

168324

**YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ALÜMİNYUM KİMYASAL TÜRLERİNİN
ÖLÇÜMÜNÜN İNCELENMESİ**

Kimyager İnci KIRAN

FBE Kimya Anabilim Dalı Analitik Kimya Programında
Hazırlanan

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Göksel AKÇİN (YTÜ)

Üye

: Prof. Dr. Belma Özbek Bilgi

Yrd. Doç. Dr. İktisal Koyuncu

İSTANBUL, 2005

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
SİMGE LİSTESİ.....	iv
KISALTIMA LİSTESİ.....	v
ŞEKİL LİSTESİ.....	vi
ÇİZELGE LİSTESİ.....	viii
ÖNSÖZ.....	ix
ÖZET.....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	3
2.1 Konu ile İlgili Önceki Çalışmalar.....	3
2.2 Alüminyum Tayini İçin Kullanılan Analitik Yöntemler.....	4
2.2.1 Alüminyumun Spektrofotometrik Tayini.....	4
2.2.2 Alüminyumun Tayininde Kullanılan Diğer Yöntemler.....	7
2.3 Sitrik Asit Tayini İçin Kullanılan Analitik Yöntemler.....	9
3. GENEL BİLGİ.....	11
3.1 Alüminyum Hakkında Genel Bilgiler.....	11
3.1.1 Alüminyumun Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	11
3.1.2 Alüminyum Bileşikleri.....	12
3.1.3 Çözünmüş Alüminyum.....	12
3.1.4 Alüminyum Kaynakları ve Çevreye Etkisi.....	14
3.1.5 Alüminyum Üretimi ve Kullanım Alanları.....	14
3.1.6 Alüminyumun İnsan ve Çevre Sağlığına Etkisi.....	17
3.2 Çalışmada Kullanılan Diğer Metaller Hakkında Genel Bilgiler.....	19
3.2.1 Demirin Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri.....	19
3.2.2 Demir Bileşikleri.....	20
3.2.3 Çinkonun Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri.....	20
3.3 Sitrik Asit Hakkında Genel Bilgiler.....	22
3.3.1 Sitrik Asidin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	22
3.3.2 Sitrik Asidin Kaynakları ve Kullanım Alanları.....	23
3.3.3 Biyokimyasal Açıdan Sitrik Asit.....	24
3.3.4 Sitrik Asit-Metal Kompleksleri.....	26
4. DENEYSEL ÇALIŞMA.....	30
4.1 Çalışmada Kullanılan Cihazlar ve Kimyasal Maddeler.....	30
4.1.1 Kullanılan Cihazlar.....	30
4.1.2 Çalışmada Kullanılan Kimyasallar ve Çözeltiler.....	32
4.1.2.1 Analitik Saflıktaki Kimyasallar.....	32
4.1.2.2 Hazırlanan Çözeltiler.....	32

4.2	Uygulanan Yöntemler	34
4.2.1	Sitrik Asidin Enzimatik Biyoanalizi.....	34
4.2.1.1	Sitrik Asit Standart Çözeltisinde Sitrat Tayini	36
4.2.1.2	Metal-Sitrik Asit Çözeltilerinde Sitrat Tayini	38
4.2.1.3	Sitrat ve İzositratın Karşılaştırmalı Tayini	48
4.2.1.4	İdrar Örneğinde Sitrat Tayini	50
4.2.2	Alüminyumun Spektrofotometrik Tayini	51
4.2.2.1	Standart Al ³⁺ Çözeltisinde Spektrofotometrik Tayin	53
4.2.2.2	Al ³⁺ - Sitrik Asit Çözeltilerinde Al Tayini	54
4.2.2.3	HPIEC ile Ayırma ve Al ³⁺ Tayini	56
4.2.2.4	Çeşitli Meyve Suyu Örneklerinde Al ³⁺ Tayini	63
4.2.2.5	GFAAS ile Al ³⁺ Tayini.....	63
5.	SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	65
5.1	Sitrik Asit (Sitrat) Tayin Sonuçları.....	65
5.1.1	Sitrik Asit standart Çözeltisinde Sitrat Tayini.....	65
5.1.2	Metal-Sitrik Asit Çözeltilerinde Sitrat Tayini	65
5.1.3	Sitrat ve İzositratın Karşılaştırmalı Tayini	66
5.1.4	İdrar Örneğinde Sitrat Tayini	66
5.2	Alüminyumun Spektrofotometrik Tayini	66
5.2.1	Standart Al ³⁺ Çözeltisinde Spektrofotometrik Tayin	66
5.2.2	Al ³⁺ -Sitrik Asit Çözeltilerinde Al ³⁺ Tayini	66
5.2.3	HPIEC ile Ayırma ve Al ³⁺ Tayini	67
5.2.4	GFAAS ile Al ³⁺ Tayini.....	67
	KAYNAKLAR.....	69
	ÖZGEÇMİŞ.....	76

SİMGE LİSTESİ

cm	Santimetre
d	Işık Yolu
g	Gram
kg	Kilogram
l	Litre
M	Molarite
mg	Miligram
μg	Mikrogram
ml	Mililitre
μl	Mikrolitre
nm	Nanometre
V	Hacim
$^{\circ}\text{C}$	Santigrad derece
%	Yüzde işareti
σ	Sigma
ε	Ekstinksiyon Katsayısı



KISALTMA LİSTESİ

HPIEC	Yüksek Performanslı İyon Değişirme Kromatografisi
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
GFAAS	Grafit Fırınlı Atomik Absorpsiyon Spektrometresi
PCV	Pirokatekol Menekşesi
ICP-AES	İndüktif Çiftleşmiş Plazma – Atomik Emisyon Spektrometresi
ICP-MS	İndüktif Çiftleşmiş Plazma – Kütle Spektrometresi
ISO	Uluslar arası Standardizasyon Organizasyonu
UV	Ultra Viöle
TCA	Trikarboksilik Asit
ATP	Adenozin Trifosfat
ADP	Adenozin Difosfat
VIS	Görünür Bölge
QC	Kalite Kontrol
R ²	Korelasyon Sabiti
EHL	Çevre Sağlık Laboratuvarları
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
EPA	Çevre Koruma Ajansı
EEC	Avrupa Ekonomik Komitesi



