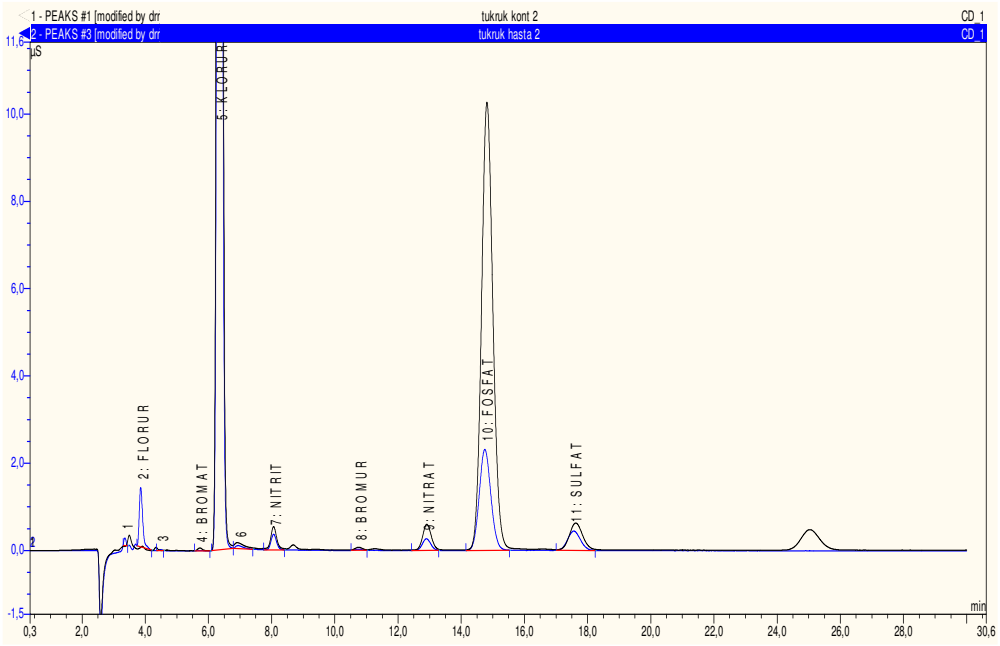
4. BULGULAR

4.1. İyon Kromatografisiyle Anyon Tayininden Elde Edilen Çeşitli Kromatogramlar

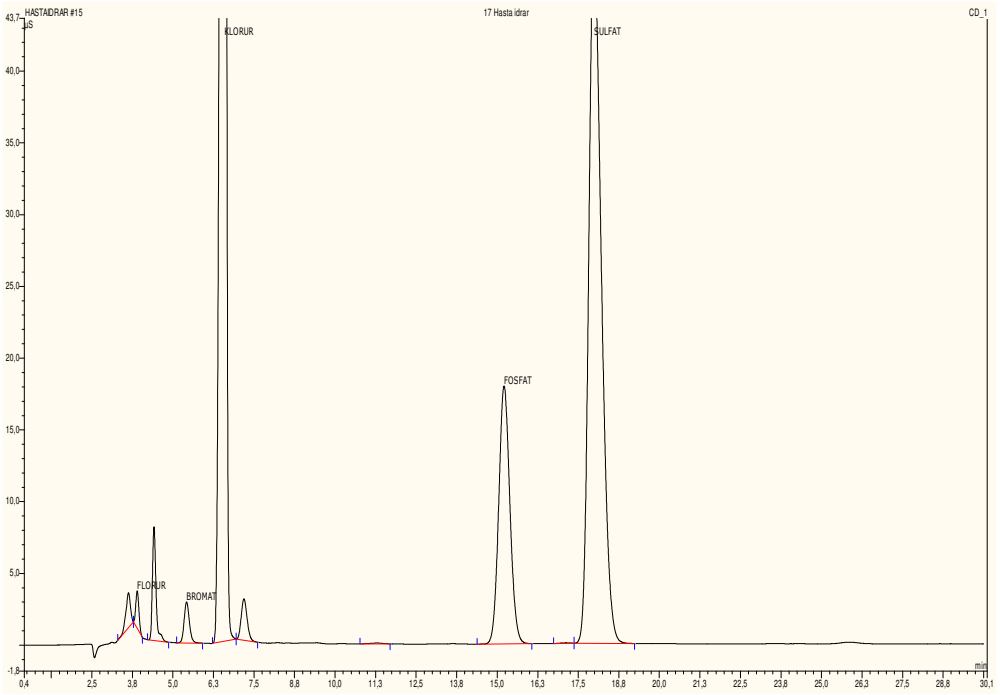
İyon kromatografisi ile F^-, Cl^-, Br^-, BrO_3^-, NO_2^-, NO_3^-, PO_4^{3-}, SO_4^{2-} iyonlarının analizine ait bazı kromatogramlar **Şekil 4.1-4.4**' te verilmiştir. Tayinlere başlamadan önce Dionex marka anyon standart çözeltilerinin kromatogramları alınmış ve Şekil 4.1.' de verilmiştir. Bu kromatogramdan da görüleceği gibi bir örnek içerisindeki bu anyonlar rahatlıkla tayin edilebilmektedir.



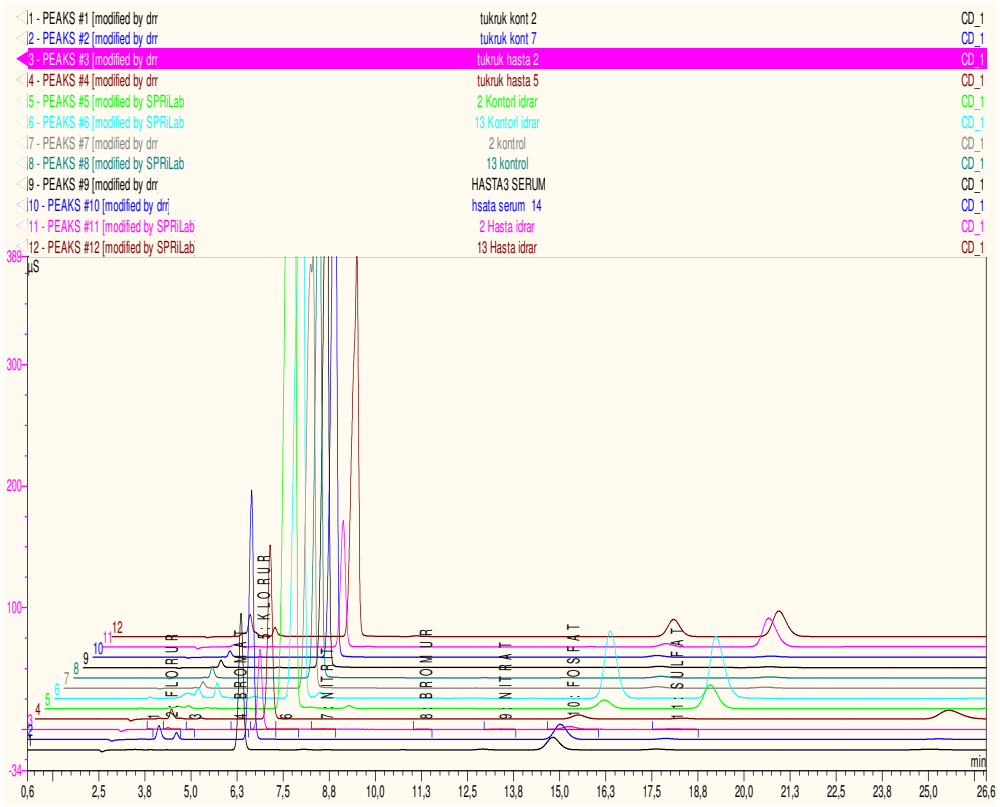
Şekil 4.1. İyon kromatografisi ile anyon tayinlerinde kullanılan standartların kromatogramları



Şekil 4.2. İyon kromatografisi ile elde edilen hasta ve kontrol grubuna ait birer tükürük örneklerinin kromatogramları



Şekil 4.3. İyon kromatografisi ile elde edilen hasta grubuna ait idrar örneğinin kromatogramı



Şekil 4.4. İyon kromatografisi ile elde edilen hasta ve kontrol grubuna ait tükürük, serum ve idrar örneklerinin kromatogramları

4.3. İyon Kromatgrafisi Yöntemi ile Anyon Tayininden Ede Edilen Sonuçlar

İyon kromatografisi ile NO_3^-, NO_2^-, BrO_3^-, Br^-, F^-, Cl^-, SO_4^{2-}, PO_4^{3-} iyonlarının analizi materyal metot kısmında detaylı bir şekilde verilen metotlar kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar SPSS 15.0 istatistik programıyla değerlendirilmiş ve sonuçlar **Tablo 4.1-4.3'** te verilmiştir.

