

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PATLİCAN BİTKİSİNİN YAPRAK ve MEYVESİNDE Cd ve Pb DAĞILIMININ
TAYİNİ ve HİSTİDİN İLE İLİŞKİSİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gül Nilay KORAL

Anabilim Dalı: Kimya
Programı: Analitik Kimya

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Mehmet YAMAN

ELAZIĞ-2015

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PATLİCAN BİTKİSİNİN YAPRAK VE MEYVESİNDE Cd VE Pb DAĞILIMININ
TAYİNİ VE HİSTİDİN İLE İLİŞKİSİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
GÜL NİLAY KORAL

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih:29/05/2015

Tezin Savunulduğu Tarih:17.06.2015

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Mehmet YAMAN

Diğer Jüri Üyeleri:

Prof. Dr. Ali ÖLÇÜCÜ

Doç. Dr. F. Zehra KÜÇÜKBAY



ELAZIĞ-2015

ÖNSÖZ

Kadmiyum ve kurşunun insanlar tarafından alımı mesleki alım dışında en çok gıdalar yoluyla olmaktadır. Bu nedenle, farklı konsantrasyonlardaki Cd ve Pb içeren sulama suları ile yetişen patlıcan bitkisinin yaprak ve meyvelerinde hem toksik hatta kanserojen olan Cd ve Pb gibi metallerin dağılımının tayini hem de histidin derişimi ile olan bağlantısı araştırıldı. Böylece, patlıcan bitkisinin sulama suyu ve topraktan Cd ve Pb nu absorplama davranışı histidinin derişiminin tayini ile incelendi.

Örnekteki metal konsantrasyonları AAS ve ICP-MS ile, histidin konsantrasyonları ise HPLC kullanılarak belirlendi ve ikisi arasındaki ilişki incelendi.

Bu çalışma süresince destek ve ilgisini esirgemeyen yanında çalışmaktan onur duyduğum ve ayrıca tecrübelerinden yararlanırken göstermiş olduğu anlayış ve sabırdan dolayı saygıdeğer hocam, Sayın Prof. Dr. Mehmet YAMAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarım sırasında yardımlarıyla yanımda olan Tülin BİÇİM, Ayşe ŞAP, Maruf DEMİREL, Tayfun POLAT ve Fethi Ahmet KARADUMAN'a da teşekkürlerimi sunuyorum.

Çalışmalarım süresince desteğini esirgemeyen değerli aileme teşekkürlerimi sunuyorum.

GÜL NİLAY KORAL
ELAZIĞ-2015

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	II
İÇİNDEKİLER	III
ÖZET	V
SUMMARY	VI
TABLolar LİSTESİ.....	VII
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	VIII
KISALTMALAR	IX
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Canlılarda Eser Elementler.....	2
2.1.1. Kurşun ve Sağlık	3
2.1.2. Kadmiyum ve sağlık	5
2.2. Amino Asitler	9
2.3.1 Amino Asitlerin Yapısı	10
2.3.2. Amino Asitlerin Yan Gruplarının Özellikleri	10
2.3.2.1. Apolar Aminoasitler	10
2.3.2.2. Polar Yüksüz Aminoasitler	11
2.3.2.3. Polar Asidik Aminoasitler.....	11
2.3.2.4. Polar Bazik Aminoasitler	11
2.3.3. Besin Maddesi Olarak Aminoasitler.....	11
2.3.3.1. Histidin.....	12
2.3.3.1.1. Histidin Sağlık Üzerine Etkileri ve Kaynakları.....	14
2.4. Patlıcan türünde metal analizleri konusunda daha önce yapılan çalışmalar	14
3. ANALİZ YÖNTEMLERİ.....	16
3.1. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi (AAS)	16
3.1.1. Alev yapısı.....	16
3.1.1.1. Ön Karıştırılmalı Alevin Yapısı	16
3.1.1.1.1. Birincil Yanma Bölgesi (İç Bölge)	17
3.1.1.1.2. Ara Yanma Bölgesi (Merkez-Bölgesi)	17
3.1.1.1.3. İkincil Yanma Bölgesi (Dış Bölge).	18
3.1.1.2. Alevde Dengeler.	18
3.1.1.2.1. Ayrışma(atomlaşma)/Birleşme Dengesi	18

3.1.1.2.2.	Tekrar Birleşme/Ayrışma Dengesi	19
3.1.1.2.3.	İyonlaşma/İyonsuzlaşma Dengesi	19
3.1.1.2.4.	Absorplama/Emisyon Dengesi	19
3.1.1.3.	Yakıt/Oksitleyici Oranının Etkisi	20
3.1.1.4.	Organik Bileşik ve Çözücülerin Etkileri	21
3.1.2.	Alevli Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi Cihazı	22
3.1.3.	Alevli Atomik Absorpsiyon Spektroskopisinde Girişimler (Engellemeler)	22
3.1.3.1.	Kimyasal Girişimler	23
3.1.3.2.	İyonlaşma Girişimleri	23
3.1.3.3.	Spektral Girişimler	24
3.1.3.4.	Fiziksel Girişimler	25
3.2.	İndüktif Olarak Esleştirilmiş Plazma-Kütle Spektrometresi (ICP-MS)	25
3.3.	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)	26
3.3.1.	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi Cihazı	28
3.4.	Bazı İstatiksel Terimler	29
4.	MATERYAL-METOT	31
4.1.	Kullanılan Cihazlar ve Cam Malzemeler	31
4.2.	Standart Çözeltiler ve Reaktiflerin Hazırlanması	31
4.3.	Örneklerin Temini	32
4.3.1.	Örneklerin Analize Hazırlanması	36
4.3.1.1.	Örneklerin Mikrodalga ile Çözünürleştirilmesi	36
4.3.1.2.	Kuru Çözme	37
4.3.1.3.	Toprak Örneklerinin Çözünürleştirilmesi	37
4.3.1.4.	Cd ve Pb Elementlerinin Ölçülmesi	37
4.3.1.5.	Histidin Tayini İçin Örneklerin Hazırlanması ve Ölçümü	38
5.	BULGULAR	39
5.1.	Çalışılan Örneklerde Cd ve Pb İçin Bulunan Sonuçlar	39
5.2.	Sonuçların Doğruluğunun Testi	42
5.3.	HPLC ile Histidin Tayinleri İçin Bulunan Sonuçlar	43
6.	TARTIŞMA VE SONUÇ	44
7.	ÖNERİLER.....	46
8.	KAYNAKLAR.....	47
	ÖZGEÇMİŞ	50

ÖZET

Kurşunun insanlarda kan enzimlerinin değişmesine, hiperaktiviteye ve nörolojik hastalıklara neden olduğu bilinmektedir. Son zamanlarda, kurşunun beyinde birikerek toksik etki gösterdiği ve hatta IQ değerinin düşmesine de neden olduğu belirtilmiştir. Kadmiyum, vücuda alındığında toksik etkiye hatta kansere varan hastalıklara neden olabilir. Özellikle, böbreklerde birikerek çalışma mekanizmasını engeller ve böbrek rahatsızlığına neden olur. Mesleki alımlar dışında, kurşun ve kadmiyumun insanlar tarafından alımı en çok gıdalar yoluyla olmaktadır. Histidin ise vücuttaki bütün dokuların gelişimi ve bakımı için gerekli bir amino asittir. Histidinin bitkilerdeki metal birikmesinde rol oynadığı belirtilmiştir. Yapılan çalışmalarda, toksik metalleri absorplayan bitkilerde histidin konsantrasyonunda arttığı gözlenmiştir. Bu amaçla bu çalışmada Cd ve Pb ile birlikte histidin de araştırıldı.

Bu çalışmada, değişik derişimlerde hazırlanan standart Cd ve Pb çözeltileri düzenli periyotlarla patlıcan bitkisinin (*Solanum melongena*) sulama suyuna ilave edilerek patlıcanlar yetiştirildi. Olgunlaşan patlıcan yaprak ve meyve örnekleri toplanarak kuru kül etme ve mikro dalga ışınlarıyla çözünürleştirilerek Pb ve Cd tayini yapıldı. Bu amaçla AAS kullanıldı. Sonuçların doğruluğunu test etmek için bazı örnekler ICP-MS ile analiz edildi. Histidin tayini için patlıcan örnekleri HClO₄ ile ekstraksiyon edildikten sonra HPLC ile tayin edildi. Elde edilen bulgulardan, yaprakta kurşun ve kadmiyum konsantrasyonlarının sırasıyla 0.6-0.8 ile 0.2-0.3 ppm arasında değiştiği gözlendi. Yine patlıcan meyvesinde ise Pb ve Cd düzeylerinin sırasıyla 0.3-0.6 ile 0.2-0.3 ppm arasında olduğu bulundu. Çalışılan örneklerdeki histidin konsantrasyonları 4.8-8.4 ppm arasında değişmekte olup, gruplar arasında anlamlı bir değişme gözlenmedi. Aynı örnekler için AAS ve ICP-MS ile bulunan verilere t testinin uygulanmasıyla sonuçların güvenilir olduğu bulundu.

Anahtar Kelimeler: Kadmiyum, Kurşun, Patlıcan, Histidin, AAS, HPLC

SUMMARY

Determination of distribution of Cd and Pb in leaves and fruit of eggplant plant and correlation with histidine

It is known that lead can cause to change of blood enzymes, hyperactivity and neurological diseases. Recently, it is said that lead has toxic effect by accumulating in the brain and to be even result in loss of IQ scores. Cadmium can cause toxic effects when taken into the body, or even up to cancer. In particular, cadmium prevents the kidneys function mechanism by accumulation in the kidneys lead to kidney damage. Except for professional intakes, lead and cadmium by people are mostly taken by foods. The histidine is an essential amino acid for the development and maintenance of all tissues in the body. It is believed histidine play a role in the accumulation of metals in plants. In the studies published, the increase in histidine concentration in plants was observed in plants that absorb toxic metals. For this purpose, in this study, Cd and Pb were investigated together with the histidine.

In this study, standard solutions of Cd and Pb prepared at different concentrations were added to the irrigation water of eggplants (*Solanum melongena*) at regular intervals of eggplant during grown. Maturing eggplant leaves and fruit samples were collected digested using dry ashing and microwave radiation, and then Pb and Cd determinations were made. Atomic absorption spectrophotometry (AAS) was used for this purpose. Some samples were analyzed by ICP-MS for testing the accuracy of the results. To determine histidine in eggplants, the samples were extracted with HClO_4 and were determined by HPLC. Results from the obtained findings, lead and cadmium concentrations in leaves were found in range of 0.6-0.8 and 0.2-0.3, respectively. Lead and cadmium concentrations in fruits of eggplants were found in range of 0.3-0.6 and 0.2-0.3, respectively. Histidin concentrations in the studied samples change between 4.8-8.4 ppm and a meaningful change was not observed between control and other groups. To check the validation of result, t-test was applied to the results obtained by AAS and ICP-MS for the same samples, and it was found that the results are reliable.

Key words: Cadmium, Lead, Eggplant, Histidine, AAS, HPLC.

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 2.1.	Dünya sağlık organizasyonunun (WHO) ilgili kuruluşlarına göre bazı toksik metallerin haftalık alınabilecek sınır değerleri	6
Tablo 2.2.	Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların (Cd un) Maksimum Seviyelerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliğ	7
Tablo 2.3.	Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların (Pb nun) Maksimum Seviyelerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliğ	8
Tablo 2.4.	Aminoasitlerin Kimyasal Özellikleri.....	13
Tablo 3.1.	Bazı Alev Türleri ve Sıcaklıkları.	20
Tablo 3.2.	Gaz ve Sıvı Kromatograflerinin Karşılaştırılması.....	28
Tablo 4.1.	Patlıcan Yetiştirilmesinde Sulama Suyuna Eklenen Cd ve Pb Miktarları.....	37
Tablo 4.2.	ICP-MS için Çalışma Şartları	37
Tablo 4.3.	Cd ve Pb için Alevli AAS ile ilgili Parametreler	38
Tablo 4.4.	Histidin bileşiğinin HPLC ile elde edilen optimum çalışma koşulları.....	38
Tablo 5.1.	Patlıcan Yaprığı Örnekleri için AAS ve ICP-MS ile Bulunan Sonuçlar	43
Tablo 5.2.	Patlıcan Örnekleri için Bulunan Histidin Konsantrasyonları.....	44

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	α -amino Asidinin Genel Formülü	9
Şekil 2.2.	Histidinin Kimyasal yapısı	12
Şekil 3.1.	Alev Bölgeleri.....	17
Şekil 3.2.	Bir HPLC Cihazı Şeması	29
Şekil 4.1.	Patlıcan Bitkisinin Ekildiği Zaman	34
Şekil 4.2.	Patlıcan Bitkisinin Toplandığı Zaman.....	36
Şekil 5.1.	Cd için Elde Edilen Kalibrasyon Grafiği.....	40
Şekil 5.2.	Pb için Elde Edilen Kalibrasyon Grafiği	41
Şekil 5.3.	Patlıcan Bitkisinin Yaprak ve Meyvesinde Pb Konsantrasyonundaki Değişim.....	41
Şekil 5.4.	Patlıcan Bitkisinin Yaprak ve Meyvesinde Cd Konsantrasyonundaki Değişim.....	42
Şekil 5.5.	Patlıcan Bitkisinin Toprak, Yaprak ve Meyvesinde Cd Konsantrasyonundaki Değişim	42
Şekil 5.6.	Patlıcan Bitkisinin Toprak, Yaprak ve Meyvesinde Pb Konsantrasyonundaki Değişim.....	43
Şekil 5.7.	Patlıcan Örneğinde Histidin İlişkin Tipik Bir HPLC Kromatogramı	44

KISALTMALAR

ICP-MS	: İndüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrofotometresi
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
AAS	: Atomik Absorbsiyon Spektrometresi
FAO	: Gıda ve Tarım Örgütü
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
PTWI	: Haftalık geçici olarak tolere edilebilen kısım
ADI	: Kabul edilebilir günlük alım
TDI	: Tolere edilebilir günlük alım
RDA	: Tavsiye edilen günlük alım
µg	: Mikrogram
mg	: Miligram
kg	: Kilogram
ppm	: Milyonda bir
ppb	: Milyarda bir
t.s	: tayin sınırı
LOD	: Limit of detection
LOQ	: Limit of quantitation

1.GİRİŞ

Doğada ağır metallerin çeşitli bileşenleri yüksek konsantrasyonda alındığında canlıların biyolojik fonksiyonlarını olumsuz etkiledikleri bilinmektedir. Bu ağır metallerden bazılarında düşük konsantrasyonlarda da olsa uzun süre maruz kalındığında kansere bile neden olabildikleri veya kısa süreliğine de olsa yüksek dozda maruz kalınması halinde ise direk ölümle dahi sonuçlanabilmektedir. Kadmiyumun insanlar tarafından alımı mesleki alım dışında en çok gıdalar yoluyla olmaktadır. Kadmiyum kanserojen olup geçici olarak haftalık tolere edilebilen alımı Dünya Sağlık Örgütü tarafından 0.007 mg/kg vücut ağırlığı olarak önerilmiştir. Bütün bu nedenlerle Dünya Sağlık Örgütü haftalık geçici olarak Cd alımını 50 µg ile sınırlamıştır[1]. Ayrıca bitkiler kadmiyumu depolayabildiklerinden dolayı bu bitkiler ile beslenen hayvanlar için kanserojenik etkiye sahip olmaktadır[2]. İnsan ve hayvanların metalleri alma kaynağı genellikle yedikleri gıdalar olup gıdalara da söz konusu metaller toprak ve su yoluyla geçmektedir.