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 3.1 Çözünür Al türlerinin sulu çözeltideki dağılımı.....	13
Şekil 3.2 Bazı tahıl ürünlerinin % Alüminyum toleransı [1]	19
Şekil 3.3 Yarı saydam sitrik asit tozu.....	23
Şekil 3.4 Sitrik asitin molekül yapısı.....	23
Şekil 3.5 TCA (trikarboksilik asit) döngüsü	25
Şekil 3.6 Sitrik asit varlığında Al türlerinin dağılımına pH'ın etkisi	27
Şekil 3.7 Sitrat (Cit) ve hekzaqua Al^{3+} ($(Al(H_2O)_6)^{3+}$) kompleksinin reaksiyonu sonucu oluşan bazı Al-sitrat kompleksleri	28
Şekil 3.8 Gaz ve sıvı fazlarında Al-sitrat kompleksinin molekül yapısı	29
Şekil 4.1 HPIEC sistemi.....	30
Şekil 4.2 Varian-Cary UV-VIS spektrofotometresi	31
Şekil 4.3 Varian 220Z GFAAS cihazı.....	31
Şekil 4.4 Sitrik asit çalışma akım şeması	35
Şekil 4.5 Sitrat tayin metodu kalibrasyon grafiği.....	36
Şekil 4.6 Sitrat tayin metodu kalibrasyon grafiği.....	37
Şekil 4.7 Al-sitrat ve Zn-sitrat çözeltileri spektrofotometrik tayini	38
Şekil 4.8 Al-sitrat çözeltileri spektrofotometrik tayini.....	39
Şekil 4.9 Fe-sitrat, Al-sitrat ve Zn-sitrat çözeltileri spektrofotometrik tayini.....	40
Şekil 4.10 Al-sitrat ([Sit] = 0,3 mmol/l) çözeltileri spektrofotometrik tayini	41
Şekil 4.11 Al-sitrat ([Sit] = 3 mmol/l) çözeltileri spektrofotometrik tayini	41
Şekil 4.12 Al-sitrat ([Sit] = 0,3 mmol/l) çözeltileri spektrofotometrik tayini	42
Şekil 4.13 Zn-sitrat ([Sit] = 0,3 mmol/l) çözeltileri spektrofotometrik tayini.....	43
Şekil 4.14 Taze Al-sitrat ([Sit] = 0,3 mmol/l) çözeltileri spektrofotometrik tayini	44
Şekil 4.15 Taze Al-sitrat ([Sit] = 0,3 mmol/l) çözeltileri inhibasyon yüzdesi	44
Şekil 4.16 Yaşlı Al-sitrat ([Sit] = 0,3 mmol/l) çözeltileri spektrofotometrik tayini.....	45
Şekil 4.17 Yaşlı Al-sitrat ([Sit] = 0,3 mmol/l) çözeltileri inhibasyon yüzdesi.....	45
Şekil 4.18 Taze Al-sitrat ([Sit] = 1 mmol/l) çözeltileri spektrofotometrik tayini	46
Şekil 4.19 Taze Al-sitrat ([Sit] = 1 mmol/l) çözeltileri inhibasyon yüzdesi	46
Şekil 4.20 Yaşlı Al-sitrat ([Sit] = 1 mmol/l) çözeltileri spektrofotometrik tayini.....	47
Şekil 4.21 Yaşlı Al-sitrat ([Sit] = 1 mmol/l) çözeltileri inhibasyon yüzdesi.....	47
Şekil 4.22 Al-izositrat ([İzosit] = 0,5 mmol/l) çözeltileri spektrofotometrik tayini.....	49
Şekil 4.23 Al-izositrat ([İzosit] = 1 mmol/l) çözeltileri spektrofotometrik tayini.....	49
Şekil 4.24 Al'un tiron belirteci ile spektrofotometrik tayini akım şeması	52
Şekil 4.25 Al'un spektrofotometrik tayini kalibrasyon grafiği (0-5 dak).....	53
Şekil 4.26 Al'un spektrofotometrik tayini kalibrasyon grafiği (10-15 dak).....	53
Şekil 4.27 Al'un spektrofotometrik tayini kalibrasyon grafiği (30-40 dak).....	54
Şekil 4.28 Al'un spektrofotometrik tayini kalibrasyon grafiği (24 saat)	54
Şekil 4.29 Al-sitrat ($[Al^{3+}] = 0,25$ mmol/l) çözeltileri spektrofotometrik tayini.....	55
Şekil 4.30 Al-sitrat ($[Al^{3+}] = 0,5$ mmol/l) çözeltileri spektrofotometrik tayini.....	55
Şekil 4.31 Al standart çözelti kromatogramları.....	57
Şekil 4.31 Al-sitrat ($[Al^{3+}] = 0,5$ mmol/l, [Sit] = 1 mmol/l) çözeltileri kromatogramı	57
Şekil 4.32 İngiliz marka meyve suyu kromatogramı	58
Şekil 4.33 İngiliz marka meyve suyu kromatogramı	58
Şekil 4.34 İngiliz marka meyve suyu kromatogramı	59
Şekil 4.35 Türk marka vişne suyu kromatogramı	59
Şekil 4.36 İngiliz marka çay örneği kromatogramı	60
Şekil 4.37 İngiliz marka çay + 0,5 mmol/l Al örneği kromatogramı	60
Şekil 4.38 1 mmol/l NaF + 0,5 mmol/l Al^{3+} çözeltisi kromatogramı.....	61
Şekil 4.39 1 mmol/l Al-laktat çözeltisi kromatogramı.....	61

Şekil 4.40 1mmol/l Al-asetat çözeltisi kromatogramı.....	62
Şekil 4.41 1 mmol/l Maltol + 0,5 mmol/l Al ³⁺ çözeltisinin kromatogramı.....	62



ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge 3.1 Alüminyumun, $Al(OH)_3$ (s) ile dengede olan çözünmüş türlerinin farklı pH'lardaki dağılımı.....	13
Çizelge 3.2. Alüminyum bileşikleri ve kullanım alanları	15
Çizelge 4.1 Sitrik asit tayin metoduna göre UV-VIS Spektrofotometrik tayini yapılacak örnek içerikleri.....	34
Çizelge 4.2 Standart sitrik asit örnek çözeltisi	36
Çizelge 4.3 Standart sitrik asit örnek çözeltisi	37
Çizelge 4.4 İngiliz marka meyve suyunda sitrat ve izositrat konsantrasyonları (n = 4)	48
Çizelge 4.5 Türk marka meyve suyunda sitrat konsantrasyonları (n = 4).....	48
Çizelge 4.6 İdrar örneği sitrat konsantrasyonları	50
Çizelge 4.7 Meyve suyu ve çay demi örneklerinde Al^{3+} konsantrasyonları	63
Çizelge 4.8 Meyve suyunda ve çay deminde GFAAS ile tayin edilen Al^{3+} konsantrasyonları	64
Çizelge 4.9 GFAAS ve HPIEC ile tayin sonucu elde edilen Al konsantrasyonları	64
Çizelge 4.10 Su kalite standardı	64

ÖNSÖZ

Üniversite eğitimim süresince hayallerimi gerçekleştirmemde hiçbir desteğini esirgemeyen, başarıya ulaşmak için çok çalışmayı ve asla vazgeçmemeyi öğreten, hayatımın en önemli adımlarından biri olan yurt dışında yeni bir eğitim ve kültür tanımamı sağlayan, benim için bir üniversite profesöründen çok farklı bir yeri olan çok sevgili hocam Sayın Prof. Dr. Göksel Akçin'e sonsuz teşekkürü bir borç bilirim.

Royal Liverpool Üniversite Hastahanesi'ndeki çalışma sürem boyunca yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Norman Roberts'a, Liverpool'da geçirdiğim altı ay boyunca bana her türlü desteği ve yardımı esirgemeyen Sayın Dr. Mansour Sargazi'ye teşekkür ederim.

Her zaman ne istediğini bilen, hayattan zevk almamı ve bu hayatta bir birey olmamı sağlayan, gerçekleştirmek istediğim hayallerimin en yakın ve en değerli savunucusu her şeyden önemli ve çok sevgili aileme hayat boyu teşekkürü bir borç bilirim.

Hayatımda emeği geçen herkese teşekkür ederim.



ÖZET

Doğal ve biyolojik sistemlerde bulunan Al'un (Alüminyum), öncelikle insanoğlu ve daha birçok tür için potansiyel tehdit oluşturduğu bilinmektedir. Bu da günümüzde çok büyük bir problem haline gelmiştir. Bu sebeple Al'un kimyasal türlerinin ve bu türlerin ölçümlerinin incelenmesi konuları oldukça önem kazanmıştır.

