



**ELEKTROTERMAL ATOMİK ABSORBSİYON SPEKTROMETRESİ İLE
FARKLI GIDA NUMUNELERİNDE Cd ve Se TAYİNLERİ**

Tuğba Nur AKBABA

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

ARALIK 2018

Tuğba Nur AKBABA tarafından hazırlanan “ELEKTROTERMAL ATOMİK ABSORBSİYON SPEKTROMETRESİ İLE FARKLI GIDA NUMUNELERİNDE Cd ve Se TAYİNLERİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Kimya Ana Bilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Orhan ACAR

Kimya Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

Başkan: Prof. Dr. Erdoğan HASDEMİR

Kimya Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

Üye: Doç. Dr. Pınar Esra ERDEN

Kimya Ana Bilim Dalı, Ankara Hacı Bayram Üniversitesi)

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

Tez Savunma Tarihi:

26/12/2018

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

Prof. Dr. Sena YAŞYERLİ

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
 - Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
 - Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
 - Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
 - Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,
- bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Tuğba Nur AKBABA
26/12/2018

ELEKTROTHERMAL ATOMİK ABSORPSİYON SPEKTROMETRESİ İLE FARKLI
GIDA NUMUNELERİNDE Cd ve Se TAYİNLERİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Tuğba Nur AKBABA

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Aralık 2018

ÖZET

Bu çalışmada, çeşitli gıda numuneleri nitrik asit ve hidrojen peroksit varlığında mikrodalga parçalama sistemi kullanılarak çözülmüştür. Gıda numunelerinde selenyum ve kadmiyum miktarları elektrotermal atomik absorpsiyon spektrometresi kullanılarak tayin edilmiştir. Ortam düzenleyici olarak kadmiyum tayinlerinde Pt ve Ni + Pt ortam düzenleyici karışımı, selenyum tayinlerinde ise Ni + Pt karışımı kullanılmıştır. Ortam düzenleyiciler varlığında veya yokluğunda, numunelerde Se ve Cd tayinleri için sıcaklık programları optimize edilmiştir. Optimize edilen koşullarda Se ve Cd tayinleri gerçekleştirilmiştir. Se tayinleri için 1000 µg/mL Ni + 200 µg/mL Pt ortam düzenleyici karışımı ve Cd tayinleri için 200 µg/mL Pt ve 1000 µg/mL Ni + 200 µg/mL Pt ortam düzenleyici karışımları kullanılmıştır. Selenyum tayinleri için analitik gözlenebilme sınırı (LOD) ve analitik tayin sınırı (LOQ) sırasıyla 0,59 µg/L ve 1,76 µg/L olarak bulunmuştur. Cd tayinleri için ise LOD ve LOQ değerleri sırası ile 0,34 µg/L ve 1,13 µg/L'dir.

Bilim Kodu : 20102
Anahtar Kelimeler : Kadmiyum, selenyum, ortam düzenleyici, elektrotermal atomik absorpsiyon spektrometresi, gıda numuneleri
Sayfa Adedi : 50
Danışman : Prof. Dr. Orhan ACAR

DETERMINATION OF CADMIUM AND SELENIUM IN VARIOUS FOOD SAMPLES
BY ELECTROTHERMAL ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETRY

(M.Sc. Thesis)

Tuğba Nur AKBABA

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

December 2018

ABSTRACT

In this study, various food samples were dissolved in the presence of the nitric acid and hydrogen peroxide by using the microwave digestion system. Selenium and cadmium levels in food samples were determined by using the electrothermal atomic absorption spectrometry. Pt and Ni + Pt modifier mixture were used for cadmium determinations and Ni + Pt modifier mixture was used for selenium determinations. Heating temperature program was optimized in the presence of the matrix modifiers or without matrix modifier for the determination of Se and Cd in samples. Se and Cd determinations were carried out under optimized conditions. 1000 µg/mL Ni + 200 µg/mL Pt matrix modifier was used for Se and 200 µg/mL Pt and 1000 µg/mL Ni + 200 µg/mL Pt matrix modifiers were used for Cd. Limit of detection (LOD) and limits of quantitation LOQ levels were found as 0,59 µg/L and 1,76 µg/L for Se determinations respectively. The LOD and LOQ values for Cd determinations were also found as 0,34 µg/L 1,13 µg/L, respectively.

Science Code : 20102

Key Words : Cadmium, selenium, matrix modifier, electrothermal atomic absorption spectrometry, food samples

Page Number : 50

Supervisor : Prof. Dr. Orhan ACAR

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde tezimin başlangıcından bitimine kadar tecrübeleri ile bana her zaman yol göstererek destek olan, yoğun bir görevi olmasına rağmen sabırla vaktini ayıran, değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Orhan ACAR'a ve bilgi birikimini benden esirgemeyen, sorduğum her soruya içtenlikle cevap veren değerli hocam Sayın Prof. Dr. Nusret ERTAŞ'a en içten dileklerle teşekkür ederim. Bilgi ve tecrübeleri ile her zaman destek olan değerli hocalarım Doç. Dr. Orkun ALP ve Doç. Dr. Özcan YALÇINKAYA'ya içtenlikle teşekkür ederim. Bana her zaman motivasyon sağlayan arkadaşlarım Ayşe Aybüke BAYRAKÇI, Begüm MENEVŞE, Hüma YILMAZ, Mohanad ALJBORY, Mustafa DURAK, Nilgün BAL, Zehra Nur TOPAL ve kardeşlerim Elif ve Taha'ya en içten sevgilerimle teşekkür ederim. Son olarak tüm hayatım boyunca her zaman yanımda olan çok sevdiğim annem Ayşe AKBABA ve babam Efrahim AKBABA'ya en içten sevgilerimle teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGE LİSTESİ	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	x
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL BİLGİLER	3
2.1. Ağır Metaller.....	3
2.1.1. Ağır metal toksisitesi	3
2.1.2. Kadmiyum.....	4
2.2. Eser Element ve Eser Element Analizleri.....	5
2.2.1. Eser elementlerin ayrılması ve zenginleştirilmesi	6
2.2.2. Selenyum.....	7
2.3. Ağır Metal ve Eser Element Tayini İçin Yapılan Çalışmalar	8
2.4. Atomik Absorbsiyon Spektrometresi.....	12
2.4.1. Atomik absorbsiyon spektrometresinin tarihi	12
2.4.2. Çalışma prensibi.....	13
2.4.3. Atomik absorpsiyon spektrometresinin temel bileşenleri ve işlevleri	13
2.5. Atomik Absorpsiyon Spektrometresinde Girişimler	19
2.5.1. Kimyasal girişimler.....	19
2.5.2. Matriks girişi.....	20
2.5.3. İyonlaşma girişi.....	20
2.5.4. Fiziksel girişimler	20

	Sayfa
2.5.5. Spektral girişimler	21
2.5.6. Zemin girişimi	21
2.6. Elektrotermal Atomik Absorbsiyon Spektrometresinde Atomlaştırıcı Sıcaklık Programı	23
2.6.1. Kurutma	23
2.6.2. Kül etme (piroliz)	23
2.6.3. Atomlaştırma	23
2.6.4. Temizleme	24
2.7. Elektrotermal Atomik Absorbsiyon Spektrometresinde Kantitatif Analiz	24
2.7.1. Kalibrasyon grafiği yöntemi	24
2.7.2. Standart ekleme yöntemi	24
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR VE SONUÇLAR	25
3.1. Cihaz ve Malzemeler	25
3.1.1. Atomik absorbsiyon spektrometresi	25
3.1.2. Mikrodalga destekli parçalama cihazı	25
3.1.3. Genel laboratuvar cam malzemeleri	25
3.2. Numunelerin Hazırlanması	27
3.3. Kadmiyum ve Selenyum Tayinleri İçin Yapılan Deneysel Çalışmalar	28
3.4. Gözlenebilme (LOD) ve Tayin (LOQ) Sınırları	40
4. SONUÇ VE ÖNERİLER	43
KAYNAKLAR	45
ÖZGEÇMİŞ	49

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Cd ve Pb metallerin kullanım alanları ve insan sağlığına etkisi.....	4
Çizelge 2.2. Kadmiyumun bulunduğu ortam ve derişimi	4
Çizelge 2.3. Gıdalardaki kadmiyum miktarı ve günlük kadmiyum alımı.	5
Çizelge 2.4. Farklı ülkelerdeki günlük tüketilen selenyum miktarı.....	8
Çizelge 2.5. AAS’de kullanılan yakıtlar, yükseltgenler ve alev sıcaklıkları	16
Çizelge 3.1. Tayin elementleri için deneysel parametreler.....	25
Çizelge 3.2. Numuneler ve sertifikalı referans maddeler için mikrodalga destekli parçalama sisteminde sıcaklık programı.	28
Çizelge 3.3. Ni + Pt varlığında Cd ve Se için grafit fırın sıcaklık programı optimizasyon	35
Çizelge 3.4. ETAAS ile Skim Milk Powder-BCR 105 standart referans maddede Cd ve Se, Whey Powder-IAEA-155 standart referans maddede Se tayinleri	38
Çizelge 3.5. Bazı gıda numunelerinde bulunan Se ve Cd miktarları.....	39
Çizelge 3.6. Türk kahvesi, süt tozu ve beyaz peynir numunelerinde Cd ve Se derişimleri.....	39
Çizelge 3.7. Farklı ülkelerde yumurta numunelerinde Cd ve Se derişimleri.....	40
Çizelge 3.8. Ni + Pt ortam düzenleyici karışımı varlığında ETAAS ile Se ve Cd için gözlenebilme ($3s_b/m$) ve tayin ($10s_b/m$) sınırları.....	41

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Ağır metallerin ekosisteme yayılması	3
Şekil 2.2. Grafit fırınlı atomlaştırıcının şematik gösterimi	17
Şekil 2.3. Fotoçoğaltıcı tüplerin şematik gösterimi	18
Şekil 3.1. Ortam düzenleyici yokluğunda (ODY), Ni, Pt ve Ni+Pt ortam düzenleyicileri varlığında Milk powder BCR-105 numune çözeltisinde Cd için kül etme ve atomlaşma sıcaklığı (1700°C) çalışmaları.....	29
Şekil 3.2. Ortam düzenleyici yokluğunda (ODY), Ni, Pt ve Ni+Pt ortam düzenleyicileri varlığında yumurta çözeltisinde Se için kül etme ve atomlaşma sıcaklığı (2300°C) çalışmaları.....	30
Şekil 3.3. Ortam düzenleyici yokluğunda, Milk Powder BCR-105 çözeltisindeki Cd absorbans sinyali	31
Şekil 3.4. Ni + Pt ortam düzenleyici varlığında Milk Powder BCR-105 çözeltisindeki Cd absorbans sinyali.....	31
Şekil 3.5. Seyreltme yapılmadan yumurta çözeltisinde zemin ve Se absorbans sinyalleri	31
Şekil 3.6. İki kat seyreltilen yumurta çözeltisinde zemin ve Se absorbans sinyalleri	32
Şekil 3.7. Dört kat seyreltilen yumurta çözeltisinde zemin ve Se absorbans sinyalleri	32
Şekil 3.8. Sekiz kat seyreltilen yumurta çözeltisinde, ortam düzenleyici kullanılmadan zemin ve Se absorbans sinyali	32
Şekil 3.9. İki kat seyreltilen yumurta çözeltisinde Ni + Pt karışımı ortam düzenleyici karışımı varlığında zemin ve Se absorbans sinyali	33
Şekil 3.10. Ni+ Pt ortam düzenleyici karışımı varlığında süt tozu (Milk Powder BCR-105) çözeltisinde Cd ve yumurta çözeltisinde Se için sıcaklık programı kül etme süresi optimizasyonu.....	34
Şekil 3.11. Cd standart çözeltileri ile elde edilen kalibrasyon grafiği	35
Şekil 3.12. Kekik ve Polen numunelerinde standart ekleme yöntemi ile Se tayini	36
Şekil 3.13. Biber ve Peynir numunelerinde standart ekleme yöntemi ile Se tayini...	37
Şekil 3.14. Nane ve kahve numunelerinde standart ekleme yöntemi ile Se tayini	37

Şekil**Sayfa**

Şekil 3.15. Whey Powder -IAEA-155 numunesinde standart ekleme yöntemi ile Se tayini.....	38
---	----

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

Açıklamalar

A	Absorbans
C	Derişim
cm	Santimetre
g	Gram
kg	Kilogram
L	Litre
m	Eğim
mg	Milligram
mL	Mililitre
ng	Nanogram
nm	Nanometre
ppb	Milyarda kısım
ppm	Milyonda kısım
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre

Kısaltmalar

Açıklamalar

Abs	Absorbans
AAS	Atomik Absorbsiyon Spektrometresi
ET-AAS	Elektrotermal Atomik Absorbsiyon Spektrometresi
FAAS	Alevli Atomik Absorbsiyon Spektrometresi
GF-AAS	Grafit Fırın Atomik Absorbsiyon Spektrometresi
HG-AFS	Hidrür Oluşturmalı Atomik Floresans Spektrometresi
HR-CSAAS	Yüksek Çözünürlüklü Sürekli Işık Kaynaklı-AAS
ICP-MS	İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi

Kısaltmalar**Açıklamalar****ICP-OES**

İndüktif Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektrometresi

IOM

Instute of Medicine

LOD

Gözlenebilme Sınırı

LOQ

Tayin Sınırı

ODY

Ortam Düzenleyici Yokluğunda

OKL

Oyuk Katot Lambası

SRM

Sertifikalı Referans Madde

UV-GB

Ultraviolet-Görünür Bölge

WHO

World Health Organization

1. GİRİŞ

Günümüzde fabrikasyon işlemleriyle üretilen süt tozu, Türk kahvesi, yumurta, peynir ve toprakta yetişen polen, kekik, nane, yeşil biber ve yeşil fasulye çok tüketilen gıda ürünleri arasındadır. Bu gıda ürünlerinde eser element içeriği insan sağlığı için çok önemlidir. Eser elementlerin tayini için farklı yöntemler bulunmakla birlikte bunlardan birisi de grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektrometresidir. Elektrotermal atomik absorpsiyon spektrometresi (ETAAS) olarak da bilinen grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektrometresi (GFAAS) ile eser elementler nanogram seviyesinde kolaylıkla tayin edilebilmektedir. Zeeman zemin düzeltmesi sayesinde de girişimler en aza indirgenerek daha yüksek duyarlılıkta eser element tayini gerçekleştirilmektedir.

Selenyum (Se) ve kadmiyum (Cd) elementleri bulundukları ortamın fiziksel özelliklerinden (matriks) etkilenmektedirler. Matriks etkisi sonucu Se ve Cd tayinleri olması gerekenden daha düşük ya da yüksek bulunmaktadır. Matriks girişimini önlemek amacıyla çeşitli ortam düzenleyiciler varlığında Cd ve Se tayinleri gerçekleştirilmiştir. Ortam düzenleyiciler varlığında uçucu olan Se ve Cd elementleri için daha yüksek kül etme sıcaklıklarına çıkılabilmektedir. Bu sayede ortamda istenmeyen kolay uçucu türlerin uzaklaştırılması sağlanmıştır.

Selenyum, eser miktarda insan sağlığı için tüketilmesi önemli iken Institute of Medicine (IOM) verilerine göre 55-400 µg üzerinde alındığında insan sağlığında toksik etkiye sebep olmaktadır (IOM, 2000). Selenyumun yararlı ve zararlı etkilerinin sınırı oldukça dardır. Selenyum, bağışıklık sistemi ve tiroid bezinin normal çalışmasını sağlarken, fazla tüketimi sonucunda hücre bölünmelerine neden olmaktadır.

Ağır metal olan kadmiyum ise çok düşük miktarlarda bile toksik etkiye sebep olmaktadır. Gıdalardan alınan günlük Cd miktarı ortalama 113 µg olabileceği bildirilmiştir (Speranskaya ve ark., 2008). Bu miktarın üzerinde kadmiyum alımı insan sağlığı üzerinde olumsuz etkilere sebep olmaktadır. Kanseri, akciğer yetmezliği, karaciğer, böbrek rahatsızlıkları fazla miktarda kadmiyum alımı sonucunda meydana gelen hastalıklardır (Moges, 2014). Kadmiyum gıda numuneleri tarafından kolayca emilmektedir ve bu yüzden gıda numunelerindeki tayini oldukça önemlidir.