Canlılar için ppm düzeyinde toksik olan Pb' un biyolojik örneklerdeki konsantrasyonları genellikle ppb düzeyindedir. Kurşunun vücutta toplanarak kronik zehirlenmeye neden olması, bu elementin yiyeceklerdeki ve sudaki miktarlarının tayinini önemli kılmıştır[3].

Bu çalışmada yetiştirilen patlıcan örneklerine belirli aralıklarla çeşitli derişimlerde hazırlanmış standart çözeltiler ilave edildi ve patlıcan örnekleri toplanana kadar bu işleme devam edildi. Patlıcan örnekleri toplandıktan sonra patlıcan bitkisinin meyvesi ve yaprakları saf su ile yıkandı daha sonra sabit tartıma getirildi. Metal analizleri için mikrodalga ile çözme ve kuru külleme yöntemiyle çözünürleştirme yapıldı. Metal tayinleri için AAS (Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi) ve ICP-MS (İndüktif Olarak Eşleştirilmiş Plazma- Kütle Spektrometresi) kullanıldı. Histidin tayini için HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi) kullanıldı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Canlılarda Eser Elementler

Belli konsantrasyon aralıklarında bulunan eser elementlerin bir kısmı yaşamın devamı için gerekli iken diğer bir kısmı ise zararlı özelliklere sahiptir ve hiçbir derişimde gerekli değildir. Vücudumuz bu eser elementlerden bazılarını dışarı atamadığından gerekli olsa bile biriken bir zehir (cumulative poison) olarak adlandırılırlar[3,4]. Gerekli olmayan eser elementlerden kurşun da vücutta birikme özelliğine sahiptir. Gerekli olmayan kadmiumun ise ppb düzeyindeki küçük konsantrasyonları bile zararlı hatta kanserojen özelliklere sahiptir. Bu nedenle, elementten elemente değışmekle birlikte eser elementlerin belirli bir miktardan fazlası küçük konsantrasyonlarda olsa bile maruz kalındığında zamanla toksik belirtiler gözlenebilmektedir.

Eser elementler;

- Gerekli olan eser elementler; Cu, Mn, Cr, Co, V, Se, Fe, Zn.
- Tedavi amaçlı olarak kullanabilen fakat gerekli olmayan eser elementler; Al, Au, Bi, Li, Ga ve Pt.
- Toksik olan gerekli olmayan eser elementler ise; Pb, Cd, Ag, Ni, As, Hg, Sb, Te ve Ti' dir.

Gerekli eser elementler, enzim metal komplekslerinde aktivatör olarak veya metal enzimlerin gerekli bileşeni olarak görev yaparlar[3].

Canlı organizma tarafından mücade edilen konsantrasyonların üzerinde alındığında toksik etki gösteren veya gerekli olmayan eser elementler[4] ise canlı organizma için gerekli elementlerin enzim sistemindeki fonksiyonel işleyişini olumsuz etkiler.

Bunlardan Pb' un biriken zehir, Cd ve Be elementlerinin kanserojen, Ni' in bazı bileşiklerinin kanserojen, Hg ve As' in ise aşırı toksik etkiye sahip olmaları nedenleriyle insan ve hayvanlara geçme kaynakları olan çevre örneklerindeki miktarlarının taylorlarına son zamanlarda büyük önem verilmektedir.

2.1.1. Kurşun ve Sağlık

Kurşunun hiperaktiviteye ve nörolojik hastalıklara, insanlarda kan enzimlerinin değişmesine neden olduğu bilinmektedir[3]. Ayrıyetten Pb' un beyinde birikerek toksik etki gösterdiği ve hatta IQ değerinin düşmesine de neden olduğu rapor edilmiştir[5]. Kurşun aşırı toksik olup Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından geçici olarak haftalık tolere edilebilen alımı 0.025 mg/kg vücut ağırlığı olarak önerilmiştir[1].

Pb zehirlenmesine eski çağlardan beri kansızlık (hippocrates ve nikander), karın boşluğunda sancı (colic), neuropathy, verimsizlik (sterility) ve komadan söz edilmiştir. Kadmiyumun zararlı etkisi ise Japonya' da 2. Dünya savaşından sonra belirtilmiştir.

Yaygın kullanımı ve olumsuz etkileri Pb 'un daha çok çalışılmasını sağlamıştır. Günümüzde Pb yayan kaynaklar aşağıdaki şekilde sınıflandırılabilir;

- 1- Gıda teneke kutularının lehimlenmesi,
- 2- Akü üretimi ve benzeri metal sanayi,
- 3- Benzine ilave (yakın zamanda kaldırıldı),
- 4- Seramik sır tabakası (SiO_2 e PbO katkı olarak),
- 5- Pb temelli boyalar (1940' a kadar duvar iç boyalarında beyaz yağlı boya = $\text{Pb}(\text{OH})_2.2\text{PbCO}_3$) sayılabilir.

Kurşun 6000 yıldan beri insan aktivitelerinde kullanılmaktadır. Kurşunu eski toplumlar tepsi (sini) gibi mutfak gereçleri ve diğer süslü eşyaların yapımında kullanmışlardır. Kurşun su borusu, lehim, pirinç eşya, kristal, boya, kablo (yeraltında), seramik ve pil-batarya gibi yüzlerce üründe düşük erime noktası, yumuşaklığı ve kimyasal bileşikleri oluşturmaya olan yatkınlığı nedeniyle kullanılmaktadır.

General Motor kimyacısı olan Thomas Miggely 1923' te tetraetil kurşun bileşiğinin vuruntuyu önleyici ve motor gücünü arttırıcı özelliğini keşfetti. Bu şirket tetraetil kurşun üretmeye başlayınca işçilerde ölüme kadar varan rahatsızlıklar görüldü. Buna rağmen 70 yıl süreyle kurşunlu benzin kullanılmaya devam edildi. Ancak 1980' de Kanada Pb yerine Mn' ı kullanarak kurşunsuz benzine geçerken, 1990-2000' lerden sonra çok sayıda ülke ülkemiz de dahil kurşunsuz benzine geçti. İskandinav ülkeleri kurşunun zararlı etkisinin anlaşılması sonucu 1980' lerde içme suyu şebekesinde Pb yerine Cu boruları kullanmaya başladılar.

Ağız yoluyla alınan Pb' un absorpsiyonu, insanlarda % 5-10 civarındadır. Bu oranın 8 yaşına kadar olan çocuklarda %50 daha fazla olabileceği belirtilmiştir[3]. Bu oran

koyun ve tavşanlarda daha da azdır (1.3 ± 0.8). Nefesle alınan Pb' un ise %30-70 civarında bir kısmı absorplanır ve bu oran partikül çapları çok küçük olması halinde daha da büyür. Ayrıca Pb deriden difüzyonla da kana geçer. Kana geçen Pb' un % 99' u eritrositlerde %1' i ise serum ve plazmada toplanır. Plazmadaki Pb konsantrasyonu toplam kandakinden daha tehlikelidir. Çünkü direk beyin, akciğer, dalak, böbrek, diş ve kemiklere geçer. Pb transferinin hızı kandan yumuşak dokulara yavaş olup 4-6 hafta civarındadır. Kan kurşun konsantrasyonunun kronik kurşun göstergesi olarak kullanılamamasının nedeni sadece 3-5 haftalık alınan Pb' u yansıtmamasıdır. Kemiklerde kurşunun kalma süresi 30 yıla kadardır. Pb' un gebelik süresinin 12. haftasından itibaren doğuma kadar placentar bariyerini geçerek bebeğe geçtiği rapor edilmiştir. Pb' un %99 dan fazlası çözünmeyen fosfat bileşikler şeklinde iskelet kemiklerinde toplanır.

Pb' un absorpsiyonu ve alıkonulması diyetdeki Ca, P, Fe, Cu ve Zn miktarlarıyla büyük oranda etkilenir. Vücut dokularında Pb' un alıkonulmasını Ca ve P' un normalden az alınması artırır. Aşırı Pb içeren içme suyu Fe yetersizliği olan farelere verildiğinde dokularındaki Pb konsantrasyonları kontrol grubuna göre 20 kez artmış ve Pb' un toksik belirtileri gözlenmiştir. Pb absorpsiyonuna Co ve Mn eksikliğinin etkisi Fe' den çok az, Pb absorpsiyonuna Cu eksikliğinin ise etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Ancak, % 0,5 gibi çok yüksek Pb seviyeleri plazma Cu seviyelerini azaltmıştır. Absorplanan Pb kana geçer, kemiklere ve vücudun sık dokularına ulaşır ve çok küçük oranda dışkı ve diğer yollarla atılır. Pb miktarının günde 0.03-0.32 mg' ı yetişkin bir insan tarafından dışkı ve idrarla atılan miktar olarak belirlenmiştir. Böbreklerde Pb' un mitokondrial toplanması; mitokondriadaki ADP-mitokondridaki uyarılmış nefesin Pb ile kuluçka süresinden sonra tamamen yok edildiğinden dolayı böbrek fonksiyonlarına zarar verir. Kemiklerdeki Pb' un hareket edebilmesi ve kana karışması, hamilelikte travma (yara, sarsıntı) ve enfeksiyon gibi bazı fizyolojik baskı durumlarında meydana gelir. Hamilelikte kemiklerde depolanan Pb' un hareket etmesi sonucu Pb plasentaya ait engeli aşarak bebeğe zarar verir.

Pb zehirlenmesinin yavaş şekli sinirliliğe ve zihinsel depresyona neden olur. Daha ciddi durumlar, kalıcı sinir, beyin ve böbrek tahribatına neden olmaktadır. Pb biyokimyasal tepkimelere zarar vererek hemoglobindeki Fe içeren Hem grubunu çıkarır ve böylece kronik kurşun zehirlenmesi kansızlığa da neden olur. Çocukların Pb toleransı daha düşük olduğundan, Pb' un merkez sinir sistemine zararı çocuklarda daha fazladır [6].

İnsan ve hayvanların metal kaynağı genellikle yedikleri gıdalar olup gıdalara da söz konusu metaller toprak ve su yoluyla geçmektedir. Kurşun canlılar için toksik olup

biyolojik örneklerdeki Pb' un konsantrasyonları genellikle ppb düzeyindedir. Canlılarda vücutta biriken kurşunun kronik zehirlenmeye neden olması, bu elementin yiyeceklerdeki miktarlarının tayinini önemli kılmıştır [3;7].

2.1.2. Kadmiyum ve sağlık

1817 yılında Kadmiyum ilk defa Friedrich Stromeyer tarafından Almanya' da keşfedildi. Doğada serbest olarak kadmiyum çok az miktarda bulunur. Çinko ve kurşun üretimi sırasında kadmiyumun büyük bir bölümü ara madde olarak elde edilir. Kadmiyum paslanmaya karşı dayanıklı ve çakı ile kesilebilecek yumuşaklıkta olması nedeni ile metal endüstrisinde tercih edilmektedir. Endüstride kaynak ve lehim olarak, elektrikli kaplama işlerinde, çeşitli metallerle (nikel, gümüş, bakır) alaşım oluşturulmasında, cam sanayisinde kullanılan boya ve pigmentlerin üretiminde (CdS sarı pigment olarak kullanılır), nükleer reaktörlerde nötron tutucu olarak, kuru bataryalarda katot olarak ve uçak sanayinin çeşitli kollarında kullanılmaktadır.

Mesleki alım dışında Kadmiyumun insanlar tarafından alımı en çok gıdalar yoluyla olmaktadır. Kadmiyum bakımından zengin olan gıdalar insan vücudundaki kadmiyum konsantrasyonunu oldukça arttırabilir. İnsanlar sigara içtiklerinde, yüksek miktarda kadmiyuma maruz kalırlar. Tütün dumanı kadmiyumu akciğerlere taşır, kan da vücudun diğer kısımlarına taşır. Vücudun bu kısımlarında toksik etkiye neden olabilir. Kadmiyum ilk olarak karaciğere kan yolu ile taşınır. Daha sonra proteinlerle birleşerek böbreklere taşınır. Böbreklerde kompleks oluşturan kadmiyum böbreklerde birikerek filtreleme mekanizmasına zarar verir. Bu da, gerekli proteinlerin sentezini engeller ve şekerin vücuttan atılmasına sebep olur ve sonuçta da böbrek rahatsızlığına neden olur. Kadmiyumun insan vücudundan atılması böbreklerde birikmesinden önce çok uzun bir süre almaktadır.

Soluma yoluyla alınan kadmiyum akut ve kronik zehirlenmelerle birlikte solunum güçlüğü çekilmesine de neden olur. Endüstrinin yoğun olduğu bölgelerde yaşayan insanlarda kadmiyumu soluduklarından dolayı akciğer rahatsızlıkları görülebilir ve hatta ileri vakalar ölümle dahi sonuçlanabilir. Kadmiyum müsaade edilen değerlerin üzerinde alındığında ayrıca; ishale, karın ağrılarına, ciddi kusmaya, kemik kırılmasına, üreme bozukluklarına, kısırlık ihtimaline, merkezi sinir sisteminin yıpranmasına, bağışıklık sisteminde hasara, psikolojik bozukluklara, DNA' da hasara ve kanser olma ihtimaline

neden olmaktadır[8,9]. Cd kanserojen olup Dünya Sağlık Örgütü tarafından geçici olarak haftalık mücade edilebilen alımı 0.007 mg/kg vücut ağırlığı olarak önerilmiştir[1]. Dünya Sağlık Örgütü haftalık geçici olarak Cd alımını 50 µg ile sınırlamıştır [1].