Al'un Alzheimer hastalığı ile tahmini ilişkisi bu metali insan sağlığı açısından da önemli bir konuma getirmiştir. Alzheimer hastalığı üzerine önemli düzeylerde çalışmalar yapan bir ülke de İngiltere'dir. Al'un kimyasal türlerinin ölçümlerinin incelenmesi, bu türlerin vücutta taşınması ve Alzheimer hastalığı ile olası bağlantılarını incelemek amacıyla 2004 yılında İngiliz Konsolosluğu tarafından desteklenen Yıldız Teknik Üniversitesi ve Royal Liverpool Üniversite Hastahanesi arasında "Investigation into the Measurement of the Chemical Species of Aluminium and Study of Their Relationships to Cellular Uptake and Removal" konu başlıklı proje başlatılmıştır ve halen yürütülmektedir.

Çalışmanın büyük bir kısmı sözü geçen proje çerçevesinde Liverpool, İngiltere'de, Ağustos 2004 – Ocak 2005 tarihleri arasında Royal Liverpool Üniversite Hastahanesi laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışmada, metal-sitrat (özellikle Al-sitrat) komplekslerinin davranışları iki şekilde incelenmiştir. (1) Sitrik asit tayini açısından; çalışma prensibi enzimatik bir reaksiyon olan ticari bir kit (BOEHRINGER MANNHEIM / R-BIOPHARM, Citric Acid UV-Method) kullanılarak spektrofotometrik olarak incelenmiştir. (2) Alüminyum ve diğer metallerin tayini açısından; önce yüksek performanslı iyon değiştirme kromatografisi (HPIEC) ile ayırma yapılmıştır. Ardından metal kompleksi oluşturan bir ajanla (4,5-dihidroksi-1,3-benzendisülfonik asid, disodyum monohidrat tuzu) spektrofotometrik olarak incelenmiştir. HPIEC'ye ek olarak Al grafit fırınlı atomik absorpsiyon kromatografisi (GFAAS) ile de tayin edilmiştir.

Analiz örnekleri olarak; sentetik metal-sitrat çözeltileri sitrik asit içerdiği bilinen, günlük olarak tüketilen çeşitli meyve suları ve çay kullanılmıştır. Tek bir analiz için idrar örneği kullanılmıştır.

Literatürdeki diğer çalışmalardan farklı olarak metal-sitrat kompleks çözeltilerinin taze ve yaşlı (bekletilmiş) olmaları halinde sitrik asit enzimatik reaksiyon tayini üzerindeki etkileri incelenmiştir. Yapılan çalışmalarda taze çözeltilerin enzimatik reaksiyon üzerine belirgin bir inhibasyon etkileri olduğu belirlenmesine rağmen bu etki yaşlı çözeltilerde görülmemiştir.

Anahtar kelimeler: Alüminyum türlendirmesi, metal iyon-sitrat kompleksi, alüminyum-sitrat kompleksleri.

ABSTRACT

The presence of Aluminium (Al) in natural (biological) systems is of major concern at present because of its potential threat to a number of species including humans. Therefore the investigation of the chemical species of Al and the measurements of the species came into prominence in recent days.

The conjectural relationship between Al and Alzheimer's Disease made the metal important for human health. United Kingdom is one of the countries in which many researches are being studied. In order to investigate the measurement of the chemical species of Al and its approximate links to Alzheimer's Disease an international project is developed between Yıldız Technical University and Royal Liverpool University Hospital in 2004. the Project titled as "Investigation into the Measurement of the Chemical Species of Aluminium and Study of Their Relationships to Cellular Uptake and Removal" is approved by British Council – Turkey.

Major part of this study was performed in Royal Liverpool University Hospital laboratories in UK between the dates August, 2004 – January, 2005.

In this study, the characteristics of the metal-citrate (particularly Al-citrate) complexes, (1) spectrophotometric determination of citric acid by using a commercial kit (BOEHRINGER MANNHEIM / R-BIOPHARM, Citric Acid UV-Method) of which principle is an enzymatic reaction, (2) high pressure ion-exchange chromatographic (HPIEC) speciation of Al and other metals and afterwards spectrophotometric determination by using a complexing agent (4,5-dihydroxy-1,3-benzendisulfonic acid, disodium monohydrate salt), were examined.

Different kinds of fruit juices that are being consumed in daily diet, synthetic metal-citrate solutions, the citric acid solutions of which citric acid concentrations are known and tea samples were used in laboratory experiments.

As a difference from other studies in literature, the effects of fresh and aged metal-citrate complex solutions on determination of citric acid were experimented. Despite a significant inhibition effect in fresh solutions, there was no such effect in aged solutions.

Keywords: Aluminium speciation, metal ion-citrate complex, aluminium-citrate complexes.

1. GİRİŞ

Bitkilerin ve hayvanların biyolojik olarak Al'a ihtiyaç duymadığı bilinmektedir (Bohn vd., 1979). Uzun bir süre zehirli olmadığı düşünülen Al'un zararları son zamanlarda yapılan çalışmalarla ortaya çıkmıştır. Al'un organizmalarda birikme riski birçok faktöre bağlanmıştır. Bu faktörler, paketlenme ve inşaat malzemelerinde, boyalarda, Al-içeren antasid ile tedavi edilen hastalarda, uzun dönemli endüstriyel tüketimlerde, böbrek rahatsızlığı olan hemodiyaliz hastalarında olmak üzere geniş kullanım alanlarını içermektedir. Fizyolojik ortamdaki 'serbest Al' yüksek biyoyararlılığa sahiptir. Yapılan bazı çalışmalarda enzimlerin aktivitelerinin değişimine sebep olduğu ve muhtemelen çapraz-bağlı protein zincirleri aracılığıyla DNA'yı etkilediği gösterilmiştir. Alüminyumun, Alzheimer hastalığı gibi nörolojik bozukluklara ve bazı karaciğer rahatsızlıklarına sebep olduğundan şüphelenilmektedir. Alzheimer hastalığının zararında alüminyumun yer alması, bu hastaların beyin dokularındaki farklı hedef bölgelerinde Al birikiminin tanımlanması ile ilişkilendirilmiştir. Aynı Al türlerine (örneğin; alüminosilikatlar ve sitrat kompleksleri), sağlıklı bireylerin aynı beyin bölgelerinde rastlanmamıştır. Ancak, analitik kanıttan ayrı olarak, Alzheimer hastalığında Al'un kesin nedenlerinin belirlenmesi ile ilgili olarak doğrudan uygulamasını gösteren deneysel bir kanıt yoktur (Ebdon vd., 2001).

Al(OH)₃ içeren antasidlerdeki Al'un mide ve bağırsak yoluyla absorpsiyonunun genellikle düşük olduğu ve fazlasının böbrek yoluyla atıldığı düşünülür. Son zamanlarda hayvanlar üzerinde yapılan deneyler göstermiştir ki; Al-sitrat komplekslerinin çeşitli yollarla alımı kanda ve dokulardaki Al miktarını arttırmaktadır (Slanina vd., 1986). Sadece sitrat içeren sıvılarla beslenen fareler üzerinde yapılan deneyler ²⁶Al'un bağırsaklardaki absorpsiyonunun 5-10 kat arttığını göstermiştir (Drüeke vd., 1997).

Bu çalışmada değişik matrislerde Al tanımlanması için bir analitik prosedür kurulması amaçlanmıştır. Ayrılmış fraksiyonlardaki Al türlerinin analizinde yüksek performanslı iyon değiştirme kromatografisi (HPIEC) kullanılmıştır. Bu türlerin fraksiyonlardaki içeriklerinin ölçümünde grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektrometresi (GFAAS) kullanılmıştır. Bulunabilecek Al bileşiklerini anlayabilmek amacıyla bu prosedür daha sonra içecek ve fizyolojik sıvılar gibi değişik matrislere uygulanmıştır.