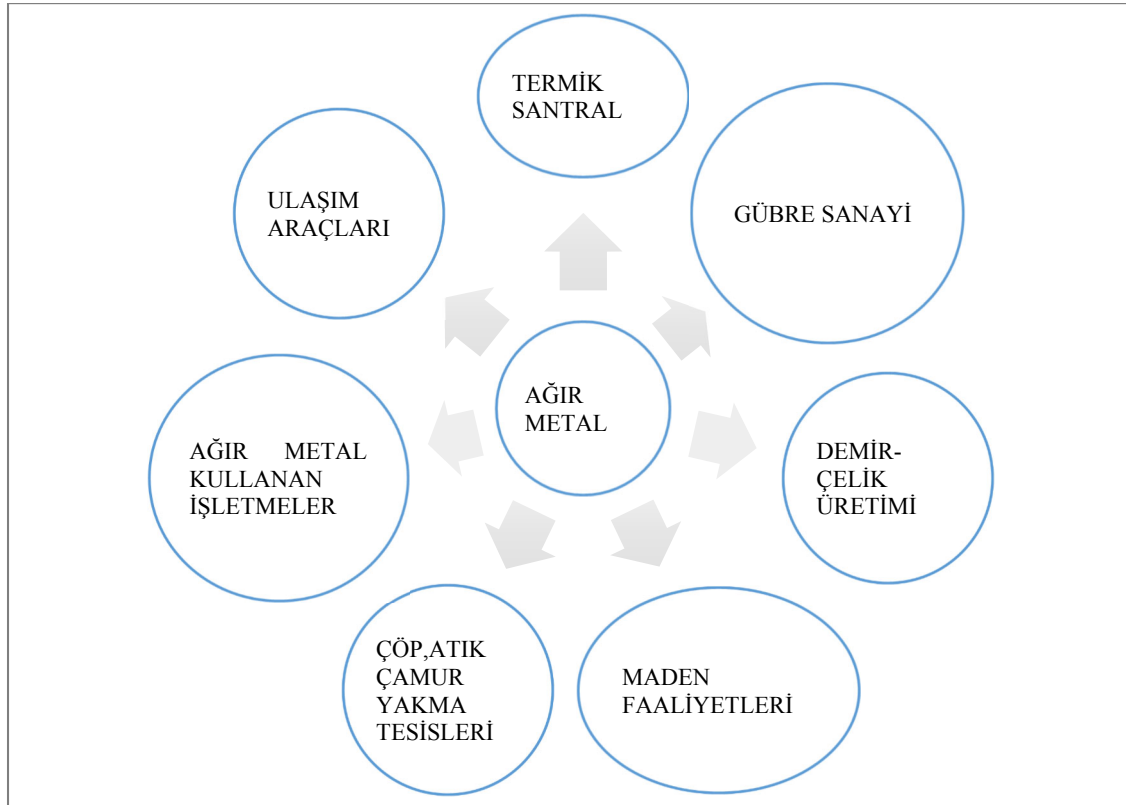
Bu alışmada Varian (Australia) Spectra AA240Z Zeeman zemin düzeltmeli GFAAS kullanılmıştır. Sertifikalı referans maddelerin ve gıda numunelerinin HNO_3 ve H_2O_2 varlığında mikrodalga parçalama cihazı kullanılarak tamamen parçalanması sağlanmıştır. Cd için süt tozu numunesinde, Pt ortam düzenleyicisi ve Ni+Pt ortam düzenleyici karışımı varlığında ve Se için yumurta numunesinde Ni+Pt ortam düzenleyicisi varlığında atomlaşma ve kül etme sıcaklıkları optimize edilmiştir. Optimize edilen koşullarda gıda numunelerinde Cd ve Se tayinleri yapılmıştır. Cd ve Se tayinleri için kalibrasyon ve standart ekleme yöntemleri kullanılmıştır. Bulunan sonuçlar, Dünya Sağlık rgt (WHO) müsaade edilen değerleri ile karşılaştırılmıştır.

2. KURAMSAL BİLGİLER

2.1. Ağır Metaller

Ağır metal terimi yüksek bir yoğunluğa sahip olan ve çok küçük derişimlerde bile toksik etki gösteren metaller için kullanılmaktadır. Ağır metaller oksidasyon seviyelerine bağılı olarak yüksek reaktivite gösterebilirler. Mikroorganizma için çok fazla toksiktirler ve ağır metallerin toksik etkisi ile reaktif oksijen türleri oluşur. Bunun sonucu olarak hücresel redoks durumlarında dengesizlik oluşur (Pinto, 2003). Belirli bir seviyenin üstündeki derişimlere sahip ağır metaller canlı sağlığını olumsuz yönde etkiler.

2.1.1. Ağır metal toksisitesi



Şekil 2.1. Ağır metallerin ekosisteme yayılması

Birçok sağlık sorunu ile ilişkili olan ağır metal toksisitesi önemli bir tehdit olarak görülmektedir. Biyolojik olarak etkinliği olmasa da bu metaller, insan sağlığı ve vücut metabolizmasının düzgün işleyişi için zararlı olan bazı formlarda bulunarak toksik etkiye sebep olabilirler (Jaishankar, 2014).

Bazı ağır metaller özellikle Zn^{2+} ve Cd^{2+} , arıtılmamış atık sularda yaygın olarak bulunur (Ochoa -Herrera,2011). Kadmiyum ve kurşun metallerinin bazı kullanım alanları ve insan sağlığına etkileri Çizelge 2.1.' de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Cd ve Pb metallerin kullanım alanları ve insan sağlığına etkisi (Moges, 2014)

Ağır metal	Kullanım alanı	Sağlık etkisi
Kadmiyum	Galvanik, suni gübreler, maden işleme ve akü üretimi	Kanser, akciğer yetmezliği, karaciğer bozukluğu, böbreklerde hasar
Kurşun	Metal kaplama, tekstil, akü üretimi, otomotiv sektörü	Sinir sistemi, böbrekler ve beyinde hasar

2.1.2. Kadmiyum

Kadmiyum yerkabuğu ve suların doğal oluşumu sonucu meydana gelen ve çevremizde bulunan eser bir metaldir. İlk defa Almanya'da 1817'de çinkonun saflaştırılması sırasında keşfedilmiştir. (International Cadmium Association, 2016).

Kadmiyum periyodik çizelgede 12. grup elementidir ve atom numarası 48, kütle numarası 112 ve yükseltgenme basamağı +2'dir. Yumuşak, gümüş beyazı renkli ve yüksek seviyede toksik etkiye sahip ağır metal olarak bilinen bir eser elementtir. Kadmiyumun bulunduğu ortam ve derişim seviyesi Çizelge 2.2.' de verilmiştir.

Çizelge 2.2. Kadmiyumun bulunduğu ortam ve derişimi (International Cadmium Association, 2005)

Bulunduğu ortam	Miktar
Atmosfer	0,1 - 5,0 ng/m ³
Yerkabuğu	0,1 - 0,5 µg/g
Deniz sedimanları	1,0 µg/g
Deniz suyu	0,1 µg/L

Gıdalardan alınan günlük Cd miktarı ortalama 0,113 mg/60 kg olmalıdır (Speranskaya ve ark, 2008). Bu miktarın üzerinde kadmiyum alımı insan sağlığı üzerinde olumsuz etkilere sebep olmaktadır. Kanser, akciğer yetmezliği, karaciğer, böbrek rahatsızlıkları fazla miktarda

kadmiyum alımı sonucunda meydana gelen hastalıklardır (Moges ve ark, 2014). Çizelge 2.3'te bazı temel gıdaların günlük tüketim ve bulunan kadmiyum miktarları verilmiştir.

Çizelge 2.3. Gıdalardaki kadmiyum miktarı ve günlük kadmiyum alımı (Speranskaya ve ark, 2008)

Ürün	Günlük Tüketim (g)	Kadmiyum miktarı (µg)
Ekmek	300	12
Et	200	29
Balık	60	6
Süt ürünleri	500	17
Patates	300	38
Sebzeler	450	14
Meyve	200	6
Toplam		113

2.1. Eser Element ve Eser Element Analizleri

Bir örnek içerisinde diğer elementlere göre çok küçük derişimlerde bulunan elementler eser element olarak bilinmektedir. Eser elementler çok düşük derişimlerde olsalar da yine de örnek bileşiminin özelliklerini etkilemektedirler. Bileşimdeki eser element miktarlarının belirlenmesi ise eser element analizidir.

Eser element analizleri derişimlerine göre 3 şekilde sınıflandırılmaktadır;

- Eser (0,1-100 mg/L)
- Mikroeser (10^{-7} - 10^{-4} mg/L)
- Nanoeser (10^{-7} - 10^{-10} mg/L).

1879 yılında Gutzeit tarafından yapılan ilk eser element analizi, gelişen teknoloji ile birlikte daha saf malzemelere olan ilginin artması sonucunda daha çok önem kazanmıştır

Eser elementler canlılarda çok küçük derişimlerde bulunur ama belirli bir miktar üzerinde bulunması toksik etkiye neden olur (Nişli ve Ertaş, 2002). Beslenme açısından özellikle 1-15 yaş arasındaki çocuklarda krom, mangan ve selenyum önemlidir. Aynı şekilde kükürt, bor, kobalt, flor, iyot, molibden ve silisyum da insanların beslenmesi için gereklidir (Bogdanov

ve ark., 2008). Bu yüzden önemli ve aynı zamanda toksik olan eser element analizleri, çevre ve su örneklerinde, endüstriyel ve klinik çalışmalarda canlı sağlığı için gereklidir (Nişli ve Ertaş, 2002).

İnsan sağlığı üzerine yapılan çalışmaların önemli bir kısmını eser element analizleri oluşturmaktadır. Eser seviyedeki bazı geçiş metalleri metabolizmamızda sağlığımız için etkili bir rol oynamaktadır. Eser elementlerin eksikliğinde biyolojik fonksiyonlarda bozulma gözlenir ama bu metallerin yüksek miktarları da olumsuz etki göstermektedir. Bakır, çinko, nikel, mangan, demir ve selenyum gibi elementler biyolojik sistemlerde gerekli ve önemlidirler. Toprak ve hava koşulları, kullanılan gübreler bitkideki eser element miktarını belirleyen önemli faktörlerdir. Gıda tüketimi metal alımında açık bir yoldur. Bazı metaller gıda maddelerinde doğal olarak bulunmaktadır, çevre kirliliği ve üretim sırasında da doğaya yayılmaktadırlar.

Eser element analizlerinde, yüksek miktarda bileşen içeren bir ortamda çok düşük miktarda bulunan elementlerin tayini yapılmaktadır. Eser elementlerin analizleri için net bir sinyal gözlenmesi, ortamda bulunan diğer türlerin girişim yapması sonucunda oldukça zordur. Bir elementin farklı ortamlarda oluşturduğu farklı sinyaller ortam (matriks) etkisi ya da girişim etkileri olarak bilinmektedir. Numune ve standart çözelti ortamları birbirinden farklı olduğu zaman matriks girişimi de gözlenir. Numune ve standart çözeltileri arasındaki bu fiziksel ve kimyasal farklılıklar giderilmediği sürece eser element tayinlerinde yeterli duyarlık, doğruluk ve kesinlikte sonuçlar alınamaz. Bu yüzden numune ve standart çözeltilerin fiziksel ve kimyasal özellikleri birbirine benzer olmalıdır. Bu problemlerin giderilmesi için eser element analizlerinde genel olarak zenginleştirme yöntemleri olarak bilinen, ayırma ve zenginleştirme yöntemleri gibi ön işlemler de uygulanmaktadır.

2.1.1. Eser elementlerin ayrılması ve zenginleştirilmesi

Bir maddenin temas ettiği iki faz arasında farklı oranlarda dağılması esasına dayanan olay ayırmadır. Ayırma işlemlerinde genellikle katı-sıvı, sıvı-sıvı, sıvı-gaz, katı-gaz olarak iki fazdan yararlanılmaktadır. Eser element analizlerinde ayırma yöntemlerinin temel olarak üç uygulaması vardır.

- Makro - mikro ayırma: Ana bileşen numuneden uzaklaştırılır ve eser bileşen çözeltide kalır.
- Mikro - makro ayırma: Ana bileşen çözeltide kalır ve eser bileşenler numuneden ayrılır.
- Mikro - mikro ayırma: Eser bileşenler, eser bileşenlerden ayrılır.

Ana bileşenin numuneden ayrılması sırasında numunedeki eser bileşenlerinden uzaklaşması da olası bir durumdur, bu yüzden makro-mikro ayırma yöntemleri çok sık tercih edilmemektedir. Genellikle mikro-makro ve mikro-mikro ayırma yöntemleri kullanılmaktadır. Özellikle eser türler birbirlerine girişime neden oluyorsa mikro-mikro ayırma yöntemi tercih edilmektedir.

Eser element analizlerinde ayırma ve zenginleştirme işlemleri sayesinde, yöntemin duyarlılığı artar, girişimler giderilir, matriks ve zemin girişimi azalır ve seçicilik artar. Yani girişimler önlenerek ve numunenin derişimi artırılarak gözlenebilme sınırı düşürülmektedir.

2.1.2. Selenyum

Selenyum, 1817 yılında İsveç'teki bitkilerde sülfürik asit yapımında kullanılan kimyasalları inceleyen J.J. Berzelius ve J. G. Gahn tarafından keşfedilmiştir. Selenyum, periyodik tabloda 6A grubu elementidir ve atom numarası 34, atomik kütlesi 78,96, yükseltgenme basamağı -2, +4, +6'dır.

Selenyum insan ve hayvanlar için eser miktarlarda gerekli olan elementtir. Yaşam için temel fonksiyonlarda; metabolik olaylar, antioksidan savunma ve sinir sistemi için oldukça önemli bir bileşendir.

Selenyumun insan sağlığına etkisi kullanım miktarına bağlı olarak değişmektedir. Selenyum inorganik (selanat, selenit gibi) ve organik (selenometiyonin, selenosistein gibi) yapıda bulunur. Selenyumun biyoyararlanımı, vücutta meydana gelen selenyumun emilimine ve metabolizmasına bağlıdır (Thiry ve ark., 2012; Yamashita ve ark., 2011). İnsan metabolizması için alımı önemli olan selenyum, birçok antioksidan enzimin bir parçasıdır ve hidrojen peroksidin toksik olmayan bileşiklere dönüşmesinde önemli rol oynamaktadır (Ohki ve ark., 2015). Farklı ülkelerde günlük tüketilen selenyum miktarları Çizelge 2.4.' de verilmiştir.

Çizelge 2.4. Farklı ülkelerdeki günlük tüketilen selenyum miktarı

Ülke	Selenyum ($\mu\text{g/gün}$)	Referans
Türkiye	30	(Dumont ve ark., 2006)
Yunanistan	39,3	(Pappa ve ark., 2006)
İsviçre	70	(Dumont ve ark., 2006)
İsveç	38	(Dumont ve ark., 2006)
Kore	58	(Choi ve ark., 2009)
Çin (Keshan Bölgesi)	3-11	(Dumont ve ark., 2006)

Yetişkinler için günlük alınması gereken Se miktarı, 55 $\mu\text{g}/60 \text{ kg}$ 'dır (IOM, 2000). Alman, İsviçre ve Avusturya Beslenme Derneği verilerine göre hastalıkla mücadele eden yetişkinler için ise Se derişiminin en az 30-70 μg olması gerektiği belirtilmiştir (Reference Values for Nutrient Intake, 2002). Yetişkinlerin günlük alması gereken en fazla Se miktarı ise 400 μg 'dır (IOM, 2000). Selenyum miktarının toksik ve gereklilik aralığı çok dar ve bu yüzden yiyeceklerdeki toplam selenyum miktarının tayini önemlidir (Rayman, 2000; Mahapatra ve ark., 2001). Gerekli miktardan daha fazla tüketilen selenyum vücutta toksik etkiye sebep olmaktadır. Selenyumun toksik etkisi sonucu kontrolsüz hücre bölünmeleri gerçekleşir. Ayrıca, selenyum gıdalardan alındığı için sindirim sistemine zarar vererek bağırsak kanseri riski de artmaktadır (Klein ve ark., 2003; Banares ve ark., 2002).

2.2. Ağır Metal ve Eser Element Tayini İçin Yapılan Çalışmalar

Mohammed ve ark. 2017 yılında balık kas dokusunda Hg, As, Sb, Cd, Pb ve bazı metallerin tayininde kullanılan asit parçalama yönteminin optimizasyonu için çalışmalar yapmışlardır. Yapılan bu çalışmada klasik açık sistemlerde parçalama işleminde kullanılan reaktifler, süre ve sıcaklık değişkenleri incelenmiştir. 0,5 gram alikot numunelerinin parçalama işleminde sırasıyla 10 mL HNO_3 , 10 mL HNO_3/HCl (3:1) asit karışımı, 10 mL $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}$ (1:1) asit karışımı kullanılmıştır. Bu asit ortamların 60-150°C arasındaki farklı sıcaklıklarda yapılan asit parçalama işleminden sonra numune oda sıcaklığına soğutulup deiyonize su ile 50 mL'ye tamamlanarak metal tayinleri gerçekleştirilmiştir. Cd için alevli AAS ve selenyum için hidrür oluşturmali AAS kullanarak gerçekleştirilen tayinler sonucunda asit parçalama işleminin

HNO₃ ile 100°C’da 120 dakika süreyle yapıldığında daha iyi sonuçlar elde edilmiştir. Dorm-4 NIST standardında Cd için %97, Se için ise %91 geri kazanım elde edilmiştir.

Rennan ve ark. 2008 yılında yaptıkları çalışmada elektrotermal atomik absorpsiyon spektrometresi ile doğrudan katı örnekleme ve bulamaç örnekleme yöntemlerini kullanarak buğday ununda kadmiyum tayini gerçekleştirmişlerdir. Kadmiyum tayini için piroliz sıcaklığı ve süresi 800°C ve 30 saniye ve atomlaşma sıcaklığı 1600°C kullanılmıştır. Kadmiyum tayini için ortam düzenleyici olarak doğrudan katı örnekleme analiz yönteminde 10 µg Pd, 3 µg Mg ve %0,05 (V/V) Triton-X 100 kullanılmıştır. Ayrıca, ortam düzenleyici çözelti karışımının numuneye etkisini sağlamak amacıyla %0,1 H₂O₂ kullanılmıştır. Bulamaç örnekleme yönteminde ise, 30 µg Pd, 12 µg Mg ve %0,05 (V/V) Triton-X 100 kullanılmıştır. Katı örnekleme yönteminde 2 mg numune kullanılırken, bulamaç örnekleme yönteminde duyarlılığı sağlamak için çoklu enjeksiyon gerekli olduğundan 3-5 mg numune kullanılmıştır. Her iki yöntem için de sulu standartlarla kalibrasyon uygun şekilde çizilmiştir. Katı örnekleme yönteminde karakteristik kütle 0,6 pg ve bulamaç örnekleme yönteminde ise 1,0 pg elde edilmiştir. Katı örnekleme ve bulamaç örnekleme yöntemleri için sırasıyla; gözlenebilirlik sınırları (LOD) 0,4 ve 0,7 ng/g, tayin sınırları (LOQ) ise 1,3 ve 2,3 ng/g olarak bulunmuştur. Katı örnekleme yönteminde beş ölçüm (n=5) için bağıl standart sapma %6-16, bulamaç örnekleme yönteminde ise beş ölçüm (n=5) için bağıl standart sapma %9-23 olarak belirlenmiştir. Sonuçlar referans maddelerin analizi ile doğrulanmıştır. Her iki yöntemde buğday unu örneklerinde kadmiyum analizi için uygulanmıştır. Kadmiyum içeriği 8.9±0.5 ng/g ve 13±2 ng/g (n=5) arasında değişmektedir. Doğrudan katı örnekleme yöntemi ve çoklu enjeksiyon yapılan bulamaç örnekleme yöntemleri arasında %95 güven aralığında istatistiksel olarak farklılık gözlenmemiştir. Yine de doğrudan katı örnekleme yöntemi, bulamaç örnekleme yöntemine göre daha hızlı, daha basit olduğu için tercih edilmiştir.