Tablo 2.1. Dünya sağlık organizasyonunun (WHO) ilgili kuruluşlarına göre bazı toksik metallerin haftalık alınabilecek sınır değerleri

Element	70 kg lık bir insan için haftalık alınma sınırı (PTWI)			1988-93(WHO)
metil-Hg	231	µg	geçici	32.9 µg/gün
Hg	350	µg	geçici	50 µg/gün
Cd	350	µg	geçici	49 µg/gün
As	1040	µg	geçici	140 µg/gün
Pb	1750	µg	geçici	250 µg/gün
Al	490	mg		70 mg/gün
Ni				350 µg/gün-TDI
Cr				50-200 µg/gün-RDA
Cu				2-4 mg/gün -ADI
Zn	1960	mg		17.5 mg/gün
Ca				800 mg/gün-RDA
Mg				300-350 mg/gün-RDA
Na				1100-3300 mg/gün-RDA

ADI: Kabul edilebilir günlük alım

TDI: Tolere edilebilir günlük alım

RDA: Tavsiye edilen günlük alım

PTWI: Haftalık geçici olarak alınabilen miktar

Tablo 2.2. Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların (Cd un) Maksimum Seviyelerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliğ (Tebliğ No:2002/63)

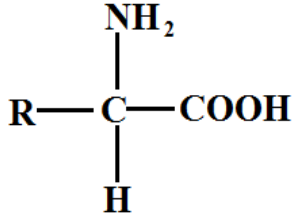
Gıda türü	Cd Sınır Değerleri (mg/kg)
Kepek, embriyo, buğday tanesi ve pirinç	0.2
Alkolsüz vermut	0.03
Alkolsüz içecekler	0.01
Şarap	0.01
Etler	0.05
Koyun, sığır, domuz ve kümes hayvanlarının karaciğerleri	0.5
Koyun, sığır, domuz ve kümes hayvanlarının böbrekleri	1.0
Lifli sebzeler, taze otlar, kerevizgiller ve kültür mantarı	0.2
Sebze ve meyveler(lifli sebzeler, taze otlar, kültür mantarı, saplı sebzeler, köklü sebzeler ve patates hariç)	0.05
Kereviz hariç saplı sebzeler, köklü sebzeler ve soyulmuş patates	0.1
Soya fasülyesi	0.2
Yer fıstığı	0.2
Meyve suları, nektarlar ve şuruplar	0.03

Tablo 2.3. Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların (Pb nun) Maksimum Seviyelerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliğ(Tebliğ No:2002/63)

Gıda türü	Pb Sınır Değerleri (mg/kg)
(iç organları alınmış Cephalopodlar)	0.05
Meyve suları, nektarları ve direk tüketime sunulan konsantreler	
Limon suyu	1.0
Alkolsüz vermut	0.2
Alkolsüz içecekler	0.1
Katı ve sıvı yağlar (süt yağı dahil)	0.1
Yenilebilir buzlu ürünler	0.2
Yabani mantar	1.0
Dondurulmuş meyve ve sebzeler	1.0
Meyveler (üzümsü ve küçük meyveler hariç)	0.1
Üzümsü ve küçük meyveler	0.4
Konserve gıda	1.0
Kara buğday dahil tahıllar ve baklagiller	0.2
Sebzeler(Lahana, lifli sebzeler ve kültür mantarı) ve soyulmuş patates	0.1
Lahana, lifli sebzeler ve kültür mantarı	0.3
Sirke	1.0

2.2. AMİNO ASİTLER

Tabiatta bulunan amino asitler yaklaşık 300 dolayındadır. Ancak miktar olarak diğerlerine göre fazla olan 20 amino asit protein yapısına girer. Bitki, hayvan, mikroorganizma gibi çeşitli canlı türlerindeki proteinlerin yapı taşları hep aynı olup α -amino asitlerdir. Bir α -amino asidin genel formülü Şekil 2.1’ de verilmiştir.



Şekil 2.1. α -amino Asidin Genel Formülü

Farklı amino asitler R grubu değiştikçe türer. Proteinlerin yan sınıfında bulunan amino asitler yan zincirlerine göre sınıflandırılırlar [10].

Polar yan zincire sahip olan amino asitler,
Hidrofobik yan zincire sahip olan amino asitler,
İyonik yan zincire sahip olan amino asitler,

Proteinleri oluşturan temel yapı taşı aminoasitlerdir. Kimyada bir aminoasit hem amin hem de karboksil fonksiyonel gruplar içeren bir moleküldür. Aminoasitlerin kovalent bağlarla uç uca eklenmesiyle oluşturdukları kısa polimer zincirler "peptid", uzun polimer zincirler ise "polipeptid" veya "protein" olarak adlandırılırlar.

Bahsedilen amino asitlerin hepsinin aynı anda herhangi bir proteinin yapıtaşında bulunması gerekmez. Amino asitlerin hepsi eşit miktarda da değildir. Proteinlerde bunlardan çok daha farklı amino asitler de bulunabilir. 20 temel amino asitle oluşturulmuş polipeptidlerin daha sonra “farklılaşmaları” ile farklı amino asitler oluşur. Proteinin özelliklerini ve işlevlerini bu tür amino asit farklılaşmaları oldukça fazla değiştirir. Örneğin çözünürlüklerini arttırabilir veya azaltabilir ya da diğer moleküllerle etkileşmelerini

düzenleyebilir. Amino asitlere ek olarak proteinler, çok daha farklı gruplar da barındırabilirler.

2.3.1 Amino Asitlerin Yapısı

Her amino asitin, bir karboksil ve bir de amino grubu vardır. Bu gruplar birbirlerinden α -karbon adı verilen tek bir C atomuyla ayrılırlar. Nötral sulu çözeltilerde α -karboksil grubu bir protonunu kaybeder ve eksi (-) yüklü hale geçer ($-\text{COO}^-$). Aynı şekilde α -amino grubuysa bir proton kaybederek artı (+) yüklü olur ($-\text{NH}_3^+$). Amino asitlerin asimetrik merkezleri (kiral karbonları) vardır. Örneğin glisin amino asidinde, amino asitin α -karbonu dört farklı gruba bağlanabilir. Bu sebepten her amino asit D veya L formunda bulunabilir. Ribozomlar üzerinde amino asit sentezinde her zaman L amino asit kullanılır. Sadece mikroorganizmalar, belli küçük peptidlerin sentezinde D amino asitlerini kullanırlar[11].

2.3.2. Amino Asitlerin Yan Gruplarının Özellikleri

Her amino asit için aynı olan grupların birleşimi polipeptidin ana zinciridir. R grubu veya yan zincir ise α -karbonuna bağlıdır ve 20 amino asitin her birinde farklıdır. Proteinin kendine özgü oldukça değişik yapıları ve aktiviteleri bu farklılık ile kazandırılır. Tüm amino asit yan zincirleri bir arada düşünüldüğünde, artı veya eksi yüklüden hidrofobiğe kadar oldukça fazla çeşitli yapısal özellikler gösterirler. Ayrıca bu yan zincirler, oldukça farklı çeşitlilikte kovalent ve nonkovalent bağların yapısına katılabilirler.

2.3.2.1. Apolar Aminoasitler

Yan zincirlerinde hidrofobik özellik gösteren radikal grup bulunduran aminoasitler polardır. Bu amino asitler elektrostatik bağlar yapamayan aminoasitlerdir. Yan zincirlerinde genellikle oksijen veya azot yoktur. Öncelikli olarak büyüklük ve şekillerine göre (bir proteindeki özel bir boşluğa hangi amino asitin en iyi şekilde uyabileceğini belirleyen) ayrılırlar. Van der Waals kuvvetleri ve hidrofobik etkileşimler sayesinde bir

arada tutunurlar. Glisin, alanin, valin, lösin, izolösin, fenilalanin, triptofan, metiyonin, prolin apolar amino asitler grubuna girmektedir.

2.3.2.2. Polar Yüksüz Aminoasitler

Nötral pH' da yüksüz olan amino asitler Polar yüksüz aminoasitlerdir. Bu gruptaki amino asitlerin yan zincirleri zayıf asit ve bazlardır. Fizyolojik pH' da tamamen yüklü değildirler, ancak kısmi artı (+) ve eksi (-) yükler içerirler. Bu sebeple, su da dahil olmak üzere, diğer moleküllerle H-bağı yapabilirler. Genelde oldukça reaktif amino asitlerdir. Serin, treonin, asparajin, sistein, glutamin, tirozin polar yüksüz aminoasitler grubuna girer. Ayrıca, iki Sisteinin disülfid bağı ile birleşmesiyle oluşan dipeptite sistin denir.

2.3.2.3. Polar Asidik Aminoasitler

Fizyolojik pH' da negatif yüklü ve asidik özellik gösteren amino asitler polar asidik aminoasitlerdir. Bunlar aspartik asit ve glutamik asittir.

2.3.2.4. Polar Bazik Aminoasitler

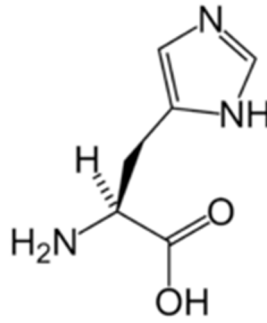
Yan zincirlerinde proton alıcı moleküller taşıyan amino asitler polar bazik amino asitlerdir. Bunlar lizin, arjinin ve histidin'dir. Tablo 2.3' de amino asitlerin genel özellikleri yer almaktadır[12].

2.3.3. Besin Maddesi Olarak Aminoasitler

Proteinlerin yapısını oluşturan 20 amino asit arasında 10 tanesi *temel amino asitler* olarak adlandırılır. Bu amino asitlerin dışarıdan beslenme yoluyla alımları zorunludur. Çünkü insan vücudu tarafından ihtiyacı karşılayacak düzeyde sentezlenemezler. Sistein, tirozin, histidin ve arjinin çocuklar için yarı zaruri aminoasitler olarak kabul edilmesinin sebebi bunların sentezlenmesini yürüten metabolik reaksiyonların çocuklarda tam olarak gelişmemesidir[13].

2.3.3.1. Histidin

Doğada yaygın olarak buluna 20 aminoasitten biri histidin (His, H) amino asitidir ve proteinlerin yapısında bulunur. L-Histidin ve D-Histidin olmak üzere iki farklı enantiomerik formu vardır. Şekil 2.2’ de histidin bileşiğinin kimyasal yapısı görülmektedir. Beslenme açısından genelde sadece çocuklarda dışarıdan alınması zaruri gıda maddelerinden biridir. Histidinin yan zincirinin imidazol olması ve pK_a değerinin göreceli olarak nötral değerlere yakın olması (6.0 civarı), elektrik yükünü değiştirerek hücre içinde lokal pH değerindeki çok küçük değişikliklere yanıt vermesine olanak tanır. Bu nedenle, bu aminoasitin yan zinciri birçok enzimin katalitik bölgesinde ve metaloproteinlerin ligandları koordine eden kısımlarında bulunur.



Şekil 2.2. Histidinin Kimyasal Yapısı

Birbirinden farklı kimyasal özellikler taşıyan iki azot (nitrojen) atomu İmidazol yan zincirinde bulunur: birinci azot hidrojene bağlıdır ve bir çift elektronunu aromatik halkaya verir, dolayısıyla hafifçe asidiktir. İkinci azot ise, elektronlarından sadece birini aromatik halkaya katar. Kalan serbest iki elektronu nedeniyle bazik özellik taşır. Bu kimyasal özellikler proteinlerde farklı şekillerde değerlendirilebilir.

Katalitik triadlarda (en), histidindeki bazik azot atomu, serin, treonin veya sisteinden bir proton kopararak bu aminoasitleri nükleofile çevirir.

Histidinin protonları hızlı şekilde transfer etmede kullanılması proton taşıyıcısı histidinlerde gerçekleşir, Transfer işlemi esnasında ilk olarak bazik azot atomu bir proton edinerek pozitif yüklü bir ara ürün oluşturulur. Daha sonra başka bir molekül veya tampon asidik azot atomundan bir proton koparmada kullanılır.

Proton taşıyıcısı histidinleri kullanan Karbonik anhidraz enzimi, çinko bağlı bir su molekülünden bir proton transfer ederek kendini (katalitik aktif bölgesini) hızla rejenere edebilir.

Histidin aynı zamanda histamin ve karnozin biyosentezinde metabolit olarak kullanılır. Histidin, muz, üzüm gibi meyvelerde; et ve süt ürünlerinde, yeşil ve kök sebzelerde bulunur[14].

Tablo 2.4. Aminoasitlerin Kimyasal Özellikleri

Aminoasit	Yan zincir polaritesi	Yan zincir asidite veya bazisite
Alanin	Apolar	Nötür
Arjinin	Polar	Kuvvetli bazik
Asparajin	Polar	Nötür
Aspartik asit	Polar	Asidik
Sistein	Polar	Nötür
Glütamik asit	Polar	Asidik
Glütamin	Polar	Nötür
Glisin	Apolar	Nötür
Histidin	Polar	Hem bazik, hem asidik [12]
İzolösin	Apolar	Nötür
Lösin	Apolar	Nötür
Lizin	Polar	Bazik
Metiyonin	Apolar	Nötür
Fenilalanin	Apolar	Nötür
Prolin	Apolar	Nötür
Serin	Polar	Nötür
Treonin	Polar	Nötür
Triptofan	Apolar	Nötür
Tirozin	Polar	Nötür
Valin	Apolar	Nötür

2.3.3.1.1. Histidinin Sağlık Üzerine Etkileri ve Kaynakları

Vücuttaki bütün dokuların gelişimi ve bakımı için Histidin gerekli bir amino asittir. Özellikle sinir hücrelerini bir yağ tabakası halinde saran ve sinir hücrelerinin birbirleriyle daha hızlı iletişim sağlamasında görev alan miyelin kılıfın yapımında rol alır. Zihinsel rahatsızlıkların ve cinsel fonksiyon bozukluklarının tedavisinde faydalı olabilir.

Vücuttaki histidin miktarı fiziksel ve zihinsel sağlık için dengeli olmalıdır. Anksiyete bozuklukları ve şizofren hastalarının vücutlarında yüksek düzeyde histidin tespit edilmiştir. Eklem iltihabında ve sinir hasarından kaynaklanan sağırılıkta da düşük düzeyde histidin tespit edilmiştir. Eklem iltihabının tedavisinde Histidin takviyesi almak yardımcı olabilir. Histamin bağışıklık sisteminin alerjik reaksiyonlarla savaşabilmesi ve mide sularının üretilmesi için de gereklidir. Histidin vücutta cinsel isteği uyaran bir kimyasal olan histamine dönüştürülür, bu yüzden Histidin cinsel fonksiyonlar için önemlidir. Araştırmalar histidinin vücudu toksinlerden ve ağır metallerden temizlediğini, radyasyonun zararlarına karşı koruduğunu göstermiştir. Histidin beyaz ve kırmızı kan hücrelerinin üretiminde çok önemlidir. Merkezi sinir sistemi üzerinde ve histamin üretiminde önemli olduğundan manik depresyon hastaları uzmana danışmadan histidin kullanmamalıdır. Karaciğer ve böbrek sorunları olanlar, herhangi bir amino asit takviyesi almak vücutta nitrojen dengesini bozabileceğinden uzmana danışmadan amino asit takviyesi kullanmamalıdır[14].

Diğer amino asitler gibi et ve süt ürünleri, tahıllar, pirinç, buğday, çavdar zengin histidin kaynaklarıdır.

2.4. Patlıcan türünde metal analizleri konusunda daha önce yapılan çalışmalar

Özkay ve arkadaşları, artan dozlarda Bakır (Cu), Çinko (Zn), Kurşun (Pb) ve Kadmiyum (Cd) içeren sulama sularıyla sulanan patlıcan fidelerinin ağır metal konsantrasyonlarını incelemişlerdir[15].

Dospatliev ve arkadaşları, son yıllarda artan çevre kirliliğine bağlı olarak sebzelerdeki toksit metallerin düzeylerini araştırmıştır. Bu çalışmada patlıcan örneklerinde Pb , Zn , Cd ve Ni konsantrasyonları araştırılmıştır[16].

Kafadar ve arkadaşları, Gaziantep ile organize sanayi bölgesi atık suları ile sulanan tarım bitkilerinde Pb konsantrasyonunu incelemiştir. Yapılan çalışmalar sonucu kurşun miktarının kontrol bölgesine göre önemli bir artış gösterdiğini saptamıştır[17].

Amin ve arkadaşları, atık su ile sulanan yeşil sebzelerde ağır metal tayinlerini yapmışlardır. Patlıcan gibi sebzelerde Cu, Ni, Zn, Cr, Fe, Mn, Co ve Pb içeriğinin derişimi araştırılmıştır. Çalışmalar sonucunda ağır metal derişimlerinin WHO/FAO tarafından izin verilen sınırdan daha yüksek olduğu saptanmıştır[18].

Roychowdhury ve arkadaşları, bitkileri kök, sap, yaprak, meyve ve tohum olarak ayırmış her bir kısım için ağır metal konsantrasyonlarını incelemiştir. Yaptıkları çalışmalar sonucu patlıcanın kısımlarındaki Pb konsantrasyonunu yaprak> tohum> kök> meyve>sap olarak, Cd konsantrasyonunu yaprak> tohum> kök> sap> meyve olarak sıralamışlardır[19].