Biyolojik olarak metabolizmaya alınan ve zehirlilik gösteren Al fraksiyonu (biyoyararlı fraksiyon), toplam Al fraksiyonundan farklıdır. Al'un biyoyararlanımını aydınlatmak

amacıyla Al fraksiyonlandırılmasında kullanılan analitik yöntemler çok önemlidir (Çakın, 2002).

Doğadaki fazlaca miktarı ve geniş kullanım alanları Al'un bünyeye alınmasını kaçınılmaz kılar. Bünyedeki absorpsiyonu da önemli ölçüde oluşturduğu komplekslerle ilgilidir. Bu sebeple çalışmada, Al'un çeşitli sitrat kompleksleri de incelenmiştir. Bu komplekslerin metabolizmada gerçekleşen bir enzimatik reaksiyon içindeki davranışları sentetik örnek çözeltileri hazırlanarak test edilmiştir.

Bu çalışmamızda, Al kimyasal türlerinin ve sitrat analizleri prosedürlerini incelenmesi ve metal-sitrat komplekslerinin içecek ve metabolizma şartlarındaki durumlarının araştırılması amaçlanmıştır.



2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1 Konu ile İlgili Önceki Çalışmalar

Al'un incelendiği en önemli ortamlardan biri sulardır. Değişik Al türlerinin doğal sulardaki varlıklarını araştırmaya yönelik ilgi gün geçtikçe artmaktadır. Bu türlerin anlaşılması Al'un biyoyararlanımına, toksisitesine ve taşınma mekanizmalarına ışık tutmaktadır. Anderson, (1988); Wren ve Stephenson, (1991); Clarke vd., (1996); Lever, (1996); Pyrzyńska vd., (1999) yaptıkları çalışmalarda çoğu doğal sularda rastlanan pH'larda kompleks oluşturuca ajan yokluğunda Al çözünürlüğünü azaldığı ve bunun sonucunda Al konsantrasyonunun düştüğü belirtilmişlerdir. Sularda ve toprakta düşen pH'ın en önemli kaynağı olarak da sülfür ve nitrojen içeren fosil atıklarının doğaya karışması olduğunu göstermişlerdir.

Al'un biyolojik etkileri son yıllarda önem kazanmıştır. Yapılan çalışmalarda Zatta (1993) yüksek düzeylerdeki Al'un Alzheimer hastalığına, Bonnucci (1994) kemik yumuşamasına ve Alfrey (1994) kişilik bölünmesine sebep olabileceğini belirtilmişlerdir. İnsanoğlu için en önemli Al kaynakları olarak gıdalar, içme suları ve böbrek yetmezliği tedavisi gören hastalarda diyaliz sıvılarını göstermişlerdir.

Venturini-Soriano ve Berthon (2001) temel elementlerden olmayan Al'un, ligand etkileşimlerine bağlı olarak çevresel ve tedaviye yönelik düzeylerde toksik olabildiğini belirtmişlerdir. Meyve ve sebzelerde bulunan ve günlük olarak tüketilen asitler (sitrik asit vs.) Al³⁺ iyonu için uygun ligantlardır. Malik asit bunlardan biridir ve yiyecek ve içeceklerde çok baskın olarak bulunur. Çalışmalarında fizyolojik şartlarda Al-malat komplekslerinin oluşum sabitleri ve bunların biyoyararlanımla ilişkisini incelemişlerdir.

Haberhauer vd. (2002) yaptıkları çalışmada Al absorpsiyonuna birinci dereceden etkili organik asitleri (sitrik, okzalik ve asetik) incelemişlerdir. Bunlardan sitrik asit Al'un toprak ve suda taşınma prosesinde en önemli etken olduğunu öne sürmüşlerdir. Gıdalarla alınan organik asitler ve çeşitli yollarla sisteme giren Al'un sindirim sisteminde dolaşımına yardımcı olabildiğini savunmuşlardır.

Al'un asidik topraklardaki kimyası nedeniyle bitki kökleri için oluşturduğu potansiyel toksisitesi birçok bilim adamı için özel bir ilgi alanıdır. Rost-Siebert (1983); Hue vd. (1986); Cronan ve Grigal (1995); Göttlein (1998) yaptıkları birçok çalışmada toprak çözeltilerindeki Al içeriğini incelemişlerdir. Bu bilgiler ışığında Drabek vd. (2003) kararlı Al formları ve türlerinin asidik topraklardaki toksisitelerini incelemişlerdir. Al toksisitesi inorganik veya

organik türlerin oluşmasıyla azalabilse de çalışma “serbest Al”un kompleksleşmiş Al’dan ayırmak için yapılmıştır. Al’un toprak çözeltilerindeki konsantrasyonunun temel olarak toprak pH’ına bağlı olduğu yapılan çalışmada gözlemlenmiştir.

De-song vd. (2004); Erdemoğlu vd. (2000); Finger vd., (1992) yaptıkları çalışmalarda yüksek miktarda Al biriktirebilme özelliğine sahip olan ve dünyada en çok tüketilen içeceklerden biri olan çayı incelenmişlerdir. Çay bitkisi, *Camellia sinensis*, asidik topraklarda yetişen ve Al toleransı yüksek olan bir bitki olarak tanımlanmıştır ve sonuçlar Al bağlanmasında polifenolik bileşiklerin önemli olduğunu göstermiştir.

2.2 Alüminyum Tayini İçin Kullanılan Analitik Yöntemler

Deneysel olarak Al türlendirmesi, değişik Al formlarının türlendirmesini içerir. Bu Al formları öncelikle organik kompleks oluşturuca ajanlarla meydana gelen reaksiyon kinetiklerinin değişimine bağlıdır. Al türlendirmesi ve tayini için spesifik ve direkt bir yöntem henüz yoktur. Sadece Al türlerini gruplar halinde tayinini gerçekleştiren fraksiyonlandırma prosedürleri geliştirilmiştir.

Su ve Atıksu Analizleri için Standard Metotlar (1995) kitabında alüminyum tayini için kullanılan en genel yöntemler; grafit fırın atomik absorpsiyon spektrofotometrik metodu (deteksiyon limiti 0,003 mg/l) ve indüktif çiftleşmiş plazma atomik emisyon spektrofotometrik metodu (deteksiyon limiti 0,04 mg/l) olarak belirtilmiştir. Daha pahalı olarak indüktif çiftleşmiş plazma kütle spektrofotometrik metodu (deteksiyon limiti 0,1 µg/l) kullanılabilir. Erikrom siyanin R ve pirokatekol menekşesi ile gerçekleştirilen türlendirmenin ardından uygulanan ultraviyole-görünür spektrofotometri metodu da alüminyum tayininde kullanılan yöntemler arasındadır.

2.2.1 Alüminyumun Spektrofotometrik Tayini

Al fraksiyonlandırmasında en sık uygulanan yöntemlerden biri spektrofotometrik olarak tayindir. Buradaki prensip, kısa ve yeterli bir sürede sadece belirli Al formlarının çeşitli kimyasal reaktiflerle reaksiyon vermesidir. Hızlı reaksiyon veren Al ya da “labil Al türleri” de denen bu formlar bazı organizmalar için belirlenmiş en zehirli formlardır.