2016 yılında Muller ve arkadaşları, yeşil parçalama metodu için tek reaksiyon hazne sistemi (SRC-UltraWave™) içerisinde sadece oksidan olarak H₂O₂ kullanarak yüksek sıcaklık ve basınçta indüktif eşleşmiş plazma tekniği ile element tayini gerçekleştirmiştir. Önerilen metodun uygulanabilirliği ve avantajını gösterebilmek için süt tozu numunesi tercih edilmiştir. 500 mg miktarındaki örnekler parçalanmış ve eser elementler (B, Ba, Cd, Cu, Mn, Mo, Pb, Sr and Zn) indüktif eşleşmiş plazma kütle spektrometresi (ICP-MS) ile tayin edilirken, Ca, Fe, K, Mg Na elementleri indüktif eşleşmiş plazma optik emisyon spektrometresi (ICP-OES) ile tayin edilmiştir. ICP-OES ve ICP-MS’teki girişimleri en aza indirmek ve parçalama için

918 mg/L derişiminden daha küçük miktarda kalıntı karbon (RC) elde edilmiştir. Doğruluk, NIST-1549 (yağsız süt tozu sertifikalı referans madde) ve NIST-8435 (tüm süt tozu referans malzeme) sertifikalı referans maddeleri kullanılarak belirlenmiştir. Önerilen metodla bulunan sonuçlar, sertifikalı referans maddelerde belirtilen değerler ile uyumludur (t testi, %95 güven aralığında). Ayrıca önerilen metod ve derişik HNO₃ kullanılan klasik yaş parçalamaya yöntemi ile elde edilen sonuçlar arasında önemli bir fark gözlenmemiştir. Parçalamada herhangi bir asit kullanılmamıştır. Önerilen bu yöntemle yapılan deneysel çalışmalar sonucunda süt tozundaki Cd miktarı 0,1 µg/kg değerinden küçük bulunmuştur. Tayin edilen Cd için LOD değerleri ICP-MS ve ICP-OES için sırasıyla 0,05 ve 0,0001 mg/kg olarak bulunmuştur.

Cezar ve arkadaşları 2011 yılında süt tozu ve peynir altı suyu tozu numuneleri için, yardımcı reaktif olarak oksijen kullanarak nitrik asit varlığında gerçekleştirilen mikrodalga destekli parçalamaya yöntemini optimum hale getirmişlerdir. Parçalanma etkinliğinin belirlenmesi için, ICP-OES ve ICP-MS cihazları kullanılarak çözelti içerisindeki karbon içeriği ve Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Pb, Zn metalleri tayin edilmiştir. 7,5 ve 20 atm basınç altında sadece 0,86 mL nitrik asit ile kullanarak 500 mg örneğin parçalanmasının mümkün olduğu gözlenmiştir. Oksijen basıncının olmadığı ortamlarda ise aynı miktardaki örnek için 7 mL asit kullanılmıştır. Sertifikalı referans maddelerdeki metal derişimi tayin edilerek doğruluk değerlendirilmiş ve tüm analitler için %95'ten (t testi, P<0.05) daha iyi bir sonuç elde edilmiştir.

2017 yılında Kasa ve arkadaşları yaptıkları çalışmada kadmiyum ekstraksiyonu için sıvı sıvı mikroekstraksiyon yöntemini geliştirerek hidrür oluşturmali AAS ile Cd tayin etmişlerdir. Bu metod ile analit matriksten temizlenmiş ve daha düşük tayin sınırlarında tespit edilebilmesi için zenginleştirilmiştir. Hidrür oluşturmali sistem yüksek kadmiyum hidrür oluşumu ve atomizasyon için kuvars tüp atomlaştırıcı optimize edilmiştir. Optimum deneysel koşullar altında, kadmiyum için LOD ve LOQ değerleri sırasıyla, 4,2 ng/L ve 14,1 ng/L olarak bulunmuştur. Verimlilik, geleneksel FAAS sistemine göre 10000 kat arttırılmıştır.

2017 yılında Şemen ve arkadaşları, indüktif eşleşmiş plazma kütle spektrometresi (ICP-MS) kullanarak yeşil kahve ve demlenmiş hallerinde 27 elementin (Li, Be, B, Mg, Al, P, K, Ca, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Sr, Mo, Cd, Sn, Sb, Ba, Hg, Pb, Bi, Th, ve U) derişimlerini tayin etmişlerdir. Analizden önce yeşil kahve örnekleri mikrodalga cihazı ile parçalanırken, demlenen yeşil kahvelerde herhangi bir ön işleme ihtiyaç duyulmamıştır. Önerilen

yöntemlerin doğruluğu ve kesinliği geri kazanım ile kontrol edilmiştir. Demleme tipinin elementlerin sızabilirliğine etkisi incelenmiş ve elde edilen sonuçlar Türk kahvesinden elementlerin sızabilirliğinin daha yüksek olduğunu göstermektedir. 0,50 g tartılan yeşil kahve örnekleri üzerine 7 mL HNO_3 (%65, v/v) ve 1 mL H_2O_2 ilave edilerek mikrodalga destekli parçalama sisteminde 4 basamaklı sıcaklık programı uygulanarak asit ile parçalanmaları sağlanmıştır. 1. basamakta 4 dakika süresince doğrusal olarak 90°C 'a çıkması sağlanmıştır. 2. basamakta 2 dakika boyunca 90°C 'ta tutulmuştur, 3. basamakta 4 dakika süresince 180°C 'a doğrusal olarak çıkılmış ve son basamak olan 4. basamakta 180°C 'ta 18 dakika boyunca bekletilmiştir. Soğutulan örnekler ultra saf su ile 10 mL hacmine tamamlanmıştır. ICP-MS ile tayinden önce, hazırlanan örnekler %2'lik HNO_3 çözeltisi ile seyreltildi ve 20 ng/mL derişimindeki iç standart çözeltiler eklendi. Yapılan deneysel çalışmalar sonunda Türk kahvesi numunesinde Se ve Cd miktarlarını sırasıyla 0,055 $\mu\text{g/g}$ ve 0,005 $\mu\text{g/g}$ olarak bulunmuştur. Ayrıca, Se ve Cd için LOD değerleri sırasıyla; 0,066; 0,003 ng/mL ve LOQ değerleri 0,222; 0,009 ng/mL olarak bulunmuştur.

Uluözlü ve ark. 2009 yılında, mikrodalga destekli parçalamadan sonra atomik absorbsiyon spektrometresi ile Türkiye'deki tavuk ve tavuk ürünlerinde eser element derişimlerini tayin etmişlerdir. Standart referans madde (NIST SRM 1577b Bovine liver) analizi ile yöntemin doğruluğu kontrol edilmiştir. Çeşitli tavuk ve tavuk ürünlerinde Cd ve Se içerikleri sırası ile; 0,25 – 6,09 $\mu\text{g/g}$ ve 0,10 – 0,91 $\mu\text{g/g}$ aralığında tayin edilmiştir. Elektrotermal atomik absorbsiyon spektrometresi ile ortam düzenleyici kullanılmadan Cd için 850°C kül etme, 1650°C atomlaşma sıcaklığı, Se için de 1100°C kül etme, 2100°C atomlaşma sıcaklığında Cd ve Se tayinleri gerçekleştirilmiştir. Yumurta sarısında tayin edilen Cd ve Se içeriği sırasıyla $2,97 \pm 0,21 \mu\text{g/kg}$ ve $0,29 \pm 0,01 \mu\text{g/g}$ olarak bulunmuştur.

Ociel Munoz ve arkadaşları, 2017 yılında, toplam arsenik, inorganik arsenik, kadmiyum, cıva, sodyum ve potasyum tüketimini, Şili Valdivia'daki 18-65 yaş arası genel yetişkin nüfusta belirlemeye çalışmışlardır. Ayrıca Valdivia'daki çeşitli gıda gruplarında metal miktarları tayin edilmiştir. Cd tayini için kuru mineralizasyon ve atomik absorbsiyon spektrometresi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Örnek $1 \pm 0,001$ g tartılıp behere koyulduktan sonra 5 mL ultra saf su, 20 mL derişik HNO_3 ve 1 mL %7,4'lük (w/v) MgO tepkime maddeleri eklenerek ısıtıcı üzerine koyulduktan sonra da 5 mL H_2O_2 eklenmiştir. Hazırlanan bu çözelti 12 saat (h) boyunca 425°C 'da kül fırınında beyaz renkli kül elde edene kadar bekletilmiştir. Mineralizasyondan sonra 1 mL ultra saf su ve 1 mL derişik HCL eklenerek

kül çözülmüştür ve %10'luk HCL çözeltisi ile 25 mL'ye seyreltilerek FAAS ile Cd tayin edilmiştir. Cd için LOD değeri 2,0 ng/g ve yumurtadaki Cd miktarı 16,0 ng/g'dır.

Shahbazi ve arkadaşları 2016 yılında, İran'ın beş sanayi bölgesindeki bazı süt ürünlerinde ağır metal miktarını tayin etmişlerdir. Bu numuneler diferansiyel pulslanma anodik ve katodik aşınma voltametri yöntemi ile analiz edilmiştir. Deneysel çalışmalar sonucunda peynir numunesinde Cd ve Se miktarı sırası ile, $1,25 \pm 0,58$ µg/kg ve $1,68 \pm 0,77$ µg/kg bulunmuştur. Bu yöntemle Cd için belirlenen LOD ve LOQ değerleri 0,12 ppb ve 0,3 ppb ayrıca Se için LOD ve LOQ değerleri 0,14 ppb ve 0,4 ppb olarak bulunmuştur.

2011 yılında Gao ve arkadaşları tarafından, Çin'in Suzhou Bölgesi'nde yaşayan insanların günlük Se tüketiminde, Se eksikliğine yönelik hassasiyetlerini belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmadır. Suzhou Bölgesi'ndeki çeşitli gıda örneklerinde toplam Se miktarını Hidrür Oluşturmalı Atomik Floresans Spektrometresi (HG-AFS) kullanarak belirlemişlerdir. 0,5-3,0 g arasında tartılan numuneler koni şeklindeki deney kaplarına koyulup üzerine 10 mL HNO₃ ve HClO₄ (4:1, v/v) asit karışımı ilave edilerek gece boyunca oda sıcaklığında bekletilmiştir. Daha sonra elektrikli ısıtıcıda 100°C'da 1 h, 120°C'da 2 h ve 180°C'da 1 h ısıtılmıştır. Parçalama işleminden sonra 5 mL 12 M HCl eklenip toplam hacim saf su ile 25 mL'ye tamamlanmış ve HG-AFS ile Se tayin edilmiştir. Yapılan deneyler sonucunda, Se için LOD değeri 0,08 µg/kg ve yumurtadaki Se miktarı $151,7 \pm 48,7$ µg/kg olarak bulunmuştur.

2.4. Atomik Absorbsiyon Spektrometresi

2.4.1. Atomik absorbsiyon spektrometresinin tarihi

Spektroskopi elektromanyetik radyasyonla maddenin etkileşmesidir. 1666 yılında ilk defa Newton'un cam bir prizmadan güneş ışığını geçirerek renklerine ayırmasıyla modern spektroskopinin temeli atılmıştır. 1802 yılında Wollaston, Newton'un yaptığı deneyleri tekrarlayarak güneş spektrumunun bazı siyah hat çizgilerini gözlemlenmiştir. Böylece ilk defa atomik absorbsiyon kavramı ortaya çıkmıştır. 1814 yılında ise Joseph Fraunhofer, optik malzemeler ve astronomideki gelişmelerle, güneş spektrumundaki absorbsiyon hatlarını daha detaylı inceleyerek yerlerini bulmuştur (Akman, 1980; Şendil, 1994).

1860 yıllarında R. Bunsen ve Krichhoff, hava gazı-hava alevini yakıt olarak spektroskopta kullanarak bazı tuzların alev rengini gözlemlemiş ve başta sezyum ile rubidyum olmak üzere bazı elementleri keşfetmiştir (Slavin, 1978). Bunsen ve Krichhoff yayınladıkları makalede elementlerin ışık yaydıkları dalga boylarının ve absorbsiyon yaptıkları dalga boylarının aynı olduğunu, ayrıca elementler için absorbsiyonun seçici olduğunu belirtmişlerdir. 21. yüzyıl başlarında, R.W. Wood gazların rezonansı ile atomik absorbsiyonu açıklayan çalışmalar, Woodson tarafından geliştirilen atomik absorbsiyon cihazı ile civa tayini, absorbsiyon yöntemi ile elementlerin kantitatif tayininde yapılan ilk çalışmalardır (Acar, 1996). 1955 yılında, Walsh, Alkemade ve Milatz tarafından yapılan çalışmalar sonucunda, tayin edilen elemente özgü dalga boyunda ışıma yapabilen ışık kaynaklarını bularak atomik absorbsiyon spektrometresi ile günümüzdeki çalışmaların yapılmasını sağlamışlardır (Akman, 1980; Şendil, 1994; Slavin,1978). 1960 yılında ilk ticari atomik absorbsiyon spektrometreleri piyasaya sürülmüştür.

2.4.2. Çalışma prensibi

Atomik absorbsiyon spektrometresi, eser element analizlerinde oldukça yaygın bir şekilde kullanılır. Element atomlarının spesifik dalga boylarındaki absorbsiyonunun ölçümüne dayanır.

Numunedeki analitin atomları alev ya da elektrikle ısıtılır, serbest gaz haline dönüştürülerek atomlaştırılır ve ışık kaynağından gelen karakteristik dalga boyundaki ışını absorplayarak uyarılır. Absorbsiyon miktarı, analit miktarının belirlenmesinde kullanılır (Harris-2007).

2.4.3. Atomik absorpsiyon spektrometresinin temel bileşenleri ve işlevleri

- ✓ Işık kaynakları
- ✓ Atomlaştırıcılar
- ✓ Monokromatör
- ✓ Dedektör

Işık kaynakları

Atomik absorbsiyonun en önemli kısımlarından birisi ışık kaynaklarıdır. Atomlar çok özel dalga boylarında ışığı absorblamaktadır bu yüzden yapılan her analizde incelenen elemente

uygun olarak lamba seçilmektedir. Elemente özgü dar çizgi spektrumunu yayan ışık kaynağı kullanılmalıdır. Lamba ışığı belirli dalga boyunda iletir ve element de bu ışığı absorblar. Lambanın emisyon aralığının analiz edilecek elemente uygun seçilmesi ile farklı bir elementin absorpsiyonu engellenmektedir. Bu durum AAS yönteminin seçici olmasını sağlar (Jaarinen ve Niranen 2005; Elmer, P., 1996).

Lambert Beer Yasası'na göre, lambadan gelen ışın alev ya da grafit fırınına yönlendirilir, yani elektromanyetik radyasyonun absorpsiyonu, absorblanan madde miktarına bağlıdır (Jaarinen ve Niiranen 2005).

Atomlar çok dar frekans aralığında absorblama yaparlar bu yüzden hidrojen, döteryum ya da yüksek basınçlı ksenon gibi sürekli ışık kaynaklarının kullanımı AAS'de çok fazla tercih edilmez. Atomik absorpsiyonda genel olarak kullanılan oyuk katot lambaları ve elektrotsuz boşalım lambalarıdır.

Son yıllarda AAS cihazlarında tüm ultraviole-görünür bölgede (UV-GB) ışın yayan ksenon ark lambalar yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır (Welz ve ark, 2005).

Oyuk katot lambası birçok element için mükemmel, parlak, sürekli ışık kaynağıdır. Bazı uçucu elementlerde düşük yoğunluk ve kısa lamba ömrü sorun oluşturduğu için elektrotsuz boşalım lambaları kullanılmaktadır. Elektrotsuz boşalım lambaları, oyuk katot lambalarından daha yüksek yoğunluğa sahiptirler. Bazı uçucu elementler için daha iyi bir hassasiyet ve daha düşük tayin sınırı sağlarlar (Elmer, 1996).

Oyuk Katot Lambası (OKL)

AAS'de Oyuk katot lambası (OKL) ışık kaynağı olarak yaygın bir şekilde kullanılır. OKL, 1-10 mmHg gibi düşük basınçlarda neon, argon gibi inert gazlarla doldurulmuş silindirik şekle sahip camdır. Katot oyuk silindir şeklinde 1 cm derinlik ve 1 cm çapa sahip, analiz edilecek elementle kaplanmıştır ya da analiz elementinden yapılmıştır. Anot ise tungsten ya da nikelden yapılmış bir teldir.

Spektral girişimlere dikkat edilerek en iyi lamba yoğunluğunu sağlayan argon ya da neon gazlarından birisi oyuk katot lambası için tercih edilmektedir. Argon gazı ile doldurulmuş

oyuk katot lambalarında mavi, neon gazı ile doldurulanlarda ise kırmızı parıltı gözlenmektedir (Elmer, 1996).

Anot ve katot arasında elektrik potansiyeli uygulanır ve dolgu gazındaki atomlar iyon haline getirilir. İyon haline gelen pozitif yüklü atomlar, negatif yüklü katot yüzeyine çarparak metal atomlarını, püskürtme olarak bilinen olaya maruz bırakırlar. Püskürtülen bu metal atomları gaz ile çarpışarak daha fazla emisyon oluşur. Oyuk katot lambalarının uzun süreli kullanımlarında püskürtme işlemi sonucu katot yüzeyinden atomların kopmasına neden olur (Elmer, 1996).

Elektrotsuz Boşalım Lambaları

Oyuk katot lambası birçok elementin analizi için yeterlidir ancak bazı durumlarda tayin kalitesi oyuk katot lambasının sınırlamaları nedeni ile bozulmaktadır. Özellikle daha düşük yoğunluğa sahip uçucu elementlerde elektrotsuz deşarj lambaları kullanılmaktadır. Elektrotsuz boşalım lambaları daha parlak, daha hassas, daha düşük analiz sınırına sahip ve sinyal/gürültü oranı daha yüksektir. Ancak lambanın kararlılığı ve ömrü oyuk katot lambası kadar iyi değildir.