Gautam ve arkadaşları, kurşunun toksite etkisinin madde verimi üzerine etkisini araştırmışlardır. Patlıcan ve domates bitkilerini farklı kurşun konsantrasyonlarına (2.5, 5.0, 7.5 ve 10 ppm) sahip sular ile sulamışlardır. Bunun sonucunda bitkilerdeki ilk meyve hasat gün sayısı, meyve verimi, taze meyve ağırlığı, bitki boyu gibi özelliklerin değişimini incelemiştir[20].

Massadeh ve arkadaşları, ana yol ve ana yola yakın bölgelerden toprak ve sebze örnekleri almışlardır. Bu örneklerdeki Cd ve Pb konsantrasyonlarını atomik absorpsiyon spektrometresi kullanarak tayin etmişlerdir. Sonuç olarak ana yoldan alınan toprak ve sebze örneklerinde ağır metal konsantrasyonlarını daha fazla bulmuşlardır[21].

Khemnani ve arkadaşları, patlıcanın tohum yağında ağır metallerin birikimi üzerine çalışmalar yapmışlardır. Patlıcanın tohum yağında Cd, Zn, Fe, Ni ve Pb metallerinin konsantrasyonlarını incelemiştir. Patlıcanın tohum yağında metal konsantrasyonlarını Cd (39.32 µg/L), Fe (17.53 µg/L), Pb (20.05 µg/L), Zn (12.24 µg/L) ve Ni (0.139 µg/L) olarak gözlemlemiştir[22].

3.ANALİZ YÖNTEMLERİ

3.1. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi (AAS)

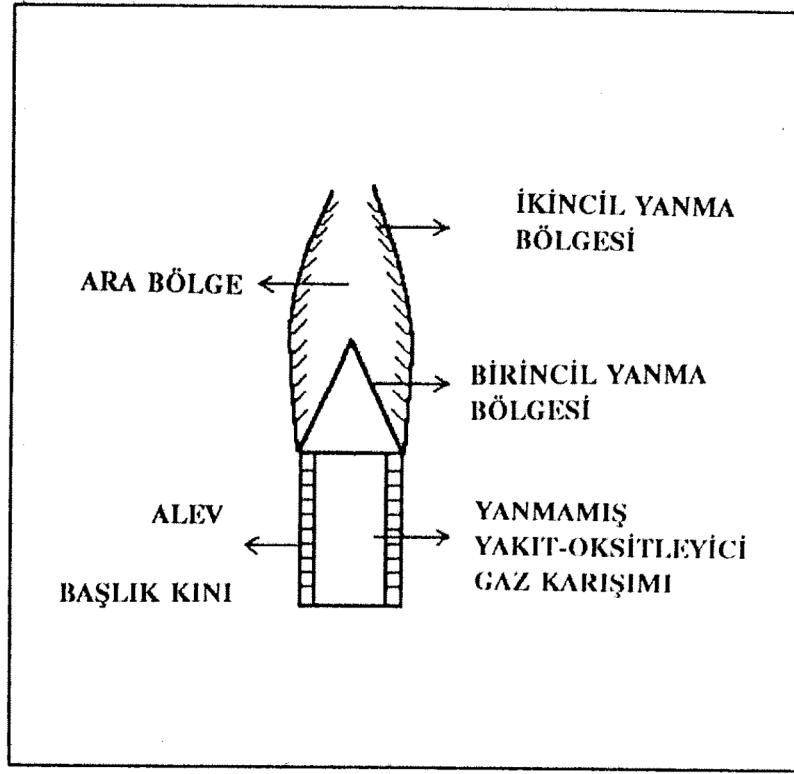
Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi(AAS), temel haldeki atomların UV-Görünür bölgedeki monokromotik ışınları absorplaması ilkesine dayanır. Işık enerjisinin absorplanması öncesinde analit, serbest atomlar haline dönüştürülmelidir. Bu amaçla alevli ve alevsiz atomlaştırma araçları kullanılmaktadır. AAS yöntemi ile element tayini 70 kadar elemente uygulanabilir. Bu çalışmada, alevli AAS cihazı kullanıldığından Alev hakkında bilgi verilecektir.

3.1.1. Alev yapısı

Alev, yakıt gazı ile oksitleyici gaz arasında bir yanma tepkimesinin sonucudur. Tepkime, gazları denetimli şekilde alev başlığından geçirerek elde edilir: yanma, alev başlığının ağzında yer alır. Gaz akışları, alevin alev odacığı içine geri dönmesini engelleyecek hızda olmalıdır. Gazların karıştırılma yöntemleri, ön karıştırılmalı (pre-mixed) ve ön karıştırmasız (unpremixed) alevlerde farklılık gösterir. Ön-karıştırılmalı sistemde, yakıcı ve yanıcı gazlar ile örnek çözeltisinin karışması, alev oluşmadan önce karışma odası adı verilen odacıkta oluşur. Bu karışım, odacığı terkedip alev başlığı yarığından geçerek dışarıda alevi oluşturmaları ile Atomik Absorpsiyon Spektroskopisinin atomlaştırıcı alevi elde edilir. Buna karşılık ön karıştırmasız sistemlerde gazlar aynı girişlerden geçerek alev içerisinde karışırlar. Karışma, difüzyon yolu ile düzenli ve sessiz bir biçimde olabildiği gibi şiddetli bir şekilde ve hava sarsıntısı ile de (turbulance) olabilir. Çoğu AAS cihazlarında, ön-karıştırılmalı düzenek güvenle kullanılabilir.

3.1.1.1. Ön Karıştırılmalı Alevin Yapısı

Ön karıştırılmalı alevlerin çoğu çıplak gözle ayırt edilebilecek bölgeler içerir. Bu bölgeler Şekil 3.1’ de gösterilmektedir.



Şekil 3.1. Alev Bölgeleri

3.1.1.1.1. Birincil Yanma Bölgesi (İç Bölge)

Bu bölge, alevin tabanında yer alır ve iç alevin ön sınırını oluşturur. Bu bölgede yakıt gazı, ön-karıştırma gazından mevcut olan oksitleyici ile birlikte yanar: tepkime, tipik olarak bir atmosfer basınçta 10 μ s gibi kısa bir sürede oluşur. Bu bölgenin rengi C_2H_2 - hava alevinde mavi-yeşil, C_2H_2 - N_2O alevinde ise mavi-beyazdır. Bu bölgedeki gazların durumu dengeden uzaktır. Açığa çıkan enerji, yanma ürünleri tarafından alınır.

3.1.1.1.2. Ara Yanma Bölgesi (Merkez-Bölgesi)

Birincil Yanma bölgesini terk eden yanma ürünü gazlar denge haline yaklaşmış olup, bu bölgede sıcaklık da denge haline yakındır; türlerin derişimleri yaklaşık olarak kimyasal denge tarafından belirlenir. Böylece gazlar, birincil yanma bölgesini terk ederek oldukça homojen olan Ara Yanma Bölgesine girerler. Bu bölgede dengenin oluşması,

elastik ve elastik olmayan çarpışmaların ve temel bimoleküler tepkimelerin hızının yüksek oluşu ile açıklanabilir.

3.1.1.1.3. İkincil Yanma Bölgesi (Dış Bölge).

Alevin dış sınırında, yanma ürünleri odadaki hava ile temasa girerler; burada CO ve H₂ gazlarının yavaşça CO₂ ve H₂O moleküllerine oksitlenmesi yer alır. Bu oksitlenme tepkimeleri, ek ısı verilmesi ve zayıf bir ışık yayılması ile birlikte oluşur. Bu bölge havaya karışma sonucu belirsiz bir şekilde sınırlanmıştır. Bölgeye İkincil Yanma Bölgesi veya Dış Bölge adı verilir. Hidrokarbon ve CO içeren alevlerde bölgenin rengi açık mavi –mordur. Alevdeki yakıt oranı arttıkça bölge daha belirgin bir görünüm kazanır, bu durumda birinci bölge belirsizleşir.

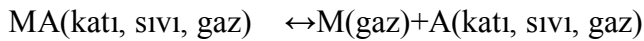
3.1.1.2. Alevde Dengeler.

Aşağıdaki temel denge türleri tanımlanabilir:

- Ayrışma(atomlaşma)/birleşme
- Tekrar birleşme/ayrışma
- İyonlaşma
- Absorpsiyon/emisyon

3.1.1.2.1. Ayrışma(atomlaşma)/Birleşme Dengesi

Basit bir ortamda belli bir bileşen için bu tür denge, başta sıcaklık olmak üzere alev parametrelerine bağlıdır. Atomik absorpsiyon yöntemlerinde genelde termal atomlaşma kullanılır ve genelde ısı enerjisi alev tarafından temin edilir. Yeterli enerji aktarımı olabilirse, molekülü oluşturan atomlar ayrışabilir.



Denge sabiti kısmi basınçlara uygulanabilir.

$$[(P_M)(P_A)]/P_{MA} = K_d (\text{Ayrışma sabiti})$$

P_{MA} değerinin artması, yani buharlaşma ile birlikte ayrışma da artar.

3.1.1.2.2. Tekrar Birleşme/Ayrışma Dengesi

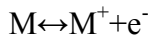
Bu tür denge özellikle alev bileşimi tarafından etkilenir ve temelde bir yükseltgenme-indirgenme tepkimesidir. Alev bileşimi yükseltgeyici, indirgeyici nitelikte veya stokiometrik olabilir. Bu nedenle dengede içeren atomlar serbest halde veya oksitlenmiş olarak bulunabilirler.



Bu tür dengede önemli olan, önce serbest duruma geçmiş olan atomların tekrar birleşerek oksitleri oluşturmalarıdır. Doğal olarak atomlaşmadan önce oluşan oksitler de yukarıdaki tepkimeye ters yönde girebilirler. Yüksek derişimde serbest atomların tekrar birleşerek oksit oluşmalarını önlemek de önemlidir. İndirgeyici nitelikteki alevler, serbest atom derişimini artırıcı yönde tepkimeyi sola doğru yönlendirebilirler.

3.1.1.2.3. İyonlaşma/İyonsuzlaşma Dengesi

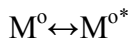
Belli bir element için bu denge sıcaklığa bağımlıdır. Atomun iyonlaşma potansiyeli düşük ise ve/veya alev sıcaklığı yüksek ise iyonlaşma yer alabilir. Termal iyonlaşma, aşağıdaki tersinir tepkime ile gösterilebilir.



AAS yönteminde iyonlaşmamış atom derişimini yüksek tutmak için ortama kolayca iyonlaşabilen başka bir atom sokulur ve bu atomun iyonlaşması sonucu oluşan elektronlar, yukarıdaki dengeyi analit için sol tarafa yönlendirir.

3.1.1.2.4. Absorplama/Emisyon Dengesi

Atomlaştırıcı ortamda analit ışığını absorplayabilecek temel haldeki atomlarla emisyon oluşturabilecek uyarılmış atomlar arasında da bir denge vardır.



Sıcaklık ve uyarma enerjisine bağlı olan bu denge, bilindiği gibi Boltzmann dağılımı ile belirlenir.

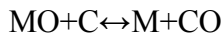
3.1.1.3. Yakıt/Oksitleyici Oranının Etkisi

Ön-karıştırmalı alevlerde oksitleyici olarak kullanılan hava, oksijen veya azot oksidül gazlarının akış hızı genellikle en verimli sisleştirmeyi sağlamak üzere ayarlanır. Bu gazların akışının artması sisleştirmeyi artırır; ancak atomlaştırmayı yükseltmeyebilir; çünkü bu durumda alevdeki sıcaklık düşebilir. Benzer şekilde bütan, propan, asetilen ve hidrojen gibi yakıtların akışındaki değişimler de atomlaşmayı ve böylece absorpsiyon sinyalini yükseltebilir Tablo 3.1’ de bazı yakıt/oksitleyici karışımları ve ilgili alevlerin sıcaklıkları verilmektedir.

Tablo 3.1. Bazı Alev Türleri ve Sıcaklıkları [23].

Yakıt/Oksitleyici	Sıcaklık, K
H ₂ -Hava	2385
C ₃ H ₈ -Hava	2267
C ₂ H ₂ - Hava	2537
CO-Hava	2382
C ₃ H ₈ -O ₂	3094
C ₂ H ₂ -O ₂	3343
C ₂ H ₂ -N ₂ O	3148

İndirgeyici nitelikte bir alevdeki oksitlerin oluşmuş iseler indirgenebilirler veya oksit oluşmaları bu tür bir alevde engellenebilir. Zengin yakıtlı alevlerde serbest haldeki atom derişiminin artması atomik karbonun indirgeyici niteliklerine bağlanmaktadır:



Al, Si, V gibi refrakter oksit oluşturan elementler oksitlerin asetilen/N₂O alevi içerisinde atomlarına ayrışmasının nedeni olarak ortamda bulunan CN ve NH(özellikle pembe koni bölgesindeki CN) radikallerinin atomik oksijenin kısmı basıncını düşürmesi gösterilmektedir[24,25]. İzotermal atomlaşma derecelerinin karbon ve karbon içeren türlerin derişimi ile doğru, moleküler oksijen derişimiyle ise ters orantılı olduğu gösterilmiştir[26]. Serbest karbonun varlığı, alevin indirgeyici özellikleri için temel öge

olarak ortaya çıkmaktadır. Hidrokarbon içeren bir alevde, yakıt/oksitleyici oranı yükseldikçe serbest karbon ve karbon içeren küçük radikal derişimi giderek yükselir ve alev sonunda isli bir görünüm kazanır; bu durumda kütleli karbon agromeratları karbonun etkinliğini ortadan kaldırır. Bu artış sırasında kritik karbon/oksijen oranı oluşur. Bazı elementler için en yüksek duyarlılığa bu kritik oran değeriinde erişilmiştir[27].

Organik çözücülerin varlığında C/O değeri yükselir; bu durum, organik çözücü içerisinde alev verilen elementler için sulu ortama göre duyarlılık artışının nedenlerinden birisidir.

3.1.1.4. Organik Bileşik ve Çözücülerin Etkileri

Organik bileşiklerin ortamda varlığı, bazı elementlerin absorpsiyon veya emisyon sinyallerinde yükselme veya düşüşe neden olabilmektedir. Literatürde bu durumlar için değişik açıklamalar verilmektedir.

- Çözeltinin yüzey gerilimindeki değişimler, akışkanlık ve benzeri fiziksel değişiklikler sonucu sisleştirme veriminde değişiklikler oluşmaktadır[28,39,30].
- Alev sıcaklığının etkilenmesi.

Başlangıçtaki yakıt/oksitleyici oranına bağlı olarak ortama giren organik bileşikler alev sıcaklığının artmasına veya azalmasına neden olabilirler.

- İndirgeyici etki.

Organik bileşiklerin varlığı, oksit oluşmasını engelleyebilir[31].

Benzer şekilde su ile karışan veya karışmayan organik çözücülerin ortamdaki varlığında ortamı etkiler. Su ile karışmayan çözücüler, analiti sulu ortamdan ayırmak ve zenginleştirmek amacıyla kullanılırlar; özütleme öncesinde analitin bir ligand ile kompleks oluşması gerektiği için bu ligandın varlığı da organik içeriğin ayrıca artmasına neden olur. Aseton varlığında Ni için 30 kat duyarlılık artışı bildirilmiştir[32]. Hava/kok gazı alevinde bazı alkollerin kimi elementler üzerine duyarlılık etkileri de incelenmiştir[33]. Benzer şekilde hexone (methyisobutyl ketone) varlığında Ag, Cd, Fe, Mn, Ni, Pd ve Pb için 3 kat duyarlılık artışı gözlenmiştir.