Tablo 4.1. İyon kromatografisi ile serum örneklerinin analizinden elde edilen sonuçlar

Anyonlar	Kontrol Serum(mg/L) n=30	Hasta Serum(mg/L) n=30	p
F^-	2,583±0,536	2,792±1,057	P>0,05
Cl^-	366,037±13,673	357,185±26,169	P>0,05
Br^-	1,765±0,034	1,820±0,087	P<0,05
BrO_3^-	0,053±0,016	0,063±0,045	P>0,05
NO_2^-	nd	1,446 ±0,090	---------
NO_3^-	2,001±0,103	2,045±0,183	P>0,05
PO_4^{3-}	12,811±1,509	14,011±1,485	P<0,05
SO_4^{2-}	3,558±0,469	4,652±1,304	P<0,05

nd: tayin edilemedi

Tablo 4.2. İyon kromatografisi ile idrar örneklerinin analizinden elde edilen sonuçlar

Anyonlar	Kontrol İdrar (mg/L) n=30	Hasta İdrar (mg/L) n=30	p
F^-	1,919±0,670	2,851±1,781	P>0,05
Cl^-	404,869±266,285	140,025±87,910	P<0,05
Br^-	1,782±0,116	1,818±0,192	P>0,05
BrO_3^-	2,135±1,532	3,343±2,331	P>0,05
NO_2^-	1,862±0,397	2,029±0,851	P>0,05
NO_3^-	1,884±0,024	2,691±0,403	P<0,05
PO_4^{3-}	130,309±81,070	98,072±43,297	P>0,05
SO_4^{2-}	119,181±54,417	99,108±41,215	P>0,05

Tablo 4.3: İyon kromatografisi ile tükürük örneklerinin analizinden elde edilen sonuçlar

Anyonlar	Kontrol Tükrük (mg/L) n=30	Hasta Tükrük (mg/L) n=30	p
F^-	2,33±2,281	1,723±1,594	P>0,05
Cl^-	96,712±33,118	82,670±29,890	P>0,05
Br^-	1,794±0,078	1,811±0,080	P>0,05
BrO_3^-	0,063±0,051	0,105±0,033	P>0,05
NO_2^-	1,733±0,368	1,918±0,347	P>0,05
NO_3^-	2,455±0,547	2,642±0,585	P>0,05
PO_4^{3-}	71,069±26,427	45,970±19,456	P<0,05
SO_4^{2-}	4,274±2,101	4,263±1,855	P>0,05

n:Örnek sayısı

4.4. Spektrofotometrik Yöntemle Anyon Tayininden Elde Edilen Sonuçlar

UV-Vis Spektrofotometresi ile NO_2^- ve PO_4^{3-} iyonlarının tayini deneysel kısımda bahsedildiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Diğer anyonların tayinleri örnek yetersizliğinden dolayı spektrofotometrik olarak gerçekleştirilememiştir. Çalışmalardan elde edilen sonuçlar SPSS 15.0 istatistik programıyla değerlendirilerek sonuçlar **Tablo 4.4-4.6**' da verilmiştir.

Tablo 4.4. UV-Vis Spekrofotometresiyle serum örneklerinin analizinden elde edilen sonuçlar

Anyonlar	Kontrol Serum (mg/L) n=30	Hasta Serum (mg/L) n=30	P
NO_2^-	10,148±4,367	13,971±3,984	P>0,05
PO_4^{3-}	41,365±7,258	54,046±13,252	P<0,05

Tablo 4.5. UV-Vis Spekrofotometresiyle idrar örneklerinin analizinden elde edilen sonuçlar

Anyonlar	Kontrol İdrar (mg/L) n=30	Hasta İdrar (mg/L) n=30	P
NO_2^-	3,110±0,170	2,867±0,110	P>0,05
PO_4^{3-}	94,193±22,143	81,958±12,173	P>0,05

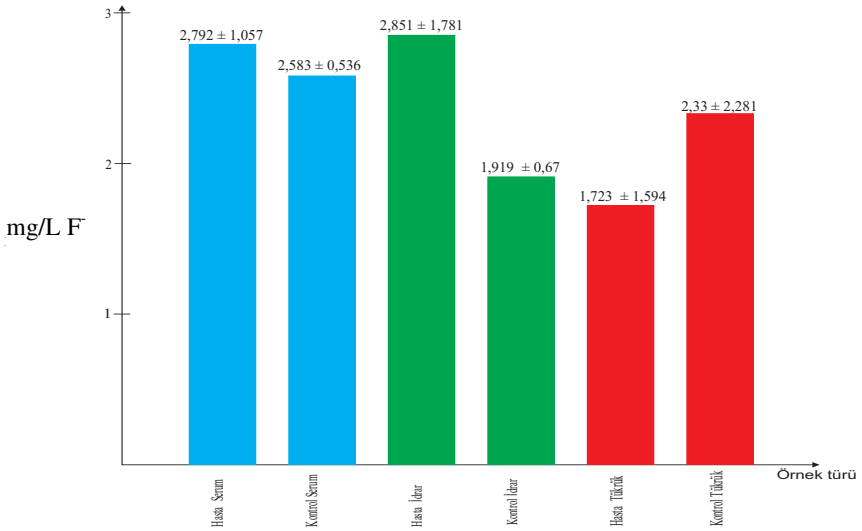
Tablo 4.6. UV-Vis Spekrofotometresiyle tükürük örneklerinin analizinden elde edilen sonuçlar

Anyonlar	Kontrol Tükrük (mg/L) n=30	Hasta Tükrük (mg/L) n=30	P
NO_2^-	12,899±7,946	21,018±10,361	P>0,05
PO_4^{3-}	27,298±5,053	17,883±4,030	P<0,05

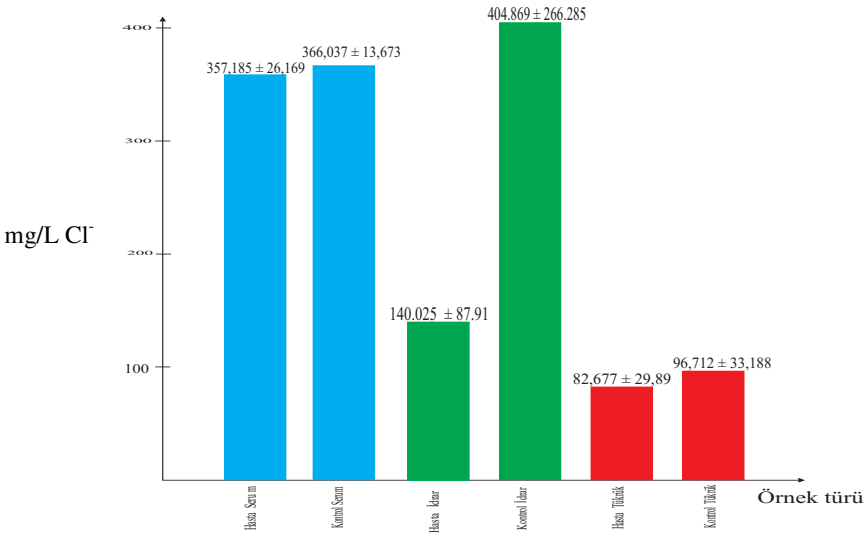
n: Örnek sayısı

4.5. İyon Kromatografisiyle Anyonların Tayininden Elde Edilen Sonuçların Grafiklerle Gösterimi

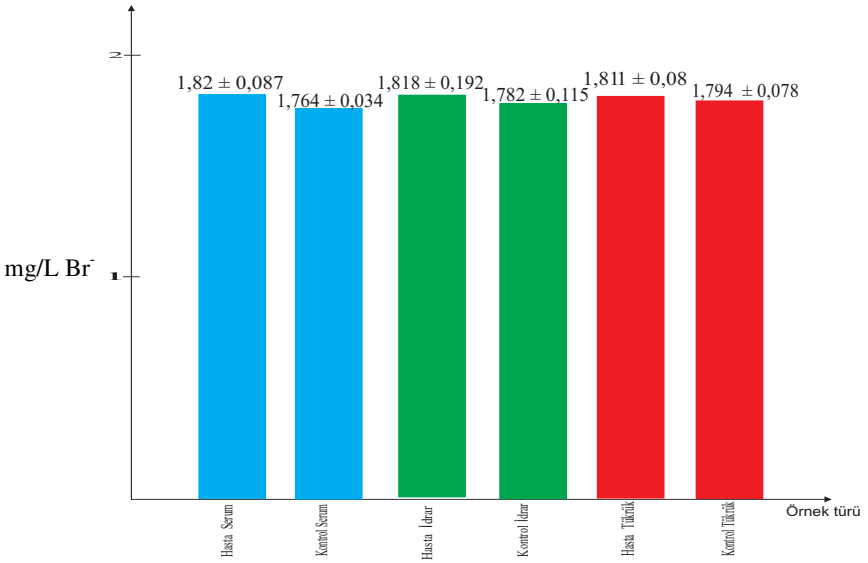
İyon kromatografisi ile F^-, Cl^-, Br^-, BrO_3^-, NO_2^-, NO_3^-, PO_4^{3-}, SO_4^{2-} iyonlarının tayinlerinden elde edilen sonuçlar, hasta ve kontrol gruplarına göre her anyon için grafiksel olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen grafikler **Şekil 4.5-4.12**' de verilmiştir.



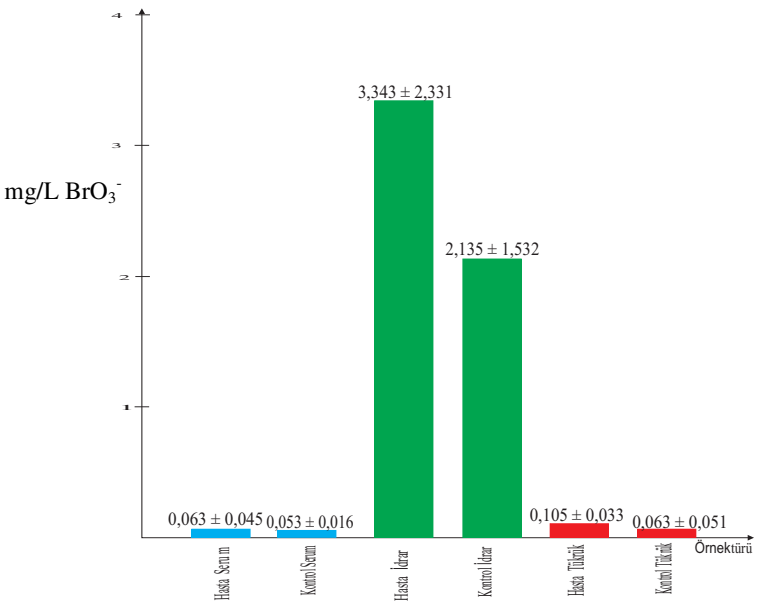
Şekil 4.5. İyon Kromatografisiyle tayin edilen F^- iyonunun hasta ve kontrol grubuna göre değişimi