Ksenon Ark Lambalar

Sürekli ışık kaynağı olan ksenon lambalar atomik absorpsiyon spektrometresinde kullanılmaktadır. Xe-ark lambalar 250-700 nm dalga boyunda sürekli ışık kaynağı olarak kullanılmaktadır. Geniş dalga boyu aralığında emisyon yapması sayesinde birçok elementin tayininde tek bir lamba olarak kullanılabilir. Böylelikle oyuk katot lambası ve elektrotsuz boşalım lambalarında her element için farklı lamba kullanımı ortadan kalkmıştır. Xe-ark ışık kaynaklarının kullanıldığı bu cihazlara, yüksek çözünürlüklü sürekli ışık kaynaklı atomik absorpsiyon spektrometresi (HR-CSAAS) denilmektedir. (Welz ve ark, 2005).

Atomlaştırıcılar

AAS'de analitin, alev, plazma ya da elektrotermal ısıtıcı fırın kullanılarak atomlaştırıldığı kısımdır. Alev daha eski bir teknik olsa da indüktif eşleşmiş plazma ve grafit fırın daha yaygın olarak kullanılmaktadır. (Harris, 2007).

Alevli Atomlaştırıcılar

Günümüzde asetilen-hava ve azot oksit-asetilen atomlaştırmada kullanılan iki farklı yakıt-oksitleyici karışımdır. Alev sıcaklığı 2300°C olan hava-asetilen gaz karışımı ile yaklaşık olarak 35 elementin tayini mümkündür. 2900°C sıcaklığa sahip olan azot oksit-asetilen gaz karışımı ile Al_2O_3 , CaO, MgO gibi oksit oluşturan elementlerin tayini mümkündür. Ayrıca düşük sıcaklıklarda olan kimyasal etkileşim gibi girişimlerin engellenmesi için de kullanılabilir (Elmer, 1996). Alevli AAS de kullanılan yakıt, yükseltgenler ve alev sıcaklıkları Çizelge 2.5.' da verilmiştir.

Çizelge 2.5. AAS'de kullanılan yakıtlar, yükseltgenler ve alev sıcaklıkları

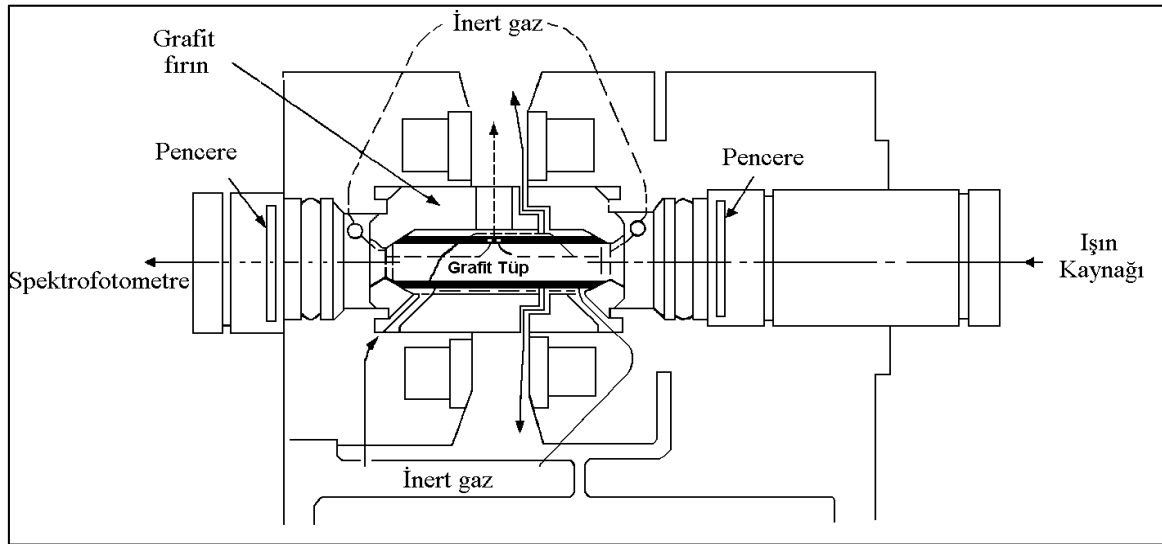
Yakıt	Yükseltgen	Alev Sıcaklığı, (°C)
Doğal gaz	Hava	1700-1900
Doğal gaz	Oksijen	2700-2800
Hidrojen	Hava	2000-2100
Hidrojen	Oksijen	2550-2700
Asetilen	Hava	2100-2400
Asetilen	Oksijen	3050-3150
Asetilen	Nitröz oksit	2600-2800

Yakıt-oksitleyici kombinasyonu ile analit karıştırılır sonra aleve gönderilir, numune aerosol haline gelir. Aleve ulaşan damlacıklar buharlaşarak atomlarına ayrılırlar. Ölçülen element, numunenin, oksitleyicinin ve yakıtın akış hızına bağlı olarak maksimum atomlaşma sağlanır (Harris-2007).

Alevli atomlaştırmaların ön-karıştırmalı alev başlıklarında numunenin küçük bir kısmının aleve taşınması, ön-karıştırmalı alev başlıklarında ise atomlaşmanın tam gerçekleşmemesi ve atomların alev içindeki ışın yolunda kalma sürelerinin çok kısa olması alevli atomlaştırmaların dezavantajlarıdır. Bu dezavantajlarından dolayı 1970'li yıllarda elektrotermal atomlaştırmalar kullanılmaya başlanmıştır (Erdogan, 2012).

Elektrotermal Atomlaştırıcılar

Atomik absorpsiyon spektrometresinde, elektrotermal atomlaştırıcı olarak genellikle grafit tüp kullanılmaktadır. Grafit tüpler genellikle 0,5-0,7 cm genişliğinde ve 2,0-2,5 cm uzunluğuna sahip grafitten yapılmış tüplerdir. Grafit tüp elektrik ile ısıtılır, su ile soğutulur. Grafit tüp altından gelen asal gaz (argon ya da neon) akışı ile tüp soğutulur ve grafit tüpün hava oksijeni ile teması kesilerek yanması önlenir. Ayrıca, inert gaz tüp içinden geçirilerek enjekte edilen çözeltinin dağılmasını önlediği gibi tüp içinde oluşan gazları da enjekte deliğinden dışarı atar. Yüksek sıcaklıklarda ve asitli ortamda tüpün hızlı korozyonunu önlemek için tüpün yüzeyi prolize tabakayla kaplanmıştır (Acar, 1996).



Şekil 2.2. Grafit fırınlı atomlaştırıcının şematik gösterimi (Erdogan, 2012)

Monokromatörler

AAS'de fotoçoğaltıcılara ulaşan ışık enerjisinin miktarı, zemin gürültüsünü belirlemede önemli bir faktördür. Işık yoğunluğu hat genişlemesini engellerken, mümkün olduğunca parlak olacak şekilde optimize edilmiştir. Tipik bir monokromatörde dalga boyu dağılımı, ızgara yardımıyla, birden fazla paralel çizgiyle birbirine yakın yansıtıcı yüzeyde oluşturulur. Kaynaktan gelen ışık, giriş yarığındaki monokromatöre uğrar ve dağılımın gerçekleştiği ızgaraya gönderilir. Izgara açısı ayarlanarak kaynaktan istenilen emisyon hattı çıkış yarığına gönderilir ve dedektöre ulaşır. Izgara yüzeyi Al, Au, Ag gibi metallerle kaplanarak ışığın

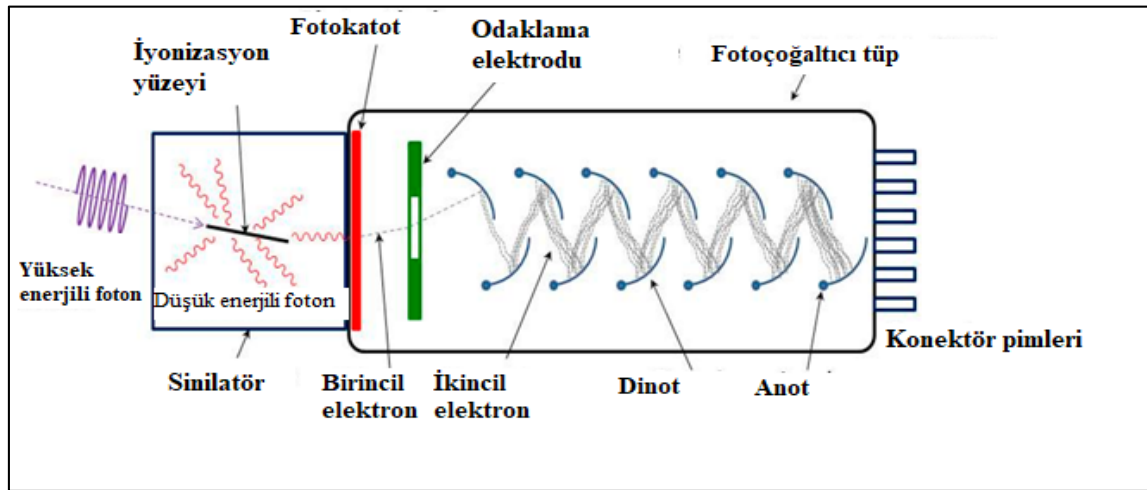
yansıtılması sağlanmaktadır. Izgara yüzeyi yivlerden meydana gelmektedir ve her bir yiv ışık kaynağı gibi davranmaktadır.

Elektrotermal atomik absorpsiyon spektrometresinde ışık kaynağı olarak elemente özgü tek dalga boylu ışık sağlayan oyuk katot lambası kullanılmasına rağmen yine de dalga boyu seçici, monokromatör bulunmaktadır. Bunun sebebi atomlaştırıcı ortamında meydana gelen farklı dalga boylarındaki ışımların girişimini önlemektir.

Dedektörler

Dedektörler ışık sinyalinin elektrik sinyaline ya da diğer bir ısı rezistan gibi fiziksel boyuta dönüştürülmesi için kullanılırlar. İdeal bir dedektörün geniş bir dalga boyu aralığında sabit ve orantılı cevap vermesi beklenir. Ayrıca ışık şiddetindeki küçük değişiklikleri hissedebilecek duyarlılığa sahip olmalıdır.

Atomik absorpsiyon spektrometresinde dedektör sistemi olarak fotoçoğaltıcı tüpler kullanılır. Fotoçoğaltıcı tüplerin çalışma prensibi fotoelektrik olaya dayanmaktadır.



Şekil 2.3. Fotoçoğaltıcı tüplerin şematik gösterimi (Tau ve ark. 2016)

Fotoçoğaltıcılar, fotokatot, dinot ve anottan oluşan vakum fotoselidir. Fotoçoğaltıcıların spektral bölgesi, katot üzerinde ışığa duyarlı tabaka ve ışığı geçiren materyal cinsine bağlıdır. Yaygın olarak Cs-Sb katotları kullanılır. Dedektörden alınan sinyal, numune içeriğindeki tayin elementinin absorpsiyonu ya da derişimi olarak okunur. Monokromatörden gelen fotonun fotokatot yüzeyine çarpması ile bir elektron koparılır ve birinci emisyon katotuna gider,

gerilimle orantılı kinetik enerji ile dinot üzerine çarpması ile ikincil elektron çıkar. Hızlandırılan bu ikincil elektron ikinci emisyon katoduna çarparak çok sayıda elektron çıkartırlar. Bu olay süresince çok sayıda elektron anota ulaşır böylelikle devreden akım okunabilir. Devreden geçen akım ve okunan ışık şiddeti birbiri ile orantılıdır (Acar, 1996).

2.5. Atomik Absorpsiyon Spektrometresinde Girişimler

Analizde numune sinyalinin gerçek değerinden farklı olmasına neden olan etkilerin tamamı girişim olarak bilinir. AAS' nin temel amacı numune çözeltisinin sinyali ile standart çözeltisinin sinyalinin karşılaştırılmasıdır (Lajunen ve ark. 2004). Bu yüzden analiz ortamında giderilmeyen girişimler deney sonuçlarında hataya sebep olurlar.

2.5.1. Kimyasal girişimler

Alev ya da numune çözeltisinden kaynaklanan girişim türleri kimyasal girişim olarak bilinir. Bu tür girişimlere neden olan iki durum söz konusudur. İlk durumda tayin edilecek elementin moleküler halde iyonlaşmasıdır, analiz sırasında atomik absorpsiyon spektrometresi ile temel halde atomların absorbanı ölçülmesi istenmektedir. Bir diğer durum ise tayin elementinin ortamda bulunan moleküller ve radikaller ile tepkimeye girerek ortamdan uzaklaşmasıdır. Böylece analit elementi farklı termokimyasal özelliklere sahip bileşenler oluşturarak kimyasal girişimlere sebep olurlar (Acar 1996; Lajunen ve ark. 2004).

Numuneye lantan ya da stronsiyum gibi özel elementleri içeren çözeltiler eklenerek kimyasal girişimler azaltılabilir. Bu çözelti, analit tamamen atomize edildiğinde, girişime sebep olan maddelerle tepkimeye girerek analitin reaksiyona girmesini önler. Bu çözeltiler serbest bırakıcı ajan olarak görev yaparlar. Ayrıca eğer mümkünse analizde daha yüksek alev sıcaklığı ve yakıt bakımından zengin alev kullanımı kimyasal girişimleri azaltır (Harris,2007). Bu uygulamalar dışında numune ve standart çözeltilerin ortamları birbirine benzetilmesi; ekstraksiyon, adsorpsiyon gibi ön işlemlerle tayin edilecek elementten girişim yapan türlerin uzaklaştırılması ve standart ekleme yöntemleri ile kimyasal girişimleri önlemek mümkündür (Acar,1996).

2.5.2. Matriks girişimi

Alev atomizasyon sürecinde girişimden etkilenilen, karşılaşılan ilk yer nebülizördür. Numunenin, standarttan daha yoğun olması ya da daha farklı yüzey gerilimi özelliklerine sahip olmasıyla matriks girişimi ortaya çıkmaktadır. Matriks girişimi sonucunda ışık demetindeki atom sayıları ve buna bağlı olarak absorbansları arasında bir bağlantı olmadığı görülür. Aleve ya da grafit fırına ulaşan atom sayısı farklı numune ve örnek için farklı olacağından absorbans sinyalleri de farklı olur. Matriks girişimi giderilmediği sürece sonuçlarda hataya neden olur. Bu girişimi önlemek için standart matriks bileşenleri, numunenin bileşenlerine benzetilmelidir veya tam tersi olmalı ya da standart ekleme yöntemi kullanılmalıdır (Erdogan, 2012).

2.5.3. İyonlaşma girişimi

İyon girişimleri, alev sıcaklığı atomdan bir elektron koparabilecek enerjiye sahip olduğunda meydana gelir, iyon oluşur. Temel seviyedeki atomların sayısı azaldığı için atomik absorbsiyon azalır. İyonlaşma girişimleri, blank, standart ve örneklere daha kolay iyonlaşan elementlerin aşırısının eklenmesiyle önlenabilir (Elmer, 1996).



Ortama daha kolay iyonlaşan elementin aşırısının eklenmesi ile Le Chatelier prensibine göre tepkime ortamda fazla miktarda bulunan M^+ iyonlarını azaltmak için sola yönelir böylelikle temel halde bulunan atomların sayısındaki azalma önlenabilir.

2.5.4. Fiziksel girişimler

Atomik absorbsiyon ölçülürken, çözeltinin viskozite, sıcaklık, buhar basıncı gibi özelliklerinde değişiklik olması sonucu fiziksel girişimler meydana gelir. Numune çok az miktarda, tuz, asit ya da organik bileşik içeriyorsa fiziksel özellikleri değişir. Bu durumda numune benzeri standartlar ya da standart ekleme yöntemi kullanılarak fiziksel girişimler önlenabilir (Lajunen ve ark.,2004).

2.5.5. Spektral girişimler

Spektral girişimler, numune sinyalinin örnekteki diğer elementlerin ya da moleküllerinin sinyallerinin çakışması sonucu ortaya çıkar (Harris,2007). Girişime neden olan element ortamdan uzaklaştırılarak ya da hassasiyet azalsa da analiz elementinin farklı bir dalga boyu kullanılarak spektral girişim önlenir (Acar, 1996). Yüksek kararlılığa sahip diatomik oksit oluşturan elementlerin analizinde, sıcaklık bu elementleri atomlaştıracak kadar yüksek olmadığı için, alev ya da grafit fırın kullanılmaz (Harris,2007). Bu yüzden spektral girişimler, atomik absorpsiyon analizlerinde çok nadir gözlenir (Lajunen ve ark. 2004).

2.5.6. Zemin girişimi

Alev içerisindeki parçacıkların ışık saçması ya da alevdeki matrikste ayrıışmanın moleküllerin ışığı absorblaması sonucunda oluşan zemin girişimi atomik absorpsiyon spektrometresi cihazlarında karşılaşılan önemli sorunlardan birisidir. Standart ekleme yöntemi ile giderilemeyen bu girişimin önlenmesi için elektrotermal ve alevli atomik absorpsiyon spektrometre cihazları için farklı yöntemler geliştirilmiştir. Temel olarak zemin girişiminin neden olduğu absorpsiyon sinyalinin ölçülmesi ile numunenin absorpsiyon sinyali belirlenebilmektedir. Işık kaynağından gelen ışın analiz edilecek element haricinde radikaller ve ayrıışmayan moleküller tarafından absorblanabilir ya da ışın saçılabilir. Absorblama yapan diğer türlerin fazla olması analiz edilecek elementin absorpsiyonunun daha yüksek olmasına sebep olmaktadır. Girişim yapan türlerin derişiminin yüksek olması ile bu durum daha net bir şekilde gözlenmektedir. Kül etme basamağı optimizasyonu ile girişim oluşturan türlerin buharlaştırılması ve zemin girişiminde azalma olmaktadır. Ancak tayin elementinin buharlaşma sıcaklığı bu türlerden çok farklı olmadığı durumlarda ise kül etme basamağı optimizasyonu yeterli olmamaktadır (Acar,1996).

Zemin girişimini önlemek amacıyla geliştirilen yöntemler;

Döteryum lamba zemin düzeltme yöntemi

Zeeman zemin düzeltme yöntemi

Çift hat zemin düzeltme yöntemidir.