3.1.2. Alevli Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi Cihazı

Atomik absorpsiyon cihazının tipik bir şeması Şekil 3.2 de verilmiştir. AAS cihazlarının tek ve çift-ışın yollu türleri mevcuttur. Genellikle, her bir element için karakteristik bir dalga boyu ve bunu sağlamak için ayrı bir oyuk katod lambası ışık kaynağı olarak kullanılır.

Birçok cihaz, 1 A° mertebesinde bant genişliğine ulaşılabilen iyi kalitede ultraviyole- görünür bölge monokromatörüyle donatılmıştır.

Çoğu atomik absorpsiyon cihazlarında dedektör olarak fotoçoğaltıcı tüpler kullanılır. Elektronik sistem, alevden gelen sürekli sinyal ve kaynaktan gelen modüle sinyal arasındaki ayırmayı yapacak durumdadır. Günümüzde pek çok cihaz verileri işlemek, kontrol etmek ve cihaz değişkenlerinin kontrolü için kullanılan mikrobilgisayar sistemlerine bağlıdır.

AAS de, atomlaştırıcı olarak alev dışında elektrik enerjisinin kullanıldığı ve elektrotermal AAS olarak adlandırılan cihazlar da vardır.

3.1.3. Alevli Atomik Absorpsiyon Spektroskopisinde Girişimler (Engellemeler)

Atomik absorpsiyon spektroskopisinde nicel analizler referans madde ile karşılaştırma şeklinde yapıldığından, numune kabından atomlaştırıcıya kadar olan işlemlerde, çözeltinin fiziksel özelliği, atomlaşma esnasında ortamın fiziksel ve kimyasal özellikleri, analiz elementinin soğurma sinyalini pozitif veya negatif yönde etkilemesi, örneğin referans maddeye göre herhangi farklı bir davranış sergilemesine yol açar. Bu şekilde sonucu etkileyen tüm etkenler girişim olarak adlandırılır. Girişimler, nedenlerine bağlı olarak;

- Kimyasal Girişimler,
- İyonlaşma Girişimleri,
- Spektral Girişimler,
- Fiziksel Girişimler olarak sınıflandırılabilirler.

3.1.3.1. Kimyasal Girişimler

Kimyasal girişimler, analitin absorpsiyon karakteristiklerini değiştiren ve atomlaşma sırasında oluşan kimyasal işlemlerden dolayı oluşur. Kimyasal girişimlerin ortaya çıkmasının başlıca iki nedeni vardır. Bunlardan biri zor eriyen veya buharlaşan tuz oluşması ve bu moleküllerin tam olarak ayrışmasıyla meydana gelen girişimler, diğeri ise serbest atomların ortamda bulunan öteki atom veya radikallerle tepkimeye girerek başka formlara dönüşmesiyle oluşur.

Alevde karşılaşılan kimyasal girişimlerden en önemlisi, serbest atomların ortamda bulunan başka atom veya radikallerle tepkimeye girmesidir. Serbest metal atomlarıyla alevin yanma ürünlerinin birleşmesi sonucu, oksitler, hidroksitler, karbürler veya nitrürler oluşur. Bu girişimin sonucu olarak; 30 kadar metalik element hava/asetilen alevinde kararlı oksitler oluşturdıklarından tayin edilemezler.

Örnek matriksinin neden olduğu kimyasal girişimler de söz konusudur. Eğer bir örnekte standarda göre daha az ayrışan moleküller oluşuyorsa, incelenen metalin derişimi düşük bulunacaktır. Buna karşılık standarda göre daha kolay ayrışan moleküller oluşuyorsa, sinyal artışı gözlenecek ve derişimde pozitif bir hata oluşacaktır.

Birçok kimyasal girişim alev sıcaklığının yükseltilmesiyle uzaklaştırılabilir, bunun dışında girişimler kimyasal olarak da giderilebilir. Girişim yapan iyonlar standart çözeltiye eklenir ve bu şekilde, örnek matriksi ve standart çözeltiler birbirine benzetilebilir. Diğeri bir şekilde oluşan girişimin giderilmesinde, girişim yapan anyon, örnek çözeltisine aşırı eklenen başka bir katyonla bağlanabilir veya tayin edilecek katyon kompleks içinde tutularak bu şekilde kimyasal girişim giderilebilir[34]. Kimyasal girişimler, spektral girişimlerden daha yaygındır. Kimyasal girişim etkileri çoğunlukla uygun çalışma koşulları seçimiyle minimuma indirilebilir.

3.1.3.2. İyonlaşma Girişimleri

Özellikle yüksek sıcaklıktaki alev birçok element az veya çok iyonlaşır; bu durumda temel düzeydeki toplam atom sayısı da azalacağından duyarlılık da azalır. İyonlaşma girişimi iki yolla giderilebilir. Bunlardan biri, atomlaşma daha düşük sıcaklıktaki bir alevde yapılabilir. Örneğin alkali metaller hava/asetilen alevinde önemli ölçüde iyonlaştıklarından daha soğuk olan hava/hidrojen alevinde iyonlaşmadan

atomlaştırılabilirler. Ancak bu yöntem elementlerin çoğu için uygun değildir Çünkü soğuk alevde atomlaşma verimi azalır ve kimyasal girişimler ortaya çıkar. Diğer bir yöntem ise, örnek ve standart çözeltilerine potasyum ve sezyum gibi kolaylıkla iyonlaşan elementler eklenebilir, bu şekilde iyonlaşma girişimi giderilebilir[34,35].

3.1.3.3. Spektral Girişimler

Spektral engellemeler, ışınların saçılmasına sebep olan katı tanecikli ürünlerden veya geniş bant absorpsiyonu oluşturan yanma ürünlerinden ileri gelir. Her ikisi de gelen ışın gücünü zayıflatır ve pozitif analitik hataya yol açar. Bu ürünlerin kaynağı yalnızca yanıcı ve yükseltgen karışımı olduğunda, düzeltmeler bir tanık çözelti aleve püskürtülerek absorban ölçümünün yapılmasıyla kolayca sağlanabilir. Bu düzeltmenin tek-ışın yollu cihazda olduğu gibi, çift-ışın yollu cihazlarda da yapılması gerekir. Çünkü referans ışını alev içinden geçemez.

Absorpsiyon ve saçılmanın kaynağı numune matriksi ise daha büyük sorunlarda ortaya çıkar. Bu durumda, geçen ışın gücü P , matriks bileşenleri tarafından azaltılır, fakat gelen ışın gücü P_r , azaltılmaz. Sonuçta absorbansta, dolayısıyla konsantrasyonda pozitif hata olur.

Absorpsiyondan ileri gelen potansiyel matriks girişiminin bir örneği, toprak alkalilerin karışımında, baryum tayininde görülür. Atomik absorpsiyon analizinde kullanılan baryum çizgilerinin dalga boyu, Ca(OH)_2 'den kaynaklanan geniş absorpsiyon bandının merkezinde yer alır. Baryum analizinde, kalsiyumun girişim yapacağı açıktır. Bu özel problem, Ca(OH)_2 'nin bozunması ve ona ait absorpsiyon bandının giderilmesi için daha yüksek bir sıcaklık ve bunun için yükseltgen olarak hava yerine nitroz oksidin seçilmesiyle kolayca yok edilir[36].

Ti, Zr, W gibi refrakter oksitler veren bazı metallerin derişik çözeltileri aleve püskürtülünce, atomlaşma ürünleri arasında, ışınları saçabilen katı tanecikler de oluşur. Böyle hallerde de spektral girişim görülür. Katı taneciklerin boyutu, ışının dalga boyundan büyükse, bu saçılmalar olur.

Saçılmadan ileri gelen girişimler, numunenin organik türler içerdiği veya numuneyi çözmede organik çözücüler kullanıldığında da bir problem olabilir. Burada, organik matriksin tam olmayan yanma ürünleri, ışın saçılmasına sebep olan karbonlu tanecikler oluşturur.

Alev atomlaştırmada, matriks ürünlerinin spektral girişimleriyle, fazla karşılaşılmaz ve çoğu zaman sıcaklık ve yanıcı/yükseltgen oranı gibi analitik değişkenler ile önlenebilir. Eğer girişimin kaynağı bilinirse, girişim yapan maddenin aşırısı numune ve standartlara ilave edilebilir.

3.1.3.4. Fiziksel Girişimler

Fiziksel girişimler, çözeltilerin viskozitesi, yüzey gerilimi ve özgül ağırlığı gibi fiziksel özelliklerinin örnek ve referans maddede farklı olması nedeniyle ortaya çıkar. Çözeltilerin sisleşme verimi; yüzey gerilimi, viskozite ve yoğunluğa bağlıdır. Çünkü bu özellik damlacık boyutunu tayin eder. Eğer bir çözeltiye fazla miktarda tuz eklenirse daha az örnek emilir ve damlacıklar büyür, aleve ulaşan örnek miktarı azalır.

Organik çözücülerin viskozite ve özgül ağırlığı sudan daha az olduğu için bunların püskürtülmeleri daha kolay olur. Daha düşük yüzey gerilimi, sisleşmenin daha iyi olmasını ve dolayısıyla birim zamanda daha fazla örneğin aleve ulaşmasını sağlar.

Fiziksel engellemeler, örnek ve standart çözeltilerin fiziksel özellikleri birbirine benzetilerek giderilebilir.

3.2. İndüktif Olarak Eşleştirilmiş Plazma-Kütle Spektrometresi (ICP-MS)

Analitik bir cihaz olarak ICP-MS iki üniteden oluşmaktadır:

- 1) İndüktif olarak eşleştirilmiş plazma (ICP) ve
- 2) Kütle spektrometresi (MS).

Analiz edilmek istenen örnekteki elementler ICP de iyonlaştırıldıktan sonra kütle spektroskopisine gönderilirler ve burada kütle/yük (m/z) oranlarına göre ayrılarak ölçülürler. ICP-MS' teki plazma optik emisyon spektrometresinde kullanılan Argon (Ar) plazması ile aynıdır. Periyodik tablodaki birçok elementin birinci iyonlaşma enerjileri argonun iyonlaşma enerjisinden (15.76 eV) küçük olduğu için elementler plazma içerisinde pozitif iyonlara dönüşürler. Bir ICP-MS cihazında esas olarak şu bölümler bulunmaktadır:

1. Örnek gönderici sistem,
2. Aktarıcı koniler (interface cones),
3. ICP,
4. Kütle seçici (mass filter),
5. İyon lens sistemi,
6. Vakum sistemi ve
7. Dedektör (electron multiplier tube)

Çözeltide iz element derişimlerinin belirlenmesinde direk olarak ICP-MS kullanılması uygundur. Birçok element için gözlenebilme sınırı ng/L'nin (ppb ve daha düşük derişimler) altındadır. Nitel analizlerde ve izotop oranlarının belirlenmesinde olduğu gibi, başta metalik elementler olmak üzere periyodik tablodaki elementlerin büyük çoğunluğunun nicel ve yarı-nitel tayinlerinde de yaygın olarak kullanılmasının sebebi çok sayıda elementi aynı anda analiz edebilme özelliği sayesinde. ICP-MS' in çalışma aralığı diğer yöntemlere oranla oldukça geniştir. Farklı derişime sahip birçok elementin aynı anda analizine olanak sağlamasının nedeni birçok element için pg-mg/L arasında kalibrasyon grafikleri çizilebilmesidir. ICP-MS değişik örnek göndericilerle eşleştirildiğinde, sıvı örnekler dışında katı örneklerin analizinde de sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır (Laserle aşındırma-Laser Ablation-ICP-MS). Diğer tekniklerle de eşleştirilebilen örnek gönderme sistemleri (hidrür oluşturma, elektrotermal ısıtma, lazerle parçalama, akışa enjeksiyon sistemi, çeşitli sisleştiriciler, vb.) aynı şekilde ICP-MS ile de kullanılabilir. ICP-MS' e iyon kromatografisi (IC), sıvı kromatografisi (LC) ve gaz kromatografisi (GC) gibi kromatografik sistemler de eklenerek elementlerin türleri oldukça hassas bir şekilde belirlenebilmektedir[1].

3.3.Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)

Sıvı kromatografisinde dolgu maddesinde kullanılan tanecik boyutunun küçültülmesi (normalde 100–250 μm ' den 1–15 μm ' ye) ile kolon verimi önemli derecede artmaktadır. Ancak 1960' lı yılların son dönemlerinde tanecik çapı 3–10 μm ' ye kadar küçük olan dolgu maddeleri kullanılmaya başlanmıştır. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi, tanecik çapının, kolon çapının küçüldüğü ve yüksek basıncın uygulandığı

sıvı kromatografisine denir. Günümüzde en çok kullanım alanı bulan kromatografik metotlardan biri yüksek performanslı sıvı kromatografisidir[37].

Bunun nedenleri arasında;

- Kantitatif tayinlerde kullanılabilmesi,
- Duyarlılığının yüksek olması,
- Sanayi ve benzeri birçok alanda uygulanabilirliği,
- Uçucu olmayan türlerin ve sıcaklıkla kolayca bozulabilen türlerin ayrılmasına uygun olması sayılabilir.

Bu metotla yaşamın birinci dereceden temel taşı olan maddelerden; amino asitler, proteinler, nükleik asitler, hidrokarbonlar, karbonhidratlar, ilaçlar ve antibiyotikler tayin edilirler.

Çok gelişme gösteren analitik yöntemlerden biri kromatografidir. Onlarca yönteme yenileri eklenmektedir ve her yöntemin diğerine bazı üstünlükleri vardır. Bu nedenle kromatografik yöntemlerin genel bir karşılaştırması yapılmak zorunludur. Tablo 3.2’ de gaz ve sıvı kromatografi yöntemlerinin genel bir karşılaştırması yapılmıştır.

Çok küçük tanecik çaplı dolgu maddelerinin (sabit faz) hazırlanabilmesi ve bu taneciklerin üzerinden sıvı fazın yürütülmesini sağlayacak yüksek basınç pompalarının teknik olarak yapılabilmesi sıvı kromatografideki büyük gelişmeden kaynaklanmaktadır. Sıvı kromatografiyi, özellikle yüksek basınç sıvı kromatografiyi(HPLC), gaz kromatografi ile yarışabilir hale getiren uygun dedektörlerin geliştirilmesi, çeşitli sabit fazların kullanılabilir olmasıdır. Herne kadar HPLC’ nin daha avantajlı olduğu ileri sürülse de gaz ve sıvı kromatografilerinin birbirlerinin rakibi değil, birbirlerinin tamamlayıcısı olduğu kabul edilmektedir[38].

Tablo 3.2. Gaz ve Sıvı Kromatografilerinin Karşılaştırılması [38].