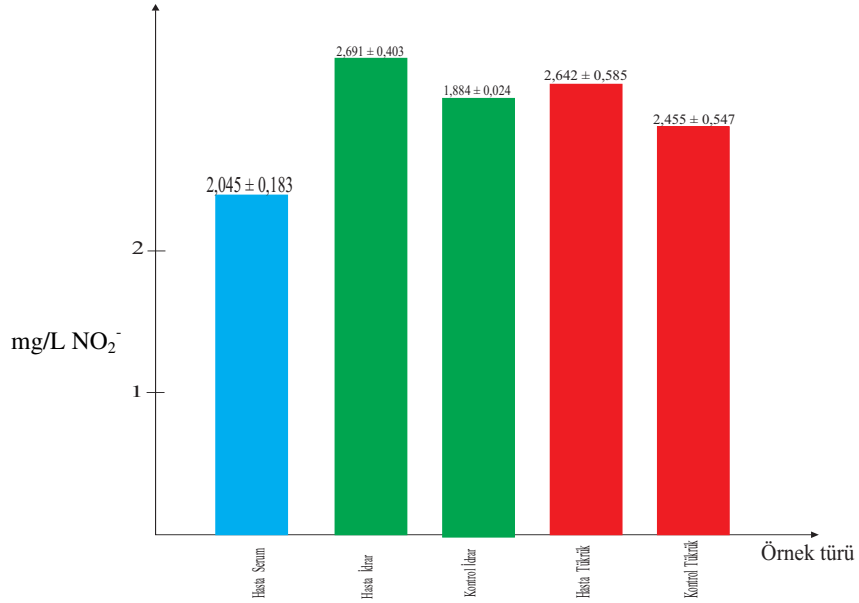
Şekil 4.6. İyon Kromatografisiyle tayin edilen Cl^- iyonunun hasta ve kontrol grubuna göre değişimi



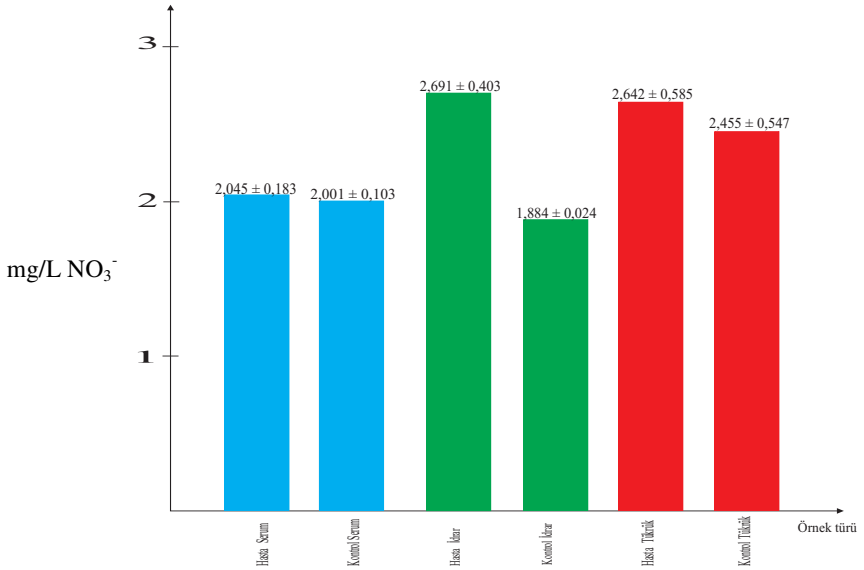
Şekil 4.7. İyon Kromatografisiyle tayin edilen Br^- iyonunun hasta ve kontrol grubuna göre değişimi



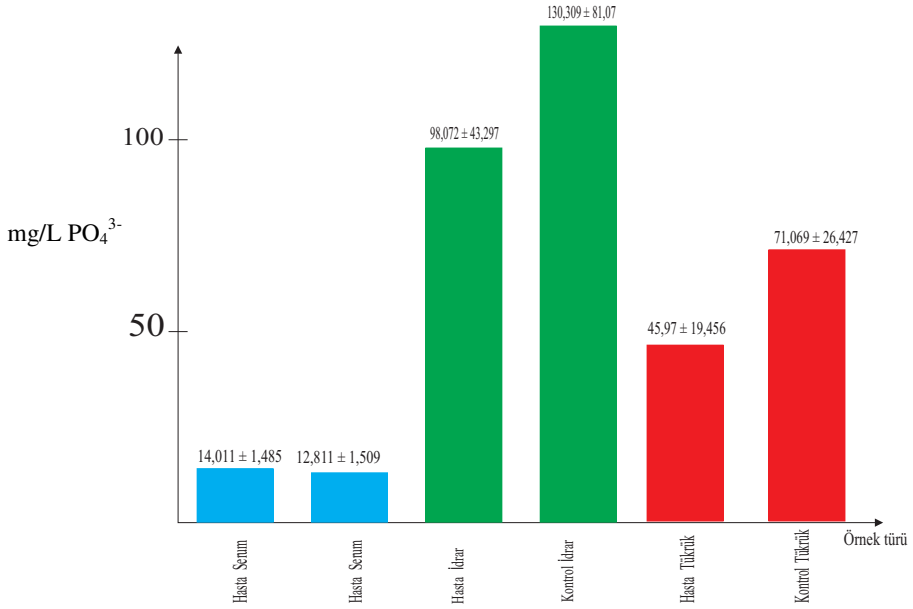
Şekil 4.8. İyon Kromatografisiyle tayin edilen BrO_3^- iyonunun hasta ve kontrol grubuna göre değişimi



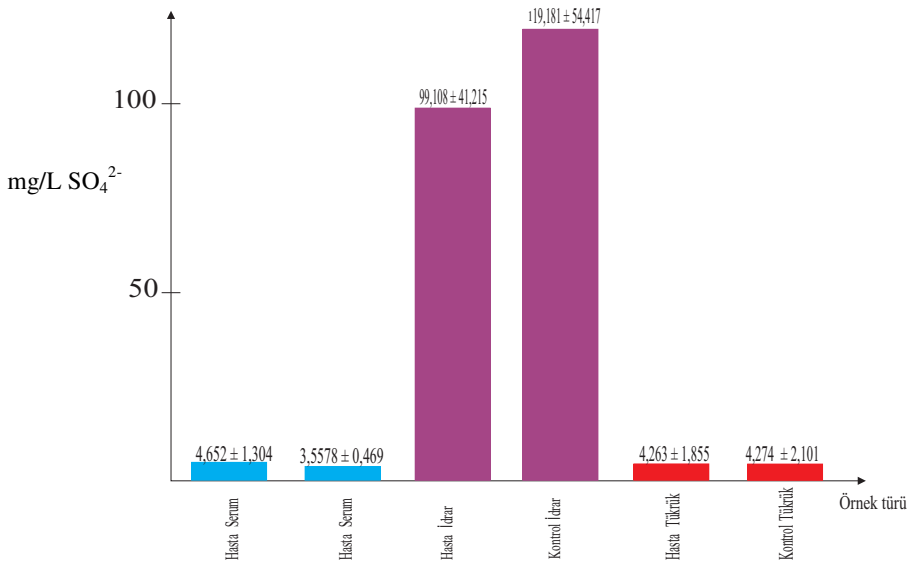
Şekil 4.9. İyon Kromatografisiyle tayin edilen NO_2^- iyonunun hasta ve kontrol grubuna göre değişimi



Şekil 4.10. İyon kromatografisiyle tayin edilen NO_3^- iyonunun hasta ve kontrol grubuna göre değişimi



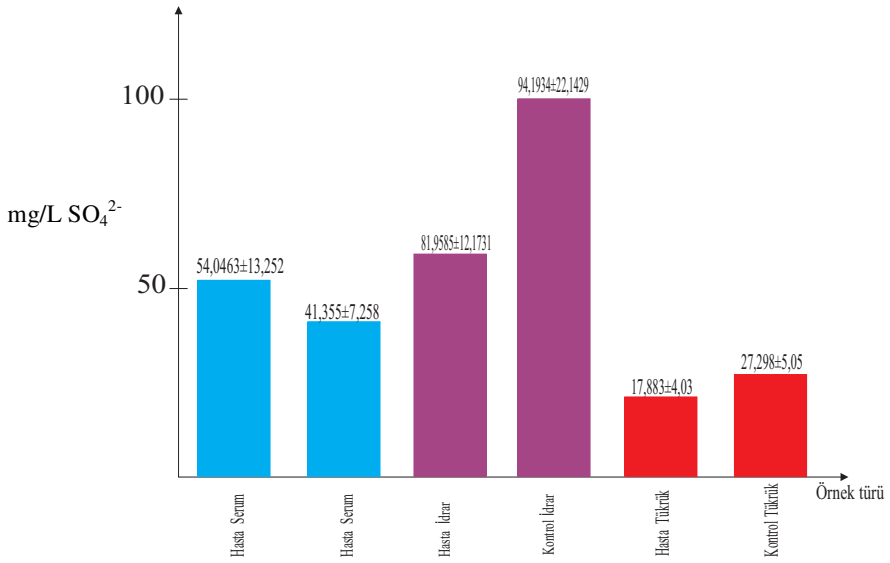
Şekil 4.11. İyon kromatografisiyle tayin edilen PO_4^{3-}iyonunun hasta ve kontrol grubuna göre değişimi



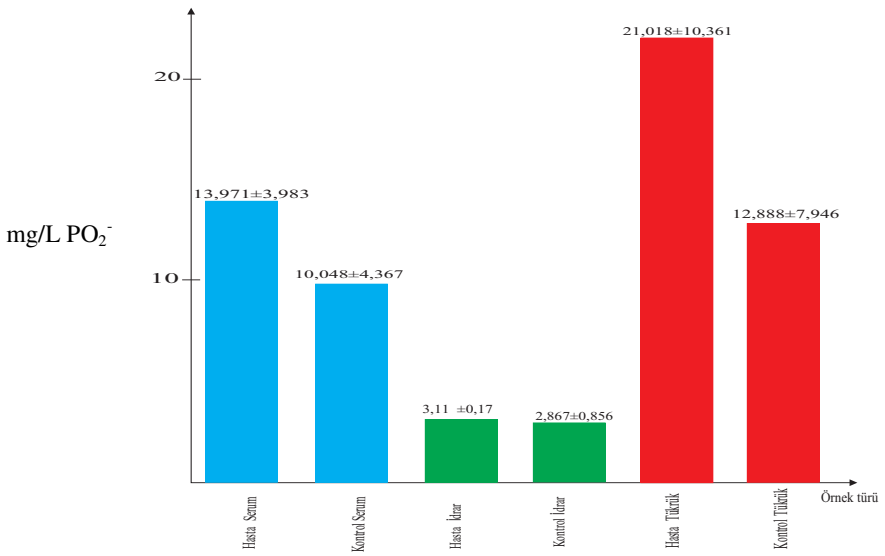
Şekil 4.12. İyon kromatografisiyle tayin edilen SO_4^{2-}iyonunun hasta ve kontrol grubuna göre değişimi

4.6. UV-Vis Spektrofotometresiyle Anyonların Tayininden Elde Edilen Sonuçların Grafiklerle Gösterimi

UV-Vis Spektrofotometresi ile NO_2^- ve PO_4^{3-} iyonlarının tayinlerinden elde edilen sonuçlar, hasta ve kontrol gruplarına göre her anyon için grafiksel olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen grafikler **Şekil 4.13-4.14**' te verilmiştir.