Döteryum Lambası Zemin Düzeltme Yöntemi

Oyuk katot lambasına ek olarak genellikle döteryum lamba gibi sürekli ışık kaynağının kullanıldığı zemin düzeltme yöntemidir. Sürekli ışık kaynakları oyuk katot lambası gibi özel bir dalga boyunda değil, daha geniş dalga boyu 190-400 nm aralığında emisyon yapmaktadırlar.

Oyuk katot lambasından gelen ışın hem numune hem de zemin tarafından absorblanırken, döteryum lambadan gelen ışın sadece zemin tarafından absorplanır. Absorbans değerleri arasındaki fark ile sadece numune tarafından gerçekleştirilen absorbansı ölçmek mümkündür.

Zeeman zemin düzeltme yöntemi

Bu yöntemde ışık kaynağı ya da atomlaştırmacıya manyetik alan uygulanmaktadır. Uygulanan bu manyetik alan sayesinde ışık kaynağının emisyon hattı ya da atomların absorbsiyon hattı yarılarak bileşenlerine ayrılmaktadır ve tek bir elektronik geçiş için daha fazla emisyon-absorbsiyon hattı gözlenmektedir (Skoog ve ark., 2007; Fernandez ve Giddings, 1980). Zeeman etkisinde manyetik alan uygulanması sonucunda singlet enerji seviyeleri arasında spektral hatlar üçlü ya da üçlü katları şeklinde Π ve σ bileşenlerine ayrılmaktadır. Zeeman zemin düzeltmesinde Π ve σ bileşenlerinin farklı düzlemlere polarize olmaları kullanılmaktadır.

Işık kaynağına manyetik alan uygulanması sonucunda Π ve σ bileşenlerine ayrılan spektral hat atomlaştırmacıya ulaşır ve Π bileşeni atom ve molekülleri, σ bileşeni ise sadece molekülleri absorplar. Bu iki sonuç arasındaki fark sadece atomlar tarafından gerçekleştirilen absorbansa aittir.

Çift Hat Yöntemi

İki adet oyuk katot lambası kullanılarak zemin girişiminin giderildiği yöntemdir. Bu yöntemde analiz elementinin absorbsiyon dalga boyunda ve analiz elementinin absorbsiyon dalga boyuna yakın bir dalga boyuna sahip lamba kullanılmaktadır. Bu ışık kaynaklarından birisi numune ile zemin girişiminin absorbansını diğeri ise sadece zemin girişiminin absorbansını vermektedir. Yine aradaki fark tayin elementinin absorbansını vermektedir (Acar, 1996).

2.6. Elektrotermal Atomik Absorbsiyon Spektrometresinde Atomlaştırıcı Sıcaklık Programı

Atomlaşma verimini artırmak için sıcaklık programı optimizasyonu çok önemlidir. Sıcaklık programı 4 basamaktan oluşmaktadır;

Kurutma

Kül etme (Piroliz)

Atomlaştırma

Temizleme

2.6.1. Kurutma

Kurutma basamağı, çözeltide su varlığında 10-100 saniye süre ve 100-150°C sıcaklıkları arasında gerçekleştirilmektedir. Kurutma basamağı sayesinde numune tamamen kurutulur. Yeterince kurumayan numuneler kül etme ve atomlaşma basamağına ulaştığında sıçrama yaparak homojen bir dağılım sağlayamaz. Bu yüzden tekrarlanabilirlik ve doğrulukta hataya sebep olmaktadır. Bu hataların oluşumunu önlemek için kurutma basamağı optimizasyonu yapılmalıdır.

2.6.2. Kül etme (piroliz)

Kül etme (piroliz) basamağı, 10-100 saniye süre ve 300-1700°C sıcaklıkları arasında gerçekleştirilir. Kül etme basamakları sayesinde matriks girişimi yok edilerek atomlaşma basamağı için temiz bir ortam sağlanmaktadır.

2.6.3. Atomlaştırma

Atomlaştırma basamağı, tayin edilecek elementin cinsine göre 3-10 saniye süre ve 1200-3000°C sıcaklıkları arasında gerçekleştirilir. Argon gazının akışı atomlaştırma süresince durdurulmaktadır. Bu sayede analitin grafit tüp içerisinde daha uzun süre kalması sağlanmaktadır.

2.6.4. Temizleme

Temizleme basamağı argon gazı varlığında 3-10 saniye ve 2500-3000 °C sıcaklıkları arasında gerçekleştirilir. Bu sayede grafit tüp içerisinde atomlaşma sonrasında oluşabilecek safsızlıklar giderilerek sonraki analizlerde oluşabilecek girişimler önlenir.

2.7. Elektrotermal Atomik Absorbsiyon Spektrometresinde Kantitatif Analiz

2.7.1. Kalibrasyon grafiği yöntemi

Lambert-Beer Yasası'na göre derişim ve absorbans teorik olarak doğru orantılı değişmektedir. Lambert-Beer Yasası'nın bu özelliğinden yararlanılarak çizilen kalibrasyon grafiği ile absorbansı bilinen numunenin derişimi bulunabilmektedir. Tayin elementinin saf tuzundan ya da metalinden hazırlanan ve matriksi örneğe benzetilen genellikle 1000 ppm derişiminde olan standart stok çözeltilerin seyreltilmesi ile hazırlanarak derişimlerine karşı ölçülen absorbans değerleri grafiğe geçirilir. Elde edilen bu kalibrasyon grafiği ile numunenin ölçülen absorbansları yardımıyla numunenin derişimi hesaplanmaktadır.

2.7.2. Standart ekleme yöntemi

Tayin elementinin derişiminin tayin sınırına çok yakın ve matriksin karışık olduğu, ortamda bulunan diğer türlerin girişime neden olduğu, standart çözelti ve numune ortamlarının birbirine benzetilemediği durumlarda özellikle standart ekleme yöntemi tercih edilmektedir.

Üç veya daha fazla kısımlarda eşit miktarda alınan numune üzerine artan derişimlerde standart çözelti eklenir ve tüm çözeltiler çözücü ile eşit hacme tamamlanır. Derişime karşı ölçülen absorbans değerleri ile grafik oluşturulur. Grafikte elde edilen doğrunun ekstrapolasyonu ile yatay ekseni kesen nokta numune içeriğindeki tayin elementinin derişimidir.

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR VE SONUÇLAR

3.1. Cihaz ve Malzemeler

3.1.1. Atomik absorpsiyon spektrometresi

Cd ve Se tayinleri için Varian (Australia) Spectra AA240Z Zeeman zemin düzeltmeli GFAAS kullanılmıştır. Işın kaynağı olarak Varian marka Se elektrotsuz boşalım lambası ve Cd oyuk katot lambası kullanılmıştır. Kullanılan grafit tüpler prolitik kaplıdır. Atomlaştırıcıya Zeeman manyetik alan uygulanmaktadır. Tayin elementleri için deneysel parametreler Çizelge 3.1.'de verilmiştir. Kalibrasyon standart çözeltileri ve örnek çözeltileri 20 µL'lik otomatik numune alıcısı Varian SPD-20 ile grafit tüplere enjeksiyon yapılmıştır.

Çizelge 3.1. Tayin elementleri için deneysel parametreler

Element	Dalga boyu (nm)	Slit aralığı (nm)	Lamba Akımı (mA)
Kadmiyum	228,8	0,5	4,0
Selenyum	196,2	1,0	10

3.1.2. Mikrodalga destekli parçalama cihazı

Numuneleri çözmek için Milestone SRL marka ileri mikrodalga destekli parçalama cihazı kullanılmıştır.

3.1.3. Genel laboratuvar cam malzemeleri

Deneyde kullanılan tüm cam malzemeler safsızlıkların giderilmesi için %1'lik HNO₃ (v/v) çözeltisinde gece boyu bekletilip, deiyonize su ile temizlenmiş ve kurutulduktan sonra kullanılmıştır.

Reaktifler, çözeltiler ve kimyasal maddeler

Deneyleerde kullanılan çözeltiler, analitik saflıkta metal tuzlarından, ultra saf su (18,3 MΩ.cm) kullanılarak %1'lik HNO₃ (v/v) içeren çözeltileri hazırlanmıştır.

Kadmiyum Stok Çözeltisi, 1000 mg/L

1000 mg/L Cd AAS standart stok çözeltisi (Merck) kullanılmıştır. Bu çözeltiden seyreltme ile 100 µg/L ve 10 µg/L derişimindeki standart çalışma çözeltileri hazırlanmış ve son seyreltme çözeltisinde %1 lik HNO₃ (v/v) çözeltisi kullanılmıştır.

Selenyum stok çözeltisi, 1000 mg/L

1000 mg/L lik AAS Se stok çözeltisi (Merck) kullanılmıştır. Bu çözeltiden seyreltme ile 100 µg/L ve 10 µg/L derişimindeki standart çalışma çözeltileri bu çözeltinin seyreltilmesiyle %1 HNO₃ (v/v) içerisinde hazırlanmıştır.

Nitrik asit çözeltisi, %1'lik HNO₃ (v/v)

Yoğunluğu 1,40 g/mL olan %65'lik (m/m) nitrik asit çözeltisinden (Merck) 5 mL alınarak su ile toplam hacim 500 mL'ye tamamlandı.

Ortam düzenleyici olarak nikel çözeltisi, 4000 mg/L

Ni(NO₃)₂. 2H₂O (Merck) katısından 0,1 mg hassasiyetle 1,57 g tartılarak %1'lik HNO₃ (v/v) çözeltisinde çözülerek 100 mL'ye tamamlanmıştır. Bu çözeltiden %1'lik HNO₃ (v/v) çözeltisi kullanılarak gerekli seyreltmeler yapılmıştır.

Ortam düzenleyici olarak platin çözeltisi, 800 mg/L

1000 mg/L Pt stok çözeltisi (Merck) kullanılmıştır. Bu çözeltiden %1'lik HNO₃ (v/v) çözeltisi kullanılarak 800 mg/L'lik Pt çözeltisi hazırlanmıştır.

Ortam düzenleyici olarak nikel ve platin karışımının hazırlanması, 1000 µg/mL Ni ve 200 µg/mL Pt

1000 µg/mL Ni çözeltisi, 4000 µg/mL Ni stok çözeltisinin %1'lik HNO₃ (v/v) ile dört kat seyreltilmesi ile hazırlanmıştır. Bazı durumlarda sekiz kat seyreltme de yapılmıştır.

200 µg/mL Pt çözeltisi, 800µg/mL Pt stok çözeltisinin %1'lik HNO₃ (v/v) ile dört kat seyreltilmesi ile hazırlanmıştır. Bazı durumlarda sekiz kat seyreltme de yapılmıştır.

4000 µg/mL Ni stok çözeltisi ve 800 µg/mL derişiminde hazırlanan Pt çözeltisi dört kat seyreltilerek 1000 µg/mL Ni ve 200 µg/mL Pt içeren ortam düzenleyici karışımları hazırlanmıştır

Kalibrasyon çözeltilerinde ve numune çözeltilerinde ortam düzenleyici derişimleri 200 µg/mL Pt, 1000 µg/mL Ni ve 200 µg/mL Pt + 1000 µg/mL Ni olacak şekilde hazırlanmışlardır. Çözeltilerin grafit tüpe enjeksiyonlarında 20 µL'lik hacim kullanıldığı için grafit tüpte ortam düzenleyici miktarları 4 µg Pt, 20 µg Ni, 4 µg Pt + 20 µg Ni olacak şekilde hazırlanmıştır (Acar, 1996).

3.2. Numunelerin Hazırlanması

Yöntemin doğruluğu, kadmiyum için Skim Milk Powder-BCR 105 standart referans madde ve selenyum için Whey Powder-IAEA-155 sertifikalı referans maddeler kullanılarak araştırılmıştır. 0,900-1,000 g standart referans madde 0,1 mg hassasiyetle tartılıp üzerine 6 mL HNO₃ ve 2 mL H₂O₂ asit karışımı eklenerek teflon kaplarda gece boyunca laboratuvarında bekletilmiştir. Sonra mikrodalga destekli parçalama cihazında çözümleri sağlanmıştır.

Ankara'da yerel marketlerden alınan yumurta, peynir ve süt tozu numuneleri 0,9000-1,000 g 0,1 mg hassasiyetle tartılmıştır. Ayrıca, yine yerel marketlerden alınan polen, kekik, nane, yeşil fasulye, dolmalık biber ve Türk kahvesi numuneleri 0,25- 0,30 g 0,1 mg hassasiyetle tartılıp üzerine 6 mL HNO₃ ve 2 mL H₂O₂ asit karışımı eklenerek teflon kaplarda laboratuvarında 1 gece boyunca bekletilmiştir. Sonra mikrodalga destekli parçalama cihazında çözümleri sağlanmıştır.

Hem numuneler hem de sertifikalı referans maddelerin çözülmesi için aynı sıcaklık programı uygulanmıştır. Örneklerin çözülmesi için mikrodalga destekli parçalama cihazında uygulanan sıcaklık programı Çizelge 3.2.'de verilmiştir. Numuneler ve sertifikalı referans maddeler çözüldükten sonra deiyonize su ile 10 mL'ye tamamlanarak tayinleri yapılmıştır.

Çizelge 3.2. Numuneler ve sertifikalı referans maddeler için mikrodalga destekli parçalama sisteminde sıcaklık programı

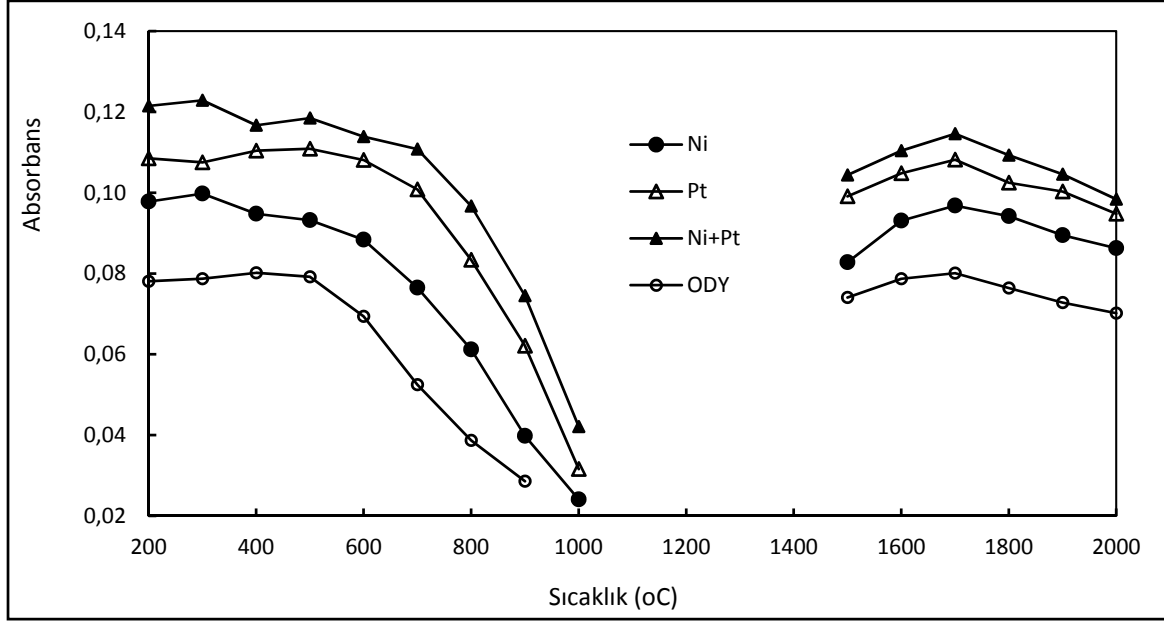
	Süre (min)	Sıcaklık (°C)	Güç(W)
1	10	0-180	1200
2	15	180	1200

3.3. Kadmiyum ve Selenyum Tayinleri İçin Yapılan Deneysel Çalışmalar

3.3.1. Kadmiyum ve selenyum tayinlerinde kullanılan ortam düzenleyicilerin termal kararlılıklarının incelenmesi ve sıcaklık programı optimizasyonu

Çözülen örneklerde Cd doğrudan kalibrasyon yöntemi ile tayin edilmiştir. Numunelerde yüksek zemin sinyali, düşük Se sinyali görüldüğünden kalibrasyon yöntemi yerine, standart ekleme yöntemi ile Se tayin edilmiştir (numuneler 1/ 2 oranında seyreltilmiştir). Cd ve Se elementlerinin uçuculukları azaltılıp termal kararlılıklarını sağlayarak numune ortamlarında oluşabilecek girişimleri önlemek amacıyla 2 mL’lik örnek kaplarına sırasıyla 0,5 mL 4000 µg/mL Ni, 0,5 mL 800 µg/mL Pt ve 0,5 mL 4000 µg/mL Ni + 0,5 mL 800 µg/mL Pt ortam düzenleyici karışımı ilave edilmiştir. Numune çözeltilerinden 1 mL ilave edilerek son hacim 2 mL’ye tamamlanmıştır. Tekli ve karışık ortam düzenleyicilerin varlığında veya ortam düzenleyici yokluğunda (ODY) Cd ve Se elementlerinin kül etme ve atomlaşma sıcaklıkları araştırılmıştır.

