

**YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOLOJİK SIVILARDA BAZI ESER ELEMENTLERİN  
TAYİNİ VE METOT GELİŞTİRME**

Kimyager Murat TUNÇ

**FBE Kimya Anabilim Dalı Analitik Kimya Programında  
Hazırlanan**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Tez Danışmanı : Prof. Dr. Göksel AKÇİN**

**İSTANBUL, 2006**

**YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOLOJİK SIVILARDA BAZI ESER ELEMENTLERİN  
TAYİNİ VE METOT GELİŞTİRME**

Kimyager Murat TUNÇ

**FBE Kimya Anabilim Dalı Analitik Kimya Programında  
Hazırlanan**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Tez Danışmanı : Prof. Dr. Göksel AKÇİN**

Prof. Dr. Şeref GÜÇER

Yard. Doç. Dr. Gülten ÇETİN

**İSTANBUL, 2006**

# İÇİNDEKİLER

	Sayfa
SİMGE LİSTESİ.....	v
KISALTMA LİSTESİ.....	vi
ŞEKİL LİSTESİ.....	vii
ÇİZELGE LİSTESİ.....	viii
ÖNSÖZ.....	x
ÖZET.....	xi
ABSTRACT.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BÖLÜM.....	2
2.1 Eser Elementlerin Biyomedikal Önemleri.....	2
2.2 Eser Element Analiz Örnekleri.....	4
2.3 Biyolojik Sıvıların Toplanması ve Saklanması.....	5
2.4 Eser Element Analizinde Önem Taşıyan Noktalar ve Referans Aralık.....	6
2.5 Eser Elementler Hakkında Genel Bilgi.....	9
2.5.1 Çinko .....	9
2.5.2 Bakır .....	11
2.5.3 Selenyum .....	12
2.5.4 Alüminyum .....	14
2.5.5 Kurşun .....	15
2.5.6 Civa .....	17
2.6 Atomik Absorbsiyon Spektrometrisi.....	18
2.6.1 Beer Yasası.....	18
2.6.2 Alev Atomlaştırma.....	19
2.6.3 Elektrotermal Atomlaştırma.....	21
2.6.4 Hidrür Atomlaştırma.....	22
2.7 Atomik Absorbsiyon Spektrometresi.....	23
2.7.1 Işık Kaynağı.....	23
2.7.2 Monokromatör.....	24
2.7.3 Detektör.....	24
2.8 Atomik Absorbsiyon Spektrometrisinde Girişimler.....	25
2.9 Zemin Düzeltme Teknikleri.....	25
2.9.1 Sürekli Işın Kaynağı İle Düzeltme Tekniği.....	25
2.9.2 Zeeman Etkisine Dayanan Düzeltme Tekniği.....	26
2.10 Önceki Çalışmalar.....	26
2.11 İstatistiksel Bilgiler.....	41
2.11.1 Ortalama Değer, Standart Sapma, Varyans ve Varyasyon Katsayısı.....	41
2.11.2 Gerçeklik, Doğruluk ve Kesinlik.....	42
2.11.3 Student t - Testi.....	43
2.11.4 F' Testi.....	44
2.11.5 Deteksiyon Limiti.....	45

3.	DENEL BÖLÜM.....	47
3.1	Kullanılan Malzemeler, Kimyasallar ve Hazırlanan Çözeltiler.....	47
3.1.1	Malzemeler.....	47
3.1.2	Kimyasallar.....	47
3.1.3	Hazırlanan Çözeltiler.....	48
3.2	Analiz Metotları.....	49
3.2.1	Serumda Çinko ve Bakır Analizi.....	49
3.2.1.1	Serumda Çinko ve Bakır Analizi Kalibrasyon Eğrileri.....	49
3.2.1.2	Serumda Çinko ve Bakır Analizi Numune Hazırlama İşlemi.....	49
3.2.1.3	Serumda Çinko ve Bakır Analizi Deteksiyon Limiti, Kesinlik ve Doğruluk Çalışmaları.....	50
3.2.2	İdrarda Bakır Analizi.....	53
3.2.2.1	İdrarda Bakır Analizi Kalibrasyon Eğrisi.....	53
3.2.2.2	İdrarda Bakır Analizi Numune Hazırlama İşlemi.....	54
3.2.2.3	İdrarda Bakır Analizi Enstrümantal Parametreler.....	54
3.2.2.4	İdrarda Bakır Analizi Deteksiyon Limiti, Kesinlik ve Doğruluk Çalışmaları.....	55
3.2.3	Serumda Selenyum Analizi.....	57
3.2.3.1	Serumda Selenyum Analizi Kalibrasyon Eğrisi.....	57
3.2.3.2	Serumda Selenyum Analizi Numune Hazırlama İşlemi.....	58
3.2.3.3	Serumda Selenyum Analizi Enstrümantal Parametreler.....	58
3.2.3.4	Serumda Selenyum Analizi Deteksiyon Limiti, Kesinlik ve Doğruluk Çalışmaları.....	60
3.2.4	Tam Kanda Kurşun Analizi.....	61
3.2.4.1	Tam Kanda Kurşun Analizi Kalibrasyon Eğrisi.....	61
3.2.4.2	Tam Kanda Kurşun Analizi Numune Hazırlama İşlemi.....	62
3.2.4.3	Tam Kanda Kurşun Analizi Enstrümantal Parametreler.....	62
3.2.4.4	Tam Kanda Kurşun Analizi Deteksiyon Limiti, Kesinlik ve Doğruluk Çalışmaları.....	63
3.2.5	Serumda Alüminyum Analizi.....	65
3.2.5.1	Serumda Alüminyum Analizi Kalibrasyon Eğrisi.....	65
3.2.5.2	Serumda Alüminyum Analizi Numune Hazırlama İşlemi.....	65
3.2.5.3	Serumda Alüminyum Analizi Enstrümantal Parametreler.....	66
3.2.5.4	Serumda Alüminyum Analizi Deteksiyon Limiti, Kesinlik ve Doğruluk Çalışmaları.....	66
3.2.6	Tam Kanda Civa Analizi.....	68
3.2.6.1	Tam Kanda Civa Analizi Kalibrasyon Eğrisi.....	68
3.2.6.2	Tam Kanda Civa Analizi Numune Hazırlama İşlemi.....	69
3.2.6.3	Tam Kanda Civa Analizi Enstrümantal Parametreler.....	69
3.2.6.4	Tam Kanda Civa Analizi Deteksiyon Limiti ve Doğruluk Çalışmaları.....	70
4.	SONUÇ VE DEĞERLENDİRME.....	72
	KAYNAKLAR.....	74
	ÖZGEÇMİŞ.....	76

## SİMGE LİSTESİ

V	Hacim
g	Gram
W	Watt
s	Saniye
nm	Nanometre
$\mu$	Mikro
L	Litre
cm	Santimetre
D <sub>2</sub>	Döteryum

## KISALTMA LİSTESİ

AAS	Atomik Absorbsiyon Spektrometrisi
ICP – OES	İndüktif Eşleşmiş Plazma – Optik Emisyon Spektrometrisi
ICP – MS	İndüktif Eşleşmiş Plazma – Kütle Spektrometrisi
NAA	Nötron Aktivasyon Analizi
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
RNA	Ribonükleik asit
DNA	Deoksiribonükleik asit
PMT	Fotoçoğaltıcı tüp
CCD	Yük – eşleşmiş düzenek
TCA	Trikloro asetik asit
APDC	Amonyum pirolidin ditiyokarbamat
MIK	Metil izobutil keton
CSF	Omurilik sıvısı
RSD	Bağlı standart sapma
CRM	Sertifikalı referans malzeme
Abs	Absorbans
TMAH	Tetrametilamonyum hidroksit
EDL	Elektrotsuz boşalım lambası
BCR	Bureau Communautaire de Reference
NIST	National Institute of Standards and Technology

## ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1	Analit konsantrasyonu ile ışın şiddetindeki azalma.....	19
Şekil 2.2	Alev atomlaştırıcının yapısı.....	20
Şekil 2.3	Üç elementin tipik absorban profilleri ve alevin yapısı.....	20
Şekil 2.4	Elektrotermal atomlaştırıcı ve grafit tüpün yapısı.....	21
Şekil 2.5	Sıcaklık programı (atomlaşma evresi) ve analit sinyali.....	21
Şekil 2.6	Hidrür atomlaştırıcı için kullanılan akış-enjeksiyon sistemi.....	22
Şekil 2.7	Atomik absorpsiyon spektrometresinin yapısı.....	23
Şekil 2.8	Oyuk katot lambanın yapısı.....	23
Şekil 2.9	a ve b tipi monokromatörün yapısı .....	24
Şekil 2.10	Fotoçoğaltıcı tüplü detektör ve yük-eşleşmiş düzenekli detektör.....	24
Şekil 2.11	Sürekli ışın kaynağı ile düzeltme.....	26
Şekil 2.12	Magnetik alan içerisinde atomların elektronik enerji seviyelerindeki yarıлма.....	26
Şekil 2.13	Gerçeklik, doğruluk ve kesinlik ifadelerinin birbiri ile olan ilişkisi.....	42
Şekil 2.14	Analit sinyali ve gürültü sinyali.....	45
Şekil 3.1	Serumda çinko ve bakır analizi kalibrasyon eğrileri.....	49
Şekil 3.2	İdrarda bakır analizi kalibrasyon eğrisi ve idrar numunesi analit sinyali.....	54
Şekil 3.3	Serumda selenyum analizi kalibrasyon eğrisi ve serum numunesi analit sinyali..	58
Şekil 3.4(a)	Oyuk katot lamba sinyali.....	59
Şekil 3.4(b)	Elektrotsuz boşalım lambası sinyali.....	59
Şekil 3.5(a)	25 µg/L Se sinyali.....	59
Şekil 3.5(b)	Seronorm Se sinyali.....	59
Şekil 3.5(c)	Örnek serum Se sinyali.....	59
Şekil 3.6	Tam kanda kurşun analizi kalibrasyon eğrisi ve tam kan numunesi analit sinyali.....	62
Şekil 3.7	Serumda alüminyum analizi kalibrasyon eğrisi ve serum numunesi analit sinyali.....	65
Şekil 3.8	Tam kanda civa analizi kalibrasyon eğrisi ve kalibrasyon standartlarının sinyali..	69

## ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge 2.1 İnsan ve hayvan yaşamı için gereklilikleri kabul edilen, gerekli olması olası ve toksik elementler.....	2
Çizelge 2.2 Enzimler tarafından aktive edilen eser elementler.....	4
Çizelge 2.3 Toplama tüplerinden kaynaklanan kontaminasyonun incelenmesi.....	6
Çizelge 2.4 Eser elementler, yaş grupları, analiz örneği ve referans değerler.....	7
Çizelge 2.5 Toksik elementler, yaş grupları, analiz örneği ve referans değerler.....	9
Çizelge 2.6 İnorganik kurşunun çocuklar ve yetişkinlerde yan etkileri.....	16
Çizelge 2.7 Parker vd.' nin (1967) serumda çinko ve bakır analizi geri kazanım testi.....	27
Çizelge 2.8 Parker vd.' nin (1967) idrarda çinko geri kazanım testi.....	28
Çizelge 2.9 Meret ve Henkin' in (1971) tekrarlanabilirlik ve tekrar yapılabilirlik testleri ile geri kazanım testi sonuçları.....	28
Çizelge 2.10 Smith ve Butrimovitz' in (1979) laboratuvarlar arası karşılaştırma.....	29
Çizelge 2.11 Almeida ve Lima' nın (2001) enstrümantal parametreler ve fırın programı.....	29
Çizelge 2.12 Almeida ve Lima' nın (2001) istatistiksel değerlendirme.....	30
Çizelge 2.13 Montel vd. ' nin (2003) enstrümantal parametreler ve fırın programı.....	30
Çizelge 2.14 Feuerstein ve Schlemmer ' in (1999) enstrümantal parametreler ve fırın programı.....	31
Çizelge 2.15 Feuerstein ve Schlemmer ' in (1999) referans laboratuvarda yapılan referans numune değerleri ile karşılaştırma.....	32
Çizelge 2.16 Gunter vd.' nin (1999) enstrümantal parametreler.....	32
Çizelge 2.17 Gunter vd.' nin (1999) fırın programı, sertifikalı referans malzeme ile yapılan analiz sonuçları ve istatistiksel değerlendirme.....	33
Çizelge 2.18 Burtis ve Ashwood (1999) enstrümantal parametreler ve fırın programı.....	34
Çizelge 2.19 Almeida ve Lima' nın (2000) enstrümantal parametreler.....	34
Çizelge 2.20 Almeida ve Lima' nın (2000) fırın programı ve sertifikalı referans malzeme ile yapılan analiz sonuçları.....	35
Çizelge 2.21 Brown vd.' nin (1984) enstrümantal parametreler.....	35
Çizelge 2.22 Brown vd.' nin (1984) fırın programı ve iki metodun karşılaştırma sonuçları.....	36
Çizelge 2.23 Patriarca ve Morisi' nin (1999) kesinlik ve doğruluk çalışmaları.....	37
Çizelge 2.24 Patriarca ve Morisi' nin (1999) enstrümantal parametreler.....	37
Çizelge 2.25 Patriarca ve Morisi' nin (1999) fırın programı.....	38
Çizelge 2.26 Bannon vd.' nin (1994) enstrümantal parametreler ve fırın programı.....	38
Çizelge 2.27 Bannon vd.' nin (1994) metodunun kesinlik ve doğruluk ölçümleri.....	39
Çizelge 2.28 Jones' un (2001) enstrümantal parametreler ve fırın programı.....	39
Çizelge 2.29 Colon vd.' nin (2001) enstrümantal parametreler ve akış – enjeksiyon programı.....	40
Çizelge 2.30 Colon vd.' nin (2001) kesinlik ve doğruluk çalışmaları.....	41
Çizelge 2.31 Sakuma vd.' nin (1999) enstrümantal parametreler.....	41
Çizelge 2.32 Çeşitli Olasılık Seviyeleri İçin t-Testi Kritik Değerleri.....	43
Çizelge 2.33 % 95' lik Güven Aralığında 'F' Testi Kritik Değerleri.....	43
Çizelge 2.34 Grafit fırınlı AAS ile bakır elementinin deteksiyon limiti hesaplaması.....	46
Çizelge 3.1 Serumda bakır ve çinko analizi geri kazanım testleri.....	50
Çizelge 3.2 Serumda çinko ve bakır analizi standart çözelti okumaları.....	51
Çizelge 3.3 Serumda çinko analizi deteksiyon limiti hesaplaması.....	51
Çizelge 3.4 Serumda bakır analizi deteksiyon limiti hesaplaması.....	52
Çizelge 3.5 Serumda çinko analizi kesinlik ve doğruluk testi.....	52
Çizelge 3.6 Serumda bakır analizi kesinlik ve doğruluk testi.....	53
Çizelge 3.7 İdrarda bakır analizi enstrümantal parametreler.....	54
Çizelge 3.8 İdrarda bakır analizi fırın programı.....	55



Çizelge 3.9 Standart bakır çözeltisi, idrar ve serum numunelerine uygulanan çeşitli kütleme ve atomlaşma sıcaklıkları.....	55
Çizelge 3.10 İdrarda bakır analizi geri kazanım testi.....	56
Çizelge 3.11 İdrarda bakır analizi deteksiyon limiti hesaplamaları.....	56
Çizelge 3.12 İdrarda bakır analizi kesinlik ve doğruluk testi.....	57
Çizelge 3.13 Serumda selenyum analizi enstrümantal parametreler.....	58
Çizelge 3.14 Serumda selenyum analizi fırın programı.....	59
Çizelge 3.15 Serumda selenyum analizi geri kazanım testi.....	60
Çizelge 3.16 Serumda selenyum analizi deteksiyon limiti hesaplamaları.....	60
Çizelge 3.17 Serumda selenyum analizi kesinlik ve doğruluk testi.....	61
Çizelge 3.18 Tam kanda kurşun analizi enstrümantal parametreler.....	62
Çizelge 3.19 Tam kanda kurşun analizi fırın programı.....	63
Çizelge 3.20 Tam kanda kurşun analizi geri kazanım testi.....	63
Çizelge 3.21 Tam kanda kurşun analizi deteksiyon limiti hesaplamaları.....	64
Çizelge 3.22 Tam kanda kurşun analizi kesinlik ve doğruluk testi.....	64
Çizelge 3.23 Serumda alüminyum analizi enstrümantal parametreler.....	66
Çizelge 3.24 Serumda alüminyum analizi fırın programı.....	66
Çizelge 3.25 Serumda alüminyum analizi geri kazanım testi.....	67
Çizelge 3.26 Serumda alüminyum analizi deteksiyon limiti hesaplamaları.....	67
Çizelge 3.27 Serumda alüminyum analizi kesinlik ve doğruluk testi.....	68
Çizelge 3.28 Tam kanda civa analizi enstrümantal parametreler ve akış – enjeksiyon programı.....	70
Çizelge 3.29 Tam kanda civa analizi standart çözelti okumaları.....	70
Çizelge 3.30 Tam kanda civa analizi deteksiyon limiti hesaplaması.....	71
Çizelge 4.1 Dış kalite kontrol sonuçları.....	72

## **ÖNSÖZ**

Çalışmam sırasında her zaman bilgileri ile yoluma ışık tutan, deneyimlerini aktararak çalışmalarımı yönlendirmeme yardımcı olan ve manevi desteğini esirgemeyen değerli hocam Sayın Prof. Dr. Göksel AKÇİN' e, bana bu çalışmayı yapmama imkan sağlayan Centro Laboratuvarları Genel Müdürü Sayın Dr. Faruk TOPBAŞ' a ve beni yetiştirip bu günlere getiren aileme en derin teşekkürlerimi sunarım.

## ÖZET

Eser elementler, insan ve hayvan dokularında kilogram başına miligram veya daha az bulunan elementlerdir. Duyarlı, özgün ve doğru analitik teknolojilerin, kabul edilebilir maliyette gelişimi eser elementlerin analizini araştırma laboratuvarlarından klinik laboratuvarların geniş yelpazesi içerisine taşımıştır. Biyolojik numunelerin hazırlanması ve analizi için farklı prosedürlerin kullanıldığı çeşitli metotlar tanımlanmıştır.

Bu çalışmada; tam kan, serum ve idrar gibi biyolojik sıvılarda çinko, bakır, kurşun, selenyum, alüminyum ve civa tayini atomik absorpsiyon spektrometrisi ile yapıldı. Serumda çinko ve bakır alevli AAS ile tam kanda kurşun, serumda selenyum ve alüminyum, idrarda bakır grafit fırınlı AAS ile tam kanda civa soğuk buhar AAS ile çalışıldı.

Biyolojik sıvıların toplanması ve saklanması eser elementlerin doğru bir şekilde analizinde kritik basamaklardır. Şırıngalar, iğneler, toplama tüpleri ve kapakları hepsi birer potansiyel kontaminasyon kaynaklarıdır.

Biyolojik numuneler genellikle proteinlere bağlı yüksek miktarda karbon içerirler. Bu sebepten dolayı külleme ve atomlaşma sıcaklıklarının optimizasyonunun önemi artmaktadır. Numune matriksinden gelen yüksek zemin sinyalleri zeeman zemin düzeltme sistemi tarafından düzeltildi.

Çalışılan metotların kesinlik ve doğruluk testleri sertifikalı referans malzeme ile gerçekleştirildi ve istatistiksel değerlendirmeler yapıldı.

**Anahtar kelimeler :** Tam kan, serum, idrar, eser elementler, atomik absorpsiyon spektrometri, doğruluk, kesinlik.

## **ABSTRACT**

Trace elements are elements that occur in human and animal tissues in miligram per kilogram or less. The development of sensitive, specific, and accurate analytical technology at an acceptable cost has moved determination of trace elements from research laboratories into a wide range of clinical laboratories. Various methods have been described that use different procedures for biological sample preparation and analysis.

In this study; determination of zinc, copper, lead, selenium, aluminium, and mercury in whole blood, serum, and urine as biological fluids by atomic absorption spectrometry. We have studied zinc and copper in serum by flame AAS, lead in whole blood, selenium and aluminium in serum, copper in urine by graphite furnace AAS, mercury in whole blood by cold vapor AAS.

Biological fluids collection and storage are critical steps in accurate determination of trace elements. Syringes, needles, collecting tubes, and stoppers are all potential sources of contamination.

Biological samples contain high amounts of carbon, mainly bound in proteins. Because of this reason, the importance of the optimization for the pyrolysis and the atomization temperature increases. High intensity background signals, coming from the sample matrix were corrected by zeeman background correction system.

The accuracy and precision test for studied methods were carried out on certified reference materials and performed statistical estimations.

**Keywords :** Whole blood, serum, urine, trace elements, atomic absorption spectrometry, accuracy, precision.

## 1. GİRİŞ

Bugün eser element tayinleri tıbbın değişik dallarında giderek artan bir önem kazanmaktadır. Hatta bazı önemli eser elementlerin analizleri klinik biyokimya laboratuvarlarında artık rutin tayinlerin belirli bir bölümünü bile oluşturmaktadır.

Bazı elementler yaşam için gereklidir ve yokluğunda ya ölüm yada organizmanın birçok fonksiyonunun işlevselliğinde zararlar karşılaşılır. Özellikle eser elementler söz konusu olduğunda ölüm ile organizmanın zarar görmesi arasındaki ölçüt genellikle deneylerle saptanmaz. Bu elementlerin yokluğunda gözlenen fonksiyon bozuklukları ancak ihtiyaç duyulan elementin ihtiyaç duyulan miktarının organizmaya verilmesiyle giderilebilir. Başka herhangi bir element bir diğerinin gösterdiği etkiyi gösteremez.

Eser elementler büyüme doku tamiri ve çeşitli metabolik işlevlerin yürütülmesi için gereklidir, bazı eser elementler de dokularda ve vücut sıvılarında çok düşük yoğunluklarda bulunmakla beraber yaşam için gereklidirler. Biyolojik örneklerde yürütülen eser element tayinleri insan sağlığı ve hastalıkları ile ilgili bilgi dağarcığımızın zenginleşmesine katkıda bulunurlar. Çeşitli hastalıkların tanı ve tedavisinde eser elementlerin oynadıkları rol yadsınamaz.

Biyomedikal alanda, yaşam için gerekli eser elementlerin canlıdaki rollerini ve işlevlerini açıklamaya yönelik çabalar doğrultusunda, dokular ve vücut sıvılarında eser elementlerin analizlerini kapsayan pek çok araştırma yürütülmektedir. Eser elementlerin araştırıldığı ortamlar arasında başta kan olmak üzere çeşitli vücut sıvıları, tırnak ve saç örneklerinin yanı sıra, karaciğer dokusu, kemik dokusu gibi farklı doku örnekleri sayılabilir.

Günümüzde eser element analizlerinde kullanılan başlıca teknikler AAS (Atomik Absorbsiyon Spektrometrisi), ICP-OES (İndüktif Eşleşmiş Plazma – Optik Emisyon Spektrometrisi), ICP-MS (İndüktif Eşleşmiş Plazma – Kütle Spektrometrisi) ve NAA (Nötron Aktivasyon Analizi) olarak sayılabilir.

**Bu çalışmanın amacı;** tam kan, serum ve idrar gibi biyolojik sıvılarda çinko, bakır, kurşun, selenyum, alüminyum ve civanın atomik absorbsiyon spektrometrisi yöntemi kullanılarak tayini ile ilgili metot geliştirilmesi, kalite kontrol çalışmalarının yapılması ve istatistiksel olarak değerlendirilmesidir.

## 2. GENEL BÖLÜM

### 2.1. Eser Elementlerin Biyomedikal Önemleri

Mutlak yokluk durumunda ölüm, sınırlı alım durumunda organizmanın hayatta kalması fakat biyolojik fonksiyonların zarar görmesi gözlenir. Gerekli miktarlarının alınmasında sağlıklı yaşam ve biyolojik fonksiyonların iyi durumu, aşırı miktarlarda da kesin zehirlenme gözlenir. Birçok elementin, yaşam için gerekli miktarları ile zehirli etki gösterdikleri miktarları arasında 10 ile 100 katlık bir aralık söz konusudur.

İnsan ve hayvan yaşamı için gereklilikleri kabul edilen, gerekli olması olası ve toksik elementler Çizelge 2.1’ de gösterilmektedir.

Çizelge 2.1 İnsan ve hayvan yaşamı için gereklilikleri kabul edilen, gerekli olması olası ve toksik elementler (Thomas, 1998)

Li	Be											B					F		
Na	Mg											Al	Si	P	S	Cl			
K	Ca		Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn			As	Se	Br			
Rb	Sr	Y			Mo					Ag	Cd		Sn			I			
	Ba								Pt	Au	Hg		Pb	Bi					

Çizelgede gösterilen elementlerden yalnızca yedisinin hem biyokimyasal fonksiyonları hem de eksiklik belirtileri bilinmektedir. Bunlar; demir, çinko, bakır, kobalt (B<sub>12</sub> vitamini olarak), iyot, molibden ve selenyumdur. Krom ve bor elementlerinin insandaki eksiklik belirtileri tanımlanmış fakat biyokimyasal fonksiyonları kesin olarak açıklanamamıştır. Mangan’ ın biyokimyasal fonksiyonları tanımlanmış fakat eksiklik belirtileri tam olarak açıklanamamıştır. Nikel, silisyum ve vanadyum elementleri ise insan için gerekli olma olasılığı yüksek elementler olarak tanımlanır. Brom, kadmiyum, kurşun, stronsiyum ve kalay gibi bazı elementlerin ise yaşam için gerekli oldukları tahmin edilmekle beraber gerekliliklerini gösteren yeterli bilgi mevcut değildir. Lityum ve flor farmakolojik özellikleri ile bilinmektedir. Krom, mangan, nikel ve vanadyum gibi organizmada (ng/g) düzeylerinde bulunan elementlerin eksiklik belirtilerinin tanımlanması, bakır, çinko ve demir gibi organizmada (µg/g) düzeyinde bulunan elementlerinkinden daha zor olmaktadır.

Yetersizlik durumlarından da daha sık olarak karşımıza çıkan olasılık bu yararlı formların yüksek düzeylerine maruz kalma sonucu gelişebilen toksik tablolarıdır. Ayrıca bugün pek çok

kişi meslekleri nedeni ile arsenik, kadmiyum, kurşun ve civa gibi toksik metallerin de zararlı etkilerine maruz kalmaktadır. Bu kişilerin izlenmesi toplum sağlığı açısından önem taşımaktadır. Örneğin, kurşun zehirlenmesinin bulguları özgün olmadığından, laboratuvar tanısı çok önemlidir ve bu sebepten dolayı rutin taramalar yapılmaktadır. Akü üretimi ile ilgili endüstri alanlarında çalışanlarda Pb zehirlenmesi sık rastlanan bir olaydır. Metal zehirlenmesi mesleksi olabildiği gibi çevresel veya kaza sonucu nedenler ile de gerçekleşebilir.

Halen eser elementlerin birçok fonksiyonunun detayları açıklanamamasına rağmen, bazı genel karakteristikler iyi bilinmektedir. Bazen eser elementin çok küçük bir miktarının etkisi tüm organizmanın uygun performansta çalışması için gerekli olabilmektedir. Örneğin demir gibi bir eser elementin eksikliğinin sonucu, anemi hastalığının belirtileri ortaya çıkar. Küçük miktardaki bu eser elementin bu büyük ve yadsınamaz etkisi enzim ve hormonlar gibi çok daha yüksek miktarlarda ve metabolizmada etkin rol oynayan biyokimyasal substratlarla olan ilişkisine bağlanmaktadır. Yaşam için gerekli eser elementler kendilerine özgü bazı özelliklerinden dolayı kesinlikle kimyasal olarak benzer özellikte bir diğer element ile yer değiştiremezler. Bu eser elementler elektronik dizilişlerine ve bağ yapılarına göre azot, sülfür ve oksijen gibi elektron donör atomları ile etkileşirler. Demir, bakır, molibden gibi elementler birden fazla kararlı iyonik yapıda olabilirler ve bu sayede biyolojik indirgenme ve yükseltgenme fonksiyonlarında rol alabilirler. Çinko ve nikel elementleri ise sadece tek bir iyonik yapıda (2+) kararlı olmalarına rağmen substratlara bağlanmak suretiyle biyolojik yapıda rol alırlar. Geçiş metalleri, kısmen dolu *d* orbitalleri sayesinde (Fe, Cu, Co) *d* orbitalleri tam dolu metallere (Zn) nazaran daha fazla sayıda elektron donör atom ile koordinasyona girebilir. Selenyum, iyot, silisyum ve bor karbona ve oksijene kuvvetli kovalent bağları ile bağlanarak protein veya enzimlerin organik yapısında yer alırlar (örneğin, selenosistein' de selenyum). Birçok eser element Çizelge 2.2' de gösterildiği gibi metaloenzim veya nonenzimatik metaloprotein olarak enzim aktivitesini düzenleyici veya harekete geçirici rol oynarlar.