Şekil 4.13. UV-Vis Spektrofotometresi ile tayin edilen PO_4^{3-} iyonunun hasta ve kontrol grubuna göre değişimi



Şekil 4.14. UV-Vis Spektrofot ometresi ile tayin edilen NO_2^- iyonunun hasta ve kontrol grubuna göre değişimi

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada serum, tükürük ve idrar gibi biyolojik sıvılarda F^-, Cl^-, Br^-, BrO_3^-, NO_2^-, NO_3^-, PO_4^{3-}, SO_4^{2-} iyonları iyon kromatografisi ile tayin edilmiştir. Ayrıca bu iyonlardan PO_4^{3-} ve NO_2^- iyonları ise spektrofotometrik metodla da tayin edilmiştir. Çalışmada kullanılan biyolojik sıvılar Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Endokrin ve Metabolizma Ana Bilim Dalı tarafından Tip Diyabet 2 teşhisi konmuş yaş oratalaması 40 ile 60 arası (58±9,09) olan 30 hasta ile herhangi bir rahatsızlığı olmayan, yaş ortalaması 40 ile 60 arası (52,857±6,66) olan 30 kişilik konrol grubundan temin edilmiştir. Yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçların hasta ve kontrol grubuna ait örneklerdeki değişimleri istatistiksel olarak değerlendirilmiş, istatiksel çalışmalar SPSS 15.0 programı kullanılarak yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar tezin Bulgular kısmında Tablo **4.1-4.6**' da verilmiştir.

Tablolarda verilen değerlere geçmeden önce hasta grubunun hastalık türünü netleştirmek için yapılan glikoz tayini değerlerine bakmak gerekir. Çünkü bu test diyabet hastaları hakkında önemli bilgiler vermektedir. Hemoglobin A_{1c} veya kısaca ''HbA_{1c}'' diye yazılan, bazı ülkelerde de daha kolay olsun diye A_{1c} olarak adlandırılan bu tahlilde, hastanın kanındaki alyuvarlara bağlanmış olan glikoz miktarı ölçülmektedir. Alyuvarlardaki hemoglobine bir kere bağlanan glikoz, alyuvarın ortalama 120 gün süren ömrü boyunca değişmemektedir. Zaman zaman yapılan açlık kan şekeri düzeyi ölçümünün yanısıra, ortalama olarak üç ayda bir kez bu tahlilin yapılması, hastanın diyabet hastalığındaki genel gidiş hakkında çok değerli bilgi vermektedir. Uzmanlar tedavi altındaki diyabet hastalarında, bu tahlilin en çok yüzde %6.5 i geçmemesini istemektedirler. HbA_{1c} tayininde HPLC eski yöntemlere göre daha kullanuşlı ve daha güvenilir olması sebebiyle "Gold Standart Metod" olarak kabul edilmiştir [165]. Tablodaki değerler, hasta grubunun Tip 2 diyabet hastası olduklarının açık bir göstergesidir.

Tablo 5.1. Hasta grubuna ait glikoz değerleri

n=30	Yaş	Açlık glikoz düzeyi	HbA_{1c}
Hasta grubu	58,000±9,090	183,000±53,816 mL/dL	11,400±2,353
Kontrol grubu	52,857±6,660	85,000±13,406	5,800±1,203

n: Örnek Sayısı

Tablolardaki değerlere baktığımızda, Tip 2 diyabet hastalarının serum F^- iyonu konsantrasyonunu 2,792±1,057 mg/L, kontrol grubunu ise 2,583±0,536 olarak tayin edildi. Bu değerlere göre, hasta serum F^- konsantrasyonuyla kontrol serum F^- konsantrasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ($P>0,05$) bir ilişki görülmemektedir. Bulunan sonuçlar, literatürde [89] belirtilen değerlere paralel olarak yaşla F^- iyonu konsantrasyonunun arttığını göstermektedir. Tip 2 diyabet hastalarında böbrek fonksiyon bozukluğunun kontrol grubuna göre daha fazla olduğu göz önüne alındığında ise serum F^- iyonu konsantrasyonunun fazla olmasının hastaların böbrek fonksiyon bozukluğunun artmasına yol açabileceği düşünülmektedir.

Tip 2 diyabet hastaların idrar F^- konsantrasyonu 2,851±1,781, kontrol grubunu ise 1,919±0,670 mg/L olarak bulunmuştur. İki gruba ait idrar örneklerinde istatistiksel olarak anlamlı ($P>0,05$) bir ilişki mevcut değildir. Bulduğumuz sonuçlarda litaretürle [133] uyumlu olacak şekilde serum F^- konsantrasyonu yüksek olan grubun idrar F^- düzeyinin de yüksek olduğu görülmektedir. Bununla beraber boşaltım sisteminin F^- iyonu konsantrasyonunu literatürde [74] belirtildiği gibi dengelendiği görülmektedir.

Yine aynı hasta grubunun tükürüklerinde bulunan F^- iyonu konsantrasyonu 1,723±1,594 ppm, kontrol grubunun ise 2,33±2,281 mg/L olduğu bu sonuçlarında litaretürlerle [133] uyuştuğu görülmüştür. Ayrıca serum F^- konsantrasyonuyla tükürükteki F^- konsantrasyonu arasında bir ilişki olmadığı ortaya konmuştur.

Tablo 4.1-4.3' te verilen değerler incelendiğinde, Tip 2 diyabetli hastaların kan serumlarındaki, idrarlarındaki ve tükürüklerindeki Cl^- iyonu konsantrasyonu sırasıyla 357,185±26,169 mg/L, 140,025±87,910 mg/L ve 82,670±29,890 mg/L iken, kontrol grubunun ise sırasıyla 366,037±13,673 mg/L, 404,869±266,285 mg/L ve 96,712±33,118 mg/L olarak bulunduğu görülmektedir. İdrarlardaki Cl^- iyonu konsantrasyonu arasında istatistiksel olarak ($P<0.05$) anlamlı bir ilişki bulunmaktadır. Yapmış olduğumuz çalışmada elde edilen sonuçların litaretürde verilen değerlerle [125] uyuştuğu görülmekle beraber, insülin aktivitesindeki bozulmayla ortaya çıkan diyabet hastalığıyla Cl^- iyonunun azalması arasında bir bağlantı olduğu düşünülmektedir.

Br^- anyonu konsantrasyonu Tip 2 diyabet hastalarının serum örneklerinde, idrarlarında ve tükürüklerinde sırasıyla 1,820±0,087 mg/L, 1,818±0,192 mg/L ve 1,811±0,080 mg/L; kontrol grubunun serum, idrar ve tükürük örneklerinde sırasıyla 1,765±,034 mg/L, 1,782±,116 mg/L ve 1,794±0,078 mg/L olarak bulundu. Serum ve idrarda bulunan Br^- iyon kromatografisiyle tayini ile ilgili literatürde çalışmalar mevcuttur [136]. İyon kromatografisi yardımıyla yapmış olduğumuz çalışmada hasta grubu ve kontrol grubunun sonuçlarını karşılaştırdığımızda; hasta serum örneklerindeki Br^- konsantrasyonunun kontrol grubuna göre yüksek ve bu farkında anlamlı olduğunu ($P<0,05$) görmekteyiz. Br^- konsantrasyonunun da ki bu farkın daha önce yapılan çalışmalar [136,147] göz önüne alındığında Tip 2 diyabet hastalarında Br^- anyonunun böbrek ve troid bezine olumsuz etkisi olabileceği düşünülebilir. Br^- anyonu konsantrasyonunun Tip 2 diyabetli hastaların idrar ve tükürüklerinde de kontrol grubuna göre yüksek olduğu görülmektedir.

BrO_3^- anyonuna baktığımızda hasta grubunun serum, idrar ve tükürüğünde bulunan değerler sırasıyla; 0,063±0,045 mg/L, 3,343±2,331 mg/L ve 0,105±0,133 mg/L olarak bulunurken, kontrol grubunun serum, idrar ve tükürüğünde sırasıyla 0,053±0,016 ppm, 2,135±1,532 mg/L ve 0,063±0,051 mg/L olarak bulundu. Tip 2 diyabet hastalarının serum, idrar ve tükürüklerinde Br^- anyonunda olduğu gibi BrO_3^- anyonunda da kontrol grubuna göre yüksek olduğu görülmektedir. Br^- ve BrO_3^- anyonlarının hasta grubunda yüksek olması litaratürde [147] belirtilen olgular göz önüne alındığında Tip 2 diyabet hastalarında görülme olasılığının fazla olduğu ve böbrek fonksiyon bozukluğu hastalığının ilerlemesine neden olabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle Br^- ve BrO_3^- anyonlarının takip edilmesi yerinde olabilir.