Reaksiyon için uygun pH ayarlandıktan sonra, oluşan kompleksin konsantrasyonu tayin edilir. Labil Al komplekslerini, labil olmayan Al komplekslerinden ayırmak oldukça zordur. Bunun nedeni iki grup arasında çok belirgin bir ayırım olmamasıdır. Birçok araştırmacı en kısa reaksiyon sürelerini seçmiştir. Mekanize edilmiş yöntemler reaksiyon süresinin kontrolünü

çok daha kolaylaştırmıştır. Alüminyumun spektrofotometrik tayininde kullanılan bazı reaktifler aşağıda belirtilmiştir;

a) Oksin (8-hidroksikinolin)

Al fraksiyonlandırmasında ilk olarak Goto vd. (1958) tarafından kullanılan bu reaktif birçok metal için klasik olarak nitelendirilebilir. Burada Al, seçilen bir pH'da reaksiyona girerek Al-trioksinat kompleksi oluşturur. Çözünürlüğü suda az olan bu kompleks, kloroform ya da metilizobutylketon (MIBK) gibi organik çözücü içine çekilir. Daha sonra 390 nm dolaylarında spektrofotometrik olarak ya da atomik absorpsiyon spektroskopisi ile ölçülür. Oksin Al için spesifik olmadığından birçok metal iyonu girişim yapabilir. Doğal sularda yapılan çalışmalarda tek ciddi girişimcinin demir olduğu gözlemlenmiştir. Bunu engellemek için maskeleyme yapılır.

Goto ve Okura 4,5 ve 9,5 arasında değişen pH'larda koloidal Al türlerinin varlığında oksin ile çalışma yapmışlardır. Daha sonra ekstrakte edilebilen Al türlerini "monomer ya da dimer" olarak adlandırmışlardır. Al fraksiyonlandırmasında kilometre taşı olan bu çalışmadan sonra birçok bilim adamı da bu yöntemi geliştirmiştir. Turner (1969) filtrasyon basamağını da yönteme eklemiştir. 10 s gibi bir reaksiyon süresi sonucunda ölçülen fraksiyonun Al^{3+} , $Al(OH)^{2+}$ ve $Al(OH)_4^-$ gibi monomerik Al türlerinden oluştuğu gözlemlenmiştir.

Barnes (1975) demiri hidroksilamin ve 1,10-fenantrolin ile maskeleymiştir. Daha sonraki çalışmalarda tamponlama ve maskeleyme işlemleri tek bir çözelti ile kısa sürede yapılmıştır. Böylece tür dağılımı değişmeden oksin ile reaksiyon başlatılmıştır.

Hanning (1988) oksin ile ekstraksiyon yöntemini bir akışa enjeksiyon analiz (FIA) sisteminde uygulamıştır. FIA'nın avantajları; çok daha hızlı ve kontrolün çok daha kolay olmasıdır. Günümüzde akış analizlerinde oluşturulan Al kompleksinin miktarı kesiksiz olarak elektrotermal atomik absorpsiyon spektroskopisi, ICP-AES (indüktif çifleşmiş plazma-atomik emisyon spektroskopisi) ya da ICP-MS (indüktif çifleşmiş plazma-kütle spektroskopisi) ile ölçülmektedir.

Liang vd. (2003) yaptıkları çalışmada titanyum dioksit nanopartikülünü dinamik olarak 8-hidroksikinolin ile doldurmuşlardır. Bunu eser miktardaki Al(III) ve Cr(III)'un önzenginleştirmesinde katı-faz tutucu olarak kullanmışlardır. Daha sonra metal tayinini ICP-AES (indüktif çifleşmiş plazma-atomik emisyon spektroskopisi) ile yapmışlardır. Metotlarının deteksiyon limitleri (3σ) Al(III) için $1,96 \mu g l^{-1}$ ve Cr(III) için $0,32 \mu g l^{-1}$ olarak verilmiştir. Bu metot Al(III) ve Cr(III)'un biyolojik örneklerdeki eser miktardaki tayinleri için başarılı bir

şekilde uygulanmıştır.

b) Pirokatekol Menekşesi (PCV)

Al fraksiyonlandırmasında kullanılan diğer bir reaktif ise PCV (3,3',4'-trihidroksifukson-2''-sülfonik asid) dir. Burada oluşan kompleks, Al-trioksinata karşın suda daha iyi çözünür. Bu nedenle organik çözücü kullanmadan doğrudan ölçüm yapılabilir. PCV'nin bir avantajı, oluşan kompleksin çok daha yüksek dalga boyunda absorpsiyon yapmasıdır. Ölçümlerin 580-585 nm'de yapılması, hümik maddelerin yapabileceği girişimi çok azaltır. Uygun pH olan 6,1'i sağlamak için genellikle heksametilentetramin kullanılır. PCV yöntemleri demir girişimine hassas olup, hidroksilamin indirgemesi takiben 1.10-fenantrolin ile kompleksleştirilir. Bazen standart demir çözeltileri ile de düzeltme yapılır.

PCV'ni ilk olarak Dougan ve Wilson (1974) toplam Al miktarını tayin etmek için kullanmışlardır. Seip vd. (1984) bu yöntemle, asitlendirilmiş ve asitlendirilmemiş numunelerde toplam ve monomerik Al tayini yapmışlardır. Rogeberg ve Henriksen (1985), Henriksen ve Bergmann-Paulsen'in (1975) yöntemini Driscoll'un iyon değiştirme işlemi (1984) ile birleştirerek toplam monomerik Al ve labil olmayan monomerik Al miktarlarını ölçmüşlerdir. Diğer araştırmacılar da Dougan ve Wilson prensibine dayanan yöntemlerle iyon değiştirme işlemi birleştirmişlerdir.

Alüminyum, pirokatekol menekşesi ile reaksiyonu sonucu oluşan renkli kompleks spektrofotometrik olarak tayin edilebileceği belirtilmiştir. Metot, sulu katyonlar ve asidifikasyon ile bu katyonik formlara dönüşmüş diğer alüminyum formları ile sınırlanmıştır. Deteksiyon limiti 2 µg/l'dir (ISO, 1994) olarak verilmiştir. Alüminyumun indüktif çifleşmiş plazma atomik emisyon spektroskopisi (ICP-AES) ile tayininde ise deteksiyon limiti 40 – 100 µg/l'dir (ISO, 1996) olarak belirtilmiştir.

Flaten ve Lund (1997), çeşitli yörelere ait çay demlerindeki Al-organik türlerini moleküler eleme kromatografisi ile türleştirmişlerdir. Alüminyum pirokatekol menekşesi ile kolon sonrası reaksiyonu sonrasında 585 nm'de UV-Görünür Spektrofotometresi ile tayin etmişlerdir. Yapılan çalışmada yörelere göre çay demindeki Al konsantrasyonlarını $2,5 \pm 0,2$ (Gürcistan), $6,3 \pm 0,3$ (Arjantin), $1,1 \pm 0,2$ (Çin) ve $1,0 \pm 0,1$ (Kenya) mg l⁻¹ olarak bulmuşlardır.

c) Tiron

Literatürde Al'un tiron (4,5-dihidroksi-1,3-benzendisülfonik asid, disodyum monohidrat tuzu)

kompleks oluşturucu reaktif ile ultraviyole deteksiyonu konusunda çok sayıda çalışma bulunamamıştır. Bu sebepten dolayı da Al tayin analizlerinde bu reaktif ile çalışmalar yapılmıştır. Al ile oluşturduğu kompleks 310 nm'de absorbands verir.

Dionex Al'un kompleks matrislerde uygulanan elat oluşturucu iyon kromatografisi ile tayin metodu uygulama notunda (1991) açıklanan sistemde deteksiyon limiti 10 – 20 ml örnek için 1 – 5 µg/l olarak verilmiştir. Burada tiron kolon sonrası kompleks oluşturucu reaktif olarak kullanılmıştır. Yöntem başarılı bir şekilde bir çok metale uygulanabilmiştir.