Ayrıca bazı elementler de proteinlerin taşınmasında ve depolanmasında etkin rol alırlar (transferrin ve ferritin için demir, albumin ve  $\alpha_2$  makroglobulin için çinko, transmanganan için mangan, nikeloplasmin için nikel).

Çizelge 2.2 Enzimler tarafından aktive edilen eser elementler (Thomas, 1998)

<u>Enzimler</u>	<u>Eser Elementler</u>
Aminopeptidaz	Mg, Mn
Aldehit oksidaz	Cu, Mo
Alkalin fosfataz	Zn
Arginaz	Ca, Mg, Mn
Karboksi-peptidaz A	Co, Fe, Mn, Ni, Zn
Karboksi-peptidaz B	Co, Zn
Sitokrom C oksidaz	Co, Cu
Enolaz	Fe, Mn, Zn
Dipeptidaz	Ca, Mg, Ni
Glukokinaz	Ca, Co, Mg, Mn, Zn
Glutamat dehidrogenaz	Zn
Laktat dehidrogenaz	Ni
Malat dehidrogenaz	Ni
NADP sitokrom reduktaz	Fe
Nukleosit fosforilaz	Zn
Suksinat dehidrogenaz	Fe
Fosfataz	Ca, Cu, Fe, Mg, Ni, Zn
Tiraminaz	Cu
Tirosinaz	Cu
Urikaz	Cu
Xantin oksidaz	Cu, Mo

## 2.2 Eser Element Analiz Örnekleri

*Serum* : Kan, hiçbir katkı maddesi ve antikoagülan içermeyen kırmızı renkli tüplere alınır ve pıhtılaşmaya bırakılır. Pıhtılaşma süresi yaklaşık 30 dakikadır. Pıhtılaşma işlemi sonrasında kan santrifüjlenir ve üstte kalan kısım pipet yardımıyla dikkatli bir şekilde alınır. Aynı örnekten birden fazla tetkik istenmesi halinde 4 – 5 mL serum alınması gerekir. Bu miktar takriben 10 mL kandan sağlanabilir. Genellikle gereken serum miktarından 2 – 3 kat fazla kan alınması uygun görülür. Kan alımı sonrası örnek direkt güneş ışığı almayacak şekilde pıhtılaşma süreci bitene dek oda ısısında bekletilir. Kan alınan tüpte pıhtılaşmayı



hızlandırıcı maddelerin (örneğin; kaolin, plastik bilye) bulunması pıhtılaşma sürecini 15 dakikaya indirir.

*Tam Kan* : Kan, antikoagülan olarak EDTA içeren mor kapaklı plastik tüp veya Sodyum Sitrat içeren siyah kapaklı plastik tüplere alınır. Kanın antikoagülan madde ile tam olarak temas etmesi için plastik tüpün yavaşça 6 – 8 kez alt üst edilerek çalkalamadan iyice karışması sağlanır. Örneğin tam kan, sitrat – tam kan, EDTA – tam kan olarak uzun süre saklanması bazı test parametrelerinde değişikliklere yol açabileceğinden analiz işlemi bekletmeden yapılmalıdır.

*Plazma* : Kan, antikoagülan olarak sodyum sitrat içeren mavi kapaklı plastik tüplere alınarak santrifüjlenir ve üstte kalan tabaka plazmadır.

*İdrar* : Bir çok idrar analizi 24 saatlik idrarda yapılır. Yetişkinlerde en az 800 mL idrar toplanmış olmalıdır. Tetkik edilecek maddelerin stabilizasyonu için gerekli koruyucu maddeler idrar toplamaya başlamadan evvel toplama kabına konulmalıdır.

### **2.3 Biyolojik Sıvıların Toplanması ve Saklanması**

Eser element analizinde güvenli sonuçlara ulaşmayı güçleştiren temel bazı sorunlar vardır. Bunlar arasında düşük analit konsantrasyonları, düşük numune hacmi ve kontaminasyon ön plandadır.

Numunenin toplanması sırasında sonucu etkileyebilecek pek çok hata kaynağı oluşabilir. Kanın alındığı iğneler, toplama tüpleri, tüp kapakları ve kullanılan antikoagülanlar etken olabildiği gibi numunenin alındığı çevrenin temizliği, örneği alan teknik elemanın temizliği, hastanın cildinin temizliği, laboratuara nakil ve örneğin muhafazası ile ilgili koşullar da etkili olmaktadır. Kan alımı sırasında kullanılan bazı iğneler alüminyum içerikli olabilmekte ve kontaminasyona sebep olabilmektedir. Plastik malzemedен imal edilmiş bazı tüp ve tüp kapaklarının da Cu, Fe, Zn, Pb, Hg, Sb, Sn, Co elementleri içerdiği Robertson, D.E. (1972) tarafından beyan edilmiştir. Kapakların silikon veya teflon olması önerilmektedir. Becton Dickinson (BD) firmasının eser element tüpleri kan toplama ve saklamada sıklıkla tercih edilmektedir. Fakat krom, mangan, alüminyum ve selenyum gibi bazı elementler için uygun olmadığı yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. Son yıllarda Sherwood Medikal Company firmasının eser element analizleri için uygun tüpleri kullanılmış ve tüm elementlerde tatmin edici sonuçlar elde edilmiştir. Moyer vd.’nin (1991) yaptığı çalışmada 24 saatlik periyotta

belirli zaman aralıklarıyla analizler yapılmış ve tüpten kaynaklanan kontaminasyonlar incelenmiştir. Yapılan bu çalışmanın sonuçları Çizelge 2.3' de gösterilmiştir.

Çizelge 2.3 Toplama tüplerinden kaynaklanan kontaminasyonun incelenmesi (Moyer vd. 1991)

Numune 1	Süre	Al	Cr	Mn	Se	Cd	Pb	As	Hg	Ca	Mg	Cu	Zn	Fe
		µg/L							mg/L					
Numune 1	0	116	3.1	3.1	115	0.07	<0.20	<0.01	<0.005	87.2	25.8	1.09	0.64	1.02
	5 min	116	3.1	3.2	113	0.07	0.30	<0.01	<0.005	88.8	25.7	1.09	0.64	1.02
	1 h	118	3.1	3.3	114	0.14	0.46	<0.01	<0.005	88.6	25.7	1.09	0.64	1.02
	5 min	114	3.0	3.2	112	0.09	0.44	<0.01	<0.005	89.0	25.8	1.09	0.64	1.03
	1 h	115	3.0	3.2	112	0.10	0.64	<0.01	<0.005	89.2	25.7	1.09	0.64	1.02
	8 h	119	3.1	3.7	106	0.05	<0.20	<0.01	<0.005	88.4	25.3	1.08	0.63	1.06
	24 h	124	3.3	2.9	106	0.21	<0.20	<0.01	<0.005	87.0	25.3	1.09	0.64	1.04
Numune 2	0	18	3.6	5.0	105	0.29	0.53	<0.01	<0.005	85.2	19.7	1.00	0.82	1.16
	5 min	20	3.6	5.2	105	0.28	0.86	<0.01	<0.005	85.0	19.8	1.00	0.85	1.13
	1 h	21	3.6	5.4	99	0.22	1.20	<0.01	<0.005	85.2	19.7	1.00	0.85	1.13
	5 min	23	3.7	5.4	101	0.30	1.12	<0.01	<0.005	84.8	19.5	0.99	0.83	1.13
	1 h	21	3.5	5.5	100	0.35	1.05	<0.01	<0.005	84.8	19.6	1.00	0.86	1.14
	8 h	20	3.8	5.9	97	0.34	1.36	<0.01	<0.005	84.8	19.7	1.00	0.85	1.14
	24 h	28	3.9	5.6	99	0.26	1.50	<0.01	<0.005	84.2	19.5	0.99	0.84	1.14
Numune 3	0	16	0.7	2.2	99	0.18	0.20	<0.01	<0.005	81.7	21.9	0.98	0.62	1.00
	5 min	16	0.7	2.4	100	0.18	0.60	<0.01	<0.005	80.6	21.7	0.96	0.72	0.96
	1 h	16	0.7	2.7	92	0.14	0.42	<0.01	<0.005	82.0	17.3	0.98	0.72	0.97
	5 min	17	0.7	2.7	92	0.18	0.58	<0.01	<0.005	81.0	21.5	0.98	0.72	0.97
	1 h	18	0.8	2.6	97	0.16	0.50	<0.01	<0.005	81.4	21.7	0.97	0.71	0.96
	8 h	18	0.7	2.7	94	0.18	0.68	<0.01	<0.005	80.8	21.5	0.97	0.70	0.97
	24 h	22	0.7	2.8	95	0.26	0.82	<0.01	<0.005	81.4	21.7	0.98	0.71	0.97

## 2.4 Eser Element Analizinde Önem Taşıyan Noktalar ve Referans Aralık

Klinik biyokimya laboratuvarlarında giderek ağırlıklı bir yer tutan eser element tayinlerinde amaç doğru ve kesin sonuçlar elde etmek, bu sonuçlara pratik ama güvenli yöntemlerle makul bir süreçte, uygun bir numune miktarı ile ulaşabilmektir. Bir klinik sonucun anlamlı olabilmesi için analitik basamaklar ile ilgili tekrarlanabilirlik, validasyon, kalite kontrol gibi noktalara önem vermenin yanı sıra preanalitik hata kaynaklarını da belirlemek zorunludur.

Analiz edilecek numunelerin yanı sıra eser elementlerin çevrede de bulunması önemli bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Konsantrasyonların düşük ve ölçüm için alınan numune hacminin ufak olması birkaç pg' lık bir kontaminasyonun, sonucu tamamen bozmaya yol açtığı gözlemlenmiştir. Reaktifler, su, cam malzeme ve laboratuvar ortamı sorun kaynağı olabilir. Bu temel sorunlara bağlı olarak sağlıklı bireylerin plazma veya serumunda rapor edilmiş eser element düzeylerinde ciddi uyumsuzluklar ortaya çıkmaktadır.

Eser element tayinlerinde öncelikle çalışacağımız örneklerle ait normal değerler belirlenmelidir. Normal insanları nasıl seçeceğiz? WHO' nun tanımına göre normal kavramı tümü ile fiziksel, mental ve sosyal iyilik durumudur. Sadece hastalık durumunun yokluğu değildir. Böyle kişileri bulmak çok güçtür. Çözüm, iyi tanımlanmış bir topluluğun seçimine dayalı olarak tipik referans değerlerinin belirlenmesidir. Ancak eser element tayinleri genelde güç ve zaman alıcı çalışmalardır ve ne yazık ki yayınlanmış çalışmalar belirli bir element için kısıtlı sayıda olgu içeren, fazla verimli olarak değerlendirilemeyecek niteliktedir. Kısıtlı sayıda olgudan elde edilen değerler ile genelleme yapmak yanlıştır. Bu değerler gerçek temsil edici değerler olamazlar.

Testler için belirtilen referans aralığı, sağlıklı bireylerden elde edilen değerlerin % 95' ini içeren grubu temsil eder ve test sonucunu değerlendirmek için genel bir baz oluşturur. Çeşitli faktörlere bağlı olarak bu değerler hastadan hastaya varyasyonlar gösterebilir. Vücut sıvılarında ve dokularda eser elementler ile ilgili farklı referans değerleri Çizelge 2.4' de gösterilmiştir. Bunların her biri sadece belirli bir gruba özgündür. Bireyin etnik orijini, cinsiyeti, yaşı, çalışma ortamı, sigara içme alışkanlığı olup olmadığı, beslenme alışkanlıkları, yaşadığı coğrafi bölge, geçmişte ve şu anda çalıştığı işler, çalıştığı ortamda var olan çevre koşulları gibi noktalar analiz sonuçlarını etkileyeceği için doğru bir yorum açısından bu noktaların mutlaka belirlenmesi gerekir.

Çizelge 2.4 Eser elementler, yaş grupları, analiz örneği ve referans değerler (Thomas, 1998)

<u>Element</u>	<u>Grup</u>	<u>Ortam</u>	<u>Referans Değerler</u>
<b>Krom</b>	Tüm Yaş	Serum	< 0,5 µg/L
		İdrar	< 0,5 µg/L
<b>Kobalt</b>	Tüm Yaş	Tam Kan	0,5 – 3,9 µg/L
		Serum	< 0,5 µg/L
		İdrar	< 0,1 µg/L
<b>Bakır</b>	1 Haftalık (Premature)	Serum/Plazma	17 – 44 µg/dL
	0 – 4 Aylık		9 – 46 µg/dL
	4 – 6 Aylık		25 – 110 µg/dL
	7 – 12 Aylık		50 – 130 µg/dL
	1 – 5 Yaş		80 – 150 µg/dL
	6 – 9 Yaş		84 – 136 µg/dL
	10 – 13 Yaş		80 – 121 µg/dL

	14 – 19 Yaş		64 – 117 µg/dL
	Yetişkin Erkek		79 – 131 µg/dL
	Yetişkin Kadın		74 – 122 µg/dL
	1 Haftalık (Premature)İdrar		2,7 – 7,7 µmol/L
	0 – 4 Aylık		1,4 – 7,2 µmol/L
	4 – 6 Aylık		3,9 – 17,3 µmol/L
	7 – 12 Aylık		7,9 – 20,5 µmol/L
	1 – 5 Yaş		12,6 – 23,6 µmol/L
	6 – 9 Yaş		13,2 – 21,4 µmol/L
	10 – 13 Yaş		12,6 – 19,0 µmol/L
	14 – 19 Yaş		10,1 – 18,4 µmol/L
	Yetişkin Erkek		12,4 – 20,6 µmol/L
	Yetişkin Kadın		11,6 – 19,2 µmol/L
<b>Magnezyum</b>	1 Haftalık (Neonates)Serum/Plazma		1,2 – 2,6 mg/dL
	Okul Çağı		1,5 – 2,3 mg/dL
	Yetişkin Kadın		1,9 – 2,5 mg/L
	Yetişkin Erkek		1,8 – 2,6 mg/L
	Tüm Yaş	İdrar	73 – 122 mg/24h
<b>Mangan</b>	Tüm Yaş	Tam Kan	7,0 – 10,5 µg/L
		Serum	< 0,8 µg/L
		İdrar	< 1,5 µg/L
		Anne Sütü	5,0 – 10,0 µg/L
<b>Molibden</b>	Tüm Yaş	Serum	< 1 µg/L
		İdrar	10 – 16 µg/L
<b>Nikel</b>	Tüm Yaş	Tam Kan	0,05 – 1,05 µg/L
		Serum	0,05 – 1,08 µg/L
		İdrar	0,70 – 5,20 µg/L
<b>Selenyum</b>	1 – 4 Aylık	Serum	18 – 64 µg/L
	5 – 12 Aylık		32 – 101 µg/L
	Küçük Çocuk		58 – 116 µg/L
	Okul Çağı		69 – 121 µg/L
	Yetişkin		74 – 139 µg/L

	Yetişkin	İdrar	5 – 30 µg/24h
<b>Çinko</b>	Yetişkin	Tam Kan	4,0 – 7,5 mg/L
	Yetişkin	İdrar	0,25 – 0,85 mg/L
	Yetişkin	Serum/Plazma	0,6 – 1,2 mg/L

Çizelge 2.5 Toksik elementler, yaş grupları, analiz örneği ve referans değerler (Thomas, 1998)

<u>Toksik Element</u>	<u>Ortam</u>	<u>Referans Değerler</u>	<u>Toksik Değer</u>
<b>Alüminyum</b>	Serum	2,1 – 4,3 µg/L	> 100 µg/L
	Plazma	3,5 – 4,8 µg/L	
	Tam Kan	2,0 – 7,0 µg/L	
	İdrar	18,0 – 21,0 µg/L	
<b>Arsenik</b>	Tam Kan	0,4 – 12,0 µg/L	
	İdrar	2,3 – 31,0 µg/L	
<b>Kurşun</b>	Tam Kan	50 – 270 µg/L	> 1000 µg/L
	Eritrosit	120 – 450 µg/L	
	İdrar	3 – 18 µg/L	> 250 µg/L
<b>Kadmiyum</b>	Tam Kan	0,32 – 2,72 µg/L	
	İdrar	0,12 – 2,58 µg/L	
<b>Civa</b>	Tam Kan	< 7,2 µg/L	
	İdrar	< 26,4 µg/L	
<b>Talyum</b>	Tam Kan	< 5,0 µg/L	
	İdrar	0,05 – 20,0 µg/L	

Toksik elementler, yaş grupları, analiz örneği ve referans değerler Çizelge 2.5' de gösterilmiştir.

## 2.5 Eser Elementler Hakkında Genel Bilgi

### 2.5.1 Çinko

Çinko, bitkilerin ve hayvanların yetişmesinde ve gelişmesinde gerekli olan temel eser elementlerden biridir. Vücutta demirden sonra en yüksek miktarda bulunan elementtir ve 70 kg' lık bir yetişkin vücudunda 1,4 – 2,3 g arasında bulunur. Çinko, özellikle prostat, sperma, karaciğer, böbrek, retina, kemik, kas gibi dokularda ve vücut sıvılarında zengin içeriklidir.

Eritrositlerdeki çinko içeriği plazmaya nazaran yaklaşık 10 kat daha fazladır. Bunun sebebi karbonik anhidraz gibi çinko içeren enzimlerin varlığıdır.

Biyolojik sistemlerde çinko yalnızca 2+ değerliğinde bulunur. Elektron dizilişinde *d* orbitalinin tam dolu oluşu ekstra bir kararlılık kazandırır. *d* orbitalleri tam dolu olmayan demir, bakır, mangan gibi diğer geçiş metalleri ile çinko arasındaki biyokimyasal farklılıkların temeli budur. Çinko biyolojik indirgenme ve yükseltgenme fonksiyonlarına katılamaz. Çinko, organizmadaki yaklaşık 300 enzim için vazgeçilmez bir bileşendir. İnsan metabolizmasında çinko içeren önemli metaloenzimler; karbonik anhidraz, alkalın fosfataz, RNA ve DNA polimeraz, timidin kinaz, karbosi peptidaz ve alkol dehidrogenaz olarak sayılabilir. Çinko ayrıca protein sentezinde, genlerin yapısal ve enzimatik bazı reaksiyonlarında önemli rol oynar.

Vücuda besin olarak alınan çinkonun ancak % 20 – 30 oranında organizma tarafından absorbe edildiği bilinmektedir. Yüksek protein içerikli gıdalar, örneğin et, balık, günlük ürünler kuvvetli çinko kaynağıdır. Sebzeler ve tahıl ürünlerinden organizmaya çinko alımı fitalatlar, selüloz, hemiselüloz ve diğer lifli yapıların varlığından dolayı engellenir. Ayrıca yüksek miktarlarda kalsiyum, fosfor, demir ve bakır içeriği de çinko yararlanımını negatif etkiler. Çinkonun biyoyararlanımına pozitif etki yapan bileşimler EDTA, lizin, sistein, glisin ve histidin' dir.

Çinko, kanın yapısında % 60 – 70 oranında albumin ile % 30 – 40 oranında  $\alpha_2$  – makroglobulin ile, küçük bir miktarı da transferrin ve serbest aminoasitler ile taşınır.

İnsanlarda çinko eksikliği ilk olarak 1960' lı yılların başlarında tanımlandı ve çinkonun spesifik metabolik etkileri aydınlanmaya başladı. Çinkoya bağımlı klinik hastalıkların keşfi, beslenmede çinkonun önemini gösterir nitelikte olmuştur. Çinko eksikliği dünyada oldukça yaygın görülen bir hastalıktır. İlk olarak 1961 yılında Mısır ve İran' da yaşayan yetişkin erkeklerde lifli besinlerin aşırı tüketimine bağlı olarak çinko eksikliği gözlenmiştir. Daha sonra Türkiye, Portekiz, Yugoslavya ve diğer bazı gelişmekte olan ülkelerde rastlanmıştır. Çinko eksikliğinde görülen klinik özellikler büyüme ve iskelet olgunlaşmasının gecikmesi olarak saptanmıştır. Yetersiz büyüme, tat almada azalma, ve genç erişkinlerde hipogonadizm çinko eksikliği ile tanımlanmıştır. Çinko eksikliği ilerledikçe klinik belirtiler bir spektrum gösterir. Deneysel olarak hafif çinko eksikliği oluşturulan bireylerde oligospermi, ağırlık kaybı, hiperamonemi ve düşük etanol toleransı gözlenmiştir. Orta derece çinko eksikliği çocuklarda ve adolesanlarda büyüme gecikmesi, erkeklerde hipogonadizm, hafif dermatit, iştah kaybı, gecikmiş yara iyileşmesi, anormal karanlık adaptasyonuna sebep olmaktadır.

Şiddetli çinko eksikliğinin belirtileri ağırlık kaybı, diyare, nöropsikiyatrik bozukluklar, yineleyen enfeksiyon ve sonuçta tedavi edilmezse ölümü içerir.

Klinik laboratuvarlarda çalışılan çinko testleri iki grupta yapılır. Birinci grup örneklerde çinko miktarı tayin edilir ve bu örnekler plazma veya serum, kan hücresi, idrar ve tükürüktür. İkinci grupta ise çinkoya bağlı metabolik fonksiyonlar test edilir ve bunlar alkalın fosfat, karbonik anhidraz, nükleosit fosforilaz ve ribonükleaz' dır. Bu çalışmalar enzim aktivasyonu ölçümü temel alınarak yapılır.

### 2.5.2 Bakır

Bakır, biyolojik sistemlerde hem 1+ hem de 2+ elektronik halde bulunmaktadır. Bu temel özellik sayesinde bakır içeren enzimler moleküler oksijen ile bağlanarak indirgenme – yükseltgenme reaksiyonlarında yer alırlar. Bakır elementi seruloplasmin, sitokrom c oksidaz, lizil oksidaz ve tirozinaz içeren birçok metaloenzimin en temel bileşenidir.

Ayrıca bakır demir metabolizmasında da önemli rol oynar. Bakır eksikliği demir absorpsiyonunu zayıflatır ve şiddetli bakır eksikliği anemi hastalığını beraberinde getirir. Plazma içerisinde bakır içeren bir protein olan seruloplasmin plazma transferrine bağlanmak suretiyle, ferrokسيداز aktivitesine sahiptir ve bu sayede ferrous (2+ değerlikli) demiri ferric (3+ değerlikli) demire yükseltir.

Vücuda beslenme yoluyla alınan bakır, bakır – albumin veya bakır – histidin kompleksleri halinde karaciğere taşınır ve orada depo edilir. Karaciğerden genellikle seruloplasmin olarak salınır. Seruloplasmin, plazma içindeki toplam bakır miktarının % 95' ini bünyesinde barındırır. Karaciğerden salınan bakırın hücrelere aktarımı çeşitli enzimler vasıtası ile olur. Organizmada bakırın taşınması işlevi seruloplasmin, transkaprein, bakır – albumin ve bakır – aminoasitleri kompleksleri ile olur.

Yetişkin bir insan vücudunda yaklaşık bakır miktarı 80 – 150 mg arasındadır. Dokulardaki konsantrasyonu 1,5 – 2,5 µg/g düzeyindedir. Temel depolama görevini üstlenen karaciğerde ise yaklaşık 30 – 50 µg/g kadardır. Bu sebepten ötürü aşırı bakır eksikliğinde çeşitli karaciğer rahatsızlıkları gözlenmektedir. Yüksek miktarları barındıran diğer dokular ise kalp, beyin ve böbrektir. Kas ve kemik dokularında daha düşük düzeylerde olmasına rağmen bu yapıların geniş kütlelerinden dolayı toplam bakır içeriğinin % 50' sini içerirler.

Bakır ihtiva eden bitkisel gıdalar çeşitlilik göstermekle beraber, yetiştirildikleri toprağın bakır içeriği de önemli ölçüde besinleri etkilemektedir. Ayrıca karaciğer, kabuklu hayvanlar ve

midye bakır içeriği yüksek, inek sütü ve günlük ürünler ise bakır içeriği düşük besin kaynakları olarak sayılabilir. Tavsiye edilen, güvenli ve yeterli alım günde 1,5 – 3,0 mg olarak belirtilmektedir.

Bakır elementi eksikliğinde Menkes' sendromu ve Wilson' s hastalığı sıkça görülürken yüksek dozlarda ise toksik etki gözlenmektedir. Menkes' sendromu bakır eksikliğinin uç bir şeklidir ve bakırın taşınması ve depolanması işlevi gerçekleştirilemez. Klinik belirtiler yaşamın erken evrelerinde (3 aylıkken) görülür ve 5 yaşlarında ölürlür. Tedavi yoluyla plazmada bakır konsantrasyonu artırılırken idrar yoluyla kuvvetli bakır atılımı gözlenir. Wilson' s hastalığı genellikle 6 – 40 yaşlarda görülen genetik olarak belirlenmiş bakır birikim hastalığıdır. Bakır karaciğer, beyin, böbrek ve korneada birikir.İdrar yoluyla bakır atılımı artmıştır. Serbest ve albumine bağlı bakır artmasına karşın toplam serum bakırı düşük seruloplazmin konsantrasyonu nedeniyle azalır. Bu nedenle, bu hastalık tanısında serum bakır, seruloplazmin ve üriner bakırın aynı zamanda ölçümü bu hastalığın tanısında yararlıdır. Toksik etkinin kaynaklarından biri özellikle hayvan yemlerinde kullanılan bakır tuzlarının gıdalardan insanlara taşınmasıdır. Östrojenler, seruloplasmin sentezini artırıcı etki gösterdiği için kadınlardan alınan serum numunelerinde erkeklerden alınan numunelere nazaran daha yüksek düzeyde bakır bulunmaktadır.

Bakırın aşırı alınımının belirgin toksisite ile sonuçlandığı bilinmektedir. Bakırdan pestisitler, denizcilikte kullanılan kirliliği önleyici boyalar ve kereste koruyucu ajanlarda yararlanılır. Muamele görmüş yeşil kerestede yüksek düzeylerde bakır ve arsenik bulunur.

### **2.5.3 Selenyum**

Selenyum, glutatyon peroksidaz ve iyodatironin deiyodinaz' ların bir bileşenidir ve insan için gerekli bir elementtir. Selenyum, dokularda genellikle selenosistein ve selenometiyonin olmak üzere iki formda bulunur. Selenometiyonin, vücut içinde sentezlenemez ve beslenme yolu ile alınır. Selenometiyonin, selenyum elementini depolayan bir yapı olarak düşünülür ve vücuda bu elementin alımı kesildiğinde organizmanın selenyum kaynağı olarak görev yapar. Selenosistein, DNA tarafından şifrelenmiş yirmibirinci amino asit olarak tanımlanmış sisteinin selenyum içeren bir analogudur. Selenosistein; selenyumun, prokaryotik ve ökaryotik yaşamda yükseltgenme ve indirgenme reaksiyonlarına katılan enzimlerin aktif bölümünü oluşturan, biyolojik olarak etkin formudur. Birçok deneysel çalışma bir amino asit olan selenosisteinin protein sentezinde ribozoma aracılık eden bir yapı olduğunu ortaya



koymuştur. Ayrıca selenyum, mRNA selenosistein ve selenosisteil – tRNA olarak RNA proseslerinde de görev alır.

Organizmada selenosistein; glutatıyon peroksidaz, iyodatironin deiyodinaz, selenoprotein P, selenoprotein W ve tiyoredoksin redüktaz gibi selenoproteinlerin yapısında bulunur. Selenyum, organizmayı oksidan basıncından korur ve tiroid hormonlarının metabolizmasında ve sentezinde görev alır. Glutatıyon peroksidaz; hidrojen peroksit, fosfolipit hidroperoksitler ve diğer serbest hidroperoksitlerin bozunmasında katalizör görevi görür. Eritrosit glutatıyon peroksidaz molekülü içerisinde selenosistein formunda dört adet selenyum atomu barındırır ve bu yapı biyolojik aktivitesi için gereklidir. Uzun süreli selenyum eksikliğinde tüm vücut dokularında glutatıyon peroksidaz aktivitesinde düşüş gözlenir. Glutatıyon peroksidaz aktivitesinin kaybolmasıyla birlikte serbest radikallerin birikiminden ileri gelen hücre membranlarının hasarı gözlenir. Selenyum eksikliği olan annelerin yeni doğmuş çocuklarında adale zayıflığından ileri gelen bir ağrı meydana gelebilir. İyodatironin deiyodinaz' lar, tiroid hormonu moleküllerinden iyotun ayrılmasını sağlarlar. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar selenyum ve iyot eksikliğinin her ikisinin de gözlendiği deneklerde sadece iyot eksikliğine göre daha şiddetli hipotirodizme rastlanmıştır. Diğer bir selenosistein içeren protein olan selenoprotein P, plazmadan izole edilir. Selenyum eksikliğinde kontrol seviyesinden % 10 daha düşük konsantrasyonlara düştüğü gözlenir. Selenoprotein P' nin fonksiyonu tam olarak bilinmemekle beraber, selenyumu karaciğerden testislere taşıdığı tahmin edilmektedir. Selenoprotein W ise kas hücrelerinde bulunan ve selenosistein içeren bir proteindir ve selenyum eksikliğinde konsantrasyonunda düşme gözlenir.