Tip 2 diyabet hastaların serumlarında iyon kromatografisi ile analiz edilen NO_2^- ve NO_3^- düzeyleri sırasıyla 1,446±0,090 mg/L, 2,045±0,183 mg/L; kontrol grubunda ise aynı sıralamayla NO_2^- ölçülemedi ve NO_3^- 2,001±0,103 mg/L olarak bulundu. Hasta grubuna ait idrar ve tükürük örneklerinde NO_2^- ve NO_3^- düzeyleri sırasıyla 2,029±0,851 ppm ve 2,691±0,403 mg/L; tükürük örneklerinde ise sırasıyla 1,918±0,347 mg/L ve 2,642±0,585 ppm; kontrol grubunun idrar ve tükürük örneklerindeki NO_2^- ve NO_3^- düzeyleri sırasıyla 1,866±0,397 mg/L ve 1,884±0,024 mg/L; tükürük örneklerinde ise aynı sıralamayla 1,733±0,368 mg/L ve 2,455±0,547 mg/L olarak tayin edilmiştir.

Tip 2 diyabet hastalarının ve kontrol grubunun idrarlarındaki NO_3^- düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($P<0,05$) ve hasta grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu görülmektedir. Bunun yanı sıra diğer sonuçların ortak özelliği olarak serum, idrar ve tükürükte hasta grubu verilerinin kontrol grubuna göre yüksek olduğu ve elde ettiğimiz sonuçların yukarıda belirtilen çalışmalarla [105,107,130] uyumlu olduğu, sonuç olarak da Tip 2 diyabetli hastalarda NO_2^- ve NO_3^- anyonlarının düzeylerinin takip edilmesinin faydalı olabileceği düşünülmektedir.

Yapılan çalışmada Tip 2 diyabet hastalarının ve kontrol grubunun serum PO_4^{3-} düzeyleri sırasıyla 13,972±1,499 mg/L ve 12,856±1,077 mg/L ($P<0,05$) olarak tespit edilmiş ve aralarındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Tip 2 diyabet hastalarının ve kontrol grubunun idrar ve tükürüklerinde bulunan PO_4^{3-} düzeyleri sırasıyla 98,072±43,297 ppm, 45,970±19,456 mg/L; 130,309±81,070 mg/L ve 71,069±26,427 mg/L olarak bulunmuştur. Bulmuş olduğumuz bu değerler daha önce yapılan çalışmalarla [155-160] uyumludur. Bu çalışmalarda serum fosfat düzeyi ile insülin ve glikoz seviyesi arasında olumsuz bir ilişki olduğu ortaya konmuştur. Çalışmamızda da Tip 2 diyabet hastalarının serum fosfat düzeyi kontrol grubuna göre yüksek çıkmıştır.

Aynı hastaların serum, idrar ve tükürüklerindeki SO_4^{2-} miktarları sırasıyla 4,652±1,304 ppm, 99,108±41,215 mg/L ve 4,263±1,855 mg/L olarak hesaplanmış buna karşılık kontrol grubuna ait serum, idrar ve tükürük örneklerinde bulunan SO_4^{2-} düzeyleri; 3,558±0,469 ppm, 119,181±54,417 mg/L ve 4,274±2,101 mg/L olarak hesaplanmıştır. İki gruba ait serum örneklerine bakıldığında hasta grubuna ait örneklerde serum SO_4^{2-} düzeyinin istatiksel olarak anlamlı biçimde konrol grubuna göre yüksek olduğu görülmüştür. Kontrol grubuna ait idrar örneklerindeki SO_4^{2-} hasta grubuna göre yüksek bulunmuştur. Kontrol grubuna ait tükürük örneklerinde SO_4^{2-} düzeyinin hasta grubuna ait örneklerdeki SO_4^{2-} düzeyinden çok küçük bir farkla yüksek olduğu görülmüştür.

UV spektrofotometresi ile yapılan analizlerde ise, tablolardaki değerlere bakıldığında, NO_2^- anyonu analizinden elde edilen sonuçlar; hasta serum, idrar ve tükürükte sırasıyla 13,971±3,984 mg/L, 2,867±0,110 mg/L ve 21,018±10,361 mg/L; kontrol grubu serum, idrar ve tükürük örneklerinde sırasıyla 10,148±4,367 mg/L, 3,110±0,170 mg/L ve 12,889±7,946 mg/L olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar gösteriyor ki, her ikli yöntemle

edilen sonuçlar birbirleriyle karşılaştırıldığında hasta serum, idrar ve tükürük örneklerindeki NO_2^- düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Fakat yöntemlerin duyarlılıkları, kullanılışlığı göz önüne alımdığında spektrofotometrik yöntemde girişim ihtimali ve nitratın nitrite oksijenli ortamda dönüşmesi NO_2^- konsantrasyonunun iyon kromatografisi ile yapılan analiz sonuçlarına göre yüksek çıkmasının nedeni olabilir.

UV spektrofotometresi kullanılarak yapmış olduğumuz analizde hasta ve kontrol grubuna ait serum fosfat düzeyleri sırasıyla 54,046±13,252 mg/L ve 41,365±7,258 mg/L olarak hesaplanmıştır. İki farklı yöntemle yapılan çalışmalarda serum PO_4^{3-} düzeylerinin hasta grubunda yüksek olduğu görülmüştür. UV spektroskopisiyle yapılan analizde hasta grubuna ait idrar ve tükürük fosfat düzeyleri sırasıyla 81,958±12,173 mg/L, 17,883±4,030 mg/L; kontrol grubuna ait idrar ve tükürük fosfat düzeyleri ise sırasıyla 94,193±22,143 mg/L ve 27,298±5,053 mg/L olarak bulunmuştur. UV spektroskopisiyle yapılan çalışmada girişim, örneklerin çalışma sırasında bozulması gibi nedenlerle PO_4^{3-} düzeyi yüksek olabilir.

İki farklı metotla tayini yapılan NO_2^-, PO_4^{3-} anyonlarının değerlerine bakıldığında spektrofotometrik yöntemle elde edilen sonuçların iyon kromatografisi ile elde edilen sonuçlardan daha yüksek olduğunu görmekteyiz. Bunun nedeni olarak örnek üzerine uygulanan kimyasal ön işlemlerin iyon kromatografisine göre daha fazla olması, girişim ihtimalinin spektrofotometrik yöntemde daha kuvvetli olması sayılabilir. İyon kromatografisinde ise sonuçlarının daha güvenilir, tekrarlanabilirliliği daha yüksek ve örnek üzerine uygulanacak kimyasal ön işlemler daha az ve daha ileri bir teknik olduğu ortaya konan litaretürler tarafındanda desteklenerek gösterilmiştir.

Sonuç olarak; tıbbi açıdan F^-, Cl^-, Br^-, BrO_3^-, NO_2^-, NO_3^-, PO_4^{3-}, SO_4^{2-} gibi anyonların Tip 2 diyabet hastalığının teşhisinde tek başına önemli bir parametre olmadığı görülmüşür Bu anyonların tayininin iyon kromatografi yöntem ve tekniklerinin geliştirilmesiyle kolay, pratik ve güvenilir sonuçlar elde edilmesi bu anyonların vücut içerisindeki fonksiyonları hakkında daha fazla bilgi edinilmesi imkanı sağlayabilir. Tip 2 diyabet hastalarında çalıştığımız anyonların diğer parametrelerle beraber vücut sıvılarında incelenmesinin faydalı olabileceği düşüncesindeyiz.

6. KAYNAKLAR

[1] **Awort OC., Hicks JR., Lee CV., Minnoti, PL., 1980.** Effects and controlled atmosfheres onposthaurest Nitrate- Nitrite conversiyon in spanısh *J.Food* SCİ, 46 46(2) 321-327.

[2] **Üçüncü M., 1990.** Süt teknolojisi (2.bölüm) *E.Ü. Müh. Fak.yayın no*: 88 Bornova İzmir.

[3] **Croll. B.T., Hayes, CR., 1998.** Nitrate and Water supplies in the United Kingdom. *Enviromental Pollution*, 50; 163-168.

[4] **Karakaya E.A., 1981.** Dimetil amin grubu içeren bazı antibiyotiklerin, mide şartlarında nitrit etkileşmesi ile dimetil nitozoamin şekillenmesinin araştırılması *Doçentlik tezi.* A.Ü. Ecz. Fak. Ankara

[5]. **Acar J., 1975.** Zum problem der nitrit bildeng bei Teifgefrier- Gemuse produten under besondorzer Berucksichigamg der tempratur undder nitritbilden den mikroorganismen Diss, beim Fach berich umwellfsichering der justus *liebig-üniversitaet Glessen, İlis.*

[6] **Kletmer, P.G., 1979.** Verminderung der Zugabe von Nitrat and Nitrit Zu pokelflescwaren *Fleischwinschaft* 59(2): 178-181

[7] **Turner C.A., Kenin Bulz, E.W., 1964.** Nitrate Toxicity, *Feedstufs* 27-30.

[8] **J.C. Kruithof., R.T Meijers, 1995.** Presence and formation of bromate in Dutch drinking water treatment *Water Suppl*. 117 (13).

[9] **O. Hydes, J.Am. 1999** *Water work; Assoc*.70

[10] **Wei, Z.D., 1979.** Endemic food-borne fluorosis in Guizhou, China. Chin. *J. Prev. Med*. 13, 148–151.

[11] **Li, J.X., Cao, S.R., 1994.** Recent studies on endemic fluorosis in China. *Fluoride 27,* 125-128.