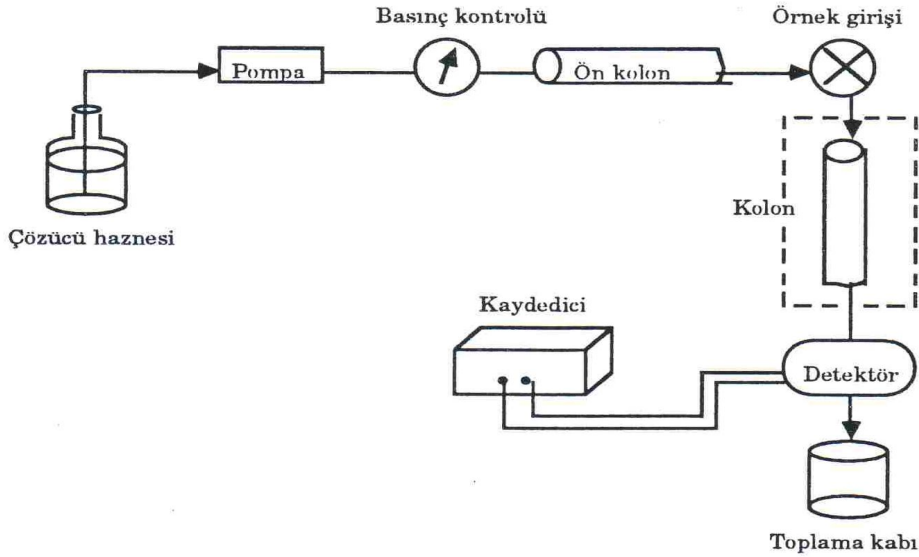
Faktör	Gaz Kromatografisi	Sıvı Kromatografisi
Prensip	Örnek sıvıya dayanıklı	Örnek uygun bir sıvıda buharlaşabilir
Örnek türü molekül ağırlık<500	Gazlar, sıvılar, katılar	Sıvı ve katılar, iyonlar
Hareketli faz	H ₂ , He, N ₂ ile sınırlı	Tüm organik ve inorg. sıvılar
Sabit faz	Sınırlı sayıda	Bağlı faz şeklinde çok sayıda
En düşük tayin sınırı	10 ⁹ -10 ¹² g	10 ⁶ -10 ⁹ g
Analiz süresi	Birkaç Dakika	Dakikalardan saatlere
Teorik tepki sayısı	2000-100000	500-10000
Prepara. amaç için	Uygun değil	Uygun
Sıcaklık programı	Yapılabilir	Güç ve yapılamaz
Gradient yürütme	Yapılamaz	Yapılabilir

3.3.1. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi Cihazı

Bir HPLC cihazı camdan veya çelikten yapılmış her biri 200–1000 mL çözücü içerebilen hazne içermektedir. Bu hazneler bazı cihazlarda kolonda ve dedektör sisteminde gaz oluşturarak bozucu etkilere sebep olan çözünmüş gazların (genellikle oksijen ve azot) giderilmesi için bir düzenekle donatılmıştır. Bu gaz kabarcıkları bant genişlemesine ve çoğu zamanda dedektörün performansında bozucu etkilere sahip olabilir. Çözücü içinde bulunabilecek toz ve partikül halindeki maddelerin pompaya veya enjeksiyon sistemine zarar vermemesi veya kolonu tıkamaması için toz ve partikül halindeki maddeler cihazda bulunan koruyucu kolon tarafından tutulur. Böylece çözücü kaybı en aza indirilmiş olur.

İzokratik elüsyon, sabit bileşimdeki tek bir çözücü kullanılarak yapılan ayırma olarak adlandırılır. Ayırma etkililiği genellikle *gradient elüsyonu* ile artırılır. Bunun için polariteleri birbirinden çok farklı, iki ya da üç çözücü sistemi kullanılır. Elüsyon başladıktan sonra, belli bir programa göre bazen sürekli olarak, bazen de seri basamaklar halinde, çözücülerin oranı değiştirilir. HPLC cihazları genellikle, iki veya daha fazla hazneden aldığı çözücülerini bir karıştırma odasında sürekli olarak değişen hızlarda bir araya getiren, çözücülerin hacimleri oranı zamanla doğrusal olarak veya üstel olarak

değiştirilebilecek nitelikte sistemlerle donatılmıştır. Şekil 3.2' de bir HPLC cihazının şemasını, Şekil 3.3' de gradient elüsyon uyumlu bir HPLC cihazının şeması verilmiştir.



Şekil 3.2. Bir HPLC Cihazı Şeması [38].

Sıvı kromatografisinde kullanılan dedektörleri şöyle sıralayabiliriz:

- Floresans dedektörleri,
- Absorbans dedektörleri,
- Kırma indisi dedektörleri,
- Elektrokimyasal dedektörleri,
- Filtreli ultraviyole absorbans dedektörleri,
- Monokromatörlü ultraviyole absorbans dedektörleri,
- Buharlaştırılmalı ışık saçma dedektörleri,
- Kütle spektrometresidir.

3.4. Bazı İstatiksel Terimler

Hatalar: Deneysel hatalar sistematik ve rastgele olarak sınıflandırılabilir. Sistematik hatalar belirli hata olarak adlandırılırlar ve düzeltilebilirler. Rastgele hatalar ise belirsizdir ve düzeltilemezler standart sapma ile verilirler, analiz sırasında sınırlama getirirler.

Mutlak Hata: Ölçümle ilgili belirsizliğin sınırlarının bir ifadesidir.

Mutlak hata = Ölçüm değeri - Doğru değer

Bağıl Hata: Mutlak hata büyüklüğünün ilgili ölçümün büyüklüğü ile karşılaştırılmasının ifadesidir.

Bağıl hata = Mutlak hata / Doğru değer X100

Standart Sapma (S): kesinliğin ölçüsü olan standart sapma verilerin ortalama değeri etrafında hangi yakınlıkta kümelendiklerini ifade eder. 20 den az ölçüm için,

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - x_{ortalama})^2}{n - 1}}$$

20 den fazla ölçüm için eşitliğin paydasındaki n-1 yerine sadece n alınır. Standart sapma ne kadar küçük ise veriler ortalama etrafında o kadar merkezlenmiştir.

Bağıl standart sapma: $\%RSD = \left(\frac{s}{x_{ortalama}}\right) * 100$ eşitliğiyle verilir.

Gözlenebilme Sınırı (Limit of Detection) (LOD): LOD, kullanılan yöntemlerin duyarlıklarını ifade eder. Bu ifade farklı yöntemlerin performanslarının karşılaştırılmasında kullanılmaktadır. Genellikle, kör değerin standart sapmasının 3 katı LOD olarak alınır. Kalibrasyon grafiğinin x eksenine olan açısının 45 dereceden farklı olması durumunda, IUPAC tarafından gözlenebilme sınırının belirlenmesi için aşağıdaki eşitlikler verilmiştir.

$$LOD = \frac{3 s}{m}, \quad m: \text{Çizilen kalibrasyon eğrisinin eğimi}$$

Tayin sınırı (Limit of Quantification) (LOQ): Kullandığımız alet ile belirleyebildiğimiz minimum madde miktarı değeridir. Bu ifade farklı aletlerin performanslarının karşılaştırılmasında kullanılması yanında analiz sonrasında elde edilen sonucun doğruluğunu da yansıtmaktadır. IUPAC tarafından tayin sınırının belirlenmesi için aşağıdaki eşitlikler verilmiştir.

$$LOQ = \frac{10 s}{m}$$

m: Çizilen kalibrasyon eğrisinin eğimi.

4. MATERYAL-METOT

4.1. Kullanılan Cihazlar ve Cam Malzemeler

Patlıcan bitkisinin farklı kısımlarındaki Pb ve Cd miktarlarının tayini, AAS (Agilent 240 Duo F-AAS) ve ICP-MS kullanılarak (Perkin-Elmer Elan 9000) yapıldı.

Kullanılan diğer yardımcı malzemeler;

- Elektronik terazi (Precisa-92SM-202A),
- Ultra saf su cihazı (Millipore, Direct-Q),
- Isıtıcı karıştırıcı (VELP Multiposition heating magnetik stirer),
- Ultrasonik su banyosu (Bandelin-Sonorex),
- Enjeksiyon Filtresi (0.45 µL' lik),
- Santrifüj (NF 200 Nüve),
- pH metre (SCHOTT LabStar pH),
- HPLC-ELSD full sistem (Toyoto, Japan),
- HPLC Kolonu (ZORBAX-XDB-C18 150 × 4.6 mm, 5 µm),
- Mikrodalga fırın (MarsXpres-CEM),
- Etüv
- Enjektör,
- Vial tüp(amber),
- Teflon kaplar,
- Değişik büyüklükte erlen, mikro pipet, beher, balon joje, mezür vb cam malzemeler.

4.2. Standart Çözeltiler ve Reaktiflerin Hazırlanması

Cd stok çözeltisi: 1000 mg/kg' lık Cd standart stok çözeltisinden (Merck, Germany) uygun seyreltmeler yapılarak gerekli çözeltiler hazırlandı.

Pb stok çözeltisi: 1000 mg/kg' lık Pb standart stok çözeltisinden (Merck, Germany)) uygun seyreltmeler yapılarak gerekli çözeltiler hazırlandı.

Histidin Standart Çözeltisinin Hazırlanması; 10.000 mg/kg'lık histidin standardı (ultra L-histidine ULTRA SCIENTIFIC) ultra saf su ile seyreltilerek gerekli çözeltiler hazırlandı.

4.3. Örneklerin Temini

Bu çalışmada, kontrol grubundan ayrı olarak her grupta 3 saksı olacak şekilde 5 grup halinde patlıcan fideleri Mayıs 2013 yılında ekildi. Kontrol grubuna, hava sıcaklığına bağlı olarak 2-3 gün arayla musluk suyu verilirken, diğer gruplar artan oranda Cd ve Pb eklenmiş (Tablo 4.1) musluk suyu ile 10 hafta süreyle sulandı. Örneklerin ekildiği zamana ve hasat edilmesine ilişkin görüntüleri Şekil 4.1 ve 4.2 de verilmiştir.

1.GRUP



1 nolu saksı



2 nolu saksı



3 nolu saksı

2.GRUP



4 nolu saksı



5 nolu saksı



6 nolu saksı

3.GRUP



7 nolu saksı



8 nolu saksı

4.GRUP



9 nolu saksı



10 nolu saksı



11 nolu saksı

5.GRUP



12 nolu saksı



13 nolu saksı



14 nolu saksı

6.GRUP



15 nolu saksı



16 nolu saksı



17 nolu saksı

Şekil 4.1. Patlıcan Bitkisinin Ekildiği Zaman (01/05/2013)

1.GRUP



1 nolu saksı



2 nolu saksı



3 nolu saksı

2.GRUP



4 nolu saksı



5 nolu saksı



6 nolu saksı

3.GRUP



7 nolu saksı



8 nolu saksı

4.GRUP



9 nolu saksı



10 nolu saksı



11 nolu saksı

5.GRUP



12 nolu saksı



13 nolu saksı



14 nolu saksı

6.GRUP



15 nolu saksı



16 nolu saksı



17 nolu saksı

Şekil 4.2. Patlıcan Bitkisinin Toplandığı Zaman (15/07/2013)

Fide şeklinde olan patlıcan bitkisi alınıp saksıdaki toprak ve hayvan gübresi karışımına ekildi.

İki gün aralıklarla bilinen derişimlerde Cd, Pb'lu su ilave edildi. 10 hafta boyunca aynı işlem uygulandı. Patlıcanlar 1 Mayıs 2014' te ekildi ve 15 Temmuz 2014' te toplandı. Toplanan patlıcan örnekleri önce musluk suyuyla yıkandı daha sonra saf suyla yıkanarak bütün örnekler 70°C 'de 24 saatte sabit tartıma getirildi. Sabit tartıma getirilen örnekler kuru çözme ve mikrodalga çözme yöntemleri uygulanarak çözünürleştirildi. Elde edilen numunelerdeki Pb ve Cd tayini AAS ile yapıldı. Elde edilen sonuçların doğruluklarını test için bazı örneklerdeki Pb ve Cd tayinleri ICP-MS ile yapıldı. ICP-MS için çalışma şartları Tablo 4.2'de verilmiştir.

Tablo 4.1. Patlıcan Yetiştirilmesinde Sulama Suyuna Eklenen Cd ve Pb Miktarları

1.GRUP	2.GRUP	3.GRUP	4.GRUP	5.GRUP	6.GRUP
		Sulama suyuna eklenen metal			
KONTROL GRUBU	3 ppb Cd 10 ppb Pb	9 ppb Cd 30 ppb Pb	21 ppb Cd 70 ppb Pb	30 ppb Cd 100 ppb Pb	60 ppb Cd 200 ppb Pb

4.3.1. Örneklerin Analize Hazırlanması

4.3.1.1. Örneklerin Mikrodalga ile Çözünürleştirilmesi

Kurutulmuş 0.50 g lık patlıcan bitkisinin yaprağı ve meyvesi örnekleri teflon bombalara konarak 3 mL derişik HNO₃ eklendi. Yarım saat bekledikten sonra 1 mL H₂O₂ eklendi. 1600 W (% 50) 200 °C 15 dakika ışınladı. Işınlama işleminden sonra 5 mL saf su ilave edilerek seyreltme işlemi yapıldı. Santrifüjleme işleminden sonra elde edilen çözelti gerekliyse süzme işleminden sonra berrak çözelti saf su ile 8 mL lik son hacme tamamlandı.

Tablo 4.2. ICP-MS için Çalışma Şartları

Plasma Gaz Akış Hızı	15 L min ⁻¹
Tasıyıcı Gaz Akış Hızı	0.9 L min ⁻¹
Örnek Alma Hızı	1.0 mL min ⁻¹

4.3.1.2. Kuru Çözme

Sabit tartıma getirilen 2-3 g'lık patlıcan bitkisinin meyvesi ve yaprağı örnekleri etüvde 250°C – 480°C 'ye kadar kademeli olarak arttırıldı(her 50°C de gaz çıkışı bitinceye kadar arttırılarak). 480°C 'ye gelen örnekler yaklaşık 7 saatte kül edildi. Kül örneklerine HNO₃/H₂O₂ (2/1) çözeltisinden 3 mL eklenerek kuruluğa kadar buharlaştırıldı. Bu işlem bir kez tekrarlandıktan sonra 0.5 M HNO₃ çözeltisinden 10 mL eklenerek son hacme tamamlandı. Ardından santrifüj ve süzme işlemleri yapıldıktan sonra son hacimleri ölçülüp (10 mL olacak şekilde) analize hazırlandı.

4.3.1.3. Toprak Örneklerinin Çözünürleştirilmesi

Toprak örnekleri yaklaşık 5 saat etüvde kurutuldu. Daha sonra 3 ml HNO₃/H₂O₂ (2/1) eklenerek çözünürleştirildi. Ardından 10 mL 0,1 M HNO₃ eklenerek santrifüjlendi. Santrifüjlenen örnekler süzülerek son hacim ölçüldü.

4.3.1.4. Cd ve Pb Elementlerinin Ölçülmesi

Gerek Cd ve Pb için kalibrasyon grafiğinin elde edilmesinde ve gerekse bilinmeyen örneklerin analizlerinde alevli AAS kullanıldı. Ölçümler için kullanılan parametreler Tablo 4.3 te verilmiştir.

Tablo 4.3. Cd ve Pb İçin Alevli AAS İle İlgili Parametreler

	Cd	Pb
Analiz Hattı (nm)	228.8	217.0
Oyuk Katot Lambası Akımı (mA)	7.5	7.5
Kullanılan Alev	Hava / Asetilen	Hava / Asetilen
Yarık Genişliği (nm)	0.5	0.5

4.3.1.5. Histidin Tayini İçin Örneklerin Hazırlanması ve Ölçümü

1 g patlıcan örneği alınarak 10 ml %10'luk Perklorik Asit (PCA) ilave edildi. Örnekler homojenizatörden geçirilip santrifüj edildi. Üstteki berrak kısım vial tüpe alınarak HPLC ile histidin tayini yapıldı. HPLC ile tayinde uygulanan parametreler Tablo 4.3'de verilmiştir.