Selenyum içeren amino asitlerden selenometıyonin bitkisel kaynaklardan, selenosistein ise hayvansal kaynaklardan elde edilir. Gıdalardaki selenyum içeriği çeşitlilik göstermekle beraber, protein içeriğine ve yetiştirildiği toprağın selenyum bakımından zenginliğine bağlıdır. Genel olarak gıdalardaki selenyum içeriği; et ve deniz ürünlerinde 0,4 – 1,5 µg/g, sebze ve meyvelerde < 0,1 µg/g olduğu belirtilmektedir. Tavsiye edilen değerler erkekler için 70 µg/gün ve kadınlar için 55 µg/gün' dür.

Selenyum tositiesi akut olarak aşırı doz alımı ile ilgili durumlar haricinde, insanlarda anlamlı sorun yaratmaz. Selenyumun antioksidan aktivitesinden dolayı antikarsinojenik etkili olduğuna inanıldığından, tezgahlarda satılan vitamin preparatlarının pek çoğunda bulunmaktadır. Buna karşın selenyumun kanseri önlediğine ilişkin yeterli kanıt mevcut değildir.

#### 2.5.4 Alüminyum

Alüminyum pek çok uygulaması olan ve çok yönlü kullanılan bir metaldir. Alüminyum bileşikleri farmakolojik olarak antiasit ve büzücü özelliklerinden dolayı kullanılır. Normal fizyolojik koşullarda besinler ile olan günlük alım 5 – 10 mg' dır. Bu miktar böbrek glomerülleri tarafından kandan etkin bir şekilde filtre olur ve tümü ile elimine edilir. Renal yetmezlikli bireyler bu yetilerini kaybettiklerinden, özellikle diyaliz tedavisinde alüminyum tosititesine aday olurlar. Alüminyum içeren diyaliz sıvılarının kullanımı, diyaliz uygulanan kişinin alüminyum yükünü daha da artırır. Bunun yanı sıra, alışlagelmiş bir uygulama, renal yetmezlikli hastalara diyet ile alınan fosfatın emilimini azaltmak ve aşırı fosfat birikimini engellemek için alüminyum bazlı jellerin verilmesidir. Sonuç olarak renal yetmezliği olan hastalar alüminyum biriktirirler. Diyaliz tedavisi sonrası, hastalara diyaliz sırasındaki albumin kaybını yerine koymak amacıyla albumin verilebilir. Bazı albumin ürünlerinin alüminyum içerikleri yüksektir. Alüminyum alımının azaltılması diyaliz sıvısının 10 µg/L' den daha az alüminyum içermesi ve diyaliz sonrası tedavide kullanılan albuminin alüminyumdan arınık olması, alüminyum içeren fosfat bağlayıcılar yerine kalsiyum bağlayıcılar kullanılması ile sağlanır.

Daha yüksek alım durumlarında veya renal fonksiyon bozukluğu olgularında alüminyum kanda birikerek, albumin gibi proteinlere bağlanır, ardından da vücuda yayılır. Alüminyumun aşırı yükü iki önemli yerde beyinde ve böbreklerde birikimine yol açar. Kemikte, alüminyum mineralizasyon çizgisinde kalsiyumun yerine geçerek normal osteoid oluşumunu engeller. Alüminyumun kemikte depolanması normal kalsiyum değiş tokuşunu da engeller; parat hormonun (PTH) fizyolojik kontrolü altında olan kemik kalsiyumunun yeniden kana rezorpsiyonu sağlanamaz. Bu yetersizlik paratiroid bezinin anormal fizyolojik yanıtına neden olur ve alüminyum birikim hastalığına tanı koyduran nadir biyokimyasal profil ile sonuçlanır. Buna karşın, alüminyum ile ilişkili kemik hastalıkları için kesin olan test alüminyuma ait özel boyamayı içeren kemik histomorfometrisidir.

Alüminyum analizlerinde, örnekler alüminyum kontaminasyonunu önlemek için çok dikkatli toplanmalıdır. Örneğin, flebotomide kullanılan, yaygın vakumlu kan toplama aygıtlarının alüminyum silikattan yapılmış lastik kapakları vardır. Kanın toplanması için lastik tıpanın sadece delinmesi bile anormal alüminyum düzeyine neden olacak alüminyum kontaminasyonuna yol açar. Standart vakumlu tüplerde toplanan kan tipik olarak 20 – 60 µg/L alüminyum ile kontaminedir. Alüminyum için hazırlanmış olan özel vakumlu kan tüpleri kullanılmalıdır.

### 2.5.5 Kurşun

Kurşun, çevrede sık bulunan ağır bir metaldir. Hem akut hem de kronik bir toksindir. Ağız yoluyla, inhalasyon veya deriden temas ile alınımlı bir toksiteye yol açar. Kurşun 1970' ten önce imal edilmiş pek çok boyada mevcuttur (% 35 v/v' ye kadar). 1972 yılında ev eşyalarında kullanılan boyaların kurşun içeriği % 0,5' in altında kalacak miktarlara kısıtlanmıştır. Buna karşın, kurşun hala evlerde kullanılan ürünlerin yanı sıra ressamların boyalarında da bulunmaktadır. Nadiren evde kullanılan, ancak ticari olmayan kaynaklardan elde edilen seramik kaseler ve çanaklar anlamlı miktarda kurşun içerebilmekte ve bu kaynaklardaki kurşunun sirke ve meyve suyu gibi zayıf asitlerin etkisi ile ortama geçtiği gözlenmektedir. Kurşun bazlı benzin kullanan taşıtlara bağlı olarak otoyollarda da kurşun birikimine rastlanmıştır. Ancak günümüzde kurşunsuz benzinin kullanımı bu birikmeyi önemli ölçüde azaltmıştır.

Kurşunun vücutta emilime uğrayan anlamlı miktarı eritrosit ve kemiğe hızla dahil olmakla beraber, kurşun tüm dokulara dağılmaktadır. Santral sinir sistemi gibi lipit içeriği yoğun olan dokular, özellikle kurşunun organik formlarına duyarlıdır. Emilen kurşunun tümü, en sonunda idrar ve safra ile atılıma uğrar.

Kurşun toksisitesi çeşitli mekanizmalar ile kendini gösterir. Kurşun 'hem' sentezi için gerekli porfobilinojen (PBG) sentezi ve  $Fe^{2+}$  üretmek için gerekli bir 'hem' sentezleyici enzim olan redüktazı engeller. Redüktazın inhibisyonu, kurşuna maruz kalmanın önemli bir belirtisi olarak eritrositlerde protoporfirin birikimine yol açar. 'Hem' yetersizliğine bağlı anemi, kurşun toksisitesi olgularında sık karşılaşılan bir olgudur. Kurşun, aynı zamanda proteindeki sisteinin sülfidril grupları ile kovalent bağlar oluşturan bir elektrofildir. Sonuç olarak kurşuna maruz kalmış tüm doku proteinleri kendilerine bağlanmış olan kurşunu içerirler. Saç keratin sistein düzeyi diğer amino asitlere kıyasla daha yüksektir ve kurşunu daha hızlı bağlar. Bazı proteinler kurşunu bağladıkça daha kararsız hale dönüşürler çünkü bunların tersiyer yapılarının değişmesine yol açar; santral sinir sistemi hücreleri özellikle bu etkiye eğilimlidirler.

Hastalık Kontrolü ve Önlem Merkezleri (Centers of Disease and Prevention – CDC) kurşun maruziyetinin belirlenmesinin, en iyi testin tam kanda kurşun ölçümü olduğunu bildirmiştir. Çocuklarda 10  $\mu\text{g}/\text{dL}$ ' nin altında olan kurşun düzeyleri normal kabul edilir. Çocuklarda kurşun zehirlenmesi zihinsel yetide azalmaya katkıda bulunur.

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) erişkinlerde 30  $\mu\text{g/dL}$  üzerindeki tam kan kurşun düzeylerini anlamlı oranda maruz kalma göstergesi kabul etmiştir. 60  $\mu\text{g/dL}$ ' nin üzerindeki tam kan kurşun düzeylerinde şelasyon tedavisi gereklidir.

Eritrosit protoporfirin düzeyleri düşük düzeyde kurşuna maruz kalmanın duyarlı bir göstergesi olmamakla beraber, aşırı kurşun dozlarının kesin belirteçleridir. Serum PBG sentaz düzeyleri de orta ve yüksek derecelerde kurşun düzeylerine maruz kalışın yararlı göstergeleridir, ancak düşük kurşun düzeyleri ile korelasyon göstermezler. Serumda kurşun analizi kısıtlı yarar sağlar, çünkü serum kurşun düzeyleri maruz kalıştan sonra ancak kısa bir süre yüksek kalabilir. Normal olarak saç kurşun içeriği 5  $\mu\text{g/g}$ ' den düşüktür; saç kurşun düzeyinde 25  $\mu\text{g/g}$ ' den yüksek olması ciddi oranda maruziyeti yansıtır. Kurşuna maruz kalışı belirlemede, şelasyon tedavisinden önce veya sonra idrarda ekskresyon hızlarının ölçümünden yararlanılmaktadır.

Kan düzeyleri 100  $\mu\text{g/dL}$ ' den yüksek olduğunda, devamlı maruziyetin önlenmesi çok önemlidir. İnorganik kurşunun çocuklar ve yetişkinlerde yan etkileri Çizelge 2.6' de gösterilmiştir.

Çizelge 2.6 İnorganik kurşunun çocuklar ve yetişkinlerde yan etkileri (Burtis ve Ashwood 1999)

<b>Çocuklar</b>	<b>Kan kurşun konsantrasyonu (<math>\mu\text{g/L}</math>)</b>	<b>Yetişkinler</b>
	150	
Ölüm →		
	100	← Ensefalopati
Ensefalopati →		
Nefropati →		← Frank Anemi
Frank Anemi →		
		← Azalmış Yaşam
Kolik →		
		← Hemoglobin Sentezi ↓
		← Periferik Nöropatiler
Hemoglobin Sentezi ↓ →	40	← İnfertilite (Erkeklerde)
		← Nefropati
Vitamin D Metabolizması →	30	← Sistolik Kan Basıncı ↑

		(Erkeklerde)
		← Duyma Duyarlılığı ↓
		← Eritrosit Protoporfirin ↑
Sinir İleti Hızı ↓ →	20	(Erkeklerde)
Eritrosit Protoporfirin ↑ →		← Eritrosit Protoporfirin ↑
		(Kadınlarda)
Gelişen Toksikoloji →		
IQ →		
İşitme →	10	← Hipertansiyon
Büyüme →		
Transplasental Transfer →		

### 2.5.6 Civa

Çevremizde civaya maruz kalma şansı hatırı sayılı derecede bulunmaktadır. Örneğin, pek çok elektrik prizinde civa bir iletici olarak kullanılır. Eski evlerdeki termostatlar elemental civa içerirler. Civa kağıt hamur ve kağıt endüstrisinde beyazlatıcı olarak yaygın kullanılır; kağıt fabrikalarından açığa çıkan atık sıvılar bilinen civa kaynaklarıdır. Civa üretim endüstrisinde plastik sentezinde katalizör olarak kullanılır ve güçlü bir fungusit olduğundan lateks boyalar ve kirliliği engelleyici boyalarda sık bulunur. Deniz ürünlerinde de eser miktarlarda civa vardır. Ticari yolla satılan, yemek açısından emniyetli olan balıklarda civa miktarı 0,3 µg/g' dan azdır. Fakat bazı av balıkları 2 µg/g' dan fazla civa içerirler ve düzenli olarak bunlar ile beslenilirse vücutta civa birikimine yol açabilirler. Civa diş amalgam kitlesinin yaklaşık % 50' den fazlasını oluşturur. Doğada en büyük civa kaynağı granit kayalardan olan sızıntılardır; bu kaynak doğadaki civa birikiminin % 50' sinden sorumludur.

Civa elementel formda ( $Hg^0$ ) toksik değildir.  $Hg^0$ ' ı kimyasal değişime uğratabilecek herhangi bir kimyasal veya biyolojik sistemin yokluğunda oral alımın yan etkilere yol açmaz. Buna karşın  $Hg^0$ , kimyasal olarak iyonize inorganik  $Hg^{2+}$  türüne dönüşünce toksik özellik kazanır.

Endüstriyel alanlardaki kullanımlarda, civanın  $Hg^0$  formunda iken klor gibi bir antioksidana maruz kalması sonucunda kimyasal olarak elementel durumdan iyonize duruma biyodönüşümü gerçekleşir. Elementel civanın, insan bağırsağında, ya da nehirler ve göllerin dibindeki sedimentte mevcut mikroorganizmalar tarafından  $Hg^{2+}$  ve alkil civaya (örneğin,

$\text{CH}_3\text{Hg}^+$  metil civa) biyodönüşümü gerçekleşir. Bu mikroorganizmalar daha büyük deniz canlıları tarafından alınırlarsa, bu toksik civa formları gıda zincirine dahil olur.

Civa toksisitesi üç yol ile kendini gösterir.

1.  $\text{Hg}^{2+}$  proteindeki sülfidril grupları ile reaksiyona girer, proteinin tersiyer yapısında değişikliğe yol açar, bunu da protein ile ilişkili biyolojik aktivite kaybı izler.  $\text{Hg}^{2+}$  düzenli klirens olayları sırasında, böbreklerde konsantre olduğundan, en fazla toksisite bu organlarda yaşanır.
2. Tersiyer yapıdaki değişiklik ile beraber, bazı proteinler immünojenik özellikler kazanırlar ve yeni antijeni bağlayacak immünoglobulinleri üreten B lenfositlerin proliferasyonuna neden olurlar.
3. Alkil civa türleri, özellikle lipofilik olup, nöronlar gibi lipit bakımından zengin dokularda proteinlere bağlanırlar.

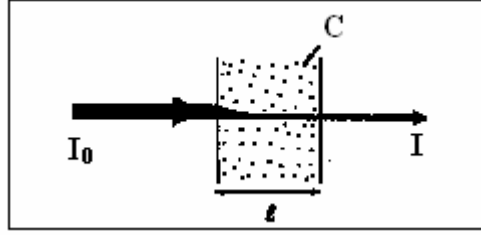
Dental amalgamlardan kaynaklanacak olası civa maruziyeti konusunda endişe duyulmuştur. Restoratif diş hekimliğinde yaklaşık 90 yıldır dolgu materyali olarak gümüş – civa amalgamı kullanılmaktadır. Ağızda mevcut normal bakteriyel flora ile elemental civanın bir kısmı toksik türlere dönüşebilir. Civaya maruz kalma ile ilgili WHO emniyet sınırı günde 45  $\mu\text{g}$  civadır. Eğer bir bireyin maruz kalabileceği başka bir kaynak yok ise, dental amalgamlardan salınan civa önemsizdir. Buna karşın pek çok gıda, özellikle av balıkları civa içermektedir.

Kanda ve idrarda bulunan civa miktarı toksisite derecesi ile korelasyon gösterir. Normal tam kan civa düzeyi genelde 10  $\mu\text{g}/\text{L}$ ' den düşüktür. Meslekleri nedeni ile ılımlı miktarlarda civaya maruz kalan bireylerde kanda rutin olarak 15  $\mu\text{g}/\text{L}$ ' ye varan civa düzeyleri belirlenir. Tam kan civa düzeyi 50  $\mu\text{g}/\text{L}$ ' den yüksek ise anlamlı maruziyete işaret etmektedir. WHO' ya göre günlük idrar ekskresyonunun 50  $\mu\text{g}$ ' dan yüksek olması önemli miktarlara maruz kaldığının işaretidir.

## 2.6 Atomik Absorbsiyon Spektrometrisi

### 2.6.1 Beer Yasası

Moleküler veya atomik absorpsiyon, belirli bir ' $\ell$ ' birim ışın yoluna sahip, ışın geçirgenliği olan bir ortamda, ' $C$ ' konsantrasyonda bulunan analit (moleküler veya atomik) taneciklerinin ışın kaynağından gelen ışının bir kısmını tutmasıdır. Analit konsantrasyonu ile ışın şiddetindeki azalma Şekil 2.1' de gösterildiği gibidir.



Şekil 2.1 Analit konsantrasyonu ile ışın şiddetindeki azalma

Beer yasası matematiksel gösterimi:  $A = -\log T = \log(I_0/I) = \epsilon \ell C$

A : Absorbans

T : Geçirgenlik

$I_0$  : Başlangıç Işın Şiddeti

I : Son Işın Şiddeti

$\epsilon$  : Absorbtivite

$\ell$  : Işın Yolu

C : Konsantrasyon

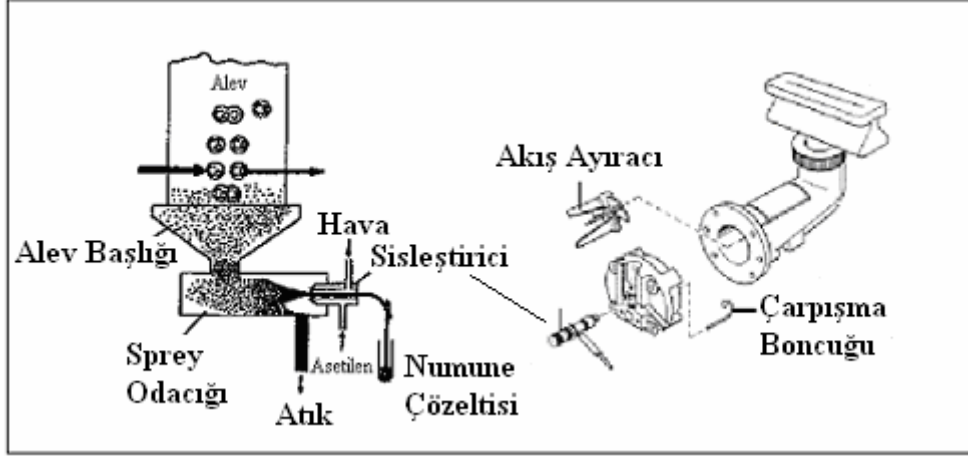
Atomik absorpsiyon spektrometrisi, elementlerin kantitatif tayininde sıklıkla tercih edilen bir yöntemdir. Bu yöntemde, elementleri ölçülebilir hale getirebilmek için ısı enerjisi kullanılır. Isı enerjisi yardımıyla numune içerisindeki analit atomlarına ayrıştırır. Genel olarak alev ve elektrotermal atomlaştırma teknikleri kullanılır. Bunlara ek olarak hidrür atomlaştırma tekniği de bazı elementler için tercih edilen bir yöntemdir.

## 2.6.2 Alev Atomlaştırma

Bir alev atomlaştırıcıda, atomlaşmanın olduğu alev içine numune çözeltisi yanıcı gaz ile karışan yükseltgen gaz akışıyla taşınır ve püskürtülür. İlk olarak çözücü buharlaşır ve çok ince dağılmış bir moleküler aerosol oluşur. Sonra bu moleküllerin çoğunun ayrışması sonucu atomik gaz oluşur. Bu şekilde oluşan atomlar karakteristik dalga boylarındaki ışığı absorblayabilirler.

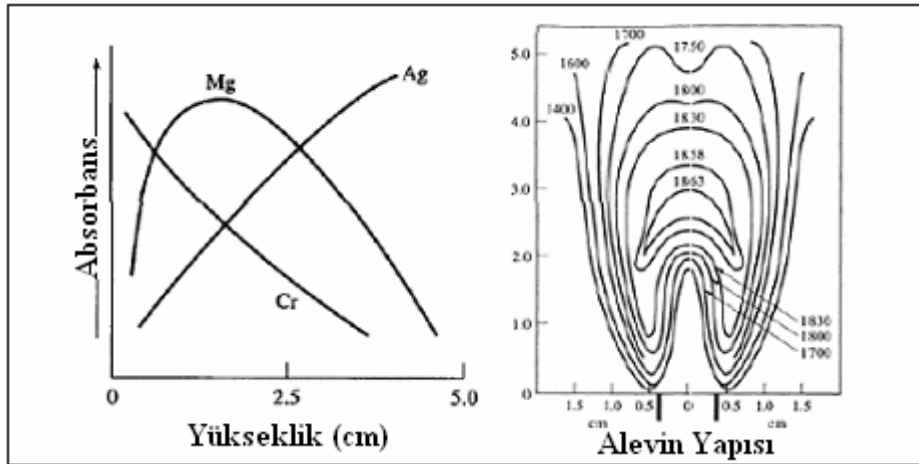
Tipik bir alev atomlaştırıcının yapısı Şekil 2.2' de gösterilmiştir. Alevli atomlaştırıcılarda kullanılan yanıcı gazlar ve yükseltgenler ile bu gazların farklı karışım oranları ile farklı sıcaklık değerlerine ulaşılır. Yaygın olarak kullanılan hava – asetilen ve nitröz oksit – asetilen gaz karışımları kullanılır. Hava – asetilen alevi ile yaklaşık 2100 – 2400 °C, asetilen – nitröz oksit alevi ile yaklaşık 2600 – 2800 °C sıcaklık elde edilir. Genellikle hava – asetilen alevinde 10 cm ışın yollu alev başlığı, asetilen – nitröz oksit alevinde ise 5 cm ışın yollu alev başlıkları kullanılır. Her iki alev tipinde de kullanılabilen 5 cm ışın yollu universal alev başlıkları da

bazı üreticiler tarafından imal edilmektedir. En uygun atomlaşma koşulları deneysel olarak her iki gazın akış hızlarının, geniş bir aralıkta değiştirilip ayarlanmasıyla bulunur. Yanıcı ve yükseltgen uygun stokiyometrik oranlarda karıştırılır. Bununla beraber kararlı oksitler oluşturan metallerin tayini için, yanıcının aşırısını içeren bir alev daha uygundur. Organik çözücüler ile çalışırken yanıcı gaz mümkün olduğu kadar düşük miktarlarda ayarlanmalıdır.



Şekil 2.2 Alev atomlaştırıcının yapısı

Yükseltgen akışı ile oluşan aerosol, yanıcı ile karışır ve çok küçük damlacıklar dışındaki sıvı damlalarını bertaraf etmek için bir seri yüzeye çarptırılır. Çarpmalar sonucu numunenin büyük çaplı damlaları spray odacığının alt kısmından atığa gider. Yapılan çalışmalar spray odacığında çarpışma boncuğu kullanımının hassasiyeti 2 – 3 kat arttırdığını ortaya koymuştur.



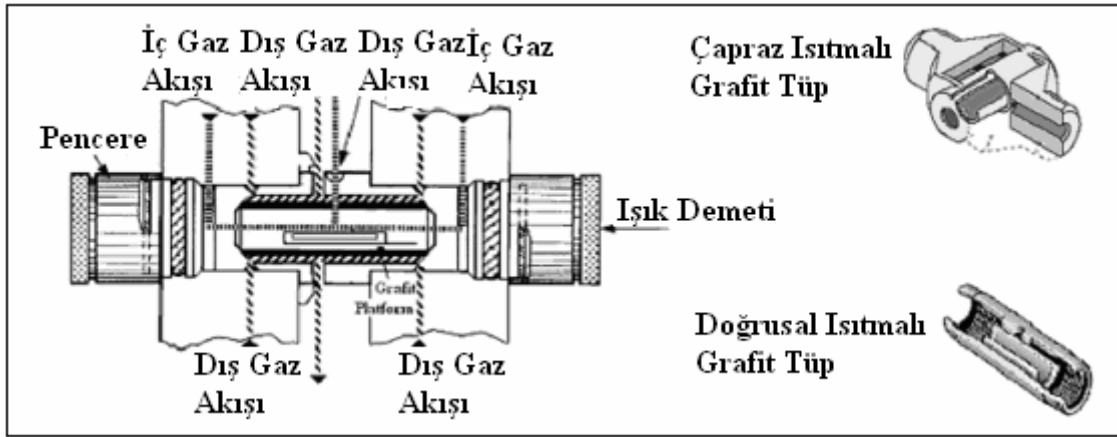
Şekil 2.3 Üç elementin tipik absorban profilleri ve alevin yapısı

Şekil 2.3' de üç elementin tipik absorban profilleri ve alevin yapısı gösterilmiştir. Alevin farklı bölgelerindeki farklı sıcaklık seviyeleri elementlerin atomlaşma verimlerini etkilemektedir. Bu sebeple maksimum analitik duyarlılık elde etmek için, maksimum absorban elde edilinceye kadar alev başlığı, ışın yoluna göre aşağıya ve yukarıya hareket ettirilir.



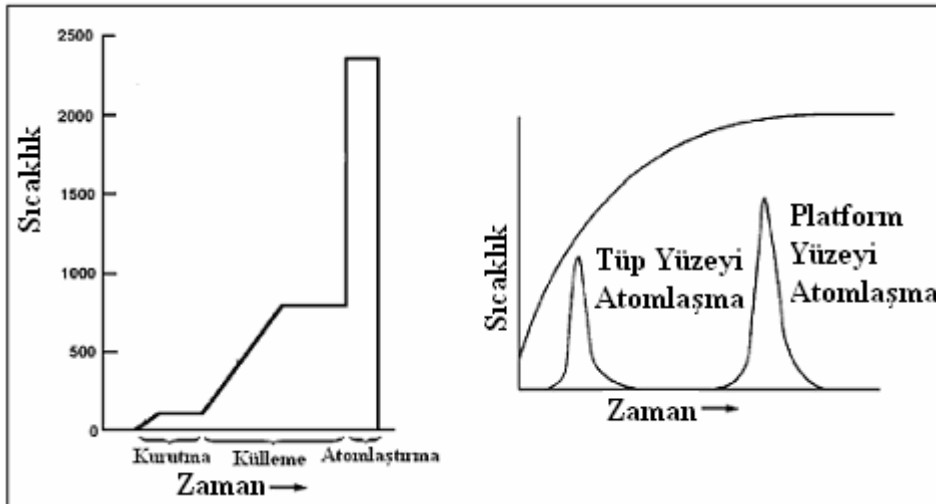
### 2.6.3 Elektrotermal Atomlaştırma

Tipik bir elektrotermal atomlaştırıcı ve grafit tüpün yapısı Şekil 2.4’ de gösterilmiştir. Elektrotermal atomlaştırıcılarda grafit tüp iç yüzeyinde veya grafit platform yüzeyinde, elektriksel olarak ısıtılmak suretiyle, numunenin 10 – 20  $\mu\text{L}$ ’ si önce kurutulur ve sonra kül edilir. Külleme aşamasından sonra yaklaşık 2000 – 3000  $^{\circ}\text{C}$ ’ ye yükselen sıcaklık ile numune atomlarına ayrışır. Elektrotermal atomlaştırıcılar, kısa sürede tüm numunenin atomlaştırılması ve optik yolda atomların ortalama kalma sürelerinin bir saniye veya daha fazla olması sebebiyle hassasiyette artış sağlar.



Şekil 2.4 Elektrotermal atomlaştırıcı ve grafit tüpün yapısı

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



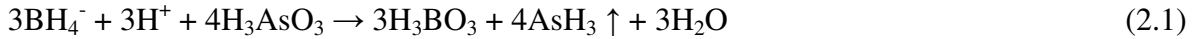
Şekil 2.5 Sıcaklık programı (atomlaşma evresi) ve analit sinyali

Sıcaklık programı (atomlaşma evresi) ve analit sinyali Şekil 2.5’ de gösterilmiştir. Platform, grafiten yapılmıştır ve numune giriş deliğinin altına yerleştirilir. Tüp sıcaklığı hızla yükseltildiği zaman atomlaşma, numune artık doğrudan tüp duvarında olmadığı için gecikir. Atomlaşma işlemi sıcaklığın hızlı değişmediği, nispeten daha az matriksli bir çevrede olur. Böylece daha tekrarlanabilir pikler elde edilir.

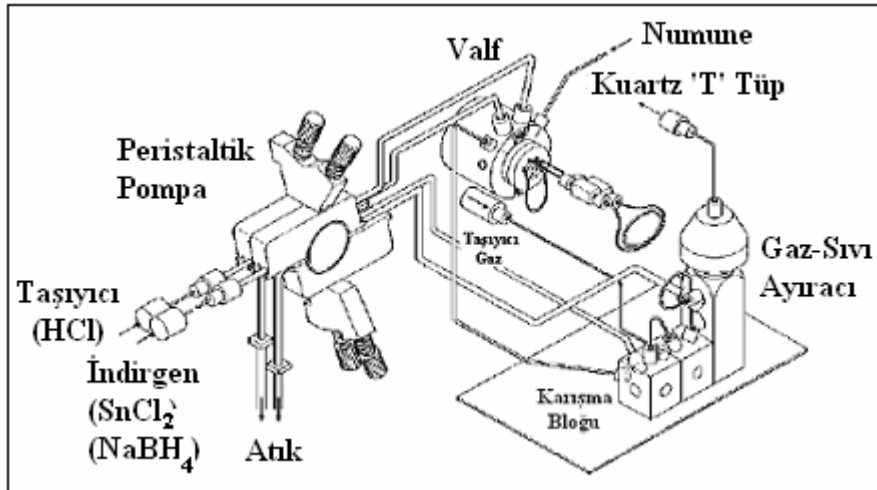
Elektrotermal atomlaştırıcılarda grafit tüpün ısıtılması işlemi düzlem boyunca veya çapraz ısıtma biçiminde olabilir. Bu ısıtma biçimlerine göre grafit tüp şekilleri de değişebilmektedir.