[12] **XianZhi X., JunLing L., WeiHong H., Tao X., Ping H., XueMin C., KeDi Y., AiGuo W., 2007.** Dose-effect relationship between drinking water fluoride levels and damage to liver and kidney functions in children. *Environmenta*l *Research* 103 112-116

[13] **WHO, 2003**. Guidelines for Drinking-water Quality, second ed.*World Health Organization, Geneva*

[14] **Feretti D., Zerbini I., Ceretti E., Villarini M., Zani C., Moretti M., Fatigoni C., Orizio G., Donato F., Monarca S., 2008.** Evaluation of chlorite and chlorate genotoxicity using plant bioassays and in vitro DNA damage tests *Water research* 42 . 4075-4082.

[15] **Güler. Ç, Çobanoğlu. Z., 1994.** Su Kirliliği, Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi No: 12, Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı, Sağlık Projesi Genel Koordinatörlüğü, TC. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü*, ISBN* 975-7572-60-8, Ankara,

[16] **WHO 1984.** Fluorine and Florurs. WHO Environmental Health Criteria No 36. *WHO, Geneva.*

[17] **WHO, Fawell J.K., Mascarenhas R (eds), Geneva, 1993**. *Guidelines for drinking water quality* Vol 1. Recommendations. pp 47- 174.

[18] **Anonim. 2009.** Web sitesi www.bilgiportal.com. Erişim.12.09.2009.

[19] **İTATS, 2005.** İnsani Tüketim Amaçlı Sular Yönetmeliği, T.C. Sağlık Bakanlığı, *Resmi Gazete*, No:25730, ANKARA.

[20] **Anonim. 2009**. Web sitesi www.yararlıbilgiler.net. Erişim Tarihi:15/09/2009

[21] **Yavich A.A., Lee K.-H., Chen K.-Ch., Pape L., Masten S.J., 2004.** Evaluation of biodegradability of NOM after ozonation**,** *Wat. Res*. 38 2839-2846

[22] **Minear R.A., Amy G.A., Eds., 1996**. Disinfection by-products in water treatment. The chemistry of their formation and control, *Lewis Publishers, Boca Raton, FL*

[23] **Gıda Dergisi Ekim. 2002.** Sayı:2002-09 *Dünya Yayıncılık*

[24] **Leipe , H.U and Piceil E., 1979.** Nitrate, nitrite and nitrosamide, *Fleisch wirstchaft* 59(6) 826-830.

[25] **Pedersen. E., Meyland I., 1981.** Nitrate, nitrite and volatile nitrosamines uniters-*Forch* 173. 359-361.

[26] **Sen., N.P., Donaldson B., 1978.** Verbesrtre colorimetric methede zur Bestimungvon nitrat and nitrit in lebensnittein. *JAOAC,* 61(6) 1389-1394.

[27] **Kahraman, M., 1988**. Nitrat ve nitritin farelerde immunospresif etkileri üzerine araştırmalar *A.Ü Vet, Fak. Derg.*

[28] **Kaya S., 1987.** Yem ve yem maddeleri ile bazı biyolojik sıvılarda nitrit ve nitrat analizi *A.Ü Vet. Fak. Derg*. 31(1) 15-27

[29] **Prinçci, İ., Acet A., 1984.** Yemlerde nitrat ve nitrit düzeyleriyle ilgili çalışmalar. A.Ü. *Vet.Fak. Derg*. 31(1) 41-52

[30] **Wirth F., 1985.**.Frankfurtertype sausages waler binding, fat binding devolopment of structure. *Eleiscwirschaft* 65(8) 937-941

[31] **Yıldırım Y., 1992.** Et Endüstrisi, *Yıldırım Matbaası* Ankara

[32] **Wirth F., 1983.** Technologistiche Bewerting der neuen Pökelstoffreglung fleischwirstchaft, 63:532-542

[33] **Lowenstein C.J., Dinerman J.L., Snyder S.H., 1994.** Nitric oxide: a physiologic messenger. *Ann Intern Med* 120:227–37.

[34] **Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. 1991.** Nitric oxide: physiology pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* 43: 109–42.

[35] **Kimura S, Watanabe K, Yajiri Y, Motegi T, Masuya Y, Shibuki K,. 1999.** Cerebrospinal fluid nitric oxide metabolites in painful diseases. *Neuroreport* 10:2759.

[36] **Ikeda M, Sato I, Yuasa T, Miyatake T, Murota S. 1995.** Nitrite, nitrate and cGMP in the cerebrospinal fluid in degenerative neurologic diseases. *J Neural Transm Gen Sect* 100:263–7.

[37] **Navarro J.A., Molina J.A,. Jimenez-Jimenez F.J., Benito-Leon J., Orti- Pareja M., Gasalla T., 1996**. Cerebrospinal fluid nitrate levels in patients with Alzheimer's disease. *Acta Neurol Scand*; 94:411–4.

[38] **Zecca L, Rosati M, Renella R, Galimberti M, Ambrosini A, Fariello RG 1998.** Nitrite and nitrate levels in cerebrospinal fluid normal subjects. *J Neural Transm* 105:627–33.

[39] **Kuiper M.A., Visser J.J., Bergmans P.L., Scheltens P., Wolters E.C.,** Decreased cerebrospinal fluid nitrate levels in Parkinson's disease **1994.** Alzheimer's disease and multiple system atrophy patients. *J Neurol Sci* 121:46

[40] **Szabo C. 1996**. Physiological and pathophysiological roles of nitric oxide in the central nervous system. *Brain Res Bull* 41:131–41.

[41] **Kirkby D.R., Carroll D.M., Grossman A.B., Subramaniam S., 1996**. Factors determining proconvulsant and anticonvulsant effects of inhibitors ofnitric oxide synthase in rodents. *Epilepsy Res*;24:91–100

[42] **Lowenstein C.J., Dinerman J.L., Snyder S.H., 1994.** Nitric oxide: a physiologic messenger. *Ann Intern Med* 120:227–37..

[43] **Broadus A.E., 1999**. Mineral Balance and Homeastasis. In: An official Publication of the American Society for bone and mineral resorrch. Primer on the metabolic bone disease disorbes of mineral metabolism. *Philadephia Lippincott Williams and Wilkins*,; 74-80

[44] **Bijovet O.L.M., 1969**. Relation of plasma phosphate concentration to renal tubular resorption of phosphate. *Clin.sci.*37; 32-36

[45]] **Kruse K, Kractht U, Göpfert G. 1982.** Renal treshold phoshate concentration. *Arch Dis child*; 57: 217-230

[46] **Yıldız, A., Genç, Ö., 1993.** Enstrümenal Analiz, *Hacettepe Üniversitesi Yayınları* A-64, ISBN : 975-491-028-6, sayfa 421-438

[47] **Anonim.2009.** Web sitesi**.** www.dionex.com. Erişim Tarihi: 24.10.2009

[48] **Yıldız, A., Genç, Ö., Bektaş, S., 1997.** Enstrümantal Analiz Yöntemleri**,** *Hacettepe Üniversitesi Yayınları* A-64

[49] **Bloom A and İreland J 1980**. A colour atlas of diabetes. *Wolf Medical Publications*, London; 119-126

[50] **Triennial report (1991 -1994) and directory 1984**. IDF, 4D Rue Washington, 1050 *İnternational diabetes federation*. Brussels Belgium

[51] Watkins PJ. Diabetes and its management.. 1996; 3, 163-176

[52] **Tanyeri F. 1996.** Diabetes Mellitus'un sınıflandırılması ve prevalansı. *Aktüel tıp dergisi* (7*):* 500-503

[53] **Satman I, Yılmaz T, Baştar I, Sengül A, Sargın M, Salman F, Salman S, Karşıdağ K, Dinççağ N, Yıllar G, Tütüncü Y, and TURDEP Groups 2002.** Diabetes Epidemiology Study in Turkey: first step data results. *Diabetes Care* Sep; 25: 1551-1556

[54] **Bağrıaçık N., 1997**.Tanı, komplikasyonlara yaklaşım, tedavi konsensus el kitabı. *Novo Nordisk diyabet servisi yayınları* National İstanbul; 146-159

[55] **Mogensen C.E., 1998**. Prevention end stage renal disease. *Diabetic Medicine*;15 (suppl4):551-6

[56] **Preston E, Ellis MR, Kulinskaya E., 2005**. Association between carotid artery intima-mediathickness and cardiovascular risk factors in CKD. *Am J Kidney Dis*;46:856-62

[57] **Block G.A., Hulbert-Shearon T.E., Levin N.W., Port FK. 1998**. Association of serum phosphorus and calciumxphosphate product with mortality risk in chronic hemodialysis patients. Anational study. *Am J Kidney Dis*;31:601-17

[58] **Dunn, A.L., McIntyre, A.R., 1949.** Detection of bromate in blood and urine. *J. Lab. Clin. Med.* 34, 425–427.

[59] **Loeb, R. F. & Beruediwt, E. M., 1927**. Inorganic sulfates in human blood. *J. Clin. Investigation 4,* 33

[60] **Berglund F. and Sorbo B. ,Scandinav.,1960.** *J . Clirt. G Iitvestigation* 147-153, 12.

[61] **Dennis J. Pillion, Toni T. Neumeier, Elias Meezan., 1984**. *Clinica Chimica Acta*, 42, 2, 29 September, 241-247.

[62] **Cemek M., Akaya L., Birdane Y.O., Seyrek K., Bulut S., Konuk M., 2007.** *J. Food Comp.Anal.* 20 236.

[63] **Tsikas D., *J.* 2007.** *Chromatogr. B* 851 51.

[64] **Romitelli F., Santini S.A., Chierici E., Pitocco D., Tavazzi B., Amorini A.M., Lazzorino G., Di Stasio E., 2007.** *J. Chromatogr. B* 851 257.