Yap G. (1997) yaptığı çalışmalarda HPIEC sisteminde tironu kullanmıştır. Al'un silisilik asid ile olan etkileşimlerinin belirlenmesinde analitik modellerin oluşturulması üzerinde çalışmış ve elde ettiği sonuçlarda ortamdaki silisik asidin tiron ile belirgin bir etkileşim göstermediğini belirtmiştir. Bu sayede Al'un kalitatif belirlenmesinde tiron ile çalışılabileceğini ne srmüştir.

Benzer şekilde Al'un iyon kromatografisiyle tayinini açıklayan Alltech uygulama notunda (1998) da mg/l düzeyinde deteksiyon limitine ulaşılmıştır. Yine tiron kolon sonrası kompleks oluşturucu reaktif olarak kullanılmıştır. Burada sülfirik asid ve amonyum sülfat içeren hareketli faz Al'u diğer üç değerlikli metallere ayırt etmek amacıyla kullanılmıştır.

Bu çalışmada, tiron kompleks oluşturucu reaktif olarak seçilmiştir. Literatürdeki kısıtlı bilgilere ek çalışma yapmak amaçlanmıştır.

d) Diğer Spektrofotometrik Reaktifler

Al fraksiyonlandırmasında kullanılan diğer reaktifler şunlardır:

- Ferron (8-hidroksi-7-iyodokinolin-5-sülfonik asit)
- Aluminon (5-[(3-karboksi-4-hidroksifenil)(3-karboksi-4-oksosiklohekza-2,5-dien-1-liden) metil]-2-hidroksibenzoik asidin triamonyum tuzu)
- HQS (8-hidroksikinolin-5-sülfonik asit)
- DB18C6 (Dibenzo-18-Crown-6)
- CAS, Krom Azorul S (5-[(3-karboksi-5-metil-4-oksosiklohekza-2,5-dien-1-liden) (2,6-dikloro-3-sülfonil)metil]-2-hidroksi-3-metilbenzoik asidin trisodyum tuzu)

2.2.2 Alüminyumun Tayininde Kullanılan Diğer Yöntemler

Harris (1992) normal serumda Al³⁺ türlendirmesi için bir denge modeli geliştirmiştir. Burada Al'un % 81'inin transferine bağlandığını belirtmiştir. Kalan % 19'unun öncelikle Al(PO₄)(OH) ve az miktarda sitrat ve hidroksit türleri olduğunu ortaya koymuştur. Modelde

her türün serbest bileşenlerinin konsantrasyonlarını hesaplamak üzere bir seri eşdeğer sabit kullanmıştır. Bilgisayar modellemesi sonucu elde edilen sonuçlarla serumda toplam Al konsantrasyonu 3 µmol/l olarak belirtmiş ve bu sonuçların da literatür bilgilerine uygun olduğu göstermiştir.

Gardner ve Gunn (1995) arıtma işleminden geçmiş su ve çayda bulunan Al formlarını boyut ve kimyasal reaktivite esasına dayanan tekniklerle incelemişlerdir. Biyoyararlanımı, çeşitli test içeceklerinin sindirimi sonunda serum ve ürede bulunan Al konsantrasyonları tayini aracılığıyla incelemişlerdir. Yaptıkları çalışmada su arıtma prosesi yüksek molekül ağırlıklı türlerin konsantrasyonlarının azalmasında etkili olduğunu ancak düşük molekül ağırlıklı türlerin bundan pek etkilenmediklerini belirtmişlerdir. Çayda ise % 91 – 100 oranında yüksek molekül ağırlıklı organik türlerin bulunduğunu saptamışlardır. Sonuç olarak çalışmalarında; arıtma aşamasından geçmiş olan suda bulunan Al doğal sudakine göre daha kararlı bir tür olduğunu açıklamışlardır. Metalin biyoyararlanımının ise çayda bulunan yüksek konsantrasyona rağmen suda daha fazla olduğunu belirtmişlerdir.

Alevli ve grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektrofotometrik metotlar suda Al tayini için uygun olduğu belirtilmiştir. Al konsantrasyonları alevli atomik absorpsiyon spektrofotometrisinde (FAAS) 5 – 100 mg/l ve grafit fırın atomik absorpsiyon spektrofotometrisinde (GFAAS) 0.01 – 0.1 mg/l olarak verilmiştir. Grafit fırın AAS'de çalışma aralıklarının daha yüksek konsantrasyonlara seyreltmek veya daha küçük örnek hacmi kullanmak suretiyle kaydırılabilmektedir (ISO, 1997).

Downard vd. (1997) doğal örneklerdeki 'serbest Al'u (Al^{3+} ve $Al(OH)^{2+}$) iki ayrı akışa enjeksiyon sistemini geliştirip karşılaştırarak tayin etmişlerdir. Her iki yöntemde de deteksiyonu amperometrik olarak DASA'nın (1,2-dihidroksiantrakinon-3-sülfonik asit) oksidasyonun akımındaki azalmayı ölçerek gerçekleştirmişlerdir. Ölçümde pH = 5,0'da cam karbon elektrot kullanılmıştır. Metotlardan birinin tayin süresi daha kısa (10 s veya 3 s) ve DASA konsantrasyonu daha az olarak denemişlerdir. Standard sapmaları 3σ olarak verilen metotlar sırasıyla 75 nM ve 120 nM deteksiyon limitlerine sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Gary (1997) yaptığı çalışmada silisyumun Al ile olan etkileşimlerini incelemiş ve çeşitli analitik modeller üzerinde denemeler yapmıştır. HPIEC ile yaptığı ayırmada Dionex CG3 kolonunu ve kolon sonrası kompleks oluşturucu ajan olarak da tironu kullanmıştır.

Bu çalışmada Al tayininde HPIEC ile ayırma esas alınmıştır.

2.3 Sitrik Asit Tayini İçin Kullanılan Analitik Yöntemler

Toftegaard (1976) yaptığı çalışmada üre ve serumdaki sitratın enzimatik tayini için sitrat liyaz enzimini ve enzimin çalışmasında çeşitli metal iyonlarının etkisini incelemiştir. Geliştirdiği metotta sitrat liyaz enziminin duyarlı çalışmasının pH 8,2'de olduğunu gözlemlemiştir. Ayrıca metal iyonlarının da enzim çalışmasında etkili olduğunu belirtmiştir.

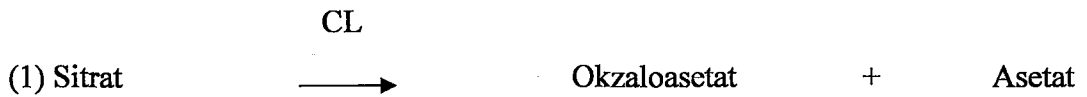
Uluslararası CORESTA grubunun (1993) tüm Avrupa ülkelerinde sigaradaki sitratın tayininde ticari bir kitin kullanılmasını önermiştir. Bu kit BOEHRINGER MANNHEIM / R-BIOPHARM firmasının ürettiği birçok gıda türü örneklerine uygulanabilen bir seri enzimatik reaksiyondan oluşan spektrofotometrik bir metottur.

Izco vd. (2003) yaptıkları çalışmada sitrat ve fosfat türlerini süt matrisindeki tayinlerini optimize etmeye çalışmışlardır. Kapiler elektroforez ile yaptıkları tayinlerde sitrat ve fosfat türlerinin süt ortamı pH'ına ve bulunan birçok enzime bağlı olduğunu görmüşlerdir.