#### 2.6.4 Hidrür Atomlaştırma

Hidrür atomlaştırma teknikleri arsenik, civa, kalay, selenyum, antimon, bizmut elementlerinin hidrür buharları şeklinde atomlaştırıcıya verilmesi yoluyla gerçekleştirilir. Bu elementlerin oldukça toksik olmaları sebebiyle düşük derişimlerinin tayininde hidrür atomlaştırıcılar kullanılır. Hidrür reaksiyonunu genellikle Şekil 2.6’ da gösterilen akış-enjeksiyon sistemi kullanılarak taşıyıcı reaktif (HCl), indirgen (NaBH<sub>4</sub> veya SnCl<sub>2</sub>) ve analit çözeltisinin karışması sonucunda gerçekleşir. Yalnızca civa analizi için indirgen olarak SnCl<sub>2</sub> kullanılarak daha düşük deteksiyon limitleri elde edilebilir.



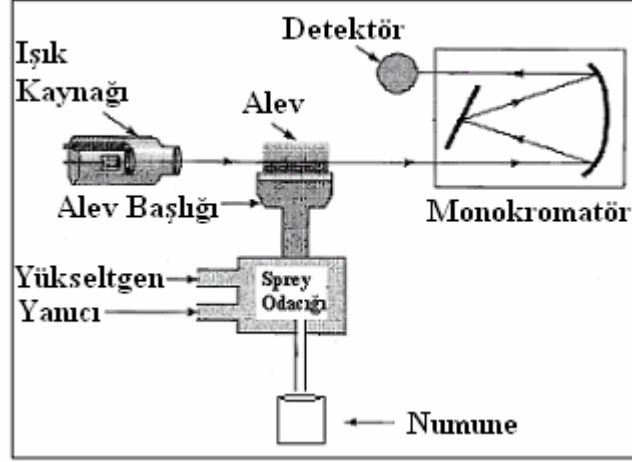
Bir peristaltik pompa yardımıyla çekilen taşıyıcı reaktif ve indirgen yaklaşık 500 µL analit çözeltisi ile karıştırılır ve karışma bloğuna gönderilir. Karışma bloğundan gaz – sıvı ayıracına gelen hidrür buharları atomlaşmanın gerçekleşeceği ‘T’ tüpe taşıyıcı argon gazı ile taşınır. Atomlaşma işlemi için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



Şekil 2.6 Hidrür atomlaştırıcı için kullanılan akış-enjeksiyon sistemi

## 2.7 Atomik Absorbsiyon Spektrometresi

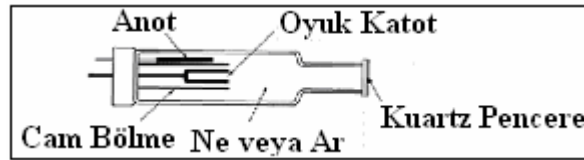
Atomik absorbsiyon spektrometresi cihazları Şekil 2.7’ de gösterildiği gibi temel olarak ışık kaynağı, atomlaşma ünitesi, monokromatör ve detektörden oluşmaktadır.



Şekil 2.7 Atomik absorbsiyon spektrometresinin yapısı

### 2.7.1 Işık Kaynağı

Atomik absorbsiyon spektrometrelerinde en yaygın ışık kaynağı Şekil 2.8’ de görülen oyuk katot lambalardır. Bu tip lambalar 1 – 5 torr basınçta argon veya neon ile doldurulmuş bir cam tüp içinde, bir tarafı kapalı silindirik katot ve bir tungsten anottan ibarettir.

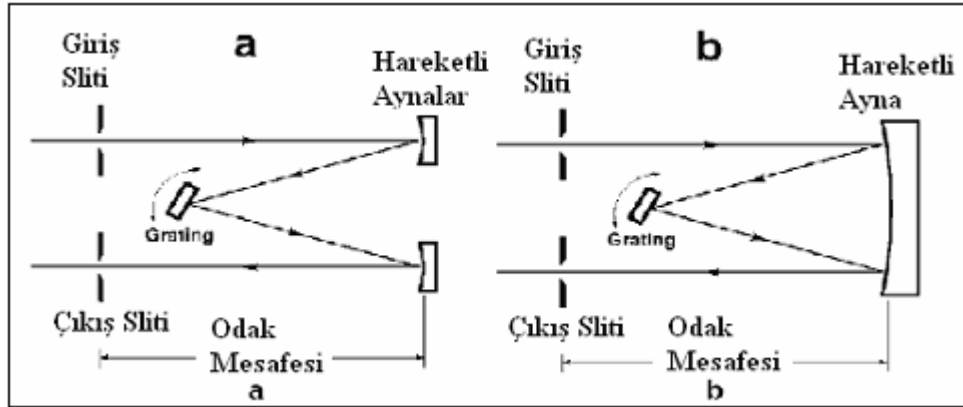


Şekil 2.8 Oyuk katot lambasının yapısı

Katot, spektrumu istenen metalden veya bu metalin bir tabakasını desteklemede kullanılan başka bir metalden imal edilir. Oyuk katot lambaların yaklaşık kullanım ömrü 5000 mA/saat’ tir. Lambaların uygun çalışma akımları elementten elemente değişmektedir. Ayrıca normal oyuk katot lambalara göre daha yüksek akımla çalışan lambalar da düşük deteksiyon limitleri gerektiren bazı elementlerin (civa, kurşun, arsenik v.b.) tayininde sıklıkla kullanılmaktadır. Birçok üretici firma tarafından üretilen çoklu element lambası adı ile anılan oyuk katot lambalar da kullanım alanı bulmaktadır. Çoklu element lambalarının katodu birden fazla metalin alaşımı şeklinde tasarlanmıştır, fakat bazı spektral girişimlerden ötürü istenilen her metal aynı alaşım içerisine dahil edilemez. Buna ek olarak zeeman zemin düzeltmesi olan grafit fırınlı atomik absorbsiyon spektrometrelerinde kullanımı tavsiye edilmez.

### 2.7.2 Monokromatör

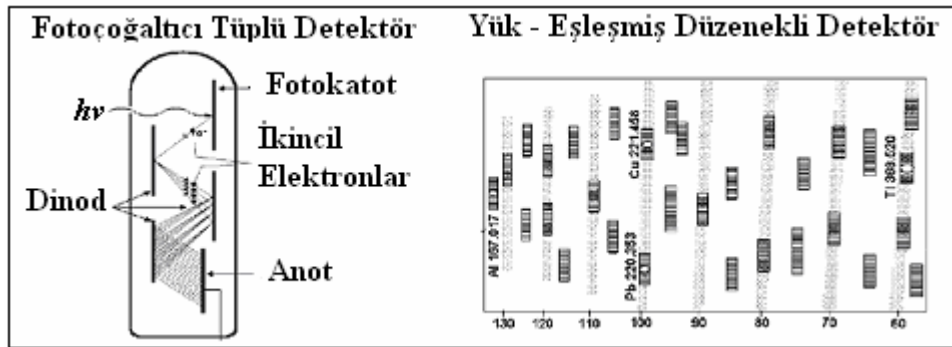
Şekil 2.9’ da genel yapısı gösterilen monokromatörler, analitin dalga boyunu diğer tüm ışın demetinden ayıran dalga boyu seçicileridir. Analizin duyarlılığını azaltan veya girişim yapan diğer çizgilerden ölçüm çizgisini ayırmak için yeterli dar bant (slit) genişliği sağlayabilmelidir. Bu amaçla cihazlar 0,2 – 2 nm aralığında elementin karakteristik dalga boyuna göre değişen çeşitli bant genişliklerinin kullanımına imkan sağlamaktadır. Odak mesafesinin uzunluğu da monokromatörün ışın ayırma gücünü (çözünürlüğünü) arttıran özelliklerden biridir.



Şekil 2.9 a ve b tipi monokromatörün yapısı

### 2.7.3 Detektör

Atomik absorpsiyon spektrometresi cihazlarında genellikle Şekil 2.10’ da gösterilen fotoçoğaltıcı tüplü (PMT) ve yük – eşleşmiş düzenekli (CCD) detektörler kullanılmaktadır.



Şekil 2.10 Fotoçoğaltıcı tüplü detektör ve yük – eşleşmiş düzenekli detektör

Fotoçoğaltıcı tüp detektörler dinod adı verilen ek elektrotlar sayesinde düşük ışın gücünü hassas bir şekilde ölçebilirler. Her bir dinod fotoelektronları ilave elektronlarla bir diğerine aktarır. Yük – eşleşmiş düzeneklerde ışın enerjisini elektrik enerjisine çeviren transduserler

kullanılır. Bu transduserler fotonların oluşturduğu yükleri toplar ve kısa aralıklarla toplanan yük miktarını ölçer.

## **2.8 Atomik Absorbsiyon Spektrometrisinde Girişimler**

Atomik absorbsiyon spektrometrisinde iki tip girişimle karşılaşılır. Girişim yapan türlerin absorbsiyon veya emisyon çizgileri, analitin esas çizgisiyle örtüştüğünde veya monokromatörün ayıramayacağı kadar ona yakın olduğu zaman spektral girişim ortaya çıkar. Kimyasal girişimler, analitin absorbsiyon karakteristiğini değiştiren ve atomlaşma sırasında oluşan çeşitli kimyasal olaylardan ileri gelir.

Oyuk katot kaynakların emisyon çizgilerinin çok dar olması nedeniyle, çizgilerin örtüşmesinden ileri gelen girişim az görülür. Spektral girişimler, ışınların saçılmasına sebep olan katı tanecikli ürünlerden veya geniş bant absorbsiyonu oluşturan yanma ürünlerinden de ileri gelebilir. Bu tür bir girişim şahit (kör) çözeltisinin ölçülmesi ile ortadan kaldırılabilir. Saçılmadan ileri gelen girişimler, numunenin organik türler içerdiği veya numuneyi çözümede organik çözücüler kullanıldığında da gözlenebilir.

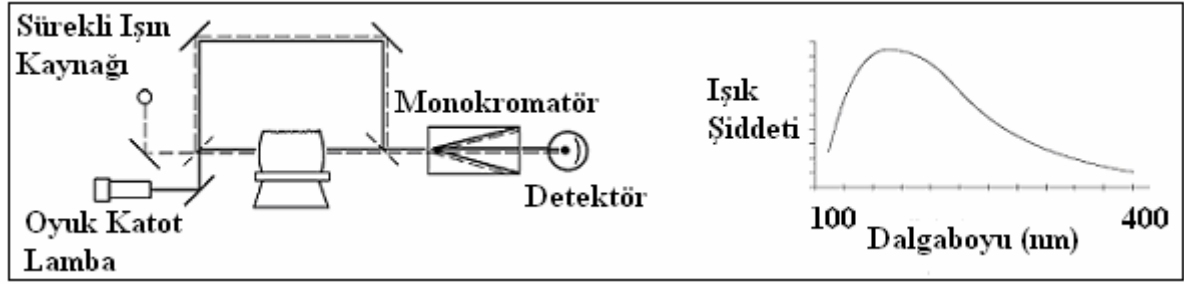
Alev atomlaştırıcıda, matriks ürünlerinin girişimleriyle geniş ölçüde karşılaşılmaz ve çoğu zaman yanıcı/yükseltgen oranı gibi analitik değişkenlerin ayarlanmasıyla önlenir. Matriks girişim problemi elektrotermal atomlaştırıcılarda daha önemlidir. Fakat platform teknolojisindeki gelişmeler, yüksek kaliteli grafit materyaller, hızlı fotometrik ölçüm ve zeeman tipi zemin düzeltme ile bu tip girişimler en aza indirilmiştir. Elektrotermal atomlaştırıcılarda ortam düzenleyici (matriks modifier) reaktifler de sıklıkla kullanılmaktadır. Bu sayede analitin külleme ve atomlaşma sıcaklıkları en iyi absorbans sinyalinin alınacağı bölgeye taşınmış olur.

## **2.9 Zemin Düzeltme Teknikleri**

### **2.9.1 Sürekli Işın Kaynağı İle Düzeltme Tekniği**

Döteryum lamba, ultraviyole bölgesindeki sürekli ışın kaynağını oluşturur. Sürekli ışın kaynağı ve oyuk katot lambadan gelen ışınlar Şekil 2.11' de gösterildiği gibi yol üzerindeki kesicinin yardımıyla atomlaştırıcıdan sırası ile geçerler. Döteryum lambanın ışınının absorbansı, analitin ışınının absorbansından çıkarılır. Böylece bir zemin düzeltme yapılır.

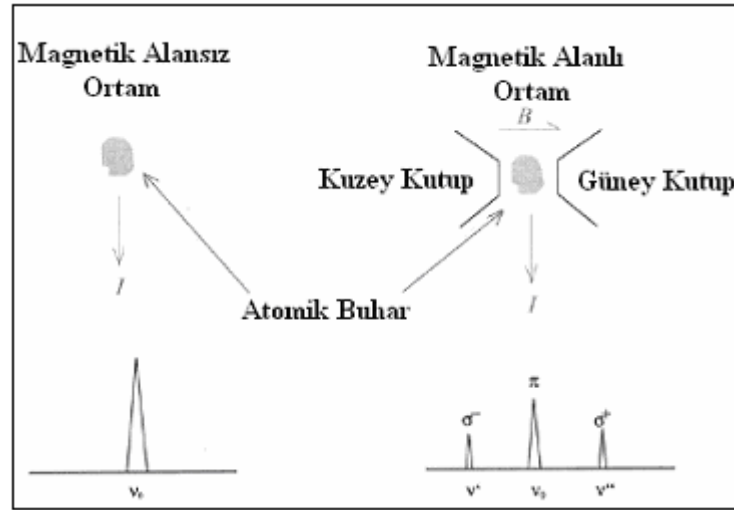
Fakat 350 nm' den daha büyük dalga boylarında döteryum lambanın zemin düzeltmesi yetersiz kalmaktadır.



Şekil 2.11 Sürekli ışın kaynağı ile düzeltme

## 2.9.2 Zeeman Etkisine Dayanan Düzeltme Tekniği

Bir atomik buhar, kuvvetli magnetik alana tutulduğu zaman, atomların elektronik enerji seviyelerinde her bir elektronik geçişte birçok absorpsiyon çizgisinin oluşumuna yol açar, Şekil 2.12' de gösterildiği gibi bir yarıлма gözlenir. Oluşan yeni çizgilerin absorpsansları toplamı, onların oluştuğu orijinal çizginin absorpsansına tam olarak eşittir.



Şekil 2.12 Magnetik alan içerisinde atomların elektronik enerji seviyelerindeki yarıлма Zeeman etkili cihazlar, özellikle elektrotermal atomlaştırıcılar için yararlı olup idrar ve kan gibi numunelerdeki elementlerin tayininde sıkça kullanılmaktadır.

## 2.10 Önceki Çalışmalar

Parker vd.' nin (1967) çalışmasındaki ilk yöntemde, serumda bakır ve çinko analizi , serum numunesi eşit hacimde saf su ile seyreltilerek alevli atomik absorpsiyon spektrometresinde yapılmıştır. Yine bu çalışmada kullanılan ikinci yöntemde serum numunesi eşit hacimde % 8

(w/v) TCA (trikloroasetik asit) ile karıştırılarak 5 dakika süre ile bekletilmiş ve daha sonra santrifüj edilmiştir. Proteinlerin çöktürülmesi sonucunda elde edilen süzöntü alevli atomlaştırıcıda analiz edilmiştir. Bu iki yöntem için geri kazanım testi Çizelge 2.7' da gösterilmiştir.

Çizelge 2.7 Parker vd.' nin (1967) serumda çinko ve bakır analizi geri kazanım testi

<b><u>İlk Yöntem</u></b>			
<b><u>Cu (µg/100 mL)</u></b>		<b><u>Zn (µg/100 mL)</u></b>	
<b><u>Serum</u></b>	<b><u>Serum + 25 µg Cu</u></b>	<b><u>Serum</u></b>	<b><u>Serum + 25 µg Zn</u></b>
138	165	70	94
139	162	71	94
137	163	71	92
136	162	72	93
137	161	72	90
140	-	71	-
141	-	72	-
139	-	71	-
139	-	72	-
140	-	72	-
<b>Ortalama</b>	139	72	93
<b>% Geri Kazanım</b>	99,3		95,8
<b><u>İkinci Yöntem</u></b>			
<b><u>Cu (µg/100 mL)</u></b>		<b><u>Zn (µg/100 mL)</u></b>	
<b><u>Serum</u></b>	<b><u>Serum +100µg Cu</u></b>	<b><u>Serum</u></b>	<b><u>Serum +100µg Zn</u></b>
146	245	74	170
148	245	80	174
148	248	73	170
146	247	74	172
145	247	72	169
<b>Ortalama</b>	147	75	171
<b>% Geri Kazanım</b>	99,8		96,5

İdrarda çinko tayini için, idrar numunesinin hem seyreltilerek hem de direkt çalışılabileceği belirtilmiştir. Bakır içeriği ise daha düşük konsantrasyonlu olduğu için ön zenginleştirme yapılmıştır. Metalden arındırılmış 1 M sodyum asetat veya nitrik asit ile idrar numunesi pH

5,5 ' e ayarlanır. Sodyum asetat çözeltisini metalden arındırmak için; 100 mL sodyum asetat çözeltisi 2 mL % 5' lik (w/v) APDC (amonyum pirolidin ditiyokarbamat) ile muamele edilmiş ve 10 mL MIK (metil izobutil keton) ile ekstrakte edilmiştir. pH 5,5' e ayarlanan idrar çözeltisine 1 mL % 5' lik APDC ve 10 mL MIK eklenerek 3 dakika karıştırılmış ve santrifüj edilmiştir. Bakır konsantrasyonu 5 kat deriştirilmiş olarak alevli atomlaştırıcıda ölçülmüştür. Yapılan analizin geri kazanım testi Çizelge 2.8' de gösterilmiştir.

Çizelge 2.8 Parker vd.' nin (1967) idrarda çinko geri kazanım testi

<b>Zn (mg/L)</b>		
<b>İdrar</b>	<b>İdrar + 0,25 mg Zn</b>	<b>İdrar + 0,5 mg Zn</b>
0,200	0,450	0,660
0,190	0,442	0,660
0,190	0,425	0,665
0,190	0,435	0,665
0,195	0,430	0,670
<b>Ortalama</b> 0,193	0,436	0,664
<b>% Geri Kazanım</b>	98,4	95,8

Meret ve Henkin' in (1971) çalışmasında, serum, idrar ve omurilik sıvısında (CSF) bakır ve çinko tayini yapılmıştır. 0,5 mL numune 4,5 mL % 6' lık n-butil alkol ile seyreltilerek alevli atomlaştırıcıda direkt olarak çalışılmıştır. Çalışma standartları hazırlanırken 10 mL 1,5 mol/L NaCl eklenerek 100 mL' ye % 6' lık n-butil alkol ile seyreltilmiştir. Çalışılan metodun tekrarlanabilirlik ve tekrar yapılabilirlik testleri ile geri kazanım testi sonuçları Çizelge 2.9' de gösterilmiştir.

Çizelge 2.9 Meret ve Henkin' in (1971) tekrarlanabilirlik ve tekrar yapılabilirlik testleri ile geri kazanım testi sonuçları

<b>Numune</b>	<b>30 Günün Ortalaması (µg/100 mL)</b>	<b>Standart Sapma (µg/100 mL)</b>	<b>10 Okuma Ortalaması (µg/100 mL)</b>	<b>Standart Sapma (µg/100 mL)</b>	<b>Geri Kazanım %</b>
Serum Cu	221	2,2	221	0,99	101 ± 0,5
Zn	112	2	111	1,1	99,2 ± 0,4
İdrar Cu	14	2,1	14	0,88	101,7 ± 0,5
Zn	131	2,2	132	1,7	101,2 ± 0,7
CSFCu	16	1,2	16	1,6	101,6 ± 0,7
Zn	15	1,1	15	1,9	100 ± 0



Smith ve Butrimovitz' in (1979) çalışmasında, plazmada çinko tayini alevli atomlaştırıcı ile çalışılmıştır. Çalışma standartları % 5' lik gliserol çözeltisi içinde hazırlanmıştır. 0,5 mL plazma numunesi 2 mL saf su ile seyreltilerek analiz edilmiştir. 0 – 50 – 100 mL/L gliserol çözeltilerinin viskoziteleri sırasıyla 0,90 – 1,04 – 1,24 olarak ve 5 kat saf su ile seyreltilmiş plazmanın viskozitesi ise 0,98 olarak ölçülmüştür. Referans serum numunesi ile yapılan laboratuvarlar arası karşılaştırma Çizelge 2.10' da gösterilmiştir.

Çizelge 2.10 Smith ve Butrimovitz' in (1979) laboratuvarlar arası karşılaştırma

	<b><u>Referans Serum (µg/dL)</u></b>		
	<b><u>Düşük Zn</u></b>	<b><u>Normal Zn</u></b>	<b><u>Yüksek Zn</u></b>
Bu laboratuvar	70 ± 0,0	90 ± 0,0	158 ± 5,0
Diğer laboratuvarlar	63 ± 7,7	87 ± 11	147 ± 17

Almeida ve Lima' nın (2001) çalışmasında, idrarda ve serumda bakır analizi grafit fırın atomlaştırıcıda çalışılmıştır. Kalibrasyon standartları ve idrar numuneleri otomatik örnekleyici içinde 1:1 oranında matriks düzenleyici (% 0,1 (v/v) Triton X-100, % 0,03 (w/v) Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, % 0,05 Pd (w/v)) ile seyreltilmiştir. Serum numuneleri ise öncelikle saf su ile 1:24 oranında daha sonra matriks düzenleyici ile 1:1 oranında seyreltilmiştir. Enstrümantal parametreler ve fırın programı Çizelge 2.11' da gösterilmiştir.

Çizelge 2.11 Almeida ve Lima' nın (2001) enstrümantal parametreler ve fırın programı

<b><u>Enstrümantal Parametreler</u></b>				
Lamba akımı :	10 mA	Dalgaboyu :	324,8 nm	
Bant genişliği :	0,7 nm, düşük	Zemin düzeltmesi :	Zeeman etkili	
Ölçüm modu :	Pik alanı (Abs.)	İntegrasyon zamanı :	6 s	
Enjeksiyon hacmi :	20 µL	Enjeksiyon Sıcaklığı :	20 °C	
<b><u>Fırın Programı</u></b>				
<b><u>Basamak</u></b>	<b><u>Sıcaklık (°C)</u></b>	<b><u>Çıkış Süresi (s)</u></b>	<b><u>Kalış Süresi (s)</u></b>	<b><u>Argon Akışı (mL/dakika)</u></b>
1	110	1	20	250
2	130	5	30	250
3	1200	10	40	250
4	2000	0	5	0
5	2400	1	5	250

Serum ve idrar numunelerinin ölçüm tekrarlanabilirliği, çalışmalar arası ve günler arası tekrar yapılabilirliği istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve Çizelge 2.12' de gösterilmiştir.

Çizelge 2.12 Almeida ve Lima' nın (2001) istatistiksel değerlendirme

<b>Tekrarlanabilirlik (% bağıl standart sapma) : 20 µg/L standart için % 1,3</b>			
<b>26 µg/L idrar için % 2,4</b>			
<b>29 µg/L serum için % 1,4</b>			
<b>Günler arası</b>	$F_{hesap} : 0,00267$	$F_{tablo} : 3,35413$	
<b>Tüm ölçümler arası</b>	$F_{hesap} : 0,00259$	$F_{tablo} : 3,38607$	
	<b><u>Gün 1/1 ve 1/2</u></b>	<b><u>Gün 2/1 ve 2/2</u></b>	<b><u>Gün 3/1 ve 3/2</u></b>
$t_{hesap}$	0,16344	-1,21135	-0,77918
$t_{tablo}(p = 0,05)$	2,26216	2,26216	2,26216

Metot deteksiyon limiti ve tayin limiti sırası ile 0,98 ve 3,3 µg/L' dir. Lineer aralık 0 – 100 µg/L ve korelasyon katsayısı ( $R^2$ ) 0,9982 ile 0,9995 arasında değişmektedir. Sertifikalı referans malzemelerle yapılan analizde 28 µg/L olan idrarda bakır konsantrasyonu 30,3 olarak, 126 µg/L olan serumda bakır konsantrasyonu 130,3 olarak bulunmuştur.

Montel vd.' nin (2003) çalışmasında, serumda selenyum analizi grafit fırın atomlaştırıcıda çalışılmıştır. Kalibrasyon standartları ve serum numuneleri 1:4 oranında matriks düzenleyici (% 1 (w/v) nikel nitrat, % 2 (w/v) magnezyum nitrat, % 0,5 (v/v) Triton X-100) ile seyreltilmiştir. Enstrümantal parametreler ve fırın programı Çizelge 2.13' de gösterilmiştir.

Çizelge 2.13 Montel vd. ' nin (2003) enstrümantal parametreler ve fırın programı

<b><u>Enstrümantal Parametreler</u></b>				
EDL Lamba akımı :	5 W	Dalgaboyu :	196,0 nm	
Bant genişliği :	0,7 nm, düşük	Zemin düzeltmesi :	Zeeman etkili	
Ölçüm modu :	Pik alanı (Abs.)	Enjeksiyon hacmi :	20 µL	
<b><u>Fırın Programı</u></b>				
<b><u>Basamak</u></b>	<b><u>Sıcaklık (°C)</u></b>	<b><u>Çıkış Süresi (s)</u></b>	<b><u>Kalış Süresi (s)</u></b>	<b><u>Argon Akışı (mL/dakika)</u></b>
1	110	5	10	300
2	150	5	25	300
3	1180	5	25	300
4	2400	1	5	0
5	2400	1	3	300

Metot deteksiyon limiti 8 µg/L ve lineer aralık 0 – 400 µg/L olarak belirtilmiştir.

Feuerstein ve Schlemmer' in (1999) çalışmasında, serumda selenyum analizi grafit fırın atomlaştırıcıda standart katma metodu ile çalışılmıştır. Kalibrasyon standartları 0 – 150 µg/L aralığında % 0,2 (v/v) nitrik asit içerecek şekilde hazırlanmıştır. Kalibrasyon standartlarına belirli hacimde serum numunesi eklenmiştir. Serum numuneleri eşit hacimde % 0,2 Triton X-100 ve yine aynı hacimde kör (şahit) numunesi ile seyreltilmiştir. Enjeksiyon işlemi 10 µL standart veya numune ve 5 µL matriks düzenleyici (% 0,1 Pd ve % 0,06 Mg) olmak üzere toplam 15 µL olarak yapılmıştır. Enstrümantal parametreler ve fırın programı Çizelge 2.14' de gösterilmiştir.

Çizelge 2.14 Feuerstein ve Schlemmer ' in (1999) enstrümantal parametreler ve fırın programı

<b><u>Enstrümantal Parametreler</u></b>					
Lamba akımı :	290 mA	Dalgaboyu :	196,0 nm		
Bant genişliği :	2 nm, düşük	Zemin düzeltmesi :	Zeeman etkili		
Ölçüm modu :	Pik alanı (Abs.)	Enjeksiyon hacmi :	15 µL		
<b><u>Fırın Programı</u></b>					
<b><u>Basamak</u></b>	<b><u>Sıcaklık (°C)</u></b>	<b><u>Çıkış Süresi (s)</u></b>	<b><u>Kalış Süresi (s)</u></b>	<b><u>Gaz Akışı (mL/dakika)</u></b>	<b><u>Gaz Tipi</u></b>
1	110	1	30	250	Argon
2	130	15	30	250	Argon
3	600	15	40	250	Hava
4	600	1	5	250	Argon
5	1000	15	35	250	Argon
6	2150	0	5	0	-
7	2500	1	5	250	Argon

Grafit fırın programında 3. ve 4. basamaklarda 600 °C' lik ekstra ısıtma işlemi ve 3. basamakta argon yerine hava gazının inert gaz olarak kullanılmasının sebebi serum ve kan örneklerinin yüksek protein yapısından ileri gelmektedir. Bu yüksek karbonlu yapı grafit tüp veya platform yüzeyinde önemli birikmelere yol açar. Bu sebeple grafit materyalin en az zarar göreceği bir sıcaklıkta ve oksidasyonun daha etkili gerçekleşeceği bir inert gaz ile karbonlu yapının uçurulması sağlanmıştır.