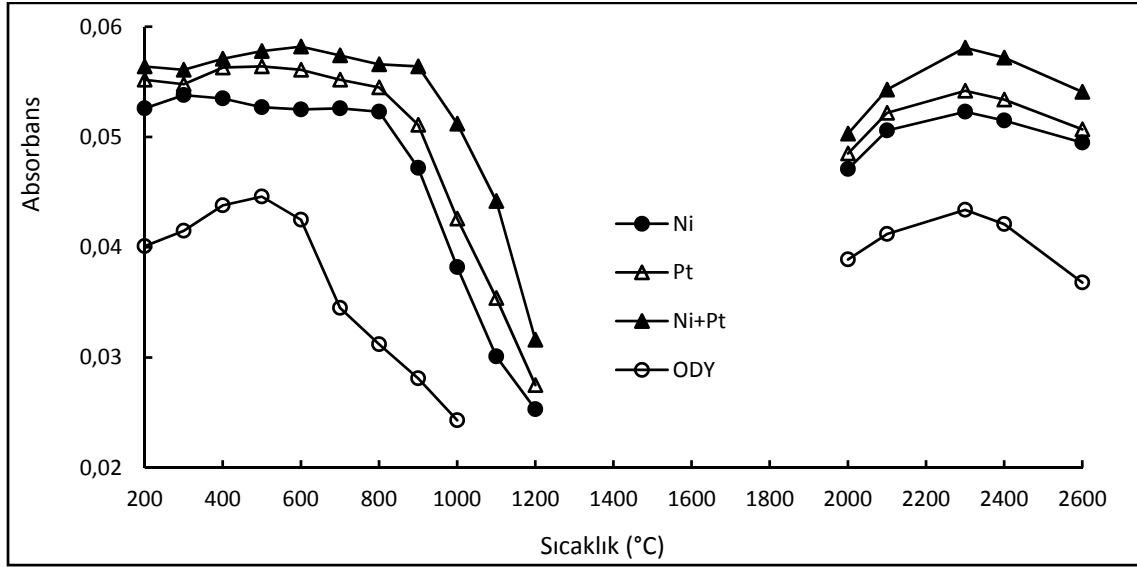
Daha önce çözülen süt tozu (Milk powder-BCR-105) standart referans çözeltisi kullanılarak, ortam düzenleyici yokluğunda (ODY), Ni, Pt ortam düzenleyicileri ve Ni + Pt ortam düzenleyicileri karışımı varlığında (numune: ortam düzenleyici (1:1) oranında karıştırılarak) Cd’ un kül etme ve atomlaşma sıcaklıkları çalışılmış ve Şekil 3.1.’ de verilmiştir.



Şekil 3.1. Ortam düzenleyici yokluğunda (ODY), Ni, Pt ve Ni+Pt ortam düzenleyicileri varlığında Milk powder BCR-105 numune çözeltisinde Cd için kül etme ve atomlaşma sıcaklığı (1700°C) çalışmaları

Şekil 3.1. incelendiğinde, Milk Powder BCR-105 çözeltisindeki Cd' un kül etme sıcaklığı; ortam düzenleyici yokluğunda yaklaşık 500°C, Ni varlığında 600°C, Pt ve Ni + Pt karışımı varlığında ise yaklaşık 700°C dir. Milk Powder BCR-105 çözeltisindeki Cd' un atomlaşma sıcaklığı da, ortam düzenleyici yokluğunda veya ortam düzenleyici varlığında yaklaşık 1700°C dir. 2000°C'da absorbans sinyali hem düşmüş hem de pikte omuzlanma gözlenmiştir.

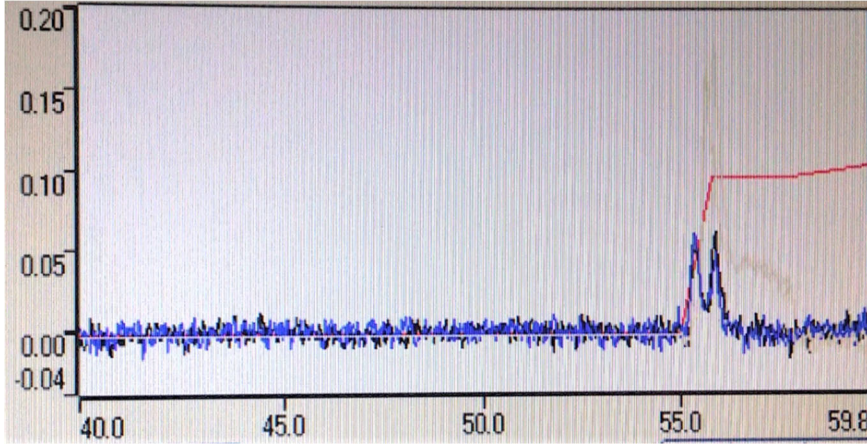
Selenyum tayini için termal kararlılık çalışmalarında, Se üzerine ortam düzenleyici etkileri çalışılmıştır. Ortam düzenleyici yokluğunda (ODY), aynı şekilde 2 mL'lik örnek kaplarına sırasıyla 0,5 mL 4000 µg/mL Ni, 0,5 mL 800 µg/mL Pt ve 0,5 mL 4000 µg/mL Ni + 0,5 mL 800 µg/mL Pt ortam düzenleyici karışımı ilave edilmiştir. Marketten alınarak çözülen yumurta numunesinden her kaba 1 mL konmuştur. Numune kaplarının son hacmi 2 mL'ye tamamlanmıştır. Ortam düzenleyiciler kullanılarak Ankara ilinden alınan ve çözülen yumurta numunesinde Se için kül etme-piroliz ve atomlaşma sıcaklığı değişimleri çalışılmış ve çalışmalar Şekil 3.2.' de gösterilmiştir.



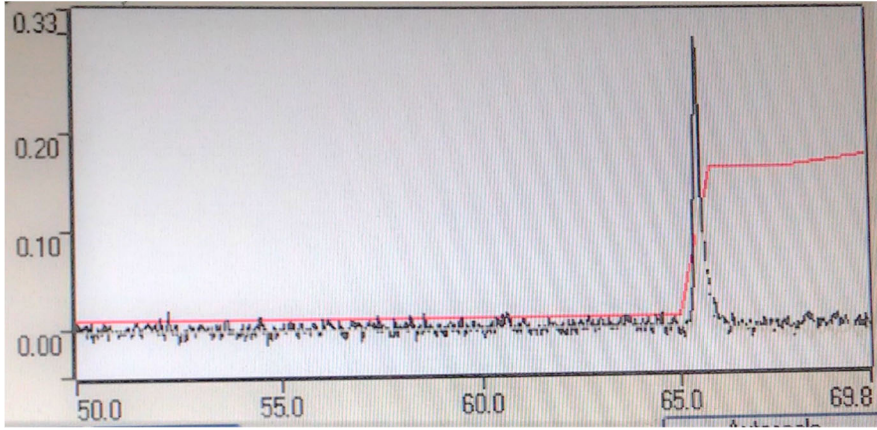
Şekil 3.2. Ortam düzenleyici yokluğunda (ODY), Ni, Pt ve Ni+Pt ortam düzenleyicileri varlığında yumurta çözeltisinde Se için kül etme ve atomlaşma sıcaklığı (2300°C) çalışmaları

Şekil 3.2. incelendiğinde, yumurta çözeltisindeki Se' un kül etme sıcaklığı; ortam düzenleyici yokluğunda yaklaşık 500°C, Ni ve Pt varlığında 800°C ve Ni + Pt varlığında ise yaklaşık 900°C dir. Yumurta çözeltisindeki Se' un atomlaşma sıcaklığı da, ortam düzenleyici yokluğunda veya ortam düzenleyici varlığında yaklaşık 2300°C dir.

Ortam düzenleyici yokluğunda ve Pt ve Ni + Pt ortam düzenleyici karışımı varlığında, Milk Powder BCR-105 çözeltisinde Cd için elde edilen atomlaşma profilleri örnek olarak Şekil 3.3. ve Şekil 3.4.' de verilmiştir. Şekil 3.3. ve Şekil 3.4.'de atomlaşma profilleri karşılaştırıldığında, Ni + Pt ortam düzenleyici karışımı varlığında Cd' un atomlaşma profili daha geç zamanda oluşmuş, daha düzgün ve dik bir pik elde edilmiştir. Atomlaşma profilinin geç zamanda oluşması da termal kararlılığı artırmaktadır.

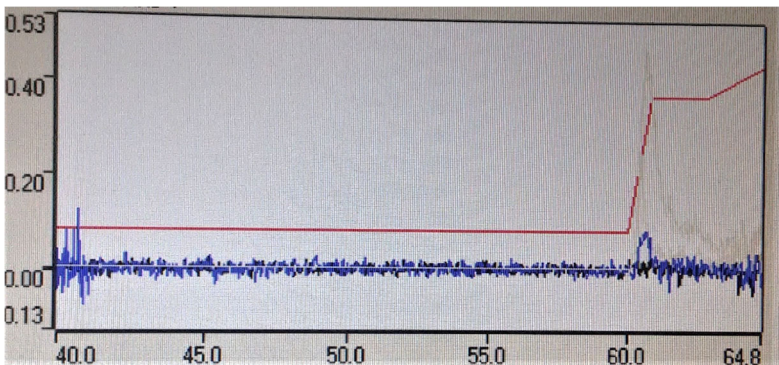


Şekil 3.3. Ortam düzenleyici yokluğunda, Milk Powder BCR-105 çözeltisindeki Cd absorbens sinyali

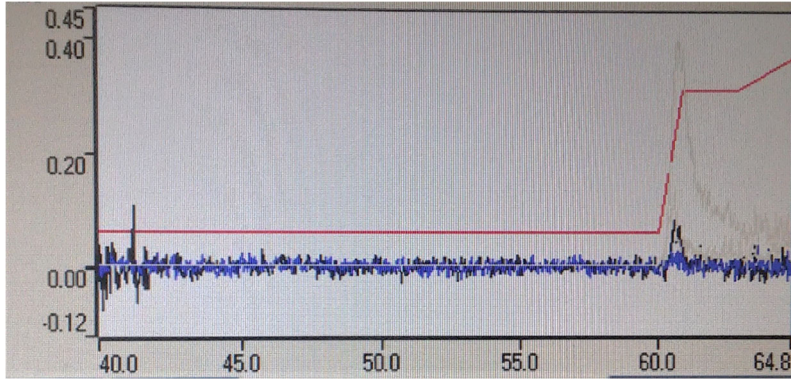


Şekil 3.4. Ni + Pt ortam düzenleyici varlığında Milk Powder BCR-105 çözeltisindeki Cd absorbens sinyali

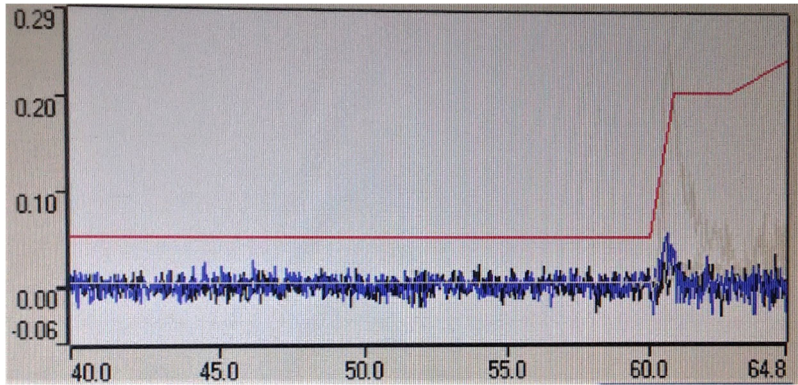
Yumurta çözeltisinde Se tayininde, seyreltme yapılmadan, iki ve dört kat seyreltme yapıldığında, ortam düzenleyici yokluğunda ve Ni + Pt ortam düzenleyici karışımı varlığında, Se' un atomlaşma profilleri elde edilmiş ve Şekil 3.5.-Şekil 3.9.' da gösterilmiştir.



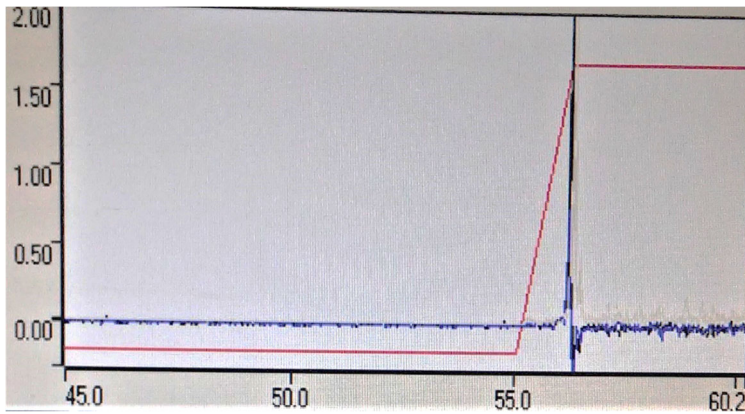
Şekil 3.5. Seyreltme yapılmadan yumurta çözeltisinde zemin ve Se absorbens sinyalleri



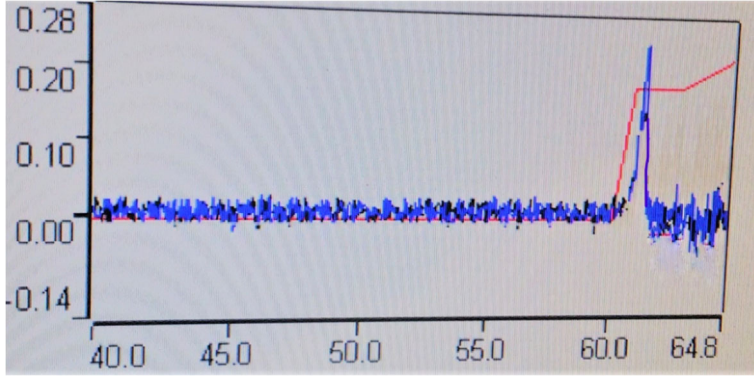
Şekil 3.6. İki kat seyreltilen yumurta çözeltisinde zemin ve Se absorbans sinyalleri



Şekil 3.7. Dört kat seyreltilen yumurta çözeltisinde zemin ve Se absorbans sinyalleri



Şekil 3.8. Sekiz kat seyreltilen yumurta çözeltisinde, ortam düzenleyici kullanılmadan zemin ve Se absorbans sinyali



Şekil 3.9. İki kat seyreltilen yumurta çözeltisinde Ni + Pt karışımı ortam düzenleyici karışımı varlığında zemin ve Se absorbans sinyali

Şekil 3.5. - Şekil 3.9. incelendiğinde, seyreltme yapıldığında zemin sinyalinin düştüğü ancak sekiz kat seyreltildiğinde ise atomlaşma profili belirgin değildir. Yumurta çözeltisi iki kat seyreltildiğinde ve ortam düzenleyici yok iken zemin değeri yüksek görünmektedir. Ancak, yumurta çözeltisi iki kat seyreltildiğinde ve Ni + Pt ortam düzenleyici karışımı varlığında da aynı zemin değeri görünmektedir (Şekil 3.9.). 1000°C kül etme sıcaklığında ve 1000 mg/L Ni + 200 mg/L Pt ortam düzenleyici karışımı varlığında, oluşan Se atomlaşma sinyali daha geç zamanda oluşmuş, daha düzgün ve daha yüksek absorbans sinyali elde edilmiştir. Zemin sinyali de daha düzgün, sinyal/gürültü oranı daha yüksektir. Atomlaşma sinyalinin geç zamanda oluşması da termal kararlılığı artırmaktadır.

Milk Powder BCR-105 çözeltisinde Cd ve yumurta çözeltisinde Se için termal kararlılık çalışmalarında, Ortam düzenleyici yokluğunda ve Ni + Pt ortam düzenleyici karışımı varlığında, elde edilen kül etme ve atomlaşma sıcaklıkları kullanılarak her iki element için kül etme süreleri de araştırılmıştır. Elementlerin kül etme süreleri ile ilgili çalışma örnek olarak Şekil 3.10.' da gösterilmiştir.



Şekil 3.10. Ni+ Pt ortam düzenleyici karışımı varlığında süt tozu (Milk Powder BCR-105) çözeltisinde Cd ve yumurta çözeltisinde Se için sıcaklık programı kül etme süresi optimizasyonu.

Şekil 3.10 incelendiğinde, Ni+ Pt ortam düzenleyici karışımı varlığında süt tozu çözeltisinde Cd toplamda 25 s kül etme süresinde absorbans en yüksek değerde ayrıca zemin girişimi çok az bulunmuştur. Sürenin kısa olması analiz için daha avantajlı olacağından kül etme basamağında 5 s artış ve 20 s tutulma süresi tercih edildi. Benzer şekilde, toplamda 25 saniye boyunca, 1000°C kül etme sıcaklığında ve 1000°C atomlaşma sıcaklığında, 1000 mg/L Ni + 200 mg/L Pt ortam düzenleyici karışımı varlığında yumurta çözeltisinde Se için absorbans sinyali daha yüksek bulunmuştur.

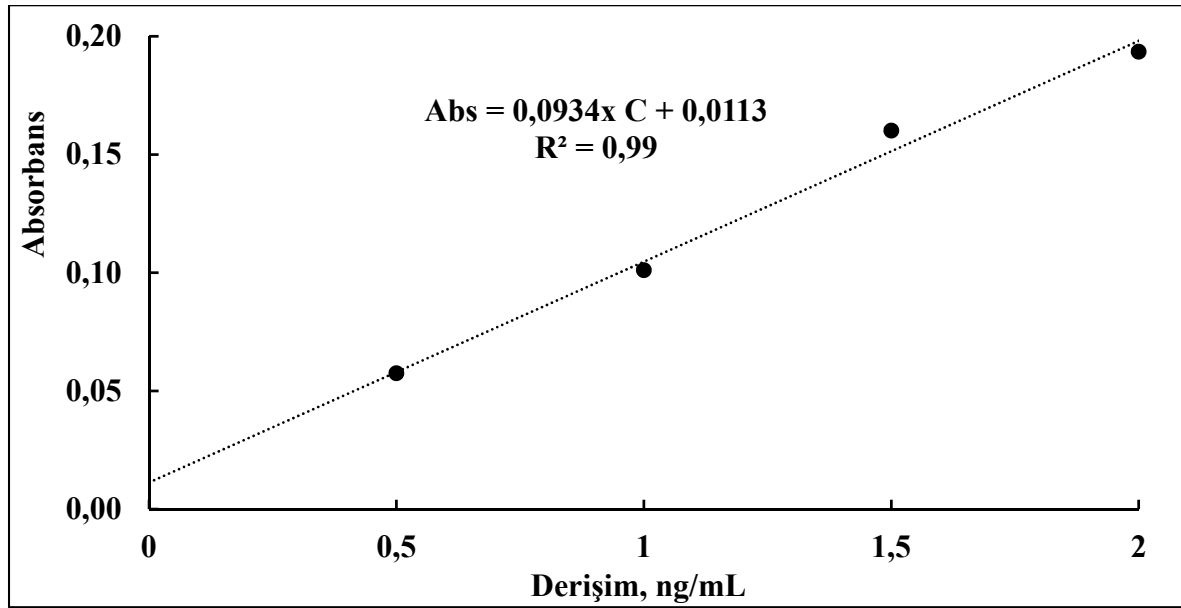
Yukarıda elde edilen sonuçlara bağlı olarak, çeşitli numune çözeltilerinde tekli ve karışık ortam düzenleyicilerin varlığında Cd ve Se için elde edilen optimum sıcaklık programı Çizelge 3.3.' de verilmiştir. Örneklerdeki Cd ve Se analizlerinde Çizelge 3.3.' de verilen grafit fırın sıcaklık programı kullanılmıştır.