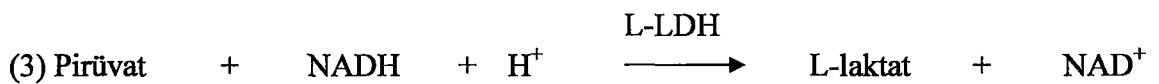
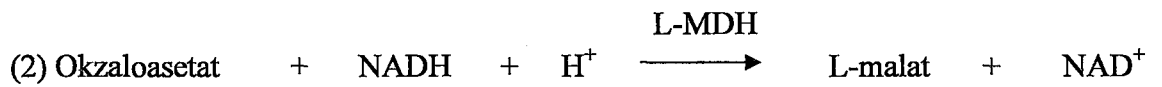
Bu çalışmada, sitrik asit tayininde Royal Liverpool Üniveristesi Hastahanesi laboratuvarlarında kullanılan BOEHRINGER MANNHEIM / R-BIOPHARM firmasının gıda türleri ve diğer örneklerde sitrik asit tayini için geliştirdiği ticari kit ve bunun uygulama notunda önerilen UV-spektrofotometrik metodu esas alınmıştır.

Buna göre metodun prensibi;

Sitrik asit, sitrat-liyaz (citrato lyase, CL) enziminin katalizlediği reaksiyon sonucu oksaloasetat ve asetata dönüştürülür.



L-malat dehidrogenaz (L-MDH) ve L-laktat dehidrogenaz (L-LDH) enzimleri (ticari kitin 2 numaralı şişesinde bulunur) varlığında, oksaloasetat ve onun dekarboksilasyon ürünü olan pirüvat, indirgen NADH tarafından sırasıyla L-malat ve L-laktat'a indirgenir.



2 ve 3 numaralı reaksiyonlarda okside olan NADH miktarı stokiyometrik olarak sırat miktarına eşittir. NADH miktarı, 340 nm'deki ışık absorbans farkı ile tayin edilir.

Ticari kitin içeriğinde 3 adet şişe ve bunların içinde analizlerde kullanılmak üzere hazırlanması gereken toz halinde bileşikler bulunmaktadır. Her bir şişenin içeriği aşağıdaki şekilde verilmiştir:

- *Şişe no 1*: pH \cong 7,8 olan glisilglisin tamponu, yaklaşık 136 birim L-malat dehidrojenaz, 280 birim L-laktat dehidrojenaz ve 5 mg NADH'den oluşan, yaklaşık 1,4 g liyofilizat (dondurularak kurutulmuş toz halinde katı madde)
- *Şişe no 2*: Yaklaşık 12 birim sitrat liyaz içeren, yaklaşık 50 mg liyofilizat
- *Şişe no 3*: Sitrik asit metodu kalite kontrol çözeltisi: Konsantrasyonu 1,9 mmol/l olan stabilize edilmiş sitrik asit çözeltisi.

Metotta açıklanan şekilde gerçekleştirilen absorbans okumalarının sonucunda sitrik asit konsantrasyonunun hesaplanması aşağıdaki gibidir:

$$\Delta A = (A_1 - A_2)_{\text{örnek}} - (A_1 - A_2)_{\text{referans}} \quad (2.1)$$

$$C = \frac{V \times MW}{\epsilon \times d \times v \times 1000} \times \Delta A \quad [\text{g/l}] \quad (2.2)$$

V = Son hacim (ml)

v = Örnek hacmi (ml)

ϵ = Ekstinksiyon katsayısı (340 nm = 6,3 [$\text{l} \times \text{mmol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$])

MW = Molekül ağırlığı (g/mol)

d = Işık yolu (cm)

3. GENEL BİLGİ

3.1 Alüminyum Hakkında Genel Bilgiler

3.1.1 Alüminyumun Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Kimyasal simgesi olan Al latince “alüminyum” anlamına gelen ‘Aluminium’ dan türetilmiştir. Atom numarası 13, atom ağırlığı 26,98’ dir.

Al, periyodik tablonun 3A grubunda (bor grubu) yer alan, hafif, gümüş beyazlığında bir metaldir. Yer kabuğunda en çok bulunan ve demir dışında en çok kullanılan metaldir. Yüksek kimyasal etkinliğinden dolayı doğada serbest halde bulunmayan alüminyumun bileşikleri, değişik oranlarda da olsa hemen hemen bütün kayalarda, bitkilerde ve hayvanlarda bulunur. Yer kabuğunun 16 km kalınlığındaki en dış tabakasında yoğunlaşmıştır.

Alüminyum doğada en bol bulunan metalik elementtir ve yer kabuğunun % 8,13’ünü oluşturur. Yüksek reaktivitesinden dolayı genellikle diğer elementlerle birleşmiş halde bulunur. Oksijen, silisyum,alkali ve toprak alkali ve flor gibi diğer elementlerle bileşikleri mevcuttur (Çakın, 2002).

Ayrıca alüminosilikat mineralleri, en yaygın olarak metamorfik ve püskürük kayalarında feldispat ve iyi iklimli topraklarda kil mineralleri olarak görülür. Alüminyum kuvvetli hidrolizleyici ve nötral pH’larda (6,0 - 8,0) çözünmeyen bir metaldir. Asidik (pH < 6,0) veya alkalın (pH > 8,0) şartlar altında, ve/veya kompleks oluşturucu ligandların varlığında alüminyumun çözünürlüğü artar ve biyojeokimyasal dönüşümlere daha uygun hale gelir (Sigel vd., 1988).

Alüminyum (Al), in vivo olarak sadece trivalent katyon olarak bulunur. Yüksek reaktivitesi sebebiyle doğada elementel halde bulunmaz. Sulu çözeltilerde polimerize ve hidrolize olur. Oktahedral kompleks oluşturur ve koordinasyon sayısı 6’dır. Al en sert trivalent metal iyonudur (kuvvetli Lewis asidi; elektron alan). Elektropozitifdir ve kolaylıkla polarize olmaz. Al-ligand bağı genellikle iyonik ve elektrostatik bağlarda yer alan bilinen-kovalent etkileşimidir. Alüminyum, OH⁻, F⁻, PO₄³⁻, SO₄²⁻, CH₃COO⁻, ROH, RO ve RNH₂ gibi kuvvetli Lewis bazlarıyla koordinasyon bileşiği oluşturmayı tercih eder. En kararlı Al kompleksleri negatif oksijen donörleriyle olan çok dişli ligandlarla yaptığı komplekslerdir (Yokel, 2002).

Alüminyum yaşayan organizmalar için gerekli olmayan bir elementtir. Doğal sularda ve toprakta artan alüminyum konsantrasyonunun balık ve deniz bakterilerine olduğu kadar

bitkilere de zehirli etkisinin olduğu rapor edilmiştir (Liang vd., 2003).

3.1.2 Alüminyum Bileşikleri

Alüminyum bileşikleri, endüstriyel uygulamalarda (örn; su arıtmada) ve birçok üründe (örn; antasidlerde, gıda katkı maddelerinde ve kozmetikte) kullanılmaktadır.

Endüstriyel açıdan en önemli olan Al bileşikleri; alüminyum oksit, alüminyum sülfat ve alüminyum silikattır. Alüminyum oksit, toprak halinde ya da farklı büyüklüklerdeki tozlar halinde bulunabilir. Amfoterlik özelliğinden dolayı, mineral asitlerde ve kuvvetli alkali ortamda çözünebilir. Al oksit farklı modifikasyonlarda bulunur. Hidroksitlerin dehidratasyonu sonucu alüminyum oksit elde edilir. Bu şekilde belirli bir oranda hidroksil grubu içeren farklı alümina tipleri oluşabilir. Düşük sıcaklıkta üretilen Al oksitler, geçiş oksitleridir. 600 °C altında dehidratasyon ile üretilenler, gamma-alümina veya aktif alümina olarak bilinirler. 900-1000 °C gibi daha yüksek sıcaklıklarda oluşanlar rho-alümina adını alırlar. Rho-alümina neredeyse susuz Al_2O_3 'dir (Wade ve Banister, 1973).