Metot deteksiyon limiti 2 µg/L ve karakteristik kütle 40 pg olarak beyan edilmiştir. Çizelge 2.15’ de referans bir laboratuarda, referans numune analiz sonuçları ile yapılan karşılaştırma gösterilmiştir.

Çizelge 2.15 Feuerstein ve Schlemmer ‘ in (1999) referans laboratuarda yapılan referans numune değerleri ile karşılaştırma

Örnek Numarası	Bu Laboratuar	Referans Laboratuar/ Referans Değer	RSD (%)
1	77	79	1,1
2	74	70	0,3
3	78	69	1,5
4	75	77	2,5
5	115	100	1,5
6	76	83	0,8
7	76	87	0,9
8	121	99	1,7
9	93	97	3
10	78	80	1,7
11	130	136	0,8
Seronorm (CRM)	77	80 (70 – 92)	2,2

Gunter vd.’ nin (1999) çalışmasında, serumda ve kanda selenyum analizi grafit fırın atomlaştırıcıda yapılmıştır. Kan ve serum numuneleri 1/10 (v/v) matriks düzenleyici (% 15 HNO<sub>3</sub> içinde 10g/L Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) ile seyreltilmiştir. Standartlar 1 g/L stok standarttan % 1 HNO<sub>3</sub> ile seyreltilerek 50, 100, 200, 400 ve 600 µg/L olarak hazırlanıp daha sonra matriks düzenleyici ile 1/10 seyreltilmiştir. Lineer aralık 0 – 60 µg/L’ dir. Kör (şahit) numunesi için saf su 1/10 matriks düzenleyici ile seyreltme yapılmıştır. Enstrümantal parametreler Çizelge 2.16’ de, fırın programı, sertifikalı referans malzeme ile yapılan analiz sonuçları ve istatistiksel değerlendirme 2.17’ da gösterilmiştir.

Çizelge 2.16 Gunter vd.’ nin (1999) enstrümantal parametreler

<b><u>Enstrümantal Parametreler</u></b>			
Lamba akımı :	290 mA	Dalgaboyu :	196,0 nm
Bant genişliği :	0,7 nm, düşük	Zemin düzeltmesi :	Zeeman etkili
Ölçüm modu :	Pik alanı (Abs.)	Enjeksiyon hacmi :	20 µL

Metot deteksiyon limiti 3,4 µg/L ve karakteristik kütle 39,1 pg' dır. Seronorm marka sertifikalı referans malzemelerle yapılan tekrarlanabilirlik ve geri kazanım değerleri sırasıyla % 4,5 ve % 102,3 olarak belirtilmiştir. Kalibrasyon eğrisinin korelasyon katsayısı ( $R^2$ ) 0,9992' dir.

Çizelge 2.17 Gunter vd.' nin (1999) fırın programı, sertifikalı referans malzeme ile yapılan analiz sonuçları ve istatistiksel değerlendirme

<b><u>Fırın Programı</u></b>				
<b><u>Basamak</u></b>	<b><u>Sıcaklık (°C)</u></b>	<b><u>Çıkış Süresi (s)</u></b>	<b><u>Kalış Süresi (s)</u></b>	<b><u>Argon Akışı (mL/dakika)</u></b>
1	110	1	20	250
2	130	1	30	250
3	1250	5	30	250
4	2000	0	3	0
5	2500	1	3	250
<b>Seronorm Tam Kan Sertifikalı Referans Malzeme Selenyum Konsantrasyonları</b>				
<b>Gerçek Değer (1,01 µmol/L)</b>				
	<b><u>Birinci Gün</u></b>	<b><u>İkinci Gün</u></b>	<b><u>Üçüncü Gün</u></b>	
	1,06	1,03	1	
	1,01	0,95	1,03	
	1	0,95	1,06	
	1,1	1,1	1	
	1,1	1,01	1,07	
	1,03	1,1	1,05	
	1,02	1,07	1,01	
	1,06	1,01	1,02	
	1,05	1,07	0,98	
	0,92	1,07	1,03	
<b>Ortalama</b>	1,03	1,03	1,02	
<b>RSD (%)</b>	5	5,5	2,8	
<b>Geri Kazanım (%)</b>	102,5	102,6	101,6	
<b>t<sub>hesap</sub></b>	1,567	1,512	1,807	
<b>t<sub>tablo</sub> (p = 0,05)</b>	2,262	2,262	2,262	

Burtis ve Ashwood (1999)' da yer alan metotta, serumda alüminyum analizi grafit fırın atomlaştırıcıda standart ekleme metodu ile çalışılmıştır. 5 mg/L' lik ara standart, 1000 mg/L

stok çözeltiliden % 0,2 HNO<sub>3</sub> ile seyreltilerek, 5, 10, 20, 40, 80, 160 µg/L çalışma standartları ara standarttan matriks düzenleyici (% 0,2 Triton X-100 içinde 1g/L magnezyum nitrat) ile seyreltilerek hazırlanmıştır. Serum numuneleri 1:1 oranında matriks düzenleyici ile seyreltilmiştir. Kör (şahit) ve standartlar alüminyum konsantrasyonu 1 µg/L' den daha düşük serum numunesi ile 1:1 oranında karıştırılmıştır. Enstrümantal parametreler ve fırın programı Çizelge 2.18' de gösterilmiştir.

Çizelge 2.18 Burtis ve Ashwood (1999) enstrümantal parametreler ve fırın programı

<b>Enstrümantal Parametreler</b>			
Dalgaboyu :	309,3 nm	Enjeksiyon hacmi :	10 µL
Zemin düzeltmesi :	Zeeman etkili	Ölçüm modu :	Pik alanı (Abs.)
<b><u>Fırın Programı</u></b>			
<b><u>Basamak</u></b>	<b><u>Sıcaklık (°C)</u></b>	<b><u>Çıkış Süresi (s)</u></b>	<b><u>Kalış Süresi (s)</u></b>
1	110	5	30
2	160	5	10
3	1300	10	20
4	2500	0	6
5	20	1	5

Almeida ve Lima' nın (2000) çalışmasında, serumda alüminyum analizi grafit fırın atomlaştırıcıda çalışılmıştır. 0, 25, 50, 75, 100, 200 µg/L kalibrasyon standartları ve serum numuneleri 1:1 (400 µL + 400 µL) oranında matriks düzenleyici (1 g/L K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, % 0,5 (v/v) Triton X-100 ve % 0,2 (v/v) HNO<sub>3</sub>) ile seyreltilerek hazırlanmıştır. Serum numunelerinin yüksek proteinli yapısının grafit fırın içerisinde daha etkin parçalaması için 1 mol/L tetrametilamonyum hidroksit (TMAH)' den 5 µL hacminde enjeksiyon yapılmıştır.

Metot deteksiyon limiti 0,13 µg/L, tayin limiti 0,41 µg/L' dir. Karakteristik kütle 34 pg olarak hesaplanmıştır. Tekrarlanabilirlik ölçümleri 25 – 200 µg/L aralığındaki kalibrasyon standartları ile yapılmış ve bağıl standart sapma % 3' den daha düşük bulunmuştur.

Çizelge 2.19 Almeida ve Lima' nın (2000) enstrümantal parametreler

<b>Enstrümantal Parametreler</b>			
Lamba akımı :	15 mA	Dalgaboyu :	309,3 nm
Bant genişliği :	0,7 nm, düşük	Zemin düzeltmesi :	Zeeman etkili
Numune enjeksiyon hacmi :	15 µL	TMAH enjeksiyon hacmi :	5 µL

Çizelge 2.20 Almeida ve Lima' nın (2000) fırın programı ve sertifikalı referans malzeme ile yapılan analiz sonuçları

<b><u>Fırın Programı</u></b>				
<b><u>Basamak</u></b>	<b><u>Sıcaklık (°C)</u></b>	<b><u>Çıkış Süresi (s)</u></b>	<b><u>Kalış Süresi (s)</u></b>	<b><u>Argon Akışı (mL/dakika)</u></b>
1	140	1	25	250
2	150	5	25	250
3	1500	10	30	250
4	2400	0	4	0
5	2400	1	2	250

**Seronorm Serum Sertifikalı Referans Malzeme Alüminyum Konsantrasyonları**

**Gerçek Değer (67µg/L )**

**Sonuçlar(µg/L)**

<b>Bu çalışma</b>	60,1 (57,7 – 62,4)
<b>A ve C laboratuvarları</b>	63 (57 – 69)
<b>B laboratuvarı</b>	70 (64 – 79)

Enstrümantal parametreler Çizelge 2.19' de, fırın programı ve sertifikalı referans malzeme ile yapılan analiz sonuçları 2.20' da gösterilmiştir.

Brown vd.' nin (1984) çalışmasında, serumda alüminyum analizi grafit fırın atomlaştırıcıda protein çöktürmesi ve standart ekleme metotları ile yapılmış bu iki metot sonuçları karşılaştırılmıştır. Standart ekleme metodunda 200 µL serum ve 400 µL matriks düzenleyici toplam hacmi 1 mL olan 0 – 120 µg/L aralığındaki çalışma standartları hazırlanırken kullanılmıştır. Matriks düzenleyici 1,05 g Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> ve 2 mL Triton X-100 saf su ile 1 L' ye tamamlanarak hazırlanmıştır. Diğer yöntemde 1 mL serum numunesi 50 µL HNO<sub>3</sub> ile çöktürülerek 10 dakika santrifüj edilmiş ve elde edilen süzüntü standart ekleme metodu ile Çizelge 2.21' de gösterilen aynı enstrümantal şartlarda analiz edilmiştir.

Çizelge 2.21 Brown vd.' nin (1984) enstrümantal parametreler

<b><u>Enstrümantal Parametreler</u></b>			
Dalgaboyu :	309,3 nm	Numune enjeksiyon hacmi :	15 µL
Bant genişliği :	0,7 nm, düşük	Zemin düzeltmesi :	D <sub>2</sub> düzeltmesi
Ölçüm modu :	Pik alanı (Abs.)		

Çöktürme işleminin verimi kromatografik yöntemle 280 nm' de yapılan ölçümlerle desteklenmiştir. Toplam serum proteini % 96 – 99 oranında çöktürülmüştür. Çalışma

standartları 0 – 100 µg/L aralığında saf su ile hazırlanmıştır. Fırın programı ve iki metodun karşılaştırılması Çizelge 2.22’ de gösterilmiştir.

Çizelge 2.22 Brown vd.’ nin (1984) fırın programı ve iki metodun karşılaştırma sonuçları

<b><u>Fırın Programı</u></b>					
<b><u>Basamak</u></b>	<b><u>Sıcaklık (°C)</u></b>	<b><u>Çıkış Süresi (s)</u></b>	<b><u>Kalış Süresi (s)</u></b>	<b><u>Argon Akışı (mL/dakika)</u></b>	
1	100	1	0	300	
2	120	10	10	300	
3	250	1	45	300	
4	1500	1	45	300	
5	2400	0	6	0	
6	2600	1	4	300	
7	20	1	5	300	
		<b><u>Standart Ekleme Metodu</u></b>		<b><u>Protein Çöktürme Metodu</u></b>	
		<b><u>Serum I</u></b>	<b><u>Serum II</u></b>	<b><u>Serum I</u></b>	<b><u>Serum II</u></b>
<b>Tekrar Sayısı</b>		10	5	10	11
<b>Ortalama (µg/L)</b>		6,5	86,8	10,9	88,5
<b>Standart Sapma (µg/L)</b>		1,08	5,2	1,1	3,8
<b>Korelasyon Varyansı (%)</b>		16,6	6	10,1	4,2

Patriarca ve Morisi’ nin (1999) çalışmasında, tam kanda kurşun analizi grafit fırın atomlaştırıcıda yapılmıştır. Kalibrasyon standartları 0, 5, 10, 20, 30, 40 mg/L ara standart çözeltilerden % 1 Triton X-100 ile seyreltilme koşulu ile 0, 100, 200, 400, 600, 800 µg/L olarak hazırlanmıştır. Tam kan numuneleri de aynı çözelti ile uygun hacimlerde seyreltilmiştir. Matriks düzenleyici (5 g/L NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,5 g/L Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O, % 1 (v/v) HNO<sub>3</sub>) enjeksiyon sırasında numune veya standartlarla eşit hacimde katılmıştır. Işık kaynağı olarak kurşun elektrotsuz boşalım lambası (EDL) kullanılmıştır. Enstrümantal parametreler ve fırın programı sırasıyla Çizelge 2.24 ve 2.25’ de gösterilmiştir.

Metot deteksiyon limiti pik alanı ölçümü ile 10 µg/L, pik yüksekliği ölçümü ile 3 µg/L ve karakteristik kütle 13 pg olarak hesaplanmıştır. Kesinlik ve doğruluk çalışmaları BCR (Bureau Communautaire de Reference) sertifikalı referans malzeme ile yapılmış ve Çizelge 2.23’ de gösterilmiştir.



Çizelge 2.23 Patriarca ve Morisi' nin (1999) kesinlik ve doğruluk çalışmaları

<b><u>Gün İçi Kesinlik (tekrar sayısı (n) =20)</u></b>					
	<u>Seri</u>	<u>Ortalama</u> <u>(µg/L)</u>	<u>Standart</u> <u>Sapma (µg/L)</u>	<u>Varyasyon</u> <u>Katsayısı (%)</u>	<u>Gerçek</u> <u>Değer (SD)</u>
BCR 194	1	135,1	2,06	1,53	126 (4)
	2	135,1	1,91	1,41	
	3	136,1	3,21	2,36	
BCR 195	1	437,7	7,45	1,7	416 (9)
	2	435,5	4,9	1,13	
	3	437	5,28	1,21	
BCR 196	1	793,6	10,03	1,26	772 (11)
	2	797,2	10,27	1,29	
	3	789,3	8,68	1,1	
<b><u>Günler Arası Kesinlik (tekrar sayısı (n) =20)</u></b>					
	<u>Seri</u>	<u>Ortalama</u> <u>(µg/L)</u>	<u>Standart</u> <u>Sapma (µg/L)</u>	<u>Varyasyon</u> <u>Katsayısı (%)</u>	<u>Gerçek</u> <u>Değer (SD)</u>
BCR 194	1 – 2	135,3	2,27	1,68	126 (4)
	2 – 3	135,7	3	2,21	
	1 – 3	135,7	3,02	2,23	
BCR 195	1 – 2	436,8	5,5	1,26	416 (9)
	2 – 3	436,4	5,14	1,18	
	1 – 3	437,5	3,95	0,9	
BCR 196	1 – 2	795,5	11,77	1,48	
	2 – 3	793,3	12,57	1,58	
	1 – 3	791,5	12,29	1,55	

Çizelge 2.24 Patriarca ve Morisi' nin (1999) enstrümantal parametreler

<b><u>Enstrümantal Parametreler</u></b>			
Lamba akımı :	7,5 W	Dalgaboyu :	283,3 nm
Bant genişliği :	0,7 nm, düşük	Zemin düzeltmesi :	Zeeman etkili
Ölçüm modu :	Pik alanı (Abs.)	Numune enjeksiyon hacmi :	15 µL
İntegrasyon Zamanı :	5 s	Matriks düzenleyici hacmi :	15 µL

Çizelge 2.25 Patriarca ve Morisi' nin (1999) fırın programı

<b><u>Fırın Programı</u></b>				
<b><u>Basamak</u></b>	<b><u>Sıcaklık (°C)</u></b>	<b><u>Çıkış Süresi (s)</u></b>	<b><u>Kalış Süresi (s)</u></b>	<b><u>Argon Akışı (mL/dakika)</u></b>
1	90	10	20	300
2	120	15	15	300
3	250	10	5	300
4	750	30	30	300
5	750	1	3	0
6	1700	0	4	0
7	2650	1	5	300
8	20	1	10	300

Bannon vd.' nin (1994) çalışmasında, tam kanda kurşun analizi grafit fırın atomlaştırıcıda standart ekleme metodu ile yapılmıştır. 50, 100, 300, 400, 500 µg/L kurşun standartları 10 kat seyreltik tam kan numunesi ile seyreltilmiştir. Düşük kurşun içerikli bir tam kan numunesi 10 kat matriks düzenleyici (2 g/L NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 2 mL/L HNO<sub>3</sub> ve 0,5 mL/L Triton X-100) ile seyreltilerek standartlara eklenmiştir. Enstrümantal parametreler ve fırın programı Çizelge 2.26' de gösterilmiştir.

Çizelge 2.26 Bannon vd.' nin (1994) enstrümantal parametreler ve fırın programı

<b><u>Enstrümantal Parametreler</u></b>				
Dalgaboyu :	283,3 nm	Enjeksiyon sıcaklığı :	70 °C	
Bant genişliği :	0,7 nm, düşük	Zemin düzeltmesi :	Zeeman etkili	
Ölçüm modu :	Pik alanı (Abs.)	Numune enjeksiyon hacmi :	12 µL	
Integrasyon Zamanı :	5 s			
<b><u>Fırın Programı</u></b>				
<b><u>Basamak</u></b>	<b><u>Sıcaklık (°C)</u></b>	<b><u>Çıkış Süresi (s)</u></b>	<b><u>Kalış Süresi (s)</u></b>	<b><u>Argon Akışı (mL/dakika)</u></b>
1	120	5	15	300
2	260	1	5	300
3	800	5	27	300
4	20	1	4	300
5	1600	0	5	0
6	2700	1	2	300

Çalışılan metodun karakteristik kütlesi 12,5 pg olarak belirtilmiştir. Metodun kesinlik ve doğruluk ölçümleri için NIST (National Institute of Standards and Technology) 955a sertifikalı referans malzemesi kullanılmış ve elde edilen sonuçlar Çizelge 2.27’ de gösterilmiştir.

Çizelge 2.27 Bannon vd.’ nin (1994) metodunun kesinlik ve doğruluk ölçümleri

Referans Serum Gerçek Değer (µg/dL)	Referans Serum Ölçülen Değer (µg/dL)	Tekrar Sayısı	Korelasyon Varyansı (%)
6,77	6,98	10	2,78
13,53	13,59	10	1,69
30,63	29,59	10	0,68

Jones’ un (2001) çalışmasında, tam kanda kurşun analizi grafit fırın atomlaştırıcıda yapılmıştır. Çalışma standartları (0, 5, 10, 20, 25, 50 µg/L) ve numuneler 1:10 oranında matriks düzenleyici ( % 0,2 (v/v) HNO<sub>3</sub>, % 0,5 Triton X-100 ve % 0,2 (w/v) NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) seyreltilmiştir. Işık kaynağı olarak kurşun elektrotsuz boşalım lambası (EDL) kullanılmıştır. Enstrümantal parametreler ve fırın programı Çizelge 2.28’ da gösterilmiştir.

Çizelge 2.28 Jones’ un (2001) enstrümantal parametreler ve fırın programı

<b><u>Enstrümantal Parametreler</u></b>				
Lamba akımı :	10 W	Dalgaboyu :	283,3 nm	
Bant genişliği :	0,7 nm, düşük	Zemin düzeltmesi :	Zeeman etkili	
Ölçüm modu :	Pik alanı (Abs.)	Numune enjeksiyon hacmi :	20 µL	
<b><u>Fırın Programı</u></b>				
<b><u>Basamak</u></b>	<b><u>Sıcaklık (°C)</u></b>	<b><u>Çıkış Süresi (s)</u></b>	<b><u>Kalış Süresi (s)</u></b>	<b><u>Argon Akışı (mL/dakika)</u></b>
1	130	5	20	250
2	200	5	30	250
3	400	1	35	250
4	1700	0	5	0
5	2450	1	3	250

Metot deteksiyon limiti 0,2 µg/L ve korelasyon katsayısı ( $R^2 > 0,995$ ) olarak belirtilmiştir. Ayrıca yayımlanan makalede hasta sonuçlarının analizi hakkında bazı öneriler yer almaktadır.

- Aynı numunenin iki tekrar denemesi arasında 1 µg/dL veya daha çok fark varsa numune tekrar analiz edilmelidir.
- Kurşun konsantrasyonu 10 – 40 µg/dL arasında olan hasta numuneleri tekrar analiz edilmelidir.
- Kurşun konsantrasyonu 40 µg/dL' den yüksek ise hasta çalışma ortamından derhal uzaklaştırılmalıdır.

Yapılan çalışmanın iç kalite kontrolü NIST 966 sertifikalı referans malzeme ile yapılmış ve elde edilen ortalama (% korelasyon varyansı) sonuçları; 4,26 (4) µg/dL - 9,51 (3,1) µg/dL - 29,1 (3,2) µg/dL' dir.

Colon vd.' nin (2001) çalışmasında, kanda civa analizi akış – enjeksiyon civa hidrür sistemi ile analiz edilmiştir. Kalibrasyon standartları 1, 2,5, 5, 10, 20, 30 nmol/L konsantrasyonlarında % 1' lik (v/v) stabilizasyon çözeltisi (% 50 (v/v) HNO<sub>3</sub> içinde % 0,5 K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) ile seyreltilerek hazırlanmıştır. Civanın inorganik Hg(II) formuna indirgenmesi için % 0,2 (w/v) NaBH<sub>4</sub>, % 0,05 (w/v) NaOH ve % 0,1 köpüklenmeyi önleyici reaktif ile hazırlanan çözelti kullanılmıştır. 0,5 mL tam kan numunesine 1 mL % 0,2 Triton X-100, 0,1 mL stabilizasyon çözeltisi, 1 mL HNO<sub>3</sub>, 2 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> eklenerek gece boyu etüvde 60 °C' de yaş yakma yapılmış, daha sonra oda sıcaklığına getirilen numune % 10 (v/v) HNO<sub>3</sub>, % 20 (v/v) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözeltisi ile 10 mL' ye tamamlanmıştır. Enstrümantal parametreler ve akış – enjeksiyon programı Çizelge 2.29' de gösterilmiştir.

Çizelge 2.29 Colon vd.' nin (2001) enstrümantal parametreler ve akış – enjeksiyon programı

<b><u>Enstrümantal Parametreler</u></b>				
Dalgaboyu :	253,7 nm	Argon akışı :	75 mL/dakika	
Bant genişliği :	0,7 nm	Ölçüm modu :	Pik yüksekliği (Abs.)	
Numune hacmi :	500 µL			
<b><u>Akış – Enjeksiyon Programı</u></b>				
<b><u>Basamak</u></b>	<b><u>Zaman (s)</u></b>	<b><u>Pompa 1 (rpm)</u></b>	<b><u>Pompa 2 (rpm)</u></b>	<b><u>Valf</u></b>
Ön dolum	7	100	120	Dolum
1	10	100	120	Dolum
2	25	0	120	Enjeksiyon

Metodun deteksiyon limiti sulu çözeltiler için 0,0475 nmol/L, tam kan numunesi için 0,95 nmol/L ve kantitasyon limiti 3,2 nmol/L olarak tayin edilmiştir. Kesinlik ve doğruluk çalışmaları için Seronorm sertifikalı referans malzeme kullanılmış ve elde edilen sonuçlar Çizelge 2.30' de gösterilmiştir.

Çizelge 2.30 Colon vd.' nin (2001) kesinlik ve doğruluk çalışmaları

Seronorm Seviye	Bulunan Değer (nmol/L)	Bağıl Standart Sapma (%)	Gerçek Değer (nmol/L)	Aralık
1	13,1	5	15	11 – 16,5
2	41,8	2,6	40	33,5 – 42
3	69,8	2,5	70	67,5 – 82

Sakuma vd.' nin (1999) çalışmasında, idrarda civa analizi akış – enjeksiyon hidrür analiz sistemi ile yapılmıştır. Kalibrasyon standartları 1, 2, 5, 10, 20 µg/L olarak % 2 (v/v) HNO<sub>3</sub>, % 2 (v/v) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ile seyreltilerek hazırlanmıştır. 1 mL idrar numunesine 1 mL HNO<sub>3</sub> eklenerek 15 dakika süre ile bekletildikten sonra saf su ile 10 mL' ye tamamlanmıştır. . Civanın inorganik Hg(II) formuna indirgenmesi için % 5' lik (v/v) HCl içinde % 5 (w/v) SnCl<sub>2</sub> çözeltisi ve taşıyıcı reaktif olarak ise % 3' lük (v/v) HCl çözeltisi kullanılmıştır. Enstrümantal parametreler Çizelge 2.31' da gösterilmiştir.

Çizelge 2.31 Sakuma vd.' nin (1999) enstrümantal parametreler

<b>Enstrümantal Parametreler</b>			
Dalgaboyu :	253,7 nm	Argon akışı :	80L/dakika
Bant genişliği :	0,7 nm	Ölçüm modu :	Pik yüksekliği (Abs.)
Numune hacmi :	500 µL	Pompa hızı :	120 rpm

Metot deteksiyon limiti ve kantitasyon limiti sırasıyla 0,12 ve 0,4 µg/L ve korelasyon katsayısı (R<sup>2</sup>) 0,9998 olarak belirlenmiştir. Sertifikalı referans malzeme ile yapılan doğruluk ölçümünde % 100' e yakın geri kazanım elde edilmiştir.

## 2.11 İstatistiksel Bilgiler

Analitik verilerin değerlendirilmesi için bazı istatistiksel hesaplamalara ihtiyaç duyulur.

### 2.11.1 Ortalama Değer, Standart Sapma, Varyans ve Varyasyon Katsayısı

*Ortalama Değer* : Tekrarlanan ölçümlerin toplamının gruptaki ölçüm sayısına bölünmesiyle elde edilen büyüklüktür.

$$\bar{X} = \frac{\sum X_i}{n} \quad (2.2)$$

Burada 'x<sub>i</sub>', tekrarlanan 'n' tane ölçümden oluşan bir takımdaki her bir 'x' değerini, gösterir.

*Standart Sapma* : 's' ile ifade edilir.

$$s = \sqrt{\sum_i \frac{(x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad (2.3)$$

*Varyans* : Standart sapmanın karesidir ve 's<sup>2</sup>' ile ifade edilir.

*Varyasyon Katsayısı* : 'CV' ile ifade edilir ve genellikle % ile birlikte kullanılır.

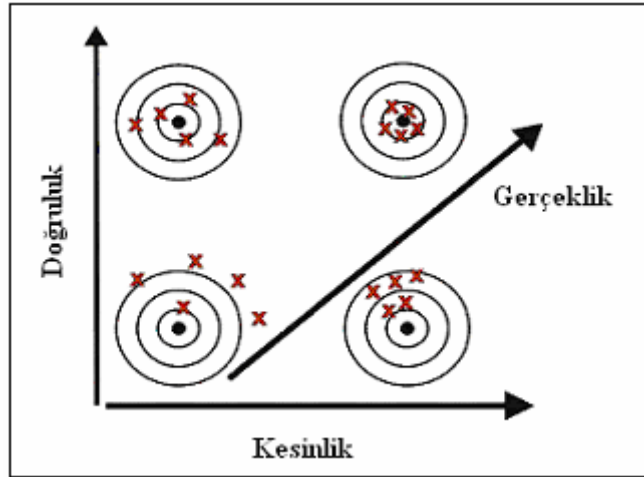
$$\% CV = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100 \quad (2.4)$$

### 2.11.2 Gerçeklik, Doğruluk ve Kesinlik

*Gerçeklik* : Ölçümün sonucunun doğru değeri ile ölçümün sonucu arasındaki uyumun yakınlığıdır. (VIM, 1993)

*Doğruluk* : Kabul edilmiş bir referans değeri ile bir dizi test sonucundan elde edilen ortalama değer arasındaki uyumun yakınlığıdır. (ISO 5725 – 1, 1994)

*Kesinlik* : Belli koşullar altında bağımsız test sonuçları arasındaki uyumun yakınlığıdır. (ISO 5725 – 1, 1994)



Şekil 2.13 Gerçeklik, doğruluk ve kesinlik ifadelerinin birbiri ile olan ilişkisi

Kesinlik ifadesi, tekrarlanabilirlik ve tekrar yapılabilirliğin bir tanımıdır. Tekrarlanabilirlik; aynı ölçüm koşulları altında aynı şekilde yapılmış olan bir birini izleyen ölçüm sonuçlarının birbirleri arasındaki uyumun yakınlığıdır. Tekrarlanabilirlik koşulları, aynı ölçüm prosedürü, aynı gözlemci, aynı koşullar altında kullanılan aynı ölçüm aleti, aynı yer ve kısa aralıklı periyotlardır. Tekrar yapılabilirlik; farklı koşullar altında aynı ölçümün elde edilen sonuçları

arasındaki uyumun yakınlığıdır. Ölçümün prensibi, ölçüm metodu, gözlemci, ölçüm aleti, referans standart, yer, zaman gibi koşullar değiştirilebilir.

Standart sapma, varyans ve varyasyon katsayısı olarak verilen üç terim ölçümlerin kesinliği hakkında bilgi verir.