Çizelge 3.3. Ni + Pt varlığında Cd ve Se için grafit fırın sıcaklık programı optimizasyonu

Basamak	Sıcaklık (°C)		Süre (s)		Gaz Akışı (mL min ⁻¹)
	Cd	Se	Artış	Tutulma	
Kurutma	50	50	5	5	0,3
	120	120	20	10	0,3
Kül etme	500	1000	5	20	0,3
Atomlaşma	1700	2300	1	2	0
Temizleme	2200	2400	-	3	0,3

Standart Referans Madde (SRM) ve Gıda Numunelerinde Cd Tayini

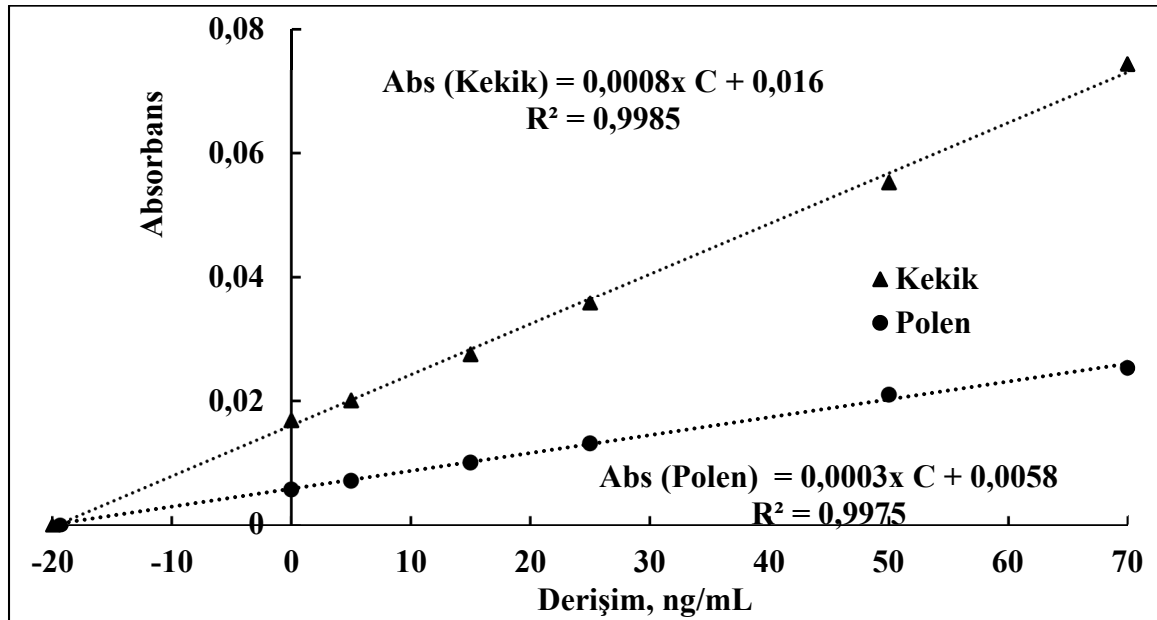
1000 mg/L lik AAS Cd standart çözeltisi kullanılarak hazırlanan 0,5, 1,0, 1,5 ve 2,0 ng/mL derişimlerde Cd sulu standartların GFAAS ile absorbsansları ölçülerek kalibrasyon grafiğı oluşturuldu. Örnek olarak Cd standartları ile oluşturulan kalibrasyon grafiğı Şekil 3.11.'de gösterilmiştir. Sertifikalı standart referans maddeler (Milk Powder -BCR 105, Whey Powder -IAEA-155) ve yerel marketlerden alınarak çözölen çeşitli gıda örneklerinde Cd içeriğı kalibrasyon grafiğı kullanılarak tayin edilmiştir. Çalışmalarda, optimize edilen sıcaklık programı (Çizelge 3.3.) kullanılmıştır.



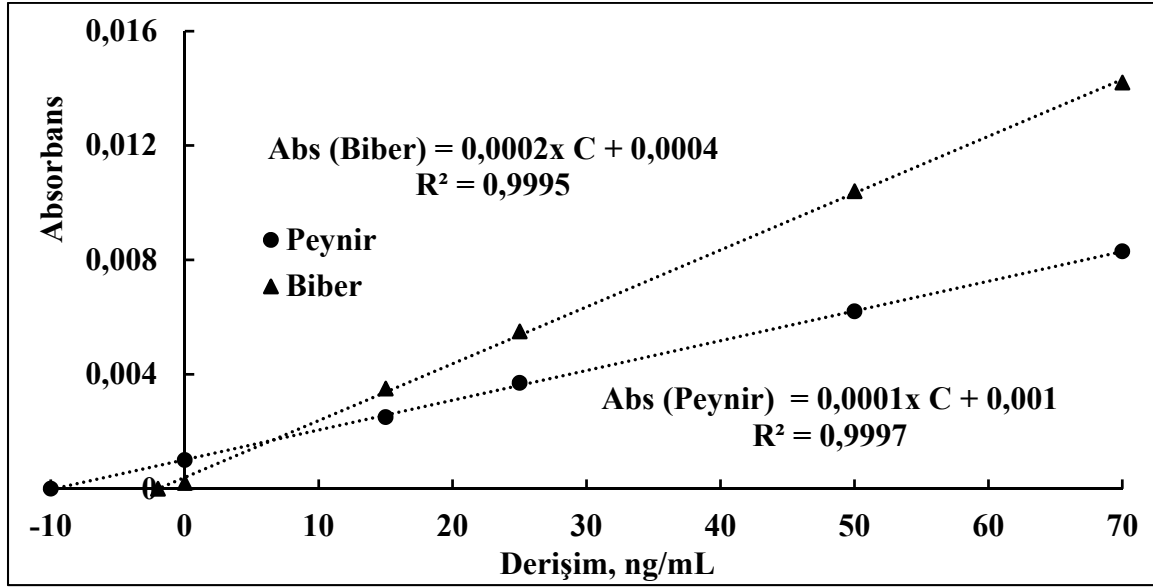
Şekil 3.11. Cd standart çözöltileri ile elde edilen kalibrasyon grafiğı

Standart Referans Madde ve Gıda Numunelerinde Se Tayini

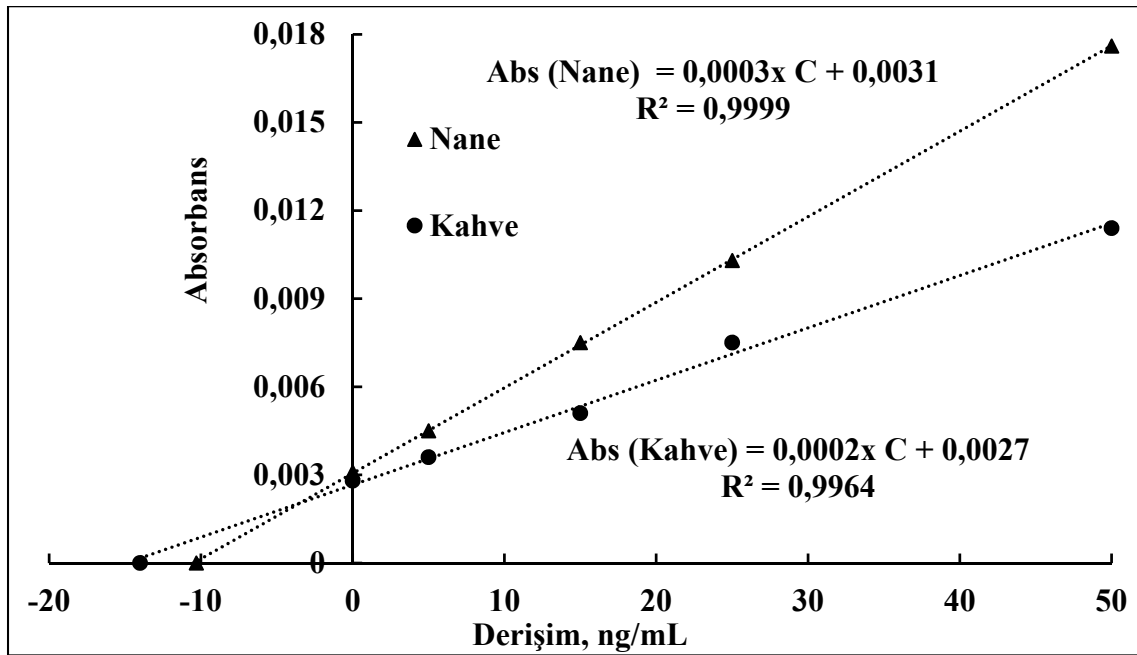
Çözülen gıda numunelerinde selenyum miktarı düşük ve zemin absorpsiyon sinyali büyük olduğu için optimize edilen koşullarda Se tayini standart ekleme yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Numune çözeltileri iki kat oranında seyreltilerek hazırlandı (1 mL numune çözeltisi + 0,5 mL 4000 µg/mL Ni + 800 µg/mL Pt Ortam düzenleyici karışımı + 0,5 mL standart çözelti şeklinde). Bazı gıda çözeltileri ve standart referans madde (SRM, Whey Powder -IAEA-155) çözeltisi için elde edilen standart ekleme grafikleri Şekil 3.12. – Şekil 3.15.' de verilmiştir.



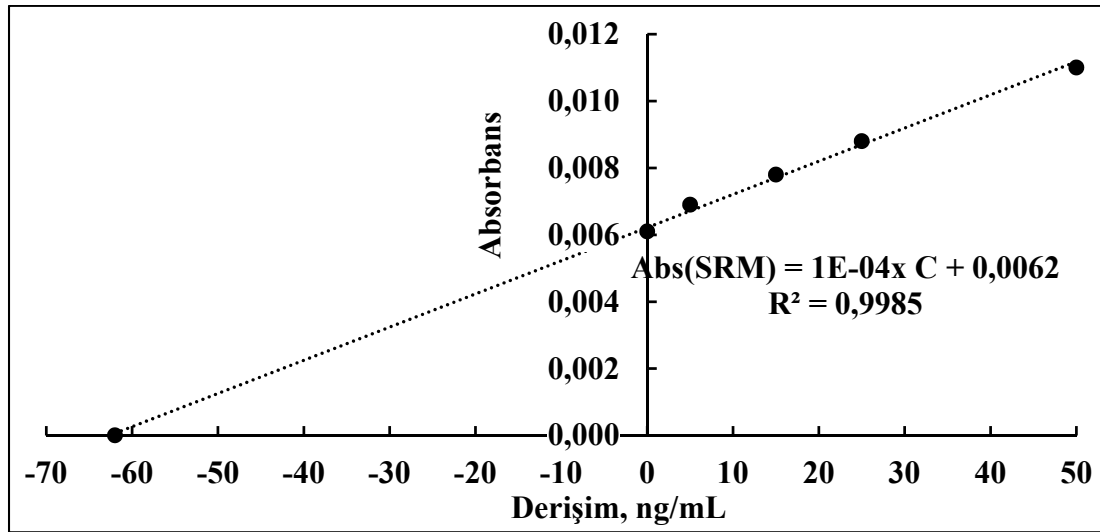
Şekil 3.12. Kekik ve Polen numunelerinde standart ekleme yöntemi ile Se tayini



Şekil 3.13. Biber ve Peynir numunelerinde standart ekleme yöntemi ile Se tayini.



Şekil 3.14. Nane ve kahve numunelerinde standart ekleme yöntemi ile Se tayini



Şekil 3.15. Whey Powder -IAEA-155 numunesinde standart ekleme yöntemi ile Se tayini

Standart referans maddeler ve gıda numunelerinde Cd ve Se miktarları

Standart referans maddeleri (Milk Powder -BCR 105 ve Whey Powder -IAEA-155) ve gıda numuneleri çözeltilerinde Cd ve Se absorbansları ölçülmüştür. Kalibrasyon yöntemi ile bulunan Cd derişimleri ve standart ekleme yöntemi ile bulunan Se derişimleri seyreltme faktörleri ile çarpılmış ve örnek miktarına bölünerek derişimleri bulunmuştur. Kalibrasyon yöntemi ile Cd seviyeleri ve standart ekleme yöntemi ile Se seviyeleri için örnek çözeltileri beş defa ölçülmüş ve ortalamaları bulunmuştur. Standart referans maddeler için % 95 güven seviyesinde 5 ölçümün ortalaması ve güven aralığı sonuçları Çizelge 3.4.'de verilmiştir. Çizelge 3.4. incelendiğinde standart referans maddeler için bulunan sonuçların sertifika değerleri ile uyumlu olduğu gözlenmiştir. Numuneler için % 95 güven seviyesinde 5 ölçümün ortalaması ve güven aralığı sonuçları Çizelge 3.5.'de verilmiştir.

Çizelge 3.4. ETAAS ile Skim Milk Powder-BCR 105 standart referans maddede Cd ve Se, Whey Powder-IAEA-155 standart referans maddede Se tayinleri

Element	Skim Milk Powder-BCR 105			Whey Powder-IAEA-155		
	Sertifika Değeri (ng/g)	Bulunan Değer* (ng/g)	% Bağlı Hata	Sertifika Değeri (ng/g)	Bulunan Değer* (ng/g)	% Bağlı Hata
Cd	21,8 ± 1,4	22,0 ± 1,8	0,92	16 ± 4	17 ± 3	6,3
Se	-	-		64 ± 13	66 ± 8	3,1

* Sonuçlar, % 95 güven seviyesinde 5 ölçümün ortalamasıdır, $\bar{x} \pm t_{\alpha/2} \cdot \sqrt{s^2/N}$.

Çizelge 3.5. Bazı gıda numunelerinde bulunan Se ve Cd miktarları

Numune	Cd (ng/g)*	Se (ng/g)*
Polen	89,50 ± 3,00	10400 ± 400
Kekik	92,20 ± 4,10	5500 ± 300
Nane	76,80 ± 4,30	2790 ± 120
Biber	15,30 ± 0,50	1930 ± 60
Yeşil Fasulye	11,90 ± 0,40	16700 ± 600
Türk Kahvesi	33,60 ± 1,50	9620 ± 410
Süt Tozu	11,80 ± 0,40	520 ± 20
Yumurta	56,00 ± 2,10	6930 ± 260
Beyaz Peynir	40,60 ± 1,70	790 ± 30

* Sonuçlar, % 95 güven seviyesinde 5 ölçümün ortalamasıdır, $\bar{x} \pm t_{xs} / \sqrt{N}$.

Gıda numunelerinde bulunan Cd ve Se sonuçlar, Çizelge 3.6. ve Çizelge 3.7.' de verilen literatür değerleri ile karşılaştırılmıştır. Numunelerde bulunan sonuçların büyük oranı literatür değerlerinden yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu farklar bitkilerin yetiştirildiği ortama ve gıda numunelerinin hazırlanış şekline bağlı olabilir.

Çizelge 3.6. Türk kahvesi, süt tozu ve beyaz peynir numunelerinde Cd ve Se derişimleri

Numune	Cd (ng/g)	Se (ng/g)	Referans
Türk kahvesi	5,00	55,00	(Semen ve ark., 2017)
Süt tozu	0,10	73,00	(Muller, ve ark 2016 (Cd),) Piston ve ark., 2009, (Se))
Beyaz Peynir	1,25 ± 0,58	1680,00 ± 0,77	(Shahbazi, 2016)

Çizelge 3.7. Farklı ülkelerde yumurta numunelerinde Cd ve Se derişimleri

Ülke	Cd (ng/g)	Referans	Se (ng/g)	Referans
Türkiye	2,97	(Uluozlu ve ark., 2009)	29,00 ± 0,01	(Uluozlu ve ark., 2009)
Çin	2,32	(Zheng ve ark., 2007)	151700,00 ± 48,70	(Gao ve ark. 2011)
Avustralya	0,05	(Grace ve MacFarlane, 2016)	190000,00-414000,00	(McNaughton ve Marks, 2002)
Kanada	0,22	(Tsipoura ve ark., 2011)		
İngiltere	7,59	(Robio ve ark., 2005)		
Şili	16,00	(Munoz ve ark., 2017)		
Fransa			70000,00	(Noel ve ark., 2012)
Rusya			261000,00 ± 7,00	(Golubkina, ve Papazyan, 2006)
Brezilya			310,00 ± 0,07	(Ieggli ve ark., 2009)

3.4. Gözlenebilme (LOD) ve Tayin (LOQ) Sınırları

Örneklerin çözünmeleri esnasında tanık çözeltisi de (Deiyonize su + 6 mL HNO₃ + 2 mL H₂O₂ çözeltisi) aynı şartlarda Milestone SRL cihazında hazırlanmıştır. Numune çözeltiğinde Cd ve Se absorbanslarının ölçümü esnasında tanık çözeltinin 10 defa absorbans sinyalleri okunmuştur. Ölçülen absorbansların standart sapmalarının üç katı (3s_b) bulunmuştur. Kadmiyum için gözlenebilme sınırı (LOD) (3s_b/m) kalibrasyon grafiği yardımı ile hesaplanmıştır.

Cd tayini için kalibrasyon grafiği denklemi $A = 0,0934 \times C + 0,011$ ($R^2 = 0,9922$) olarak elde edilmiştir. Denklemden;

A: Absorbans

C: Derişim (µg/L)

m: Kalibrasyon doğrusunun eğimidir.

Tayin sınırı da (LOQ) benzer şekilde tanık çözeltisinin ölçülen absorbans sinyallerinin standart sapmasının on katı olarak $10 s_b/m$ bağıntısı ile hesaplanmıştır.