[65] **Jobgen W.S., Jobgen S.C., Li H., Meininger C.J., Wu G., 2007.** Dietary L-Arginine Supplementation Reduces White Fat Gain and Enhances Skeletal Muscle and Brown Fat Masses in Diet-Induced Obese Rats *J. Chromatogr. B* 851 71

[66] **Gharavi N., El-Kadi A.O.S., J. Pharm. 2003**. Measurement of nitric oxide in murine Hepatoma Hepa1c1c7 cells by reversed phase HPLC with fluorescence detection. *J Pharm Pharm Sci* 6(2):302-307

[67] **Smith C.C.T., Stanyer L., Betteridge D.J., 2002.** Evaluation of methods for the extraction of nitrite and nitrate in biological fluids employing high-performance anion-exchange liquid chromatography for their determination *J. Chromatogr. B* 779 -201

[68] **Jedlickova V., Paluch Z., Alusik S., 2002.** Determination of nitrate and nitrite by high-performance liquid chromatography in human plasma.*J. Chromatogr. B* 780-193.

[69] **Woitzik J., Abromeit N., Schaefer F., 2001**. Amperometric sensor based on ferrocene-doped silica nanoparticles as an electron transfer mediator for the determination of glucose in rat brain coupled to in vivo microdialysis *Anal. Biochem.* 289- 10

[70] **Li H., Meininger C.J., Wu G., 2000.** Regulatory role of arginase I and II in nitric oxide, polyamine, and proline syntheses in endothelial cells *J. Chromatogr. B* 746-199

[71] **Wada M., Morinaka C., Ikenaga T., Kuroda N., Nakashima K.., 2002**. *Anal. Sci*. 18 631

[72] **Daiber A., Bachschmid M., Kavakli C., Frein D., Wendt M., Ulrich V., Munzel T., 2003** *Nitric Oxide* 9 -44.

[73] **Stratford M.R.L., Dennis M.F., Cochrane R., Parkins C.S., Everett S.A., J. 1997**. *Chromatogr. A* 770 151

[74] **Mitschke A., Gutzki F.M., Tsikas D., 2007**. J. *Chromatogr. B* 851- 287

[75] **Helmke S.M., Duncan M.W., 2006**. *J. Chromatogr. B* 851 -83.

[76] **Tsikas D..,2000**. *Anal. Chem*. 72 4064.

[77] **Robert S. Braman and Steven A. Hendrix., 1989**. Nanogram nitrite and nitrate determination in environmental and biological materials by vanadium(III) reduction with chemiluminescence detection *Anal. Chem*. 61, 2715-2718.

[78] **Murphy J., Riley J.P., 1958**. A single-solution method for the determination of soluble phosphate in sea water, *J. Mar. Biol. Assoc.* UK 37 (9–14.

[79] **Tobey S.L., E.V. 2003**. Anslyn, Determination of inorganic phosphate in serum and saliva using a synthetic receptor, *Org. Lett.* 5 2029–2031.

[80] **C.H. Fiske, Y. Subbarow, 1925.** The colorimetric determination of phosphorus, *J. Biol. Chem.* 66 (1925) 375–400.

[81] **Lowry O.H., Lopez J.A., 1945**.The determination of inorganic phosphate in the presence of labile phosphate esters, *J. Biol. Chem*. 162 (1945) 421–428.

[82] **Chen P.S., Toribara T.Y., Warner H., 1956**. Microdetermination of phosphorus, *Anal. Chem*. 28 1956 1756–1758

[83] **Ben-Aryeh H., Filmar S., Gutman D., Szargel R., Paldi E., 1976** .Salivary phosphate as an indicator of ovulation, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 125 1976 871–874.

[84] **Blum M., Zurkowsky S., Gilad J., Aviram A., 1979.** Salivary phosphate and calcium concentrations in uremia, *Clin. Nephrol.* 12 (1979) 191–192.

[85] **Politi L., Chiaraluce R., Consalvi V., Cerulli N. and Scandurra R.**, **1989** Oxalate, phosphate and sulphate determination in serum and urine by ion chromatography *Clinica Chimica Acta,* 184, 2, 29 September ,155-165.

[86] **Dunipace A. J. , Wilson C. A., Wilson M. E., Zhang W., Kafrawy A. H., Brizendine E. J., 1996.** *Archives of Oral Biology*, 41, 2, February , 191-20

[87] **Cantor, K.P., 1997**. Drinking water and cancer. *Cancer Causes Control,* 8, 292–3

[88] **Parslow R.C., McKinney P.A, Law G.R., Staines A., Williams R., Bodansky. H.J. 1997**. Incidence of childhood diabetes in Yorkshire, Northern England, is associated with nitrate in drinking water: an ecological analysis. *Diabetologia,* 40: 550-556

[89] **Torrau M., Rodamilans M., Corbella J., 1998**. *The Science of the Total Environment* 220 81-85

[90] **Whitford G.M., 1999**.The Metabolism and Toxicity of Fluoride, *Karger Basel*, , pp. 156

[91] **Sohn O.S. and Emerich S. Fiala 2000.** Analysis of Nitrite/Nitrate in BiologicalFluids: Denitrification of 2-Nitropropane in F344 Rats *Analytical Biochemistry* **279,** 202-208

[92] **Ekstrand J, Ehnebo M. 1983** The relationship between plasma fluoride, urinary excretion rate and urine fluoride concentration in man. *J Occup Med*;25:745

[93] **Kono K, Yoshida Y, Yamagata H, Watanabe M, Shibuya Y, Doi K. 1987.** Urinary fluoride monitoring of industrial hydrofluoric acid exposure. *Environ Res* 42:415–20.

[94] **Whitford GM. 1994.** Intake and metabolism of fluoride. *Adv Dent Res* 8:5–14

[95] **Guy WS. 1979**. Inorganic and organic fluorine in human blood., Olsen TO, editors. Continuing Evaluation of the Use of Fluoride. Am. Assoc. Adv. Sci. Sel. Symp., 11, Colorado: *Westview Press:*125–47.

[96] **Taves DR. 1966.** Normal human serum fluoride concentrations. *Nature*;211:192–3

[97] **Whitford GM. 1983.** Physiologic determinants of plasma fluoride concentrations. Fluorides—Effects on Vegetation, Animals and Humans. Utah: *Paragon Press*:167–82.

[98] **Glerum JH, Dijk AV, Klein SW, Nuyen WC. A 1985.** general system for the automation of a backflush equipped gas chromatograph and its application in the determination of fluoride in plasma and faeces. *Pharm Weekbl Sci*;7:117-20.

[99] **Ikenishi R, Kitagawa T. 1988.** Gas chromatographic method for the determination of fluoride ion in biological samples: II. Stability of fluorine-containing drugs and compounds in human plasma. *Chem Pharm Bull* 36:810-4

[100] **Guy W.S., Taves D.R., 1973.** in: Proceedings of the International Association for *DentalResearch*, , Abstract 718

[101] **Ekstrand J., 1978.** *Caries Res.* 12 123–127

[102] **Itai K., Tsunoda H., 2001**. Highly sensitive and rapid method for determination of fluoride ion concentrations in serum and urine using flow injection analysis with a fluoride ion-selective electrode. *Clinica Chimica Acta* 308 Ž 163-171

[103] **Caroscio J.T, Mulvihill M.N, Sterling R., Abrams B., 1987**. Amyotrophic lateral sclerosis: its notural history. Neurol Clinics 1987 5:1-8

[104] **Hadjıkoutıs S., Wıles C.M., 2001**. 491-495 history. *Neurol Clinics* 1987`; 5:1-8

[105] **Dahlguist G.G., Blom L.G., La Persson, Sandström A.I., Duvar S.G., 2000.** Department of pediatrics, *Karolinska institü*, Sachs childrens Hospital, Stokholm, İsveç

[106] **Zhao, H.X, Kalıp, M.D., Stenhause, E.A., KUŞ, S.C., Wright, D.E., Deamine, A.G., Milvard, B.A. 2001**. *Diyabetik Tıp*, cilt18, sayı 9, Eylül, ss 709-717

[107] **Kawakatsu M., Ishıhara T., Kanı K., Nakagawa A., Hıura M., Hauzaı H., Okabe T., Hoshagiva M., Waku S., Iıda N. and Hanafus T., 2002.** Plasma Nitrate/Nitrite Concentration in Healthy Population and Patients with Diabetes Mellitus-Relationships with Gender, Aging and Diabetic Complications. *Bulletin of the Osaka Medical College* 48 (1,2) :1-6,

[108] **Afonsky D., 1961.** Saliva and its relation to oral health. *Alabama:* Paragon

[109] **Jenkins G.N. ,1978.** The physiology and biochemistry of the mouth. 4th Ed. Oxford: *Blackwell*

[110] **Tenovuo J., 1989.** Human saliva: clinical chemistry and microbiology. *Boca Raton*, *FL: CRC*

[111] **Tenovuo J., Makinen K.K., 1976.** Concentration of thiocyanate and ionizable iodine in saliva of smokers and nonsmokers. *J Dent Res;*55:661

[112] **Johansson I., Lenander L.M., Saellstrom A.K., 1994.** Saliva composition in Indian children with chronic protein-energy malnutrition. *J Dent Res* 73:9-11.

[113] **Schultz C.P., Ahmed M.K,. Dawes C., Mantsch H.H., 1996.** Thiocyanate levels in human saliva: quantitation by Fourier transform infrared spectroscopy. *Anal Biochem*; 240:7-12.

[114] **Bashir E., Lagerlo F., 1996.** Effect of citric acid clearance on the saturation with respect to hydroxyapatite in saliva. *Caries Res*;30:7-213

[115] **Murphy J., Riley J.P., 1958.** A single-solution method for the determination of soluble phosphate in sea water, *J. Mar. Biol. Assoc.* UK 37 9–14.