### 2.11.3 Student t - Testi

Yapılan bir dizi ölçümde sistematik hata olup olmadığının araştırılmasında veya tekrarlanan analizlerin ortalamalarının birbiriyle uyumunun incelenmesinde kullanılır. Sistematik hatalar, tespit edilip bertaraf edilebilen hatalardır. Numune hazırlama, cihaz, analizci veya metot kaynaklı olabilen sistematik hatalar ölçüm sonucunun hep küçük veya hep büyük çıkmasına neden olabilirler.

$$\bar{x} - \mu = \frac{\pm t s}{\sqrt{n}} \quad (2.5)$$

Analiz sonucunun gerçek değeri ‘ $\mu$ ’ ile ifade edilir. Formülden hesaplanan ‘ $t_{\text{hesap}}$ ’ değeri ile Çizelge 2.32’ de gösterilen t-Testi Kritik Değerleri tablosundan elde edilen ‘ $t_{\text{kritik}}$ ’ değeri karşılaştırılır ve belirli bir güven aralığı için (% 95 veya % 99 v.b)  $t_{\text{hesap}} < t_{\text{kritik}}$  sonucu sistematik bir hatanın olmadığını gösterir.

Çizelge 2.32 Çeşitli Olasılık Seviyeleri İçin t-Testi Kritik Değerleri

Serbestlik Derecesi (n – 1)	Güven Aralığı (%)				
	80	90	95	99	99,9
1	3,08	6,31	12,7	63,7	637
2	1,89	2,92	4,3	9,92	31,6
3	1,64	2,35	3,18	5,84	12,9
4	1,53	2,13	2,78	4,6	8,6
5	1,48	2,02	2,57	4,03	6,86
6	1,44	1,94	2,45	3,71	5,96
7	1,42	1,9	2,36	3,5	5,4
8	1,40	1,86	2,31	3,36	5,04
9	1,38	1,83	2,26	3,25	4,78
Sonsuz	1,29	1,64	1,96	2,58	3,29

### 2.11.4 F' Testi

'F' testi iki ölçüm takımının kesinliğini karşılaştırmak için kullanılan bir yöntemdir ve birçok işlem yapılabilir. Bu işlemler, analizci performanslarının değerlendirilmesi, iki metodun kesinlik derecelerinin karşılaştırılması olabilir. Karşılaştırılan sonuçların varyansları kullanılarak yapılan 'F' testinde de 't' testinde olduğu gibi belirli bir güven aralığı için (% 95 veya % 99 v.b) kritik değer tablosundan yararlanılır. Tekrarlanan analizlerin ortalamalarının birbiriyle uyumu test edilirken hesaplanan F değeri ile Çizelge 2.33' de gösterilen tablodan elde edilen F değeri karşılaştırıldığında  $F_{\text{hesap}} < F_{\text{kritik}}$  ise istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadığını ifade eder.

$$F = \frac{S_1^2}{S_2^2} \quad (2.6)$$

Formüldeki 'S<sub>1</sub>' karşılaştırılmak istenen ilk ölçüm dizisinin standart sapması, 'S<sub>2</sub>' ikinci ölçüm dizisinin standart sapmasıdır. F değerinin 1' den büyük olması için büyük varyans küçük varyansa bölünür.

Çizelge 2.33 % 95' lik Güven Aralığında 'F' Testi Kritik Değerleri

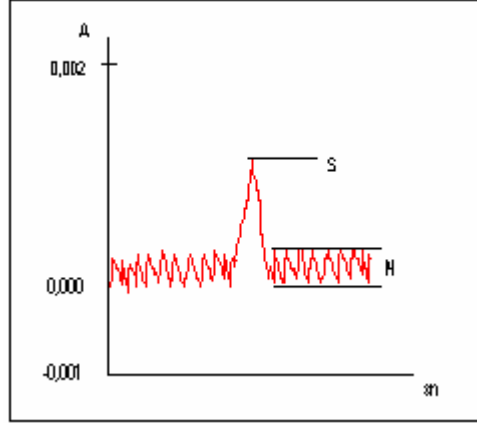
<b><u>% 95' lik Güven Aralığında 'F' Testi Kritik Değerleri</u></b>								
		<b>Büyük Varyans İçin Serbestlik Derecesi</b>						
<b>Küçük Varyans İçin Serbestlik Derecesi</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>Sonsuz</b>
<b>2</b>	19	19,6	19,25	19,30	19,33	19,35	19,37	19,50
<b>3</b>	9,55	9,28	9,12	9,01	8,94	8,89	8,85	8,53
<b>4</b>	6,94	6,59	6,39	6,26	6,16	6,09	6,04	5,63
<b>5</b>	5,79	5,41	5,19	5,05	4,95	4,88	4,82	4,36
<b>6</b>	5,14	4,76	4,53	4,39	4,28	4,21	4,15	3,67
<b>7</b>	4,74	4,35	4,12	3,97	3,87	3,79	3,73	3,23
<b>8</b>	4,46	4,07	3,84	3,69	3,58	3,5	3,44	2,93
<b>Sonsuz</b>	3	2,6	2,37	2,21	2,1	2,01	1,94	1

### 2.11.5 Deteksiyon Limiti

Belirli bir güven seviyesinde tayin edilebilen en küçük analit derişimi veya kütlesi deteksiyon limiti olarak kabul edilir. Deteksiyon limiti analitik sinyal büyüklüğünün kör (şahit)



sinyalindeki istatistiksel sapma oranına bağlıdır. Diğer bir ifadeyle, Şekil 2.14' de gösterilen analitik sinyal (S) rasgele hatalardan kaynaklanan gürültü sinyalindeki (N) sapmanın  $k$  katı kadar büyük olmadığı sürece, analitik sinyali belirli bir kesinlikle görmek imkansızdır. Kör (şahit) ölçümlerinden elde edilen sonuçların  $k = 3$  alındığında bir çok durumda tayin için güven aralığının % 95 olacağı işaret edilmiştir.



Şekil 2.14 Analit sinyali ve gürültü sinyali

Atomik absorpsiyon spektrometrisi yönteminde alev ve hidrür atomlaştırıcıların kullanıldığı analizlerde deteksiyon limiti hesabı için önerilen prosedür:

- Düşük konsantrasyonlu ve yüksek konsantrasyonlu olmak üzere iki adet standart çözelti hazırlanır.
- Kör (şahit) çözeltisi hazırlanır.
- Kör, düşük konsantrasyonlu standart, kör, yüksek konsantrasyonlu standart sıralaması ile 10 veya daha çok okuma yapılır. Sonuçlar absorbans biriminde kaydedilir ve her iki standart için de ortalama hesaplanır.
- Düşük konsantrasyonlu ve yüksek konsantrasyonlu standartların okumalarının standart sapması hesaplanır.
- Her iki standartın deteksiyon limiti ayrı ayrı aşağıdaki formülle hesaplanır.

Deteksiyon Limiti =  $\frac{\text{Standartın Konsantrasyonu} \times 3 \times \text{Standart Sapma}}{\text{Ortalama}}$

Ortalama

(2.7)

- İki standartın deteksiyon limitinin ortalaması metodun deteksiyon limitini verir. Eğer numune ölçümlerinde seyreltme yapılıyorsa hesaplanan deteksiyon limiti seyreltme faktörü ile çarpılır.

Grafit fırın atomlaştırıcıların kullanıldığı analizlerde deteksiyon limiti hesabı için önerilen prosedür:

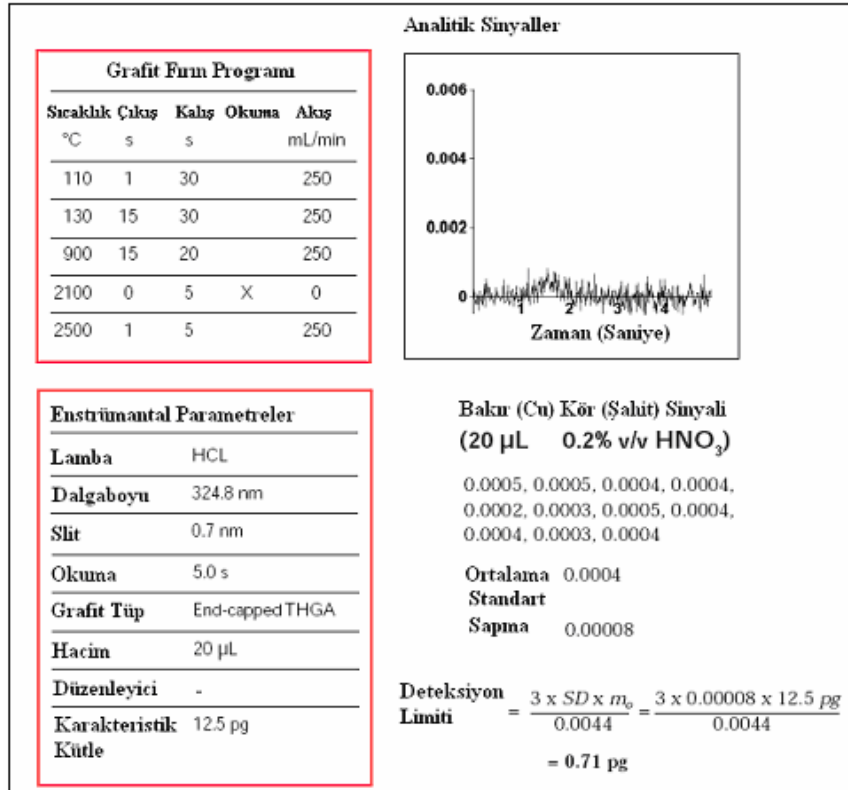
- Kör (şahit) çözeltisi hazırlanır.
- Kör çözeltisinin 10 veya daha çok okuması yapılır, sonuçlar absorbans biriminde kaydedilir ve ortalaması alınır.
- Kör çözeltisi okumalarının standart sapması hesaplanır.
- Metodun deteksiyon limiti pikogram biriminde aşağıdaki formül ile hesaplanır. Örnek olarak Çizelge 2.34' de grafit fırınlı AAS ile bakır elementinin deteksiyon limiti hesaplaması gösterilmiştir.

$$\text{Deteksiyon Limiti} = \frac{3 \times \text{Standart Sapma} \times \text{Karakteristik Kütle} (m_0)}{0,0044} \quad (2.8)$$

$$\text{Karakteristik Kütle} (m_0) = \frac{\text{Enjeksiyon Hacmi} \times \text{Konsantrasyon} \times 0,0044}{\text{Analit Okuması} - \text{Kör Okuması}} \quad (2.9)$$

- Konsantrasyon biriminden deteksiyon limiti hesabı için bulunan sonuç enjeksiyon hacmine bölünür. Eğer numune ölçümlerinde seyreltme yapılıyorsa hesaplanan deteksiyon limiti seyreltme faktörü ile çarpılır.

Çizelge 2.34 Grafit fırınlı AAS ile bakır elementinin deteksiyon limiti hesaplaması



### 3. DENEL BÖLÜM

#### 3.1 Kullanılan Malzemeler, Kimyasallar ve Hazırlanan Çözeltiler

##### 3.1.1 Malzemeler

- Perkin Elmer marka AAnalyst 800 model Zeeman zemin düzeltmeli atomik absorpsiyon spektrometresi
- Precisa marka analitik terazi
- Millipore marka AFS 10-D model saf su cihazı (25°C' de iletkenlik değeri >18MΩ x cm)
- Thermo marka Finnipipette model 20 – 200 µL, 100 – 1000 µL ve 2 – 10 mL ayarlanabilir hacimli otomatik pipetler ve pipet uçları
- 50, 100, 1000 mL polipropilen balon jojeler
- Perkin Elmer marka prolitik kaplı grafit tüp ve L' vov platform
- 1,2 mL hacimli polistiren otomatik örnekleme kapları
- Polipropilen serum tüpleri ve kapakları
- Birleşik Oksijen Sanayi (BOS) marka argon (%99,996 saflıkta) ve asetilen tüpleri

##### 3.1.2 Kimyasallar

- Inorganic Ventures/iv labs. 1006 ± 3 mg/L Alüminyum Standartı CGAL 1-1
- Inorganic Ventures/iv labs. 1002 ± 2 mg/L Bakır Standartı CGCU 1-1
- Inorganic Ventures/iv labs. 1007 ± 3 mg/L Civa Standartı CGHG 1-1
- Inorganic Ventures/iv labs. 1001 ± 2 mg/L Çinko Standartı CGZN 1-1
- Inorganic Ventures/iv labs. 1003 ± 2 mg/L Kurşun Standartı CGPB 1-1
- Inorganic Ventures/iv labs. 1005 ± 2 mg/L Selenyum Standartı CGSE 1-1
- Inorganic Ventures/iv labs. 1004 ± 1 mg/L Paladyum Standartı CGPD 1-1
- Merck. Nitrik Asit 1.00441, % 65, d = 1,40 kg/L
- Merck. Hidroklorik Asit 1.00314, % 37, d = 1,19 kg/L

- Merck. Triton X-100 1.08643
- Merck. Magnezyum Nitrat Hekzahidrat 1.05853
- Merck. Sodyum Hidroksit 1.06462
- Merck. Amonyum Dihidrojen Fosfat 1.01440
- Merck. Gliserol 1.04092
- Merck. Sodyumborohidrür 1.015669
- Merck. Potasyum Dikromat 1.04865

### 3.1.3 Hazırlanan Çözeltiler

- % 0,2 (v/v)  $\text{HNO}_3$  : 3,1 mL % 65' lik  $d = 1,41 \text{ g/mL}$  derişik  $\text{HNO}_3$  den alınarak 1 L' ye saf su ile tamamlandı.
- % 2 (v/v)  $\text{HNO}_3$  : 31 mL % 65' lik  $d = 1,41 \text{ g/mL}$  derişik  $\text{HNO}_3$  den alınarak 1 L' ye saf su ile tamamlandı.
- % 0,2 (v/v) Triton X-100 : 0,2 mL alınarak 100 mL' ye saf su ile tamamlandı.
- % 10 (v/v) Gliserol : Yoğunluğu  $1,23 \text{ g/mL}$  olan % 87' lik gliserolden 141,4 g alınarak saf su ile 1 L' ye tamamlandı.
- % 3 (v/v)  $\text{HCl}$  : 81 mL % 37' lik  $d = 1,18$  derişik  $\text{HCl}$  den alınarak 1 L' ye saf su ile tamamlandı.
- % 0,2 (w/v)  $\text{NaBH}_4$  % 0,05 (w/v)  $\text{NaOH}$  : 2 g  $\text{NaBH}_4$  ve 0,5 g  $\text{NaOH}$  tartılarak 1 L saf su içinde çözüldü.
- % 0,5 (w/v)  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  : 0,5 g  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  tartılarak 100 mL saf su içinde çözüldü.

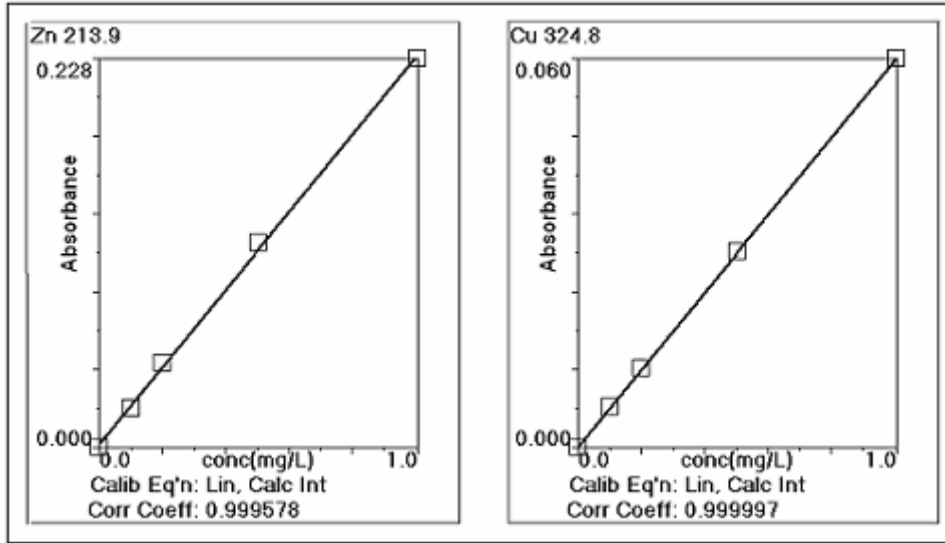
### 3.2 Analiz Metotları

#### 3.2.1 Serumda Çinko ve Bakır Analizi

Serumda çinko ve bakır analizleri, serum içerisindeki konsantrasyonları, analiz kolaylığı ve hızı sebebiyle alevli atomik absorpsiyon spektrometrisi yöntemiyle gerçekleştirildi. Numune miktarlarının düşük olması ve yüksek proteinli yapı sebebiyle örnekler seyreltilerek çalışıldı. Analiz sırasında kullanılan tüm araç ve gereçler için plastik malzemeler tercih edildi.

##### 3.2.1.1 Serumda Çinko ve Bakır Analizi Kalibrasyon Eğrileri

Kalibrasyon standartları hazırlanırken 1000 mg/L çinko ve bakır standartından, önce 100 kat % 2' lik (v/v) HNO<sub>3</sub> çözeltisi ile seyreltilerek 10 mg/L ara standart çözeltisi hazırlandı. Daha sonra 10 mg/L ara standart çözeltisinden 0,1 – 0,2 – 0,5 – 1 mg/L çalışma standartları % 10' luk (v/v) gliserol çözeltisi ile seyreltilmek suretiyle hazırlandı. Çinko ve bakır analizi kalibrasyon eğrileri Şekil 3.1' de gösterilmektedir.



Şekil 3.1 Serumda çinko ve bakır analizi kalibrasyon eğrileri

##### 3.2.1.2 Serumda Çinko ve Bakır Analizi Numune Hazırlama İşlemi

Serum numunesinden 0,5 mL alınarak saf su ile 2,5 mL' ye tamamlandı. 5 kat seyreltilen serum numuneleri ile % 10' luk (v/v) gliserol içeren çalışma standartlarının akış hızlarının birbirine denk olduğu gözlemlendi. 2,5 mL' lik hacme göre enstrümantal parametreler optimize edildi ve analizlerde her bir örnek ve standart için 5' er saniyelik 2 tekrar okuması yapıldı.

### 3.2.1.3 Serumda Çinko ve Bakır Analizi Deteksiyon Limiti, Kesinlik ve Doğruluk Çalışmaları

Serumda çinko ve bakır analizleri sırasıyla Çizelge 3.5 ve 3.6' da gösterilen analiz sonuçlarının kesinlik ve doğruluk değerlendirmesi, 3 günlük 7' şer tekrar deneme ile Bio-Rad sertifikalı referans malzemesi kullanılarak yapıldı. Liyofilize olarak ticari yolla elde edilen referans malzeme 5 mL saf su ile çözülerek hazırlandı ve 0,5 mL' lik porsiyonlar halinde – 20 °C' de derin dondurucuda saklandı. Plastik yerine cam malzeme kullanıldığında çinko konsantrasyonunun giderek arttığı gözlemlendi. Liyofilize referans malzemenin saf su ile çözülmesi işlemi 30 dakika süre ile yapıldı ve süre arttığında çinko konsantrasyonunun da arttığı gözlemlendi. Açıldıktan sonra – 20 °C' deki stabilitesi 1 ay olarak beyan edilmiştir. Referans malzeme çinko konsantrasyonu gerçek değeri 81 µg/dL ve % 95 güven sınırında kabul edilebilir aralık 65 – 98 µg/dL olarak, bakır konsantrasyonu gerçek değeri 97,8 µg/dL ve % 95 güven sınırında kabul edilebilir aralık 78,2 – 117 µg/dL olarak beyan edilmiştir. Bakır ve çinko analizi geri kazanım testi Çizelge 3.1' de gösterilmektedir. Geri kazanım testleri için sırasıyla toplam hacminde 50 µg/dL ve 100 µg/dL standart olacak şekilde çözeltiler hazırlandı.

Çizelge 3.1 Serumda bakır ve çinko analizi geri kazanım testleri

<b><u>Bakır Geri Kazanım Testi</u></b>		
<u>Serum</u>	<u>Serum + 50 µg/dL Cu</u>	<u>Serum + 100 µg/dL Cu</u>
106,6 µg/dL	144,7 µg/dL	195,6 µg/dL
% Geri		
Kazanım :	97,9	98,9
<b><u>Çinko Geri Kazanım Testi</u></b>		
<u>Serum</u>	<u>Serum + 50 µg/dL Zn</u>	<u>Serum + 100 µg/dL Zn</u>
89,3 µg/dL	145,2 µg/dL	187,9 µg/dL
% Geri		
Kazanım :	104,2	99,3

Kalibrasyon standartları ile yapılan deteksiyon limiti hesaplamasında çinko için 0,046 mg/L ve bakır için 0,03 mg/L bulundu. Numune analizlerinde 5 kat seyreltme yapıldı ve hesaplanan metot deteksiyon limiti çinko için 0,23 mg/L ve bakır için 0,15 mg/L olarak bulundu. Deteksiyon limiti hesaplamaları için seçilen çinko ve bakır standartlarının okumaları Çizelge 3.2' de gösterilmektedir.

Çizelge 3.2 Serumda çinko ve bakır analizi standart çözelti okumaları

<b>Standart 1 (0,5 mg/L)</b>		<b>Standart 2 (1 mg/L)</b>	
<b><u>Okumaları (Abs.)</u></b>		<b><u>Okumaları (Abs.)</u></b>	
<i>Çinko</i>	<i>Bakır</i>	<i>Çinko</i>	<i>Bakır</i>
0,1206	0,0243	0,2298	0,0488
0,1174	0,0253	0,2311	0,0483
0,1182	0,0240	0,2303	0,0476
0,1174	0,0244	0,2208	0,0473
0,1204	0,0242	0,2331	0,0482
0,1147	0,0240	0,2299	0,0482
0,1147	0,0241	0,2367	0,0490
0,1168	0,0240	0,2207	0,0479
0,1164	0,0240	0,2316	0,0474
0,1178	0,0238	0,2320	0,0489
<b>Ortalama (p = 0,05)</b>	<b>0,1174 ± 0,0014</b>	<b>0,2296 ± 0,0036</b>	<b>0,0482 ± 0,0004</b>
<b>Standart Sapma</b>	<b>0,0020</b>	<b>0,0051</b>	<b>0,0006</b>

Çinko ve bakır için yapılan deteksiyon limiti hesaplamaları sırasıyla Çizelge 3.3 ve 3.4' de gösterilmektedir.

Çizelge 3.3 Serumda çinko analizi deteksiyon limiti hesaplaması

Standart 1 İçin Deteksiyon Limiti = $\frac{\text{Standart 1 Konsantrasyonu} \times 3 \times \text{Standart Sapma}}{\text{Ortalama}}$
$= \frac{0,5 \times 3 \times 0,0020}{0,1174}$
$= 0,025 \text{ mg/L}$
Standart 2 İçin Deteksiyon Limiti = $\frac{\text{Standart 2 Konsantrasyonu} \times 3 \times \text{Standart Sapma}}{\text{Ortalama}}$
$= \frac{1 \times 3 \times 0,0051}{0,2296}$
$= 0,067 \text{ mg/L}$
Deteksiyon Limiti = $\frac{0,025 + 0,067}{2}$
$= 0,046 \text{ mg/L}$

Çizelge 3.4 Serumda bakır analizi deteksiyon limiti hesaplaması

Standart 1 İçin Deteksiyon Limiti = $\frac{\text{Standart 1 Konsantrasyonu} \times 3 \times \text{Standart Sapma}}{\text{Ortalama}}$
$= \frac{0,5 \times 3 \times 0,0004}{0,0242}$
$= 0,024 \text{ mg/L}$
Standart 2 İçin Deteksiyon Limiti = $\frac{\text{Standart 2 Konsantrasyonu} \times 3 \times \text{Standart Sapma}}{\text{Ortalama}}$
$= \frac{1 \times 3 \times 0,0006}{0,0482}$
$= 0,037 \text{ mg/L}$
Deteksiyon Limiti = $\frac{0,024 + 0,037}{2}$
$= 0,03 \text{ mg/L}$

Çizelge 3.5 Serumda çinko analizi kesinlik ve doğruluk testi

<b>Serumda Çinko Analizi Kesinlik ve Doğruluk Testi</b>			
	<b>Birinci Gün</b>	<b>İkinci Gün</b>	<b>Üçüncü Gün</b>
	84,24	78,88	87,95
	80,38	77,36	80,82
	85	85,44	82,32
	90,03	80,46	76,6
	77,98	82,29	78,41
	83,42	81,68	77,49
	79,33	83,65	81,04
<b>Ortalama (p = 0,05)</b>	82,92 ± 3,77	81,39 ± 2,57	80,66 ± 3,52
<b>% Varyasyon Katsayısı</b>	4,9	3,4	4,7
<b>% Geri Kazanım</b>	102,4	100,5	99,6
<b>t<sub>hesap</sub></b>	1,24	0,37	0,24
<b>t<sub>tablo</sub> (p = 0,05)</b>	2,45	2,45	2,45 (p = 0,05)
<b>F<sub>1,2</sub> - F<sub>1,3</sub> - F<sub>2,3</sub>(hesap)</b>	2,2	1,15	1,91
<b>F<sub>1,2</sub> - F<sub>1,3</sub> - F<sub>2,3</sub>(tablo)</b>	4,28	4,28	4,28 (p = 0,05)



Çizelge 3.6 Serumda bakır analizi kesinlik ve doğruluk testi

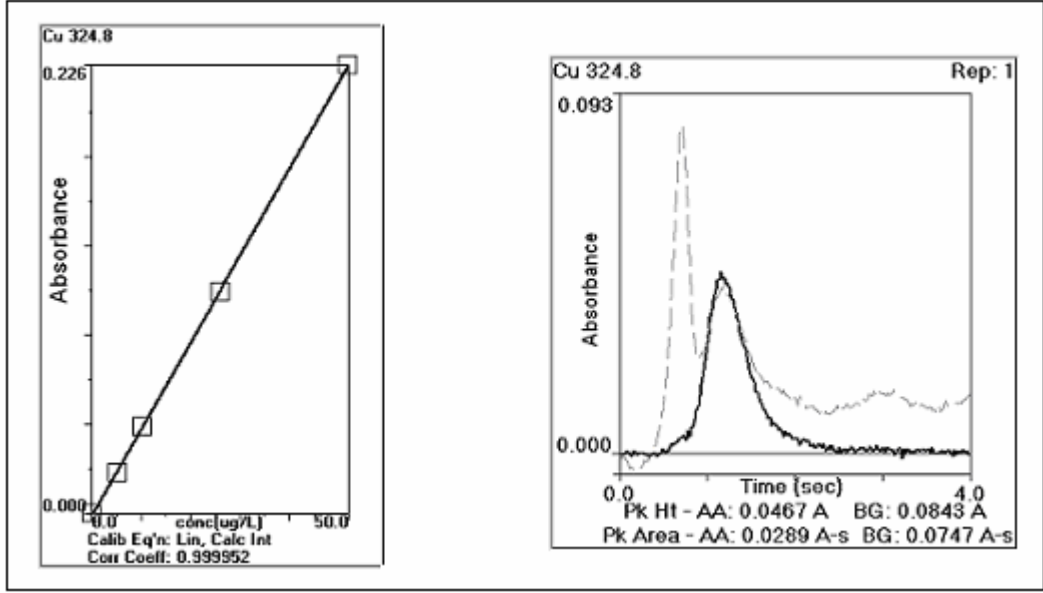
<b>Serumda Bakır Analizi Kesinlik ve Doğruluk Testi</b>			
	<b>Birinci Gün</b>	<b>İkinci Gün</b>	<b>Üçüncü Gün</b>
	94,47	94,09	95,35
	94	91,74	91,52
	99,44	98,16	103,3
	96,89	93,1	93,74
	106,4	91,76	93,41
	89,56	101,7	89,54
	91,16	102,1	92,6
<b>Ortalama (p = 0,05)</b>	95,99 ± 5,25	96,09 ± 4,19	94,21 ± 4,11
<b>% Varyasyon Katsayısı</b>	5,9	4,7	4,7
<b>% Geri Kazanım</b>	98,1	98,2	96,3
<b>t<sub>hesap</sub></b>	0,85	1	2,15
<b>t<sub>tablo</sub> (p = 0,05)</b>	2,45	2,45	2,45 (p = 0,05)
<b>F<sub>1,2</sub> - F<sub>1,3</sub> - F<sub>2,3(hesap)</sub></b>	1,57	1,65	1,05
<b>F<sub>1,2</sub> - F<sub>1,3</sub> - F<sub>2,3(tablo)</sub></b>	4,28	4,28	4,28 (p = 0,05)

### 3.2.2 İdrarda Bakır Analizi

İdrarda bakır analizi, idrar içerisindeki konsantrasyonu sebebiyle grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektrometrisi yöntemiyle gerçekleştirildi.