Tablo 4.4. Histidin bileşiğinin ELSD dedektörlü HPLC ile elde edilen optimum çalışma koşulları

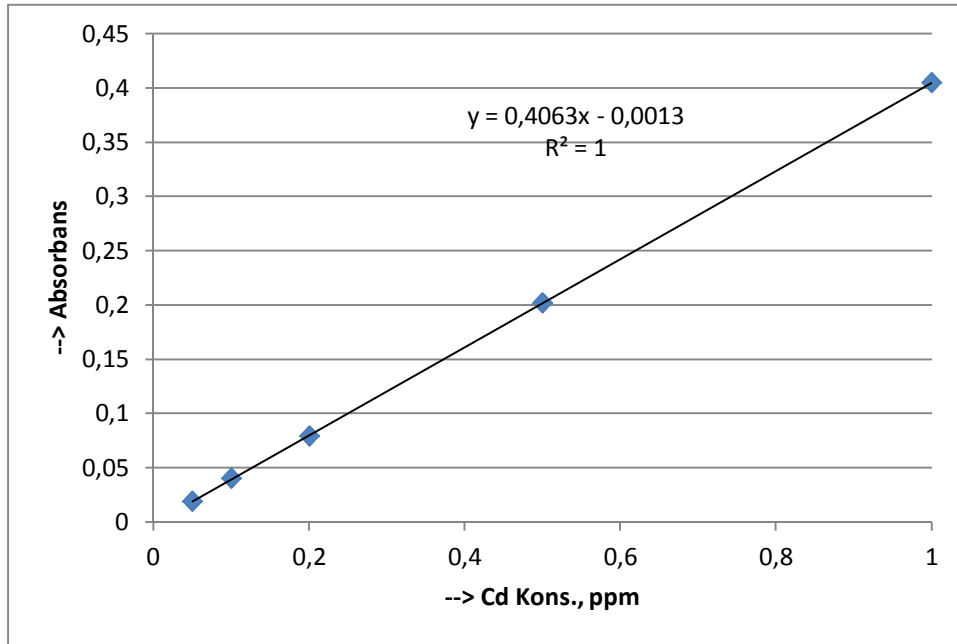
HPLC-ELSD full sistem	Histidin
Akış Hızı (mL/dk)	1.0 mL/dk
Enjeksiyon Hacmi (µL)	1.0 µL
Kolon Sıcaklığı (°C)	20 °C
Alıkonma Süresi, t (dk)	1,6
Kolon Özellikleri	ZORBAX-XDB-C18 150 × 4.6 mm, 5 µm
Nebulizer sıcaklığı, °C	45
Azot gaz akımı, mL/dk	3.2

5. BULGULAR

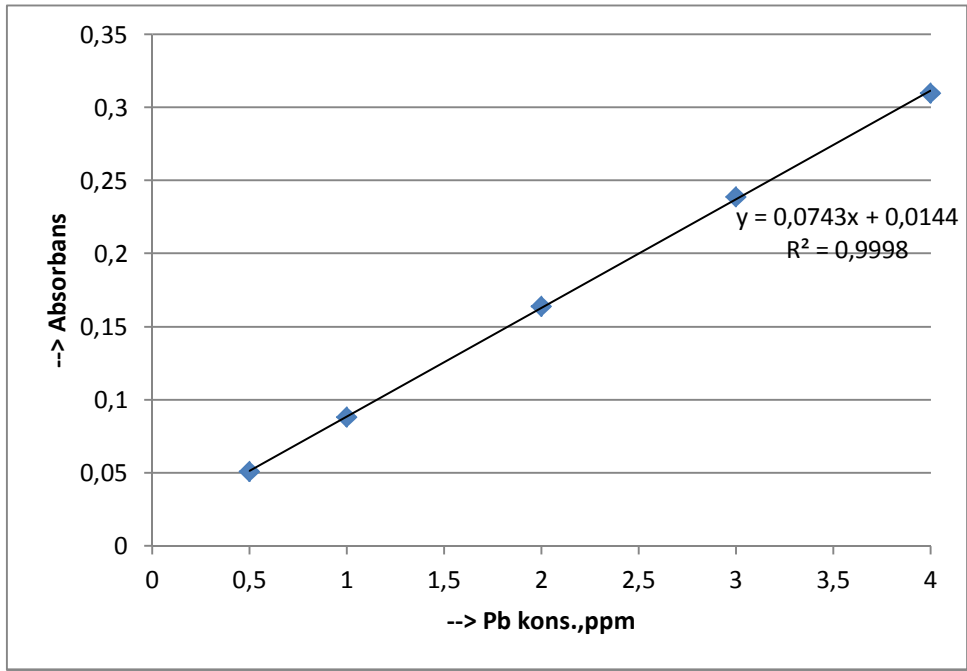
5.1. Çalışılan Örneklerde Cd ve Pb İçin Bulunan Sonuçlar

Bölüm 4.3'te anlatıldığı gibi hazırlanan berrak çözeltilerin AAS ile Cd ve Pb tayinleri yapıldı. Bu amaçla Cd için, önce kalibrasyon grafikleri elde edildi(Şekil 5.1-2). Şekil 5.1 den görüldüğü gibi kalibrasyon grafiği 0,05 ile 1 ppm aralığında doğrusal değişmektedir. Pb için ise doğrusal aralık 0.5 ile 4 ppm arasındadır.

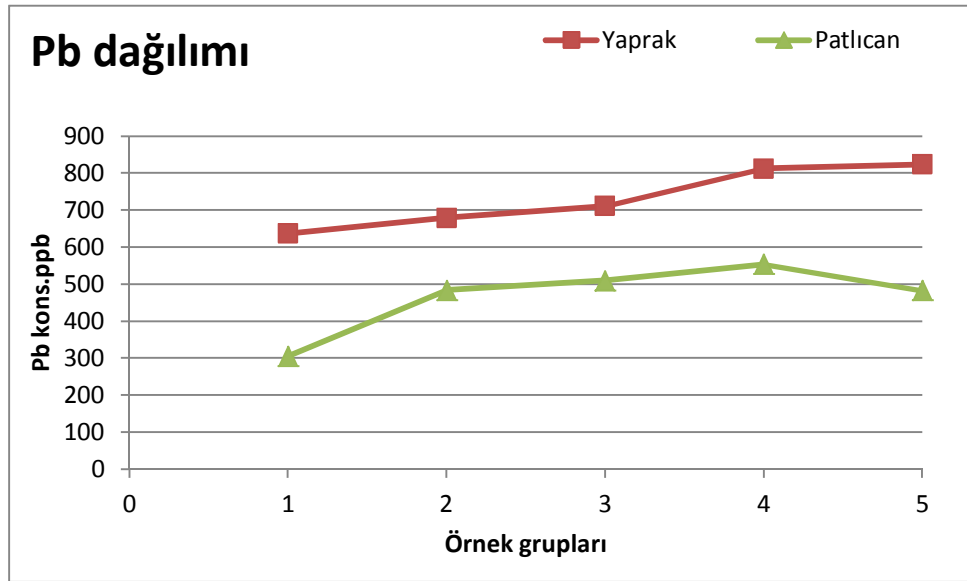
Söz konusu grafikler kullanılarak örnek çözeltileri için ölçülen absorbans değerleri konsantrasyona dönüştürüldü. Elde edilen sonuçlar kontrol grubuna göre metal konsantrasyonlarındaki değişimlerin görsel olarak daha kolay anlaşılması için grafiğe geçirilip Şekil 5.3-5.4 elde edildi. Bu verilerden sulama suyunun Cd ve Pb ilavesiyle 60 ppb' ye kadar ve 200 ppb' ye kadar patlıcan yaprağı ve meyvesinde anlamlı bir değişim olmadığı görülmektedir.



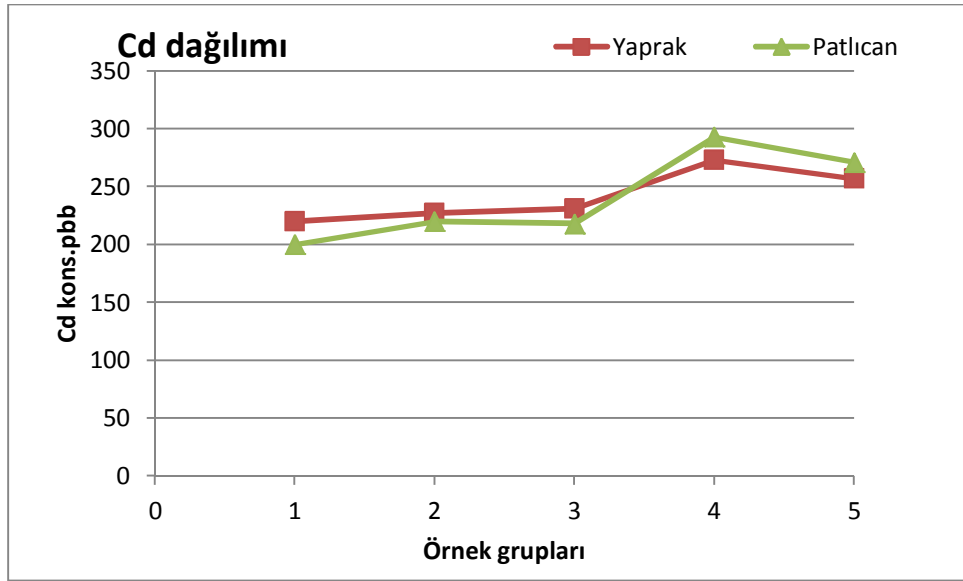
Şekil 5.1. Cd için Elde Edilen Kalibrasyon Grafiği



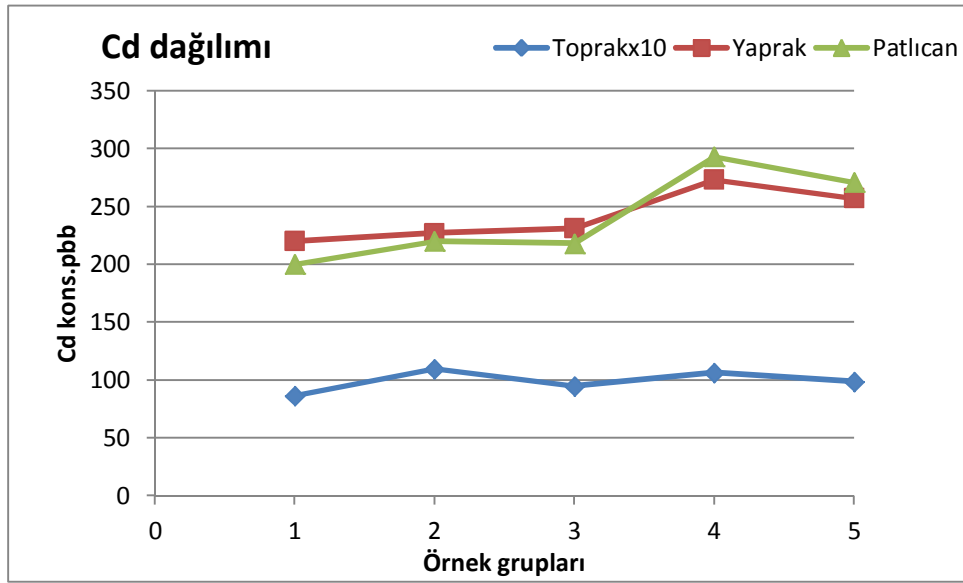
Şekil 5.2. Pb için Elde Edilen Kalibrasyon Grafiği



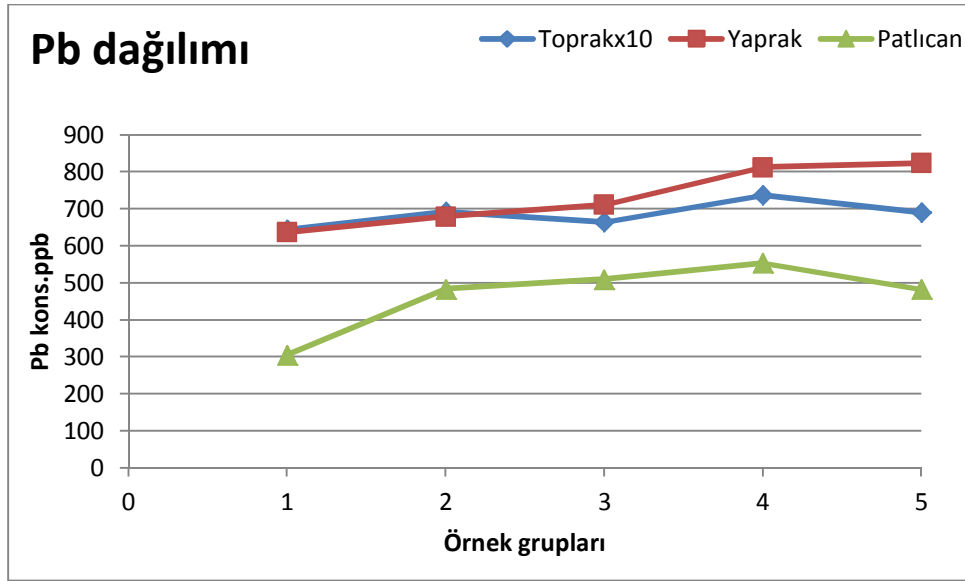
Şekil 5.3. Patlıcan Bitkisinin Yaprak ve Meyvesinde Pb Konsantrasyonundaki Değişim



Şekil 5.4. Patlıcan Bitkisinin Yaprak ve Meyvesinde Cd Konsantrasyonundaki Değişim



Şekil 5.5. Patlıcan Bitkisinin Toprak, Yaprak ve Meyvesinde Cd Konsantrasyonundaki Değişim



Şekil 5.6. Patlıcan Bitkisinin Toprak, Yaprak ve Meyvesinde Pb Konsantrasyonundaki Değişim

5.2. Sonuçların Doğruluğunun Testi

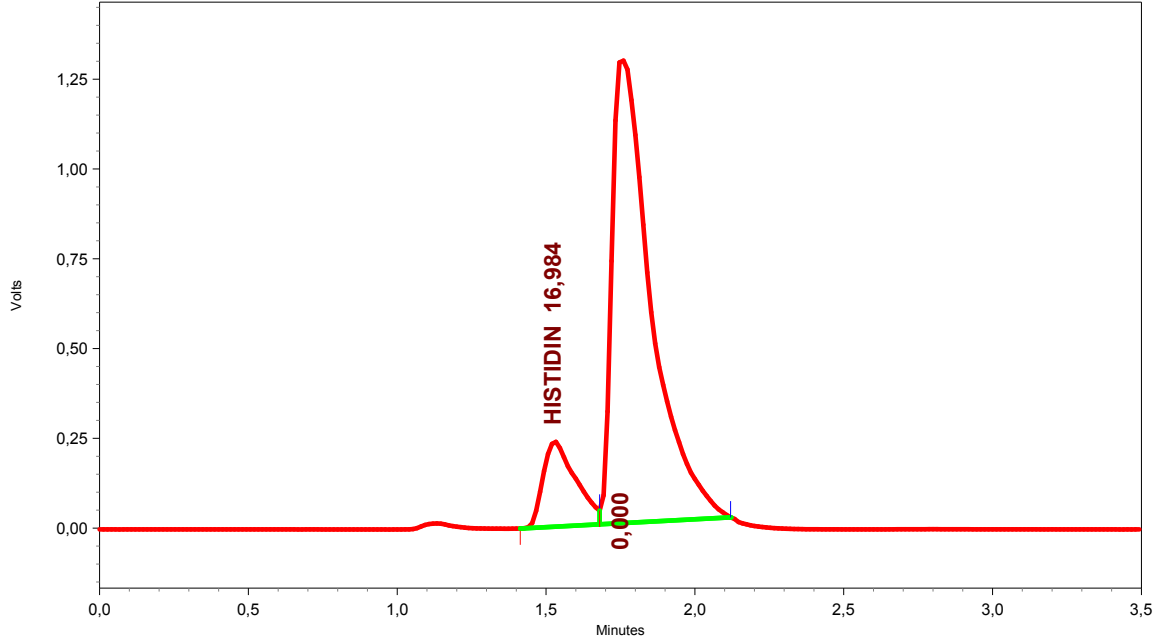
Kontrol grubu ve 5 nolu gruptan 3 'er örnek mikrodalga ile çözme işleminden sonra 30 ml 'ye seyreltilip ICP-MS ile Pb ve Cd tayinleri yapıldı. Bulunan sonuçlar Tablo 5.1. de verildi. ICP-MS ve AAS ile bulunan sonuçların istatistiksel olarak karşılaştırılmasından AAS ile elde edilen sonuçların güvenilir olduğu gözlemlendi.