[116] **Chen Z.F., Darvell B.W., 2004.** Human salivary anionic analysis using ion chromatography. *LeungArchives of Oral Biology* 49, 855-862

[117] **Krasner, S.W., Gramith, J.T., Coffey, B.M., Yates, R.S., 1995**. Impact of water quality and operational parameters on the formation and control of bromate during ozonation. *Water Supply* 13, 145– 156

[118] ***Kjensmo, J., 1997***. The influence of road salts on the salinity and the meromictic stability of Lake Svinsjoen, Southeastern Norway. *Hydrobiologia* 347, 151–158

[119] **Rodney S., Brenton C. Nicholson b,c, Dennis E. Mulcahy, David E. Davey 2004**. Bromide levels in natural waters: its relationship to levels of both chloride and total dissolved solids and the implications for water treatment.*Chemosphere* 57 329–335

[120] **Velicky J., Tiltbach M., Lojda Z., Duskova J., Vobecky M. and Raska I., 2004** *Annals of Anatomy* 186 209-216

[121] **Karabiber H., Yakinci C., Durmaz Y., Temel I., Mehmet N., 2004**. Serum nitrite and nitrate levels in epileptic children using valproic acid or carbamazepine *Brain & Development* 26 15–18.

[122] **Gapper L.W., Fong B.Y., Otter D.E., Indyk H.E., 2004.** Determination of nitrite and nitrate in dairy products by ion exchange LC with spectrophotometric detectio *WoollardInternational Dairy Journal* 14 881-887

[123] **Galloway J.A., 1990.**Treatment of NIDDM with insulin agonist orsubstitutes,. *Diab. Care* 13 1209–1239

[124] **Jarvinen H.Y., 2001.** Combination therapies with insulin in type 2 diabetes, *Diab. Care* 24 758–767

[125] **Kikuchia H., Kawakamia Y., Kakihanab K., Kawaic K., Murayamac Y., Iizukac Y., Suzukid S., Suzukid H., Soned H., Toyoshimad H., Shimanod H., Yamada N., 2005.** *Diabetes Research and Clinical Practice 67* 137–143

[126] **Roger C.H. Kwan, H.F. Leung , Phoebe Y.T. Hon, Henry C.F., Cheung , Kazuo H., Renneberg R., 2005.** Amperometric biosensor for determining human salivary phosphate *Analytical Biochemistry* 343 263–267

[127] **Virji M.A., Mohan D., Borysenko C.W., Trucco G., Blair H.C., 2006.** *Clinical Biochemistry* 39 1164-1167

[128] **Cox S.K., Whiton A.M., Bowman H.L. ,2008.** Determination of bromide in canine plasma using ion chromatography *Journal of Chromatography B*, 870 255-258

[129] **Delker D., Hatch G., Allen J., Crissman B., George M., Geter D., Kilburn S., Moore T., Nelson G., Roop B., Slade R., Swank A., Ward W., DeAngeloa A., 2006.** Molecular biomarkers of oxidative stress associated with bromate carcinogenicity., *Toxicology,* 221 158–165

[130] **Savino** A., **Schiavone** C., **Primavera A. ,Tumini S., Chiarelli A. M.F., 2006.** *Diabetes Care* Aralık vol. 29 p 2676-268

[131] **Qui˜nones O., Snyder S.A., Cotruvo J. A., Fisher J.W. , 2006**. Analysis of bromate and bromide in blood. *Toxicology* 221 229–234

[132] **Korkmaz N., Uzunoğlu S., 2006**. Astım hastalarında serum nitrik oksit düzeyleri G*enel Tıp Derg*;16(2):65-69

[133] **Singh B., Gaur S., Garg V.K.., 2007.** Journal of Hazardous Materials 144 147–151

[134] **Yilmaz Ö., Keser S., Tuzcu M., Çetintas B. ,2007.**, *Environmental Toxicology and Pharmacology,* 24 79–85

[135] **Vanessa E.S. Cardoso, Gary M. Whitford, Hiroshi Aoyama, Marilia A.R. Buzalaf 2008.** *Journal of Fluorine Chemistry,* 129 1193–1198

[136] **Michigami Y., Yamamoto Y., Ueda K., 1989**. Determination of nitrite, sulphate, bromide and nitrate in human serum by ion chromatography. *Analyst,* 114 1201

[137].**Corina D.L., Ballard K.E., 1979.** *Chromatogr*., 162 (382).

[138] **Maiorino R.M., Gandolfi A.J., Sipes I.G., (1980).** *Anal. Toxicol*. 4 250.

[139].**Archer A.W. ,1972**, *Analys*t, 97- 428

[140] **Sugiyama N., Saito K., Nomoto A., Hanabusa T., Sato H., Kawai M., Kagaku B., 1985**. 4 335

[141] **Yamano Y., Ito I., Nagao N., Ishizu S., 1987**. *J. Jpn. Ind Health,* 29 196.

[142] **Maros I., K´aldy M., Igaz S., 1989.** *Anal. Chem.* ,61 733.

[143] **Kawai T., Zhang Z.W., Moon C.S., Shimbo S., Watanabe T., Matsuda N. Inoguchi, K. Higashikawa, Ikeda M., 2002.** Comparison of urinary bromide levels among people in East Asia, and the effects of dietary intakes of cereals and marine products *Toxicol. Lett.* ,134- 285

[144] **Richmond R. E., Carter J.H., Daniel F.B. and DeAngelo A.B.., 1995.** *Cancer Lett.92* pp.67-66

[145] **Vaughan-Scott T., Taylor J.H., 1999**. Drug choice and therapeutic drug monitoring in the management of canine primary epilepsy*Vet. Assoc*. 70 172.

[146] **March P.A., Podell M., Sams R.A., 2002**. Pharmacokinetics and toxicity of bromide following high-dose oral potassium bromide administration in healthy Beagles *Vet. Pharmacol. Ther*. 25 4

[147] **Trepanier L.A., Schoick A.V., Schwark W.S., Carrillo J.**, **1998.** *JAMA 213* 1449.

[148] **Kage S., Kudo K., Ikeda H., Tsujita A., Iked N., 2005.** Determination of bromide in whole blood and urine from humans using gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 817 335–339.

[149] **Feretti D., Zerbini I., Ceretti E., Villarini M., Zani C., Moretti M., Fatigoni C., Orizio G., Donato F., Monarca S. ,2008.** *Water research,* 424075 – 4082.

[150] **Park W., Soo Kim B., Lee J.E., Huh J.K., Kim B. J., Sung K.C., Kang J.H., Lee M. H., Park J.R., Rhee E.J., Oh K.W., Lee W.Y., Park C. Y., Park S.W., Hyper S.W.K. ,2009.** Serum phosphate levels and the risk of cardiovascular disease and metabolic syndrome: A double-edged sword. *Diabetes Research and Clinical Practice,* 83 11 9-125

[151] **Vanessa E.S. Cardoso , Gary M. Whitford , Hiroshi Aoyama c, Marilia A.R. Buzalaf ., 2008.** *Journal of Fluorine Chemistry* 129 (2008) 1193–1198

[152] **Wei, Z.D., 1979.** Endemic food-borne fluorosis in Guizhou, China. *Chin.J. Prev. Med.* 13, 148–151.

[153] **Li, J.X., Cao, S.R., 1994.** Recent studies on endemic fluorosis in China. *Fluoride* 27, 125–128.

[154] **XianZhi X., Liua J.L., WeiHong H., Xiaa T., Hea P., XueMin C., Yang K., Wang A., 2007**. *Environmental Research* 103, 112–116

[155] **Lindgarde F., Trell E., 1977**. Serum inorganic phosphate in middle aged men. Inverse relation to body weight, *Acta Med. Scand.*, 202 307–311.

[156] **Lind, H. Lithell, A. Hvarfner, T. Pollare, S. Ljunghall., 1993**. On the relationship between mineral metabolism, obesity and fat distribution, *Eur. J. Clin. Invest*. 23 307–310.

[157] **Ljunghall S., Hedstrand H., 1977.** Serum phosphate inversely related to blood pressure, *Br. Med. J.* 1 553–554.

[158] **Ljunghall S., Hedstrand H., Wide L., 1979.** Effects of different serum phosphate concentrations on glucose and insulin metabolism, *Miner. Electrolyte Metab*. 2 (1979) 246.

[159] **Kalaitzidis R., Tsimihodimos V., Bairaktari E., Siamopoulos K.C., Elisaf M., 2005.** Disturbances of phosphate metabolism: another feature of metabolic syndrome, *Am. J.Kidney Dis*. 45 851–858.

[160] **Anonim.2009.** Web adresi www.foodmatters.tv. Erişim tarihi. 30.09.2009

[161] **Akyuz M., Ata Ş., 2009.** Determination of low level nitrite and nitrate in biological, food and environmental samples by gas chromatography–mass spectrometry and liquid chromatography with fluorescence detection. *Talanta* 79 900-90

[162] **Pfaff J.D.,1993.** (USEPA, ORD, NERL) Method 300.1 Determination Of Inorganic Anıons in Drinking Water By Ion Chromatograpy - Method 300.

[163] **Edwards, GP., A,H. MOLOFand R.W. Schneeman., 1965**. Determination of ortophosphate in fresh and saline waters. J. *Amer. Water Works Assoc*. 57:917

[164] **Bobrowska-Grzesik, E., Grossman, A.M., 1996**. Application of Derivative UV Spectrophotometry to The Simultaneous Determination of Nitrate and Nitrite Ions in Bath Solutions for Alkaline Black-Oxidation of Steel, *Fresenius J Anal Chem.,* 357: 1000-100

[165] **Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus.** Follow –up Report on the Diagnosis of Diabetes Mellitus, **2004.** *Clinical Diabetes*; vol: 22, number: 2, p:71-79,

ÖZGEÇMİŞ

1976 Elazığ doğumluyum. İlköğrenimimi Mersin Cambazlı Köyü İlköğretim Okulu ve Elazığ Atatürk Ortaokulu'nda, orta öğrenimimi ise Elazığ Lisesi'nde tamamladım.1995 yılında Fırat Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya lisans programına girmeye hak kazandım ve 1999 yılında bu bölümden mezun oldum. 2000 yılında Fırat Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Analitik Kimya Anabilim Dalında yüksek lisansa başladım ve 2002 yılında yüksek lisansımı tamamladım. 2007 yılında Fırat Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Analitik Kimya Anabilim Dalında doktoraya başladım.

e-posta: faerulas@hotmail.com