#### 3.2.2.1 İdrarda Bakır Analizi Kalibrasyon Eğrisi

Kalibrasyon standartları hazırlanırken 1000 mg/L bakır standartından, önce 100 kat seyreltilerek 10 mg/L birinci ara standart çözeltisi hazırlandı. Daha sonra 10 mg/L birinci ara standart çözeltisi 20 kat seyreltilerek 0,5 mg/L' lik ikinci ara standart çözeltisi hazırlandı. 5 – 10 – 25 – 50 µg/L çalışma standartları 0,5 mg/L ikinci ara standart çözeltiden uygun hacim oranlarında seyreltilerek hazırlandı. Seyreltme işlemleri % 0,2' lik (v/v) HNO<sub>3</sub> çözeltisi ile yapıldı. Kalibrasyon eğrisi ve idrar numunesi analit sinyali Şekil 3.2' de gösterilmektedir.



Şekil 3.2 İdrarda bakır analizi kalibrasyon eğrisi ve idrar numunesi analit sinyali

### 3.2.2.2 İdrarda Bakır Analizi Numune Hazırlama İşlemi

İdrar numunesi 0,3 mL alınarak üzerine 0,3 mL % 0,2' lik (v/v) HNO<sub>3</sub> çözeltisi ve 0,3 mL % 0,2' lik (v/v) Triton X-100 çözeltisi eklenmiştir. Triton X-100 reaktifi biyolojik sıvılarındaki eser elementler analizinde sıklıkla kullanılan, bu tür sıvıların akışkanlığını arttıran ve seyreltmeden kaynaklanabilecek heterojenliği azaltan bir kimyasaldır.

### 3.2.2.3 İdrarda Bakır Analizi Enstrümantal Parametreler

Enstrümantal parametreler ve fırın programı sırasıyla çizelge 3.7 ve 3.8' de gösterilmektedir.

Çizelge 3.7 İdrarda bakır analizi enstrümantal parametreler

<b>Enstrümantal Parametreler</b>			
Lamba akımı :	15 mA	Dalgaboyu :	324,8 nm
Bant genişliği :	0,7 nm, düşük	Zemin düzeltmesi :	Zeeman etkili
Ölçüm modu :	Pik alanı (Abs.)	Numune enjeksiyon hacmi :	20 µL
Enjeksiyon Sıcaklığı :	40 °C	Matriks düzenleyici hacmi :	5 µL

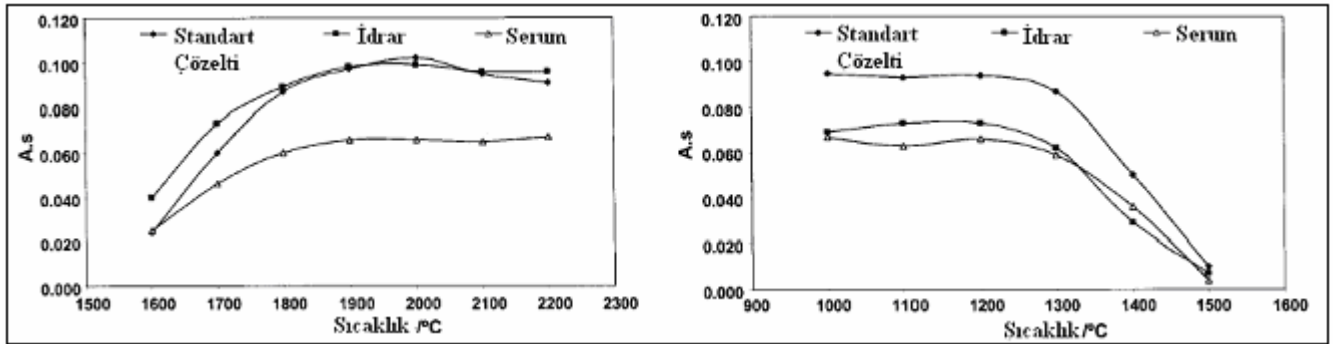
Matriks düzenleyici çözeltisi 5 µL içerisinde 5 µg Pd ve 3 µg Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> olacak şekilde hazırlandı. Bu amaçla 1000 mg/L' lik Pd standart çözeltisinin 100 mL' si içinde 0,104 g Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. 6H<sub>2</sub>O çözümlenerek matriks düzenleyici hazırlandı.

Çizelge 3.8 İdrarda bakır analizi fırın programı

<b>Fırın Programı</b>				
<b>Basamak</b>	<b>Sıcaklık (°C)</b>	<b>Çıkış Süresi (s)</b>	<b>Kalış Süresi (s)</b>	<b>Argon Akışı (mL/dakika)</b>
1	110	5	20	250
2	130	10	30	250
3	1200	10	25	250
4	2100	0	4	0
5	2450	1	3	250

İdrar ve serum örneklerinde bakır tayininde, optimum sıcaklık programının bulunması amacıyla uygulanan çeşitli kütleme ve atomlaşma sıcaklıklarına ait grafik Çizelge 3.9' da gösterilmektedir.

Çizelge 3.9 Standart bakır çözeltisi, idrar ve serum numunelerine uygulanan çeşitli kütleme ve atomlaşma sıcaklıkları (Almeida ve Lima 2001)



### 3.2.2.4 İdrarda Bakır Analizi Deteksiyon Limiti, Kesinlik ve Doğruluk Çalışmaları

İdrarda bakır analizi sonuçlarının kesinlik ve doğruluk değerlendirmesi, Çizelge 3.12' de gösterilen, 3 günlük 7' şer tekrar deneme ile Seronorm sertifikalı referans malzemesi kullanılarak yapıldı. Liyofilize olarak ticari yolla elde edilen referans malzeme 5 mL saf su ile çözülerek hazırlandı ve 0,5 mL' lik porsiyonlar halinde - 20 °C' de derin dondurucuda saklandı. Bu koşullar altındaki stabilitesi 1 ay olarak beyan edilmiştir. Referans malzeme bakır konsantrasyonu gerçek değeri 18,6 µg/L ve % 95 güven sınırında kabul edilebilir aralık 16,5 - 20,7 µg/L olarak beyan edilmiştir. Bakır geri kazanım testi Çizelge 3.10' da gösterilmektedir. Geri kazanım testleri için sırasıyla toplam hacminde 10 µg/L ve 25 µg/L standart olacak şekilde çözeltiler hazırlandı.

Çizelge 3.10 İdrarda bakır analizi geri kazanım testi

<b><u>Bakır Geri Kazanım Testi</u></b>		
<u>İdrar</u>	<u>İdrar + 10 µg/L Cu</u>	<u>İdrar + 25 µg/L Cu</u>
18,39 µg/L	28,97 µg/L	43,37 µg/L
% Geri		
Kazanım :	102	99,9

Kalibrasyon standartları ile yapılan deteksiyon limiti hesaplamasında 0,345 µg/L bulundu. Numune analizlerinde 3 kat seyreltme yapıldı ve hesaplanan metot deteksiyon limiti 1,04 µg/L olarak bulundu. Deteksiyon limiti hesaplamaları Çizelge 3.11' de gösterilmektedir.

Çizelge 3.11 İdrarda bakır analizi deteksiyon limiti hesaplamaları

<b>Kör (Şahit) Okumaları (Abs.) :</b> 0,0085 - 0,0092 - 0,0088 - 0,0086 - 0,0085 - 0,0084 - 0,0077 - 0,0080 - 0,0093 - 0,0089
<b>Kör Okumalarının Standart Sapması :</b> 0,0005
<b>Karakteristik Kütle (pg) :</b> Standart 1 için 21,5 Standart 2 için 20,3 Standart 3 için 19,7 Standart 4 için 19,5
<b>Ortalama Karakteristik Kütle (pg) :</b> 20,25
<b>Deteksiyon Limiti = <u>Karakteristik Kütle x 3 x Standart Sapma</u></b>
0,0044
= <u>20,25 x 3 x 0,0005</u>
0,0044
= 6,9 pg
<b>Konsantrasyon Birimi ile Deteksiyon Limiti = <u>6,9</u></b>
20 (Enjeksiyon Hacmi)
= 0,345 µg/L

Çizelge 3.12 İdrarda bakır analizi kesinlik ve doğruluk testi

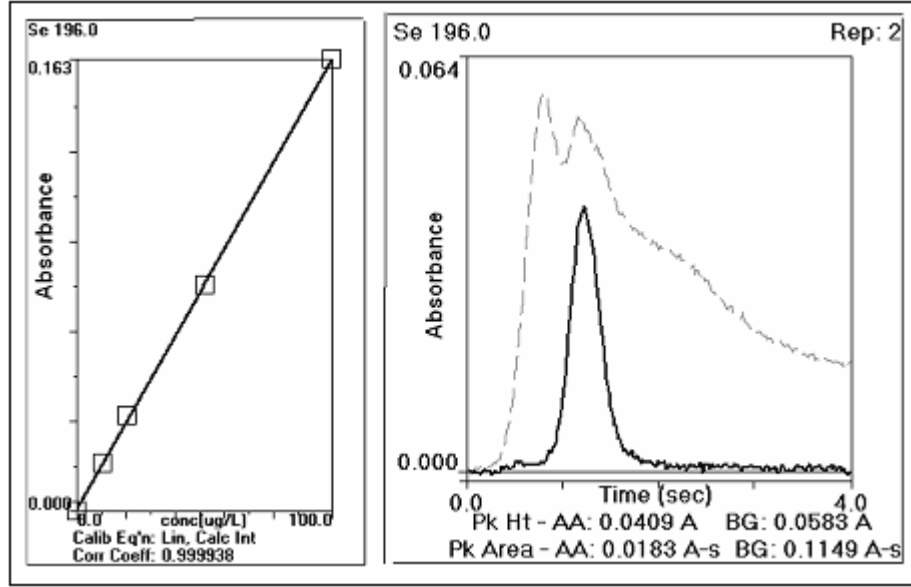
<b>İdrarda Bakır Analizi Kesinlik ve Doğruluk Testi</b>			
	<b>Birinci Gün</b>	<b>İkinci Gün</b>	<b>Üçüncü Gün</b>
	18,39	17,59	19,76
	19,09	16,96	17,87
	16,67	17,67	18,81
	16,82	17,02	18,36
	16,64	18,16	17,12
	17,52	17,81	16,96
	18,56	18,67	20,02
<b>Ortalama (p = 0,05)</b>	17,67 ± 0,94	17,70 ± 0,56	18,41 ± 1,11
<b>% Varyasyon Katsayısı</b>	5,7	3,4	6,5
<b>% Geri Kazanım</b>	95	95,2	99
<b>t<sub>hesap</sub></b>	2,44	3,97	0,42
<b>t<sub>tablo</sub> (p = 0,05)</b>	2,45	2,45	2,45 (p = 0,05)
<b>F<sub>1,2</sub> - F<sub>1,3</sub> - F<sub>2,3</sub>(hesap)</b>	2,83	1,41	4
<b>F<sub>1,2</sub> - F<sub>1,3</sub> - F<sub>2,3</sub>(tablo)</b>	4,28	4,28	4,28 (p = 0,05)

### 3.2.3 Serumda Selenyum Analizi

Serumda selenyum analizi, serum içerisindeki konsantrasyonu sebebiyle grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektrometrisi yöntemiyle gerçekleştirildi.

#### 3.2.3.1 Serumda Selenyum Analizi Kalibrasyon Eğrisi

Kalibrasyon standartları hazırlanırken 1000 mg/L selenyum standartından, önce 100 kat seyreltilerek 10 mg/L birinci ara standart çözeltisi hazırlandı. Daha sonra 10 mg/L birinci ara standart çözeltisi 10 kat seyreltilerek 1 mg/L' lik ikinci ara standart çözeltisi hazırlandı. 10 – 20 – 50 – 100 µg/L çalışma standartları 1 mg/L ikinci ara standart çözeltiden uygun hacim oranlarında seyreltilerek hazırlandı. Seyreltme işlemleri % 0,2' lik (v/v) HNO<sub>3</sub> çözeltisi ile yapıldı. Kalibrasyon eğrisi ve serum numunesi analit sinyali Şekil 3.3' de gösterilmektedir.



Şekil 3.3 Serumda selenyum analizi kalibrasyon eğrisi ve serum numunesi analit sinyali

### 3.2.3.2 Serumda Selenyum Analizi Numune Hazırlama İşlemi

Serum numunesi 0,2 mL alınarak üzerine 0,5 mL % 0,2' lik (v/v) HNO<sub>3</sub> çözeltisi ve 0,3 mL % 0,2' lik (v/v) Triton X-100 çözeltisi eklenmiştir.

### 3.2.3.3 Serumda Selenyum Analizi Enstrümantal Parametreler

Enstrümantal parametreler ve fırın programı sırasıyla 3.13 ve 3.14' de gösterilmektedir.

Çizelge 3.13 Serumda selenyum analizi enstrümantal parametreler

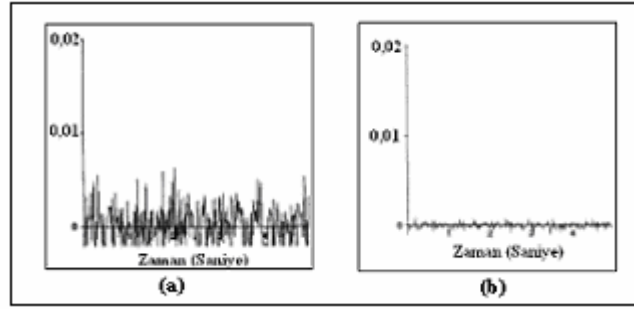
<b><u>Enstrümantal Parametreler</u></b>			
Lamba akımı :	290 mA	Dalgaboyu :	196 nm
Bant genişliği :	2 nm, düşük	Zemin düzeltmesi :	Zeeman etkili
Ölçüm modu :	Pik alanı (Abs.)	Numune enjeksiyon hacmi :	20 µL
Enjeksiyon Sıcaklığı :	40 °C	Matriks düzenleyici hacmi :	5 µL

Matriks düzenleyici çözeltisi 5 µL içerisinde 5 µg Pd ve 3 µg Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> olacak şekilde hazırlandı. Bu amaçla 1000 mg/L' lik Pd standart çözeltisinin 100 mL' si içinde 0,104 g Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. 6H<sub>2</sub>O çözümlenerek matriks düzenleyici hazırlandı.

Çizelge 3.14 Serumda selenyum analizi fırın programı

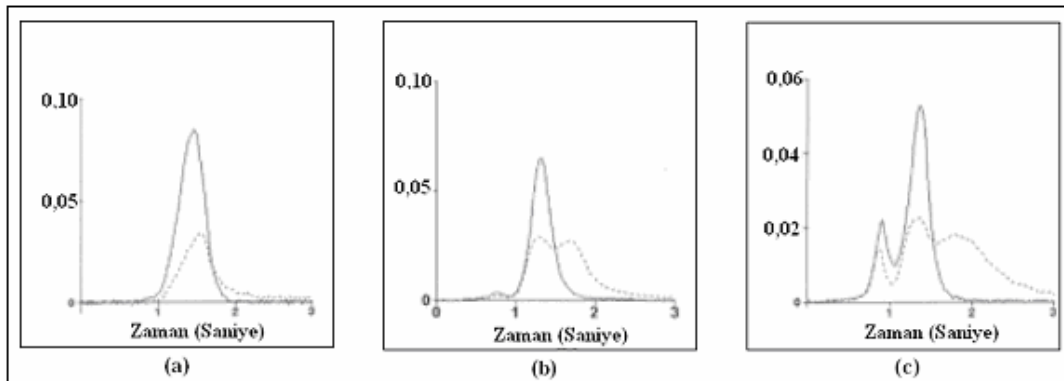
<b>Fırın Programı</b>				
<b>Basamak</b>	<b>Sıcaklık (°C)</b>	<b>Çıkış Süresi (s)</b>	<b>Kalış Süresi (s)</b>	<b>Argon Akışı (mL/dakika)</b>
1	110	1	25	250
2	130	5	25	250
3	1200	15	25	250
4	2150	0	4	0
5	2450	1	3	250

Şekil 3.4 (a) da oyuk katot lamba Şekil 3.4 (b) de elektrotsuz boşalım lambasının sinyalleri görülmektedir. Özellikle selenyum analizinde daha az gürültü sinyaline sahip olan yüksek akımlı lambalar önerilmekte ve geniş bant genişliği seçimi analizin tekrarlanabilirliğini ve hassasiyetini arttırmaktadır.



Şekil 3.4 (a) Oyuk katot lamba sinyali (b) Elektrotsuz boşalım lambası sinyali (İzgi 2001)

Şekil 3.5 (a) da 25 µg/L analit sinyali, (b) de Seronorm marka sertifikalı referans malzeme içindeki analit sinyali ve (c) de serum örneği analit sinyali gösterilmektedir.



Şekil 3.5 (a) 25 µg/L Se sinyali (b) Seronorm Se sinyali (c) Örnek serum Se sinyali (Feuerstein ve Schlemmer 1999)

### 3.2.3.4 Serumda Selenyum Analizi Deteksiyon Limiti, Kesinlik ve Doğruluk Çalışmaları

Serumda selenyum analizi sonuçlarının kesinlik ve doğruluk değerlendirmesi, Çizelge 3.17’ de gösterilen, 3 günlük 7’ şer tekrar deneme ile Seronorm sertifikalı referans malzemesi kullanılarak yapıldı. Referans malzeme selenyum konsantrasyonu gerçek değeri 129 µg/L ve % 95 güven sınırında kabul edilebilir aralık 121 – 137 µg/L olarak beyan edilmiştir. Çizelge 3.15’ de selenyum geri kazanım testi gösterilmektedir. Geri kazanım testleri için sırasıyla toplam hacminde 25 µg/L ve 50 µg/L standart olacak şekilde çözeltiler hazırlandı

Çizelge 3.15 Serumda selenyum analizi geri kazanım testi

<b><u>Selenyum Geri Kazanım Testi</u></b>		
<u>Serum</u>	<u>Serum + 25 µg/L Se</u>	<u>Serum + 50 µg/L Se</u>
127,5 µg/L	150,9 µg/L	171,2 µg/L
% Geri		
Kazanım :	98,9	96,4

Kalibrasyon standartları ile yapılan deteksiyon limiti hesaplamasında 1,25 µg/L bulundu. Numune analizlerinde 5 kat seyreltme yapıldı ve hesaplanan metot deteksiyon limiti 6,25 µg/L olarak bulundu. Deteksiyon limiti hesaplamaları Çizelge 3.16’ de gösterilmektedir.

Çizelge 3.16 Serumda selenyum analizi deteksiyon limiti hesaplamaları

<b>Kör (Şahit) Okumaları (Abs.) :</b> 0,0031 - 0,0031 - 0,0039 - 0,0037 - 0,0045 - 0,0034 - 0,0049 - 0,0044 - 0,0047 - 0,0047
<b>Kör Okumalarının Standart Sapması :</b> 0,0007
<b>Karakteristik Kütle (pg) :</b> Standart 1 için 50,6; Standart 2 için 51,3; Standart 3 için 54; Standart 4 için 53,9
<b>Ortalama Karakteristik Kütle (pg) :</b> 52,45
<b>Deteksiyon Limiti = <u>Karakteristik Kütle x 3 x Standart Sapma</u></b>
0,0044
= <u>52,45 x 3 x 0,0007</u>
0,0044
= 25,03 pg
<b>Konsantrasyon Birimi ile Deteksiyon Limiti = <u>25,03</u></b>
20 (Enjeksiyon Hacmi)
= 1,25 µg/L



Çizelge 3.17 Serumda selenyum analizi kesinlik ve doğruluk testi

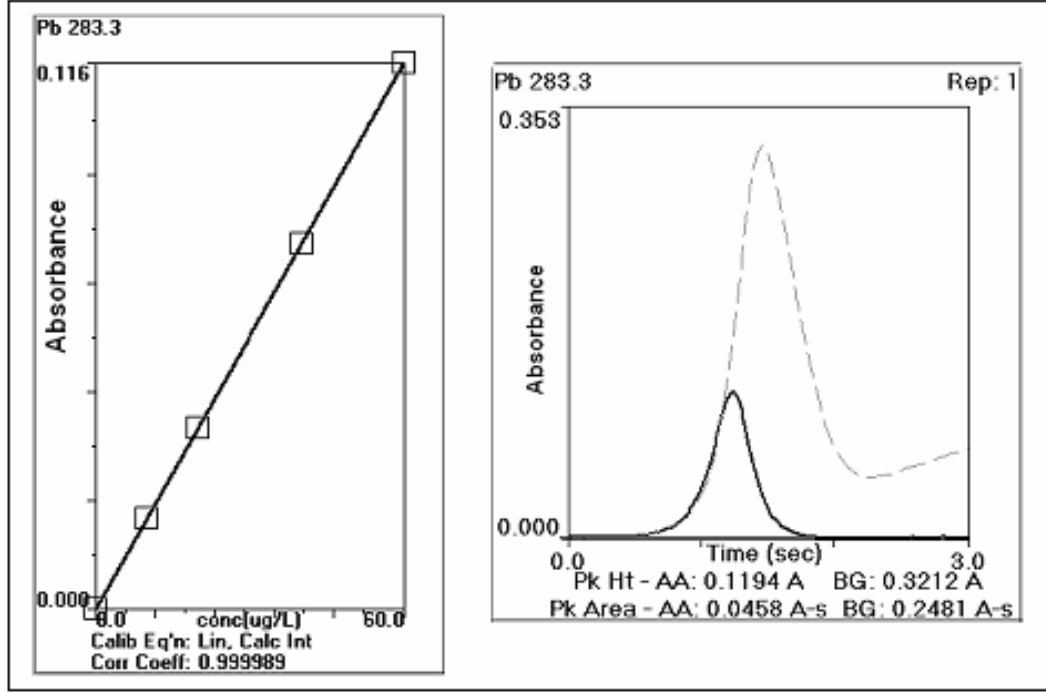
<b><u>Serumda Selenyum Analizi Kesinlik ve Doğruluk Testi</u></b>			
	<b>Birinci Gün</b>	<b>İkinci Gün</b>	<b>Üçüncü Gün</b>
	127,5	132	135,9
	119,5	131,8	136,5
	124,9	127	130
	131,1	126,3	129,8
	126,5	133,2	131,7
	128	128,4	128,8
	134,3	134,2	134,4
<b>Ortalama (p = 0,05)</b>	127,4 ± 4,37	130,4 ± 2,90	132,2 ± 2,82
<b>% Varyasyon Katsayısı</b>	3,7	2,4	2,3
<b>% Geri Kazanım</b>	98,8	101,1	102,5
<b>t<sub>hesap</sub></b>	0,9	1,18	2,8
<b>t<sub>tablo</sub> (p = 0,05)</b>	2,45	2,45	2,45 <b>(p = 0,05)</b>
<b>F<sub>1,2</sub> – F<sub>1,3</sub> – F<sub>2,3(hesap)</sub></b>	2,22	2,4	1,08
<b>F<sub>1,2</sub> – F<sub>1,3</sub> – F<sub>2,3(tablo)</sub></b>	4,28	4,28	4,28 <b>(p = 0,05)</b>

### 3.2.4 Tam Kanda Kurşun Analizi

Tam kanda kurşun analizi, kurşun içerisindeki konsantrasyonu sebebiyle grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektrometrisi yöntemiyle gerçekleştirildi.

#### 3.2.4.1 Tam Kanda Kurşun Analizi Kalibrasyon Eğrisi

Kalibrasyon standartları hazırlanırken 1000 mg/L kurşun standartından, önce 100 kat seyreltilerek 10 mg/L birinci ara standart çözeltisi hazırlandı. Daha sonra 10 mg/L birinci ara standart çözeltisi 10 kat seyreltilerek 1 mg/L' lik ikinci ara standart çözeltisi hazırlandı. 10 – 20 – 40 – 60 µg/L çalışma standartları 1 mg/L ikinci ara standart çözeltiden uygun hacim oranlarında seyreltilerek hazırlandı. Seyreltme işlemleri % 0,2' lik (v/v) HNO<sub>3</sub> çözeltisi ile yapıldı. Kalibrasyon eğrisi ve tam kan numunesi analit sinyali Şekil 3.6' da gösterilmektedir.



Şekil 3.6 Tam kanda kurşun analizi kalibrasyon eğrisi ve tam kan numunesi analit sinyali

### 3.2.4.2 Tam Kanda Kurşun Analizi Numune Hazırlama İşlemi

Tam kan numunesi 0,2 mL alınarak üzerine 0,5 mL % 0,2' lik (v/v) HNO<sub>3</sub> çözeltisi ve 0,3 mL % 0,2' lik (v/v) Triton X-100 çözeltisi eklenmiştir.

### 3.2.4.3 Tam Kanda Kurşun Analizi Enstrümantal Parametreler

Enstrümantal parametreler ve fırın programı sırasıyla Çizelge 3.18 ve 3.19' da gösterilmektedir.

Çizelge 3.18 Tam kanda kurşun analizi enstrümantal parametreler

<b><u>Enstrümantal Parametreler</u></b>			
Lamba akımı :	410 mA	Dalgaboyu :	283,3 nm
Bant genişliği :	0,7 nm, düşük	Zemin düzeltmesi :	Zeeman etkili
Ölçüm modu :	Pik alanı (Abs.)	Numune enjeksiyon hacmi :	15 µL
Enjeksiyon Sıcaklığı :	40 °C	Matriks düzenleyici hacmi :	5 µL

Matriks düzenleyici çözeltisi 5 µL içerisinde 50 µg NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ve 3 µg Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> olacak şekilde hazırlandı. Bu amaçla 1 g NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ve 0,104 g Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. 6H<sub>2</sub>O çözülerek 100 mL' ye % 0,2' lik (v/v) HNO<sub>3</sub> çözeltisi ile tamamlanarak matriks düzenleyici hazırlandı.

Çizelge 3.19 Tam kanda kurşun analizi fırın programı

<b><u>Fırın Programı</u></b>				
<b><u>Basamak</u></b>	<b><u>Sıcaklık (°C)</u></b>	<b><u>Çıkış Süresi (s)</u></b>	<b><u>Kalış Süresi (s)</u></b>	<b><u>Argon Akışı (mL/dakika)</u></b>
1	110	1	30	250
2	130	15	30	250
3	600	10	30	250
4	1600	0	3	0
5	2450	1	3	250

#### **3.2.4.4 Tam Kanda Kurşun Analizi Deteksiyon Limiti, Kesinlik ve Doğruluk Çalışmaları**

Tam kanda kurşun analizi sonuçlarının kesinlik ve doğruluk değerlendirmesi, Çizelge 3.22’ de gösterilen, 3 günlük 7’ şer tekrar deneme ile Seronorm sertifikalı referans malzemesi kullanılarak yapıldı. Liyofilize olarak ticari yolla elde edilen referans malzeme 5 mL saf su ile çözülerek hazırlandı ve 0,5 mL’ lik porsiyonlar halinde – 20 °C’ de derin dondurucuda saklandı. Bu koşullar altındaki stabilitesi 1 ay olarak beyan edilmiştir. Referans malzeme kurşun konsantrasyonu gerçek değeri 554 µg/L ve % 95 güven sınırında kabul edilebilir aralık 532 – 576 µg/L olarak beyan edilmiştir. Kurşun geri kazanım testi Çizelge 3.20’ de gösterilmektedir. Geri kazanım testleri için sırasıyla toplam hacminde 80 µg/L ve 160 µg/L standart olacak şekilde çözeltiler hazırlandı.

Çizelge 3.20 Tam kanda kurşun analizi geri kazanım testi

<b><u>Kurşun Geri Kazanım Testi</u></b>		
<b><u>Tam Kan</u></b>	<b><u>Tam Kan + 80 µg/L Pb</u></b>	<b><u>Tam Kan + 160 µg/L Pb</u></b>
545,3 µg/L	621,5 µg/L	711,2 µg/L
% Geri		
Kazanım :	99,4	100,8

Kalibrasyon standartları ile yapılan deteksiyon limiti hesaplamasında 0,16 µg/L bulundu. Numune analizlerinde 5 kat seyreltme yapıldı ve hesaplanan metot deteksiyon limiti 0,8 µg/L olarak bulundu. Deteksiyon limiti hesaplamaları Çizelge 3.21’ de gösterilmektedir.