Tablo 5.1. Patlıcan Yaprakları Örnekleri için AAS ve ICP-MS ile Bulunan Sonuçlar (ppm olarak)

Örnek	Pb (AAS)	Pb (ICP-MS)	Cd (AAS)	Cd (ICP-MS)
Kontrol(n=3)	0.64 ± 0.13	0.62 ± 0.11	0.22 ± 0.03	0.21 ± 0.02
5.Grup(n=3)	0.80 ± 0.19	0.79 ± 0.15	0.26 ± 0.04	0.24 ± 0.03

5.3. HPLC ile Histidin Tayinleri İçin Bulunan Sonuçlar

HPLC ile patlıcan örnekleri için elde edilen tipik bir kromatogram Şekil 5.7 de verilmiştir.



Şekil 5. 7. Patlıcan Örneğinde Histidin İlişkin Tipik Bir HPLC Kromatogramı

Patlıcan yaprak ve meyveleri için bulunan histidin sonuçları için gruplara göre anlamlı bir farklılık gözlenmediğinden kontrol grubu ve diğer grupların ortalamasına ilişkin veriler Tablo 5.1 de verilmiştir.

Tablo 5.2. Patlıcan Örnekleri için Bulunan Histidin Konsantrasyonları

Örnek	Histidin, ppm
Yaprak kontrol(n=3)	6.7 ± 1.9
Yaprak grup ort.(n=3)	8.4 ± 2.1
Patlıcan meyvesi kontrol(n=3)	4.8 ± 1.2
Patlıcan meyvesi grup ort.(n=3)	6.3 ± 2.2

6. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu tez kapsamında yapılan çalışmalardan elde edilen veriler değerlendirildiğinde aşağıdaki yorumlar yapılabilir.

- 1- Hemen hemen bütün gruplar için yapraktaki Cd patlıcan meyvesindeki Cd dan büyük olmakla birlikte birbirine çok yakındır.
- 2- Pb için, yapraktaki Pb patlıcan meyvesindeki Pb dan yine bütün gruplar için belirgin olarak daha büyük olmakla birlikte çok farklı değildir.
- 3- Topraktaki Pb ve Cd her grup için hemen hemen aynı konsantrasyondadır.
- 4- Pb miktarı patlıcan bitkisinin meyvesinde en fazla 560 ppb, en az 300 ppb bulundu. Pb miktarı patlıcan bitkisinin yaprağında en fazla 824 ppb, en az 637 ppb bulundu.
- 5- Cd miktarı patlıcan bitkisinin meyvesinde en fazla 293 ppb, en az 200 ppb bulundu. Benzer olarak, Cd miktarı patlıcan bitkisinin yaprağında en fazla 273 ppb, en az 240 ppb bulundu.
- 6- Patlıcan yaprak ve meyvesindeki histidin konsantrasyonlarına t testi uygulandı ve arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı sonucuna varıldı.

Litratürde patlıcan bitkisiyle yapılan benzer çalışmalarda aşağıdaki değerler bulunmuştur.

Dospatliev ve ark. [16] yaptıkları çalışmalar sonucu patlıcan örneklerinde 0.25 ppm Pb, 0.20 ppm Cd, 12 ppm Zn ve 3 ppm Ni konsantrasyonlarını bulmuşlardır. Yashim ve ark. [39] maden alanlarından temin ettikleri patlıcan dallarında 1 ppm Cd ve 120 ppm Pb tespit etmiş olup, patlıcan bitkisinin Cd ve Pb için bioakümülatör ve hiperakümülatör olabileceğini önermişlerdir.

Roychowdhury ve Tah [19] Hindistan' da çelik sektöründe en büyük paya sahip olan Durgapur çelik fabrikalarına 500 m uzaklıktaki alandan topladıkları patlıcan yaprak ve meyvelerinde sırasıyla 18.7 ve 6.22 ppm Cd ve 121 ve 39.6 ppm Pb bulmuşlardır. Bu çalışmada patlıcan bitkisinin yetiştiği toprakta Cd ve Pb derişimleri sırasıyla 12.7 ve 613 ppm bulunmuştur.

Gautam ve arkadaşları [20], Patlıcan ve domates bitkilerini 2.5, 5.0, 7.5 ve 10 ppm kurşun içeren sular ile sulamış ve bitkinin boyu, yaprak yüzey alanı, klorofil içeriği gibi büyüme parametrelerini araştırmışlardır. Bu çalışmada 10 ppm Pb içeren sulama suyuyla sulanan patlıcan meyvelerinde kuru esasa göre 5.060 ppm Pb bulunurken aynı su ile sulanan domates meyvesinde 5.235 ppm Pb tayin etmişlerdir.

Osma ve ark. [40] İstanbul' un endüstriyel ve kırsal alanlarından topladıkları patlıcan meyvelerinde en düşük ve en büyük olmak üzere 0.28-0.89 ppm Cd ve 29.28-86.20 ppm Pb rapor etmişlerdir..

7. ÖNERİLER

Benzer çalışmaların daha yüksek Cd ve Pb içeren sulama suları ile yapılmasının kirlenmiş yerlerde yetişen patlıcan örnekleri için Cd ve Pb absorpsiyonuna ilişkin farklı sonuçlar vereceği öngörülmektedir.

8. KAYNAKLAR

- [1] **World Health Organisation**, 2000. Fifty-Third Report Of The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, WHO Technical Report Series 896, Genova, Switzerland.
- [2] **Kodama, H., and C. Fujisawa. 2009.** Copper metabolism and inherited copper transport disorders: *Molecular mechanisms, screening, and treatment. Metallomics* 1:42–52.
- [3] **Mertz, W., 1987.** Trace Elements In Human And Animal Nutrition, Fifth Ed., Academic Press, Newyork
- [4] **Delves, H.T., 1981.** The Analysis Of Biological And Clinial Materials, Prog. Analyt. Atom. Spectros., Vol. 11 ,67-80
- [5] **Walsh, A., 1955.** The Application of Atomic Absorption Spectra to Chemical Analysis, Spectrochim, Acta, 7, 108-117
- [6] **Coutate, T.P., 1992.** Food, The Chemistry Of Its Components, 2nd.Ed, Royal Societry Chemistry.
- [7] **Dilgin, Y., 1999.** Elazığ ve Yöresinde Yetişen Sebze – Meyve ve Bunların Yetiştirildiği Topraklardaki Pb ve Cd’un AAS ile Tayini, F.Ü Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Elazığ.
- [8] **Nordberg, G., 2003.** Cadmium And Human Health: A Perspective Based On Recent Studies İn China, J Trace Elem Exp Med 16 (4): 307-319
- [9] **Waalkes, M.P., 2000.** Cadmium Carcinogenesis İn Review, J.Inorganic Chem., 79, 241-244
- [10] **Prof. Dr Fahrünnisa Pamuk, Biyokimya ders kitabı**, Ankara üniversitesi fen fakültesi
- [11] **Kyte J ve RF Doolittle (1982).** "A simple method for displaying the hydropathic character of a protein". *J. Mol. Biol.* (157): 105-132. PMID 7108955.
- [12] **D. L. Nelson, M. M. 2005.Cox, Lehninger Principles of Biochemistry**, Freeman and Co
- [13] **Imura K, Okada A (1998).** "Amino acid metabolism in pediatric patients". *Nutrition* 14 (1): 143-8. PMID 9437700
- [14] **"<http://tr.wikipedia.org/w/index.php?title=Histidin&oldid=11061625>" adresinden alındı.**
- [15] **Fatma Özkay, Sevinç Kıran, İsmail Taş, Şebnem Kuşvuran** ‘Effects of Copper, Zinc, Lead and Cadmium Applied with Irrigation Water on Some Eggplant Plant

- [16] **L. Dospatliev , K. Kostadinov , G. Mihaylova , N. Katrandzhiev** 'Determination Of Heavy Metals (Pb, Zn, Cd and Ni) In Eggplant' , Trakia Journal of Sciences, Vol. 10, No 2, pp 31-35, 2012.
- [17] **Feyza Nur Kafadar , Saadet Saygıdeğer** 'Gaziantep Ýlinde Organize Sanayi Bölgesi Atık Suları ile Sulanan Bazı Tarım Bitkilerinde Kurşun (Pb) Miktarlarının Belirlenmesi' Ekoloji 19, 75, 41-48 (2010).
- [18] **Noor-ul- Amin, Anwar Hussain, Sidra Alamzeb, Shumaila Begum** 'Accumulation of heavy metals in edible parts of vegetables irrigated with waste water and their daily intake to adults and children, District Mardan, Pakistan, 2012 Elsevier.
- [19] **Rajip Roychowdhury, Jagatpati Tah** 'Differential Response By Different Parts Of Solanummelongenal For Heavy Metal' Cytogenetics and Plant Breeding Lab, Botany Department (UGC-CAS), The University of Burdwan, Burdwan, West Bengal, India 713104 Plant Sciences Feed 2011.
- [20] **Mamta Gautam, Anil Kumar Singh and Rajiv Mohan Johri** 'Influence of Pb toxicity on yield, yield attributing parameters and photosynthetic pigment of tomato (*Solanum lycopersicum*) and eggplant (*Solanum melongena*)' Indian Journal of Agricultural Sciences 84 (7): 808–15, July 2014/Article.
- [21] **Adnan M. Massadeh, Hutaf M. Baker, Mutewakil M. Obeidat, Saleh K. Shakatreh, Bayan A. Obeidat, Eyad S. Abu-Nameh** 'Analysis of Lead and Cadmium in Selected Leafy and Non-Leafy Edible Vegetables Using Atomic Absorption Spectrometry', Soil and Sediment Contamination: An International Journal, 20:3, 306-314, (2011).
- [22] **S. Khemnani¹, B. Aswani, A. Arora and R. S. Sindal**, 'Detection Of Heavy Metal Cantents In The Seed Oil Of Solanum Malongena (Eggplant) Of Arid Zone' International Journal of Basic and Applied Chemical Sciences, 2277-2073 An Online International Journal Available (2012).
- [23] **Alkemade, C.T.J., Hollander, T., Snellman, W.**, 'Metal Vapours in Flames', International Series in Natural Philosophy, Franklin Book Co., Inc., USA, (1995).
- [24] **Krikbringt, G.F., Smith A.M., West, T.S.** 'An Indirect Sequential Determination of Phosphorus and Silicon by Atomic Absorption Spectrophotometry', Analyst, 92, 411-416, (1967).
- [25] **Krikbringt, G.F., Smith A.M., West, T.S.** 'An Indirect Amplification Procedure Procedure for the Determination of Niobium by Atomic Absorption Spectroscopy ', Analyst, 93, 292-297, (1968).
- [26] **Chester, J.E., Dagnall, R.M., Taylor, M.R.G.** 'Theoretical Assessment of Nitrous-oxide Hydrogen Flame in Spectroscopic Analyst', 95, 1132-1137, (1970).

- [27] **Gaydon, A.G., Wolfhard, H.G.** ‘Flames, Their Structure, Radiation and Temperature’, Chapter 10, Chapman and Hall, London,(1960).
- [28] **Pinta, M.** ‘Atomic Absorption Spectrophotometry’, John Wiley&Sons, A Halsted Press Book, New York, (1975).
- [29] **Smit, Alkemade, C.T.J., Verschure, J.C.M.** ‘A Contribution to the Development of the Flame Photometric Determination of Sodium and Potassium in Blood Serum’, Biochim. Biophys. Acta, 6, 508-523, (1951).
- [30] **Wanninen, E., Lindholm, A.** ‘Salt Effect in Atomic Absorption Spectrophotometry’, Anal. Letters, USA, 1,55-63, (1967).
- [31] **Fassel, V.A., Curry, R.H. Kniseley, R.N.** ‘Flame Spectra of the Rare Earth Elements’, Spectrochim. Acta, 18, 1127-1153, (1962).
- [32] **Robinson, J.M.** ‘Effect of Organic and Aqueous Solvents on Flame Photometric Emissionand Atomic Absorption Spectroscopy’, Anal. Chim. Acta, 23, 479-487,(1960).
- [33] **Lockyer, R., Scott, J.E., Slade, S.** ‘Enhancement of Atomic Absorption in the Flame by Organic Solvents’, Nature, 189, 830-831, (1961).
- [34] **Yıldız, A. ve Genç, Ö. 1993.** Enstrümental Analiz, Ankara, 1-3.
- [35] **Kılıç, E. ve Köseoğlu, F. 1996.** Analitik Kimya, Ankara, 1-15.
- [36] **Sneddon, J. 1997.** Ch. 5, In Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry; Settle, F., Ed.; Prentice-Hall: Upper Saddle River, Atomic Absorption Spectrometry, New Jersey.
- [37] **Yıldız, A., Genç, Ö., Bektaş, S., 1997,** Enstrümental Analiz Yöntemleri, Hacettepe Yayınları, 417-422.
- [38] **Özçimder, M. ve arkadaşları, 2004.** Gaz ve Sıvı Kromatografileri, Kırıkkale.
- [39] **Yashim, ZI, Israel, OK ve Hannatu M.** A Study of the Uptake of Heavy Metals by Plants near Metal-Scrap Dumpsite in Zaria, Nigeria, Journal of Applied Chemistry, 2014, <http://dx.doi.org/10.1155/2014/394650>.
- [40] **Osma E. Ve ark.** Assessment of heavy metal accumulations in vegetables and soils, Pol. J. Environ. Studies, 22(5), 1449-1455.

ÖZGEÇMİŞ

26.05.1991 yılında Elazığ'da doğdu. İlkokul, ortaokul ve lise öğrenimini Elazığ'da tamamladı. 2008 yılında Fırat Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nü kazandı. 2010 yılında Fırat üniversitesi Araştırma Hastanesi Biyokimya laboratuvarında stajını tamamladı. Fırat Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü'nden 2012 yılında başarıyla mezun oldu. 2010 yılında başladığı formasyon eğitimini 2012 yılında tamamladı. 2012 yılında Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Analitik Kimya Bilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı. 2014 yılında Bingöl'e Kimya öğretmeni olarak atandı. 2015 yılında Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Analitik Kimya Bilim Dalında yüksek lisans eğitimine devam etmektedir.