Selenyum için de benzer şekilde, en düşük Se absorbans sinyali görülebilen numune çözeltisinin 10 defa absorbans sinyalleri standart ekleme metodu ile okunmuştur. Aynı bağıntılar kullanılarak Se içinde gözlenebilme sınırı (LOD) ve tayin sınırı (LOQ) değerleri hesaplanmıştır. Ni + Pt ortam düzenleyici karışımı varlığında ETAAS ile Se ve Cd için tayin edilen gözlenebilme ve tayin sınırları Çizelge 3.8.' da verilmiştir.

Çizelge 3.8. Ni + Pt ortam düzenleyici karışımı varlığında ETAAS ile Se ve Cd için gözlenebilme ve tayin sınırları

Parametre	Cd	Se
LOD ($\mu\text{g/L}$)	0,34	0,59
LOQ ($\mu\text{g/L}$)	1,13	1,76

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, bazı gıda numunelerinde toksik etkisi olan Cd ve az miktarda alındığında gerekli fakat yüksek miktarda alındığında toksik etki yaratan Se elementleri grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektrometresi (GF-AAS) ile analiz edilmiştir. Bu elementlerin gıda numunelerinde seviyeleri eser miktarlarda olduğu için, zemin ve diğer elementlerin girişimleri fazla olabildiği için ve kolay uçucu oldukları için tayinleri oldukça zordur. Ancak, günlük hayatta tüketilen gıda örneklerinde Cd ve Se gibi elementlerin miktarlarını bilmek ve bilime kazandırmak açısından çok önemlidir.

Çalışmada, Cd ve Se elementlerinin kolay uçucu olmaları ve numune ortamında zemin değerlerinin yüksek olmasından dolayı, elementlerin termal kararlılıklarını artırmak ve zemin girişimlerini azaltmak için gerçek örnek çözeltilerinde Ni, Pt, Ni + Pt karışımı ortam düzenleyici (matriks değiştirici) kullanılarak optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Cd için süt tozu standart referans maddesi (Milk powder BCR-105) çözeltisi ve Se için Ankara da marketten alınan yumurta numunesi (sarı ve beyaz karışık) çözeltisi kullanılmıştır. Örnek çözeltilerde ortam düzenleyici yokluğunda (ODY), Ni, Pt ve Ni + Pt karışımı varlığında tayin elementlerinin kül etme sıcaklıkları ve atomlaşma sıcaklıkları araştırılmıştır (Şekil 3.1., Şekil 3.2.). Tayin elementlerinin bulunan optimum kül etme ve atomlaşma sıcaklıklarında atomlaşma profilleri (absorbans sinyali/ zemin sinyali) elde edilmiştir. Cd elementi için Pt veya Ni + Pt ortam düzenleyici karışımı varlığında absorbans/gürültü oranının ODY bulunan absorbans/gürültü oranından yüksek olduğu bulunmuştur. Ayrıca, Ni + Pt ortam düzenleyici karışımı varlığında Cd un atomlaşma profili, ODY bulunan atomlaşma profilinden daha sonraki zamanda oluşmuştur. Se elementi içinde Ni + Pt ortam düzenleyici karışımı varlığında Cd a benzer sonuçlar görülmüştür. Ni + Pt ortam düzenleyici karışımı varlığında, örnek çözeltisinde absorbans/gürültü oranı ODY bulunan absorbans/gürültü oranından daha yüksek ve atomlaşma profili daha sonraki zamanda oluşmuştur. Tayin elementlerinin Ni + Pt ortam düzenleyici karışımı varlığında termal kararlılıklarının arttığı, zemin girişimlerinin de azaldığı gözlenmiştir. Ni + Pt ortam düzenleyici karışımı varlığında, tayin elementleri için bulunan optimum kül etme ve atomlaşma sıcaklıklarında kül etme süreleri de çalışılmış ve her iki element için toplam kül etme süresinin 25 s yeterli olduğu bulunmuştur. Bulunan optimum şartlarda tayin elementleri için grafit fırın sıcaklık programı belirlenmiş, Ni + Pt ortam düzenleyici karışımı varlığında standart referans maddeler ve gerçek örneklerde Cd ve Se analizleri yapılmıştır.

Örnekler, Milestone SRL marka ileri mikrodalga destekli parçalama cihazı kullanılarak çözölmüş ve 10 mL hacimlere tamamlanmışlardır. Ni + Pt ortam düzenleyici karışımı varlığında standart referans maddeler ve gerçek örneklerde Cd kalibrasyon yöntemi ile analiz edilmiştir. Numune ortamında zemin girişimi yüksek olduğu gözlemlendiği için gerekli seyreltme yapılmış, ancak absorbans /gürültü sinyali oranı düştüğü için örneklerde Se tayini standart ekleme yöntemi ile tayin edilmiştir. Yöntemin doğruluğu için standart referans maddelerde (SRM) (Skim Milk Powder-BCR 105 ve Whey Powder-IAEA-155) Cd ve Se tayinleri yapılmış ve bulunan sonuçların SRM sertifika değerleri ile uyumlu olduğu gözlenmiştir (Çizelge 3.4). Örneklerde bulunan tayin elementleri derişimleri de Çizelge 3.5.' de verilmiştir. Bulunan tayin elementleri derişimleri, daha önce çalışılan bazı gıda örnekleri derişimleri (Çizelge 3.6. ve Çizelge 3.7.) ile karşılaştırılmış ve bazı gıda örneklerinde yüksek sonuçlar bulunmuştur. Buda gıda örneğinin yetiştiği ortama ve hazırlanış şekline göre değişebileceğini göstermektedir.

Çalışmada hazırlanan tanık çözeltiler de Ni + Pt ortam düzenleyici karışımı varlığında, Cd ve Se elementleri için oldukça küçük gözlenebilme sınırı (LOD) ve tayin sınırı (LOQ) değerleri bulunmuştur (Çizelge 3.8).

Örneklerde bulunan element seviyelerinin, benzer gıdalarda çalışacak bilim adamları ve gıdalarda elementlerin toksik seviyeleri belirleme açısından önemli olacağı inancındayız.

KAYNAKLAR

- Acar, O. (1996). *Bizmut, İndiyum, Kurşun ve Antimonun Elektrotermal Atomik Absorpsiyon Spektrometresi İle Tayinlerde Uygun Ortam Düzenleyici Madde Sisteminin Araştırılması*, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Akman, S. (1980). *Atomik Absorpsiyon Spektroskopisinde Grafit Fırında (HGA-74) Atomlaşma Mekanizmasının İncelenmesi*, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Beytepe, Ankara.
- Banares, F. F., Cabre' E., Esteve, M., Mingorance, M.D., Lacruz, A. A., Lachica M., Gil, A. and Gassull, M.A. (2002). Serum selenium and risk of large size colorectal adenomas in a geographical area with a low selenium status. *American Journal of Gastroenterology*, 97, 2103-2108.
- Bizzi C.A., Barin J.S., Garcia E.E., Nobrega J.A., Dressler V.L. and Flores E.M.M. (2011). Improvement of microwave-assisted digestion of milk powder with diluted nitric acid using oxygen as auxiliary reagent. *Spectrochimica Acta Part B*, 66, 394-398.
- Bogdanov, S., Jurendic, T., Sieber R. and Gallmann, P. (2008). Honey for nutrition and health: a review. *American Journal of the College of Nutrition*, 27, 677-689.
- Bonn, German Nutrition Society, Austrian Nutrition Society, Swiss Society for Nutrition, Reference Values for Nutrient Intake, 215, (2002).
- Choi, Y., Kim, J., Lee, H., Kim, C., Hwang, I. K. and Park, H. K. (2009). Selenium content in representative Korean foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22, 117–122.
- Dumont E., Vanhaecke F. and Cornelis R. (2006). Selenium speciation from food source to metabolites: A critical review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 385, 1304–1323.
- Erdogan H. (2012). *Arsenik ve Selenyumun Katı Faz Özütleme Yöntemiyle Zenginleştirilmesi, Türlemesi ve Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi İle Tayini*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Fernandez, F. J. and Giddings, R. (1982). Elimination of spektral interferences in GFAAS. *Spectrochimica Acta*, 42B, 937-949.
- Gao, J., Liu, Y., Huang, Y., Lin, Z., Banuelos, G. S., Wah Lam, M. H. and Yin, X. (2011). Daily selenium intake in a moderate selenium deficiency area of Suzhou, China. *Food Chemistry*, 126(3), 1088-1093.
- Golubkina, N.A. and Papazyan, T.T. (2006). Selenium distribution in eggs of avian species. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 145(3-4), 384-388.
- Grace, E. J. and MacFarlane, G. R. (2016). Assessment of the bioaccumulation of metals to chicken eggs from residential backyards. *Science of The Total Environment*, 563–564, 256-260.

- Harris D. C. (2007). *Quantitative Chemical Analysis*, 7th Edition, New York: W.H. Freeman and Company.
- Ieggli, C. V. S., Bohrer, D., Noremberg, S., do Nascimento, P.C., de Carvalho, L. M., Vieira, S. L. and Reis, R. N. (2009). Surfactant/oil/water system for the determination of selenium in eggs by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 64(6), 605-609.
- Institute of Medicine (IOM). (2000). *Dietary Reference Intakes (DRI)*, National Research Council, Washington: National Academy Press, 284–319.
- Jaishankar, M., Tseten, T., Anbalagan, N., Mathew, B. B. and Beeregowda, K. N. (2014). Toxicity mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdisciplinary Toxicology*, 7(2), 60-72.
- Klein E., Thompson I., Lipmann S., Goodman P., Albanes D., Taylor P. and Coltman C. (2003). Select: the selenium and vitamin E cancer prevention trial. *Urologic. Oncology*. 21, 59- 65.
- Mahapatra, S., Tripathi, R. M., Raghunath, R. and Sadasivan, S. (2001). Daily intake of Se by adult population of Mumbai, India. *The Science of the Total Environment*, 277, 217–223.
- McNaughton, S. A. and Marks, G. C. (2002). Selenium content of Australian foods: a review of literature values. *Journal of Food Composition and Analysis*, 15, 169-182,
- Moges, A. (2014). Determination of Levels Of Some Heavy Metals (Pb, Cr and Cd) In Three Commercially Available Brands of Milk Powder Found In Harar Town. MSc. Graduate Project Research, Haramaya University, Eastern Hararge, Ethiopia.
- Mohammed, E., Mohammed, T. and Mohammed, A. (2017). Optimization of an acidic digestion procedure for the determination of Hg, As, Sb, Pb and Cd in fish muscle tissue. *Method X*, 4, 513-523.
- Muller E. I., Souza J. P., Muller C. C., Muller A. L. H., Mello P. A. and Bizzi, C. A. (2016). Microwave-assisted wet digestion with H₂O₂ at high temperature and pressure using single reaction chamber for elemental determination in milk powder by ICP-OES and ICP-MS. *Talanta*, 156-157, 232-238.
- Munoz, O., Zamorano, P., Garcia, O. and Bastias, J. M. (2017). Arsenic, cadmium, mercury, sodium and potassium, concentrations in common foods and estimated daily intake of the population in Valdivia (Chile) using a total diet study. *Food and Chemical Toxicology*, 109(2), 1125-1134.
- Nişli, G. ve Ertaş, N. (2002). *Kimyasal eser analizinin günümüzdeki yeri ve önemi*. Kimyasal Eser Analiz Yaz Okulu 2, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, İzmir.
- Noel, L., Chekri, R., Millour, S., Vastel, C., Kadar, A., Sirot, V., Leblanc, J. C. and Guerin, T. (2012). Li, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Se and Mo levels in foodstuffs from the second French TDS. *Food Chemistry*, 132(3), 1502-1513.

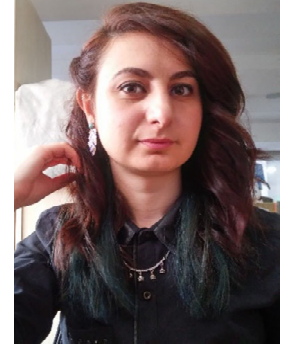
- Nursu Aylin Kasa, N.A., Chormey, D.S., Büyükpınar, Ç., Turak, F., Budak, T.B. and Bakırdere, S. (2017). Determination of cadmium at ultratrace levels by dispersive liquid-liquid microextraction and batch type hydride generation atomic absorption spectrometry. *Microchemical Journal*, 133, 144-148.
- Ochoa-Herrera, V. (2011). Toxicity of copper (II) ions to microorganism, in biological wastewater treatment systems. *The Science of The Total Environment*, 412-413, 380-385.
- Ohki A., Nakajima T., Hirakawa S., Hayashi K. and Takanashi H. (2016). A simple method of the recovery of selenium from food samples for the determination by ICP-MS. *Microchemical Journal*, 124, 693-698.
- Pappa, E. C., Pappas, A. C. and Surai, P. F. (2006). Selenium content in selected foods from the Greek market and estimation of the daily intake. *Science of the Total Environment*, 372, 100–108.
- Pinto. (2003). Heavy Metal-Induced Oxidative Stress in Algae. *Journal of Phycology*, 39(6), 1008–1018.
- Piston, M., Silva, J., Zambra, R.P. and Knoch, M. (2009). Determination of total selenium by multicommutated-flow hydride generation atomic absorption spectrometry. Application to cow's milk and infant formulae. *Analytical Methods*, 2, 139-143.
- Rayman, M.P. (2000). The importance of selenium to human health. *Lancet*, 356, 233–41.
- Rennan, G.O., Araujo, N.O., Roger, T.R., Pedro, A.C. and Sergio, L.C.F. (2008). Comparison of direct solid sampling and slurry sampling for the determination of cadmium in wheat flour by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Talanta*, 77, 400-406.
- Rubio, C., Hardsson, A., Reguera, J.I., Revert, C., Lafuente, M.A. and Iglesias, T.G. (2006). Cadmium dietary intake in the Canary Islands, Spain. *Environmental Research*, 100(1), 123-129.
- Semen, S., Mercan S., Yayla, M. and Acıkkol, M. (2017). Elemental composition of green coffee and its contribution to dietary intake. *Food Chemistry*, 215, 92-100.
- Sendil, O. (1994). *Alevli atomik absorpsiyon spektroskopisi ile molibden tayininde bazı iyonların girişimlerinin sistematik olarak incelenmesi ve girişimlerin bastırılması*. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Shahbazi, Y., Ahmedi, F. and Fakhari, F. (2016). Voltametric determination of Pb, Cd, Zn, Cu and Se in milk and dairy products collected from Iran: An emphasis on permissible limits and risk assessment of exposure to heavy metal. *Food Chemistry*, 192, 1060-1067.
- Shu, X.T., Hong, W.C. and Harry, G. (2016). Secondary electron emission materials for transmission dynodes in novel photomultipliers: a review. *Materials*, 9(12), 1017.
- Skoog, D. A., Holler F. J. and Crouch, S. R. (2007). *Principles of Instrumental Analysis*, 6th Edition, Thomson Brooks Cole, United States.

- Slavin, M., Elving, P. J., Winefordner J.D., John Wiley and Sons. (1978). *Atomic absorption spectroscopy*, 2th. edition, New York: Wiley Interscience.
- Speranskaya, O. (2008). The Problem of environmental contamination by cadmium, lead and mercury in Russia and Ukraine: *A Survey, Head of Eco-Accord Program on chemical Safety*, Eco-Accord, in partnership with MAMA-86-Kharkov NGO (Ukraine) and Volgograd Ecopress NGO (Russia).
- Thiry, C., Ruttens, A., De Temmerman, L., Schneider, Y. J. and Pussemier, L. (2012). Current knowledge in species-related bioavailability of selenium in food. *Food Chemistry*, 130, 767–784.
- Tsipoura, N., Burger J., Newhouse M., Jeitner, C., Gochfeld, M. and Mizrahi, D. (2011). Lead, mercury, cadmium, chromium and arsenic levels in eggs, feathers and tissues of Canada geese of the New Jersey Meadowlands. *Environmental Research*, 111(6), 775-784.
- Uluozlu, D.U., Tuzen, M., Mendil, D. and Soylak, M. (2009). Assessment of trace element contents of chicken products from Turkey. *Journal of Hazardous Materials*, 163, 2-3.
- Yamashita, Y., Amlund, H., Suzuki, T., Hara, T., Hossain, M.A., Yabu, T., Touhata, K. and Yamashita, M. (2011). Selenoneine, total selenium, and total mercury content in the muscle of fishes. *Fisheries Science*. 77, 679–68.
- Zheng, N., Wang, Q, Zhang, X., Zheng, D., Zhang, Z. and Zhang, S. (2007). population health risk due to dietary intake of heavy metals in the industrial area of Huludao city, China. *Science of The Total Environment*, 387(1-3), 96-104.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : AKBABA, Tuğba Nur
 Uyruğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 22.02.1991, Erzurum
 Medeni hali : Bekar
 Telefon : 507 822 8617
 e-mail : tuğba.nur.25@gmail.com



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi / Kimya Bölümü	Devam ediyor
Lisans	Gazi Üniversitesi / Kimya Bölümü	2014
Lise	Çankaya 50. Yıl Lisesi	2009

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2016-Devam ediyor	İnovatif Kimya Dergisi	Yazı Editörü
2017	Nature Trust Malta	EVS Volunteer
2017-2018	Gazi Üniversitesi	Tübitak Proje Bursiyeri
2014-2017	Hem İletişim	Müşteri Temsilcisi

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

Akbaba, T., Acar, O., Ertas, N., and Turker. A. (2018). *Elektrotermal Atomik Absorbsiyon Spektrometresi İle Gıda Numunelerinde Cd ve Se Tayinleri*. International Trace Analysis Congress, Sivas, Turkey.

Aktürk, M., Yılmaz, H., Akbaba, T., Ertas, N. and Basan, H. (2017), *Development of hybrid organic-inorganic surface imprinted Mn-doped ZnS QDs as a Phosphorescent Sensor for the Recognition and Detection of Tobramycin*. 2. Gazi Pharmacy Symposium Series, Ankara, Turkey.

Acar, O., Akbaba, T. and Turker A., (2017). *Determination of cadmium and selenium in food samples by elektrothermal atomic absorption spectrometry*. International Congress on Chemistry and Materials Science, Ankara, Turkey.

Hobiler

Resim, Fotoğraf, Seyahat



GAZİ GELECEKTİR..