Çizelge 3.21 Tam kanda kurşun analizi deteksiyon limiti hesaplamaları

<b>Kör (Şahit) Okumaları (Abs.) :</b> 0,0004 - 0,0002 - 0,0002 - 0,0002 - 0,0001 - 0,0000 0,0000 - 0,0000 - 0,0000 - 0,0000	-
<b>Kör Okumalarının Standart Sapması :</b> 0,0001	
<b>Karakteristik Kütle (pg) :</b> Standart 1 için 34,5 Standart 2 için 35,9 Standart 3 için 34,9 Standart 4 için 35,5	
<b>Ortalama Karakteristik Kütle (pg) :</b> 35,2	
<b>Deteksiyon Limiti =</b> $\frac{\text{Karakteristik Kütle} \times 3 \times \text{Standart Sapma}}{0,0044}$	
$= \frac{35,2 \times 3 \times 0,0001}{0,0044}$	
$= 2,4 \text{ pg}$	
<b>Konsantrasyon Birimi ile Deteksiyon Limiti =</b> $\frac{2,4}{15 \text{ (Enjeksiyon Hacmi)}}$	
$= 0,16 \text{ } \mu\text{g/L}$	

Çizelge 3.22 Tam kanda kurşun analizi kesinlik ve doğruluk testi

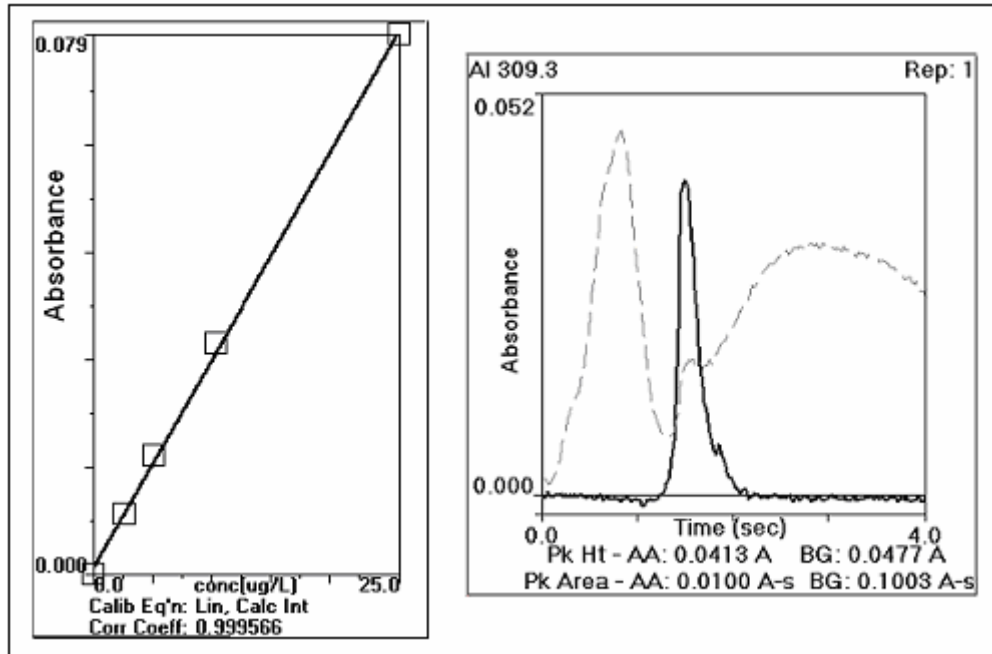
<b><u>Tam Kanda Kurşun Analizi Kesinlik ve Doğruluk Testi</u></b>			
	<b>Birinci Gün</b>	<b>İkinci Gün</b>	<b>Üçüncü Gün</b>
	550,7	545,2	554,1
	542,1	572,4	56,8
	550,7	559,3	561
	553,5	556,7	552,1
	550,4	555,9	547,8
	551,2	552,4	549
	551	551,3	551
<b>Ortalama (p = 0,05)</b>	549,9 ± 3,37	556,2 ± 7,74	553,7 ± 4,93
<b>% Varyasyon Katsayısı</b>	0,66	1,5	0,96
<b>% Geri Kazanım</b>	99,3	100,4	99,9
<b>t<sub>hesap</sub></b>	3	0,69	0,15
<b>t<sub>tablo</sub> (p = 0,05)</b>	2,45	2,45	2,45 (p = 0,05)
<b>F<sub>1,2</sub> - F<sub>1,3</sub> - F<sub>2,3</sub>(hesap)</b>	3,24	2,53	1,28
<b>F<sub>1,2</sub> - F<sub>1,3</sub> - F<sub>2,3</sub>(tablo)</b>	4,28	4,28	4,28 (p = 0,05)

### 3.2.5 Serumda Alüminyum Analizi

Serumda alüminyum analizi, serum içerisindeki konsantrasyonu sebebiyle grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektrometrisi yöntemiyle gerçekleştirildi.

#### 3.2.5.1 Serumda Alüminyum Analizi Kalibrasyon Eğrisi

Kalibrasyon standartları hazırlanırken 1000 mg/L alüminyum standartından, önce 100 kat seyreltilerek 10 mg/L birinci ara standart çözeltisi hazırlandı. Daha sonra 10 mg/L birinci ara standart çözeltisi 40 kat seyreltilerek 0,25 mg/L' lik ikinci ara standart çözeltisi hazırlandı. 2,5 – 5 – 10 – 25 µg/L çalışma standartları 0,25 mg/L ikinci ara standart çözeltiden uygun hacim oranlarında seyreltilerek hazırlandı. Seyreltme işlemleri % 0,2' lik (v/v) HNO<sub>3</sub> çözeltisi ile yapıldı. Kalibrasyon eğrisi ve serum numunesi analit sinyali Şekil 3.7' de gösterilmektedir.



Şekil 3.7 Serumda alüminyum analizi kalibrasyon eğrisi ve serum numunesi analit sinyali

#### 3.2.5.2 Serumda Alüminyum Analizi Numune Hazırlama İşlemi

Serum numunesi 0,3 mL alınarak üzerine 0,3 mL % 0,2' lik (v/v) HNO<sub>3</sub> çözeltisi ve 0,3 mL % 0,2' lik (v/v) Triton X-100 çözeltisi eklenmiştir.

### 3.2.5.3 Serumda Alüminyum Analizi Enstrümantal Parametreler

Enstrümantal parametreler ve fırın programı sırasıyla 3.23 ve 3.24' de gösterilmektedir.

Çizelge 3.23 Serumda alüminyum analizi enstrümantal parametreler

<b><u>Enstrümantal Parametreler</u></b>			
Lamba akımı :	20 mA	Dalgaboyu :	309,3 nm
Bant genişliği :	0,7 nm, düşük	Zemin düzeltmesi :	Zeeman etkili
Ölçüm modu :	Pik alanı (Abs.)	Numune enjeksiyon hacmi :	20 µL
Enjeksiyon Sıcaklığı :	40 °C	Matriks düzenleyici hacmi :	5 µL

Matriks düzenleyici çözeltisi 5 µL içerisinde 15 µg Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> olacak şekilde hazırlandı. Bu amaçla 0,52 g Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. 6H<sub>2</sub>O çözülerek % 0,2' lik (v/v) HNO<sub>3</sub> çözeltisi ile 100 mL' ye tamamlandı.

Çizelge 3.24 Serumda alüminyum analizi fırın programı

<b><u>Fırın Programı</u></b>				
<b><u>Basamak</u></b>	<b><u>Sıcaklık (°C)</u></b>	<b><u>Çıkış Süresi (s)</u></b>	<b><u>Kalış Süresi (s)</u></b>	<b><u>Argon Akışı (mL/dakika)</u></b>
1	110	1	30	250
2	130	15	30	250
3	1000	15	25	250
4	2300	0	4	0
5	2500	1	5	250

### 3.2.5.4 Serumda Alüminyum Analizi Deteksiyon Limiti, Kesinlik ve Doğruluk Çalışmaları

Serumda alüminyum analizi sonuçlarının kesinlik ve doğruluk değerlendirmesi, Çizelge 3.27' de gösterilen, 3 günlük 7' şer tekrar deneme ile Seronorm sertifikalı referans malzemesi kullanılarak yapıldı. Liyofilize olarak ticari yolla elde edilen referans malzeme 5 mL saf su ile çözülerek hazırlandı ve 0,5 mL' lik porsiyonlar halinde – 20 °C' de derin dondurucuda saklandı. Bu koşullar altındaki stabilitesi 1 ay olarak beyan edilmiştir. Referans malzeme alüminyum konsantrasyonu gerçek değeri 102 µg/L ve % 95 güven sınırında kabul edilebilir aralık 95 – 109 µg/L olarak beyan edilmiştir. Alüminyum geri kazanım testi Çizelge 3.25' de gösterilmektedir. Geri kazanım testleri için sırasıyla toplam hacminde 25 µg/L ve 50 µg/L standart olacak şekilde çözeltiler hazırlandı

Çizelge 3.25 Serumda alüminyum analizi geri kazanım testi

<b><u>Alüminyum Geri Kazanım Testi</u></b>		
<u>Serum</u>	<u>Serum + 25 µg/L Al</u>	<u>Serum + 50 µg/L Al</u>
103,6 µg/L	130,3 µg/L	151,9 µg/L
% Geri		
Kazanım :	101,3	98,9

Kalibrasyon standartları ile yapılan deteksiyon limiti hesaplamasında 0,6 µg/L bulundu. Numune analizlerinde 3 kat seyreltme yapıldı ve hesaplanan metot deteksiyon limiti 1,8 µg/L olarak bulundu. Deteksiyon limiti hesaplamaları Çizelge 3.26' da gösterilmektedir.

Çizelge 3.26 Serumda alüminyum analizi deteksiyon limiti hesaplamaları

<b>Kör (Şahit) Okumaları (Abs.) :</b> 0,0028 - 0,0009 - 0,0014 - 0,0024 - 0,0014 - 0,0025 - 0,0012 - 0,0014 - 0,0024 - 0,0023
<b>Kör Okumalarının Standart Sapması :</b> 0,0007
<b>Karakteristik Kütle (pg) :</b> Standart 1 için 25,3 Standart 2 için 25,4 Standart 3 için 26 Standart 4 için 27,7
<b>Ortalama Karakteristik Kütle (pg) :</b> 26,1
<b>Deteksiyon Limiti =</b> $\frac{\text{Karakteristik Kütle} \times 3 \times \text{Standart Sapma}}{0,0044}$
$= \frac{26,1 \times 3 \times 0,0007}{0,0044}$
$= 12,46 \text{ pg}$
<b>Konsantrasyon Birimi ile Deteksiyon Limiti =</b> $\frac{12,46}{20 \text{ (Enjeksiyon Hacmi)}}$
$= 0,6 \text{ µg/L}$

Çizelge 3.27 Serumda alüminyum analizi kesinlik ve doğruluk testi

<b><u>Serumda Alüminyum Analizi Kesinlik ve Doğruluk Testi</u></b>			
	<b>Birinci Gün</b>	<b>İkinci Gün</b>	<b>Üçüncü Gün</b>
	100,8	98,25	100,5
	99,97	103,3	96,78
	97,43	102,8	102,1
	96,74	99	103,2
	101,9	101,5	98,36
	105,4	105,1	99,38
	104,3	97,89	100,6
<b>Ortalama (p = 0,05)</b>	100,9 ± 3,0	101,1 ± 2,63	100,6 ± 2,05
<b>% Varyasyon Katsayısı</b>	3,2	2,8	2,2
<b>% Geri Kazanım</b>	98,9	99,1	98,6
<b>t<sub>hesap</sub></b>	0,9	0,85	1,7
<b>t<sub>tablo</sub> (p = 0,05)</b>	2,45	2,45	2,45 (p = 0,05)
<b>F<sub>1,2</sub> - F<sub>1,3</sub> - F<sub>2,3(hesap)</sub></b>	1,35	2,2	1,6
<b>F<sub>1,2</sub> - F<sub>1,3</sub> - F<sub>2,3(tablo)</sub></b>	4,28	4,28	4,28 (p = 0,05)

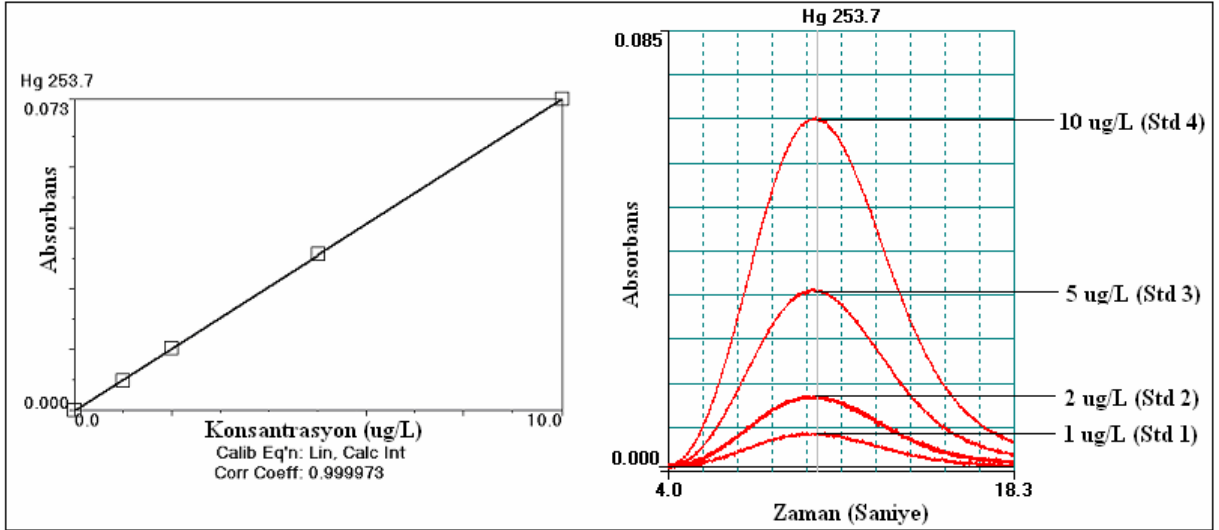
### 3.2.6 Tam Kanda Civa Analizi

Tam kanda civa analizi, tam kan içerisindeki konsantrasyonu sebebiyle soğuk buhar atomik absorpsiyon spektrometrisi yöntemi ile gerçekleştirildi.

#### 3.2.6.1 Tam Kanda Civa Analizi Kalibrasyon Eğrisi

Kalibrasyon standartları hazırlanırken 1000 mg/L civa standartından, önce 100 kat seyreltilerek 10 mg/L birinci ara standart çözeltisi hazırlandı. Daha sonra 10 mg/L birinci ara standart çözeltisi 100 kat seyreltilerek 100 µg/L' lik ikinci ara standart çözeltisi hazırlandı. 1 – 2 – 5 – 10 µg/L çalışma standartları 100 µg/L ikinci ara standart çözeltiden uygun hacim oranlarında seyreltilerek hazırlandı. Seyreltme işlemleri % 0,2' lik (v/v) HNO<sub>3</sub> çözeltisi ile yapıldı. Kalibrasyon eğrisi ve kalibrasyon standartlarının analit sinyali Şekil 3.8' de gösterilmektedir.





Şekil 3.8 Tam kanda civa analizi kalibrasyon eğrisi ve kalibrasyon standartlarının sinyali

### 3.2.6.2 Tam Kanda Civa Analizi Numune Hazırlama İşlemi

15 mL' lik vidalı kapaklı polipropilen tüp içerisinde 1 mL tam kan numunesi alınarak üzerine % 0,2' lik (v/v) Triton X-100' den 1 mL, % 65' lik (v/v) derişik HNO<sub>3</sub>' den 2 mL ve % 0,5' lik (w/v) K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>' den 0,1 mL eklendi. Toplam 4,1 kat seyreltilmiş olan tam kan numunesi çözeltisi etüv içerisinde 65 °C sıcaklıkta gece boyunca yaş yakma işlemine tabi tutuldu. Yaş yakma işleminde kullanılan reaktiflerden, analizde pozitif sistematik hataya sebep olacak miktarda civa geldiği saptandı ve bu etkiyi elimine etmek için numune körü hazırlandı. % 0,2' lik (v/v) Triton X-100' den 1 mL, % 65' lik (v/v) derişik HNO<sub>3</sub>' den 2 mL ve % 0,5' lik (w/v) K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>' den 0,1 mL alınarak hazırlanan numune körü etüv içerisinde 65 °C sıcaklıkta gece boyunca yaş yakma işlemine tabi tutuldu.

Soğuk buhar tekniğinde indirgen olarak kullanılacak % 0,2' lik (w/v) NaBH<sub>4</sub> ve % 0,05' lik (w/v) NaOH çözeltisi, taşıyıcı olarak kullanılacak % 3' lük (v/v) HCl çözeltisi 1 L' lik balon jodelerde hazırlandı.

Civa analizinde, indirgen olarak SnCl<sub>2</sub> kullanılması, oyuk katot lamba yerine yüksek akımlı lambaların kullanılması veya amalgam tekniği adıyla bilinen ön zenginleştirme yönteminin kullanılması analizin hassasiyetini arttırdığı bilinmektedir.

### 3.2.6.3 Tam Kanda Civa Analizi Enstrümantal Parametreler

Enstrümantal parametreler ve akış – enjeksiyon programı Çizelge 3.28' de gösterilmiştir.

Çizelge 3.28 Tam kanda civa analizi enstrümantal parametreler ve akış – enjeksiyon programı

<b><u>Enstrümantal Parametreler</u></b>			
Dalgaboyu :	253,7 nm	Argon akışı :	75 mL/dakika
Bant genişliği :	0,7 nm	Ölçüm modu :	Pik yüksekliği (Abs.)
Numune hacmi :	500 µL	Hücre Sıcaklığı :	100 °C
<b><u>Akış – Enjeksiyon Programı</u></b>			
<b><u>Basamak</u></b>	<b><u>Zaman (s)</u></b>	<b><u>Pompa 1 (rpm)</u></b>	<b><u>Valf</u></b>
Ön dolum	10	100	Dolum
1	10	100	Dolum
2	15	120	Enjeksiyon

### 3.2.6.4 Tam Kanda Civa Analizi Deteksiyon Limiti ve Doğruluk Çalışmaları

Tam kanda civa analizi sonuçlarının doğruluk değerlendirilmesi, Seronorm sertifikalı referans malzemesi kullanılarak yapıldı. Liyofilize olarak ticari yolla elde edilen referans malzeme 5 mL saf su ile çözülerek hazırlandı ve 0,5 mL' lik porsiyonlar halinde – 20 °C' de derin dondurucuda saklandı. Bu koşullar altındaki stabilitesi 1 ay olarak beyan edilmiştir. Referans malzeme civa konsantrasyonu gerçek değeri 13 µg/L ve % 95 güven sınırında kabul edilebilir aralık 12,3 – 13,7 µg/L olarak beyan edilmiştir.

Kalibrasyon standartları ile yapılan deteksiyon limiti hesaplamasında 0,47 µg/L bulundu. Numune analizlerinde 4,1 kat seyreltme yapıldı ve hesaplanan metot deteksiyon limiti 1,93 µg/L olarak bulundu. Standartların okumaları ve deteksiyon limiti hesaplamaları sırasıyla Çizelge 3.29 ve 3.30' da gösterilmektedir.

Çizelge 3.29 Tam kanda civa analizi standart çözelti okumaları

<b><u>Standart 1 (5 µg/L) Okumaları (Abs.)</u></b>		<b><u>Standart 2 (10 µg/L) Okumaları (Abs.)</u></b>	
0,0297	0,0314	0,0642	0,0641
0,0297	0,0300	0,0626	0,0649
0,0303	0,0296	0,0676	0,0650
0,0304	0,0309	0,0664	0,0648
0,0307	0,0299	0,0640	0,0656
<b>Ortalama (p = 0,05)</b>	<b>0,0303 ± 0,0004</b>		<b>0,0649 ± 0,0010</b>
<b>Standart Sapma</b>	<b>0,0006</b>		<b>0,0014</b>

Çizelge 3.30 Tam kanda civa analizi deteksiyon limiti hesaplaması

Standart 1 İçin Deteksiyon Limiti = Standart 1 Konsantrasyonu x 3 x Standart Sapma

Ortalama

$$= \frac{5 \times 3 \times 0,0006}{0,0303}$$

$$= 0,297 \mu\text{g/L}$$

$$= 0,297 \mu\text{g/L}$$

Standart 2 İçin Deteksiyon Limiti = Standart 2 Konsantrasyonu x 3 x Standart Sapma

Ortalama

$$= \frac{10 \times 3 \times 0,0014}{0,0649}$$

$$= 0,647 \mu\text{g/L}$$

$$= 0,647 \mu\text{g/L}$$

Deteksiyon Limiti =  $0,297 + 0,647$

2

$$= 0,47 \mu\text{g/L}$$

#### 4. SONUÇ VE DEĞERLENDİRME

Biyolojik sıvılardaki çinko, bakır, selenyum, kurşun, alüminyum ve civa elementlerinin analizleri atomik absorpsiyon spektrometrisi yöntemi ile çalışıldı.

Dış kalite kontrol amacıyla akredite bir laboratuvar olan Instand e.V. Ringversuche, Dusseldorf laboratuvarlarından gelen örneklerde çalışma yapıldı ve Çizelge 4.1’deki sonuçlar elde edildi.

Çizelge 4.1 Dış kalite kontrol sonuçları

<u>Analit</u>	<u>Gerçek Değer</u>	<u>Kabul Aralığı</u>	<u>Bu Çalışma</u>	<u>% Geri Kazanım</u>
<b>Çinko (serum)</b>				
Seviye 1	1,82 mg/L	1,16 - 2,48	1,92 mg/L	104,9
Seviye 2	0,920 mg/L	0,580 – 1,26	0,950 mg/L	103,3
<b>Bakır (serum)</b>				
Seviye 1	24,5 µmol/L	15,6 – 33,4	23,55 µmol/L	96,1
Seviye 2	34,9 µmol/L	22,3 – 47,5	33,44 µmol/L	95,8
<b>Bakır (idrar)</b>				
Seviye 1	153 µg/L	97,9 – 209	134 µg/L	87,6
Seviye 2	104 µg/L	66,5 – 142	86 µg/L	82,7
<b>Selenyum (serum)</b>				
Seviye 1	107 µg/L	68,4 – 146	108 µg/L	100,9
Seviye 2	252 µg/L	161 – 343	242 µg/L	96
<b>Alüminyum (serum)</b>				
Seviye 1	85,4 µg/L	54,6 – 117	105 µg/L	122,9
Seviye 2	152 µg/L	97,2 – 207	180 µg/L	118,4
<b>Kurşun (tam kan)</b>				
Seviye 1	376 µg/L	240 – 512	381 µg/L	101,3
Seviye 2	75,2 µg/L	48,1 – 103	78,8 µg/L	104,8
<b>Civa (tam kan)</b>				
Seviye 1	21 µg/L	13,4 – 28,6	20 µg/L	95,2
Seviye 2	10,6 µg/L	6,78 – 14,5	12,6 µg/L	118,9

Geliştirilen analiz metotlarının iç kalite kontrolü sertifikalı referans malzemeler kullanılarak 3 farklı günde 7’şer tekrar denemesi ile yapıldı. Serumda çinko analizi ortalama % CV (varyasyon katsayısı) değeri 4,3 ve ortalama % geri kazanım değeri 100,8 olarak, serumda

bakır analizi ortalama % CV değeri 5,1 ve ortalama % geri kazanım değeri 97,5 olarak, idrarda bakır analizi ortalama % CV değeri 5,2 ve ortalama % geri kazanım değeri 96,4 olarak, serumda selenyum analizi ortalama % CV değeri 2,8 ve ortalama % geri kazanım değeri 100,8 olarak, tam kanda kurşun analizi ortalama % CV değeri 1,04 ve ortalama % geri kazanım 99,8 olarak, serumda alüminyum analizi ortalama % CV değeri 2,7 ve ortalama % geri kazanım 98,8 olarak hesaplandı. 3 farklı günde yapılan 7' şer tekrar denemeden elde edilen sonuçlar % 95 güven aralığında birbirinden farklı olup olmadığı Student 't' testi ve 'F' testi ile değerlendirildi.

Bu çalışmada amaçlanan tam kan, serum ve idrar gibi biyolojik sıvılarda çinko, bakır, kurşun, selenyum, alüminyum ve civanın atomik absorbsiyon spektrometrisi yöntemi kullanılarak tayini ile ilgili metot geliştirilmesi, kalite kontrol çalışmalarının yapılması ve istatistiksel olarak değerlendirilmesidir.

Yapılan i ve dış kalite kontrol çalışmalarında elde edilen sonuçların tekrarlanabilirlik ve doğruluk değerlerinin kabul sınırlarında olması, geliştirilen analiz metotlarının uygunluğunu göstermektedir.

Bu alışma bundan sonraki araştırmacılara yol göstermesi açısından önemlidir.

**KAYNAKLAR**

- Almeida, A. A. ve Lima, J. L. F. C. (2000), "Elimination of the Carbon Build-Up Effect in the ETAAS Analysis of Low Diluted Serum Samples Using an In Situ Wet Digestion With Tetramethylammonium Hydroxide. Application to Aluminium", *Journal of Analytical Atomic Spectroscopy*, 15:1019-1024.
- Almeida, A.A. ve Lima, J. L.F.C. (2001), "Optimized Conditions and Analytical Performance for the Determination of Cu in Serum and Urine Samples Using a Single GFAAS Procedure", *Atomic Spectroscopy*, 22:324-330.
- Anand, V. D., White, J. M. ve Nino, H. V. (1975), "Some Aspects of Specimen Collection and Stability in Trace Elements Analysis of Body Fluids", *Clinical Chemistry*, 21:595-602.
- Bannon, D. I., Murashchik, C., Zapf, C. R., Farfel, M. R. ve Chisolm, J. J. (1994), "Graphite Furnace Atomic Absorption Spectroscopic Measurement of Blood Lead in Matrix-Matched Standards", *Clinical Chemistry*, 40:1730-1734
- Brown, S., Bertholf, R. L., Wills, M. R. ve Savory, J. (1984), "Electrothermal Atomic Absorption Spectrometric Determination of Aluminium in Serum With a New Technique for Protein Precipitation", *Clinical Chemistry*, 30:1216-1218.
- Burtis, C. A. ve Ashwood, E. R. (1999), *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, W. B. Saunders Company, Philadelphia.
- Colon, J. L. L., Veiga, D., Montel, A., Pradena, J. M. ve Lozano, R. (2001), "Determination of Mercury in Blood by Cold Vapor Atomic Spectrometry", *Atomic Spectroscopy*, 22:284-289.
- Feuerstein, M. ve Schlemmer, G. (1999), "Determination of Se in Human Serum by GFAAS With Transversely Heated Graphite Atomizer and Longitudinal Zeeman-Effect Background Correction", *Atomic Spectroscopy*, 20:180-185.
- Gunter, E., Stroud, P., Mullinix, J. ve Paschal, D. (1999), "Performing Analyses for Serum Selenium", *National Health and Nutrition Examination Survey*, 1-22.
- Gündüz, T. (1998), *Kimyacılar İçin İstatistik*, Gazi Kitabevi, Ankara
- İzgi B. (2001), "Biyolojik ve Gıda Örneklerinde Selenyum Tayini ve Fraksiyonlama (Türlendirme) Çalışmaları", *Uludağ Üniversitesi, Bursa*.
- Jones, R. L. (2001), "Performing Analyses for Blood Cadmium and Lead", *National Health and Nutrition Examination Survey*, 1-19.
- Meret, S. ve Henkin, R. I. (1971), "Simultaneous Direct Estimation by Atomic Absorption Spectrophotometry of Copper and Zinc in Serum, Urine, and Cerebrospinal Fluid", *Clinical Chemistry*, 17:369-373.
- Montel, A., Pradena, J. M., Gervas, J. M., Bustamante, G. A. ve Colon, J. L. L. (2003), "A Rapid Method for the Determination of Selenium in Blood and Serum by ETAAS With Zeeman Background Correction", *Atomic Spectroscopy*, 24:173-178.
- Moyer, P. T., Mussmann G. V. Ve Nixon D. V. (1991), "Blood-Collection Device for Trace and Ultra-Trace Specimens Evaluated", *Clinical Chemistry*, 37:709-714.
- Parker, M. M., Humoller, F. L. ve Mahler, D. J. (1967), "Determination of Copper and Zinc in Biological Material", *Clinical Chemistry*, 17:40-48.
- Patriarca, M. ve Morisi, G. (1999), *Zeeman GFAAS Determination of Lead and Cadmium in Blood, Applications of Zeeman GFAAS*, Italy.

Robertson, D. E. (1972), Contamination Problems in Trace Element Analysis and Ultrapurification, Marcel Dekker, New York.

Sakuma, A. M., Maio, F. D., Utishiro, R. Q., Kira, C. S., Carvalho, M. F. H. ve Lichtig, J. (1999), "Optimization of Parameters for Trace Inorganic Mercury Determination in Urine by Flow Injection Cold Vapor AAS", Atomic Spectroscopy, 20:186-190.

Skoog, D. A., Holler, F. J. ve Nieman, T. A. (1998), Principles of Instrumental Analysis, Harcourt Brace & Company, Florida.

Smith, J. C. ve Butrimovitz, G. P. (1979), "Direct Measurement of Zinc in Plasma by Atomic Absorption Spectroscopy", Clinical Chemistry, 25:1487-1491.

Thomas, L. (1998), Clinical Laboratory Diagnostics: Use and Assessment of Clinical Laboratory Results, TH Boks, Frankfurt.

**ÖZGEÇMİŞ**

Doğum tarihi	25.11.1980	
Doğum yeri	Karabük	
Lise	1994 – 1998	Karabük Demir Çelik Lisesi
Lisans	1998 – 2003	Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Anabilim Dalı, Analitik Kimya Programı

**Çalıştığı kurumlar**

2003 – 2005	İncekaralar Laboratuvar Cihazları A.Ş.
2005 – Devam ediyor	Centro Laboratuvarları