Alüminyum hidroksitin birçok formu vardır. Doğada bol bulunan Al hidroksitler; gibbsite γ - $(Al(OH)_3)$, diaspor α - $(Al(OH)_3)$, bohemite γ - $(AlO(OH))$ 'dir. Bunların hepsi ısıtıldığı takdirde alüminyum oksit'e dönüşür (Hudson vd., 1985).

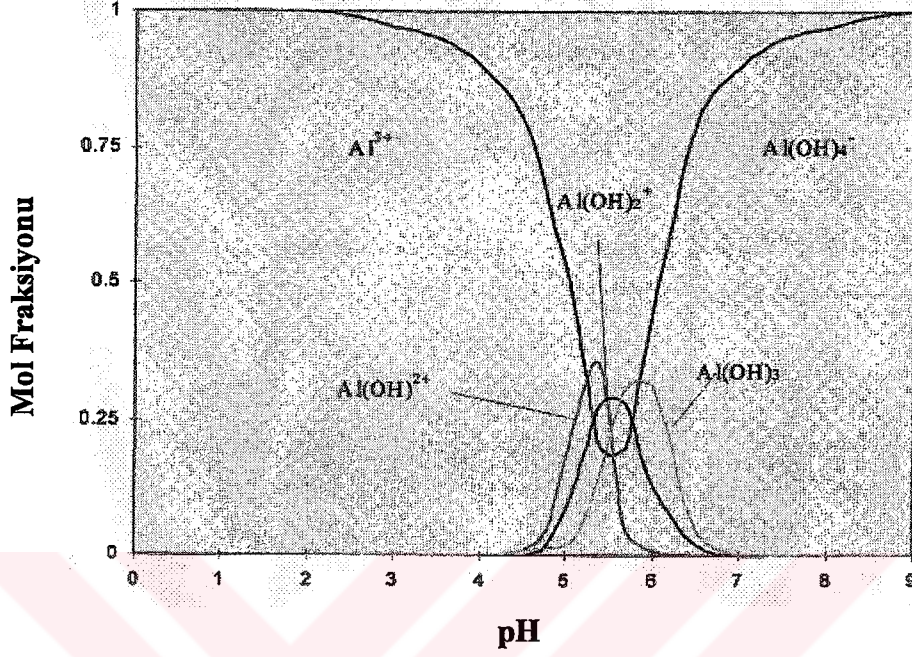
Alüminyum sülfat farklı oranlarda su içerebilir. En sık rastlanan hali $Al_2(SO_4)_3 \cdot 18H_2O$ 'dur. Suda çözünür fakat susuz alkolde çözünürlüğü yok denecek kadar azdır. 770 °C üzerinde alüminyum okside dönüşerek bozunur. Alum, kristal halindeki çift tuzlara denir. Alüminyum, sülfat ve tek değerli katyondan (K^+ , Na^+ ya da NH_4^+ gibi) oluşur. $M^+Al^{3+}(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ genel formülü ile gösterilirler. Sulu çözeltilerde, bileşenlerinin ayrı olarak gösterdiği bütün özellikleri gösterirler (Helmholtz, 1985).

Kil, alümina silikattır. Katyon değiştirme kapasitesine sahip olduğundan, topraktaki miktarı ve cinsi tarımsal alanlarda çözünürlüğü ve fiziksel özellikleri etkiler (Wild, 1988).

3.1.3 Çözünmüş Alüminyum

Al'un $Al(OH)_3$ katı fazıyla dengede iken ki çözünürlüğü pH ile değişir. düşük pH'larda ($pH < 3,5$) su ile yaptığı ve genellikle Al^{3+} olarak kısaltılan oktahedral heksahidrat kompleksi $(Al(H_2O)_6^{3+})$ çözeltilere hakimdir. Çözeltinin pH'sı yükseldikçe ve / veya sıcaklık arttıkça, hidroliz reaksiyonu sonucu $Al((OH)(H_2O)_5^{2+})$ iyonu oluşur. Çözeltinin pH'sı arttıkça, hidrolizin derecesi artar. Böylece $Al(OH)^{2+}$, $Al(OH)_2^+$, $Al(OH)_4^-$ gibi bir seri Al-OH

kompleksleri oluşur (Schecher ve Driscoll, 1987). Nötral pH'da bazik çözeltilerde çözünen Al(OH)_3 kompleksi oluşur. Şekil 3.1'de pH'nın fonksiyonu olarak sulu çözeltide çözülmüş Al türlerinin fraksiyonları verilmiştir (Martin, 1986).



Şekil 3.1 Çözünür Al türlerinin sulu çözeltideki dağılımı

Şekil 3.1'e bağlı olarak Al'un Al(OH)_3 (s) ile dengedeki türlerinin pH'a bağlı dağılımları da Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1 Alüminyumun, Al(OH)_3 (s) ile dengede olan çözülmüş türlerinin farklı pH'lardaki dağılımı

	Al^{3+}	Al(OH)^{2+}	Al(OH)_2^+	$\text{Al(OH)}_3(\text{aq})$	Al(OH)_4^-
pH	% Konsan trasyon				
3,8	93,5	6	0,5	0	0
4,9	32,5	30,5	36,5	0,4	0,1
5,8	1,5	9,2	71,2	5,4	12,7
6,5	0,008	0,28	13,12	5,85	80,75
7,9	0	0	0	0,3	99,7

3.1.4 Alüminyum Kaynakları ve Çevreye Etkisi

Al doğada kendiliğinden bulunduğu gibi insansal kaynaklardan da yayılabilir. Bu tür yayılmalar genellikle doğrudan olmaz. Örneğin; kükürt dioksit ve azot oksitler gibi emisyonların atmosfere yayılması ile asit yağmurları oluşur. Bu yağmurlarla toprak asiditesi ile birlikte Al'un çözünürlüğü de artar.

Asidik topraklardaki Al konsantrasyonu bitki köklerinin gelişimini engelleyen önemli kimyasal faktörlerden biridir. Al çözünürlüğüne uygun düşük pH'lı topraklarda büyüyen bitkilerde köklerin az geliştiği, besin eksikliğine bağlı bazı semptomların oluştuğu genellikle bilinir. Bunlara yapraklarda oluşan hücresel değişimler, deliklerin oluşması, kangren ve yaprak sayısında belirgin azalma da eklenebilir (Mossor-Pietraszewska, 2001).

Atmosferde Al'un miktarı bulunduğu yere, meteorolojik şartlara, endüstriyel aktivite düzeyine ve bölgedeki insan yoğunluğuna bağlıdır. Al miktarının okyanus yakını yerlerde düşük, rüzgarla taşınan toprağın bulunduğu bölgelerde yüksek olması beklenir.

Suda Al konsantrasyonu, biyoyararlılığı ve toksisitesi onun kimyasal türlerine bağlıdır. Suda çözülmüş Al düzeyi pH ile değişir (ATSDR, 1999).

Gıdalardaki alüminyum konsantrasyonu, gıdanın doğasına göre değişir (ortalama <0,001-69,5 mg/100 g) (Pennington, 1988). En yüksek konsantrasyonlar fındıkta, tahılda ve süt ürünlerinde özellikle işlemden geçmiş peynirlerde gözlenir. Çay bitkisinden elde edilmiş dem yüksek konsantrasyonda alüminyum içerir (Kosh vd., 1988). Demlenenmiş çaydaki alüminyum konsantrasyonunun 2 – 8 mg/l arasında değişmesi beklenir (Gardner ve Gunn, 1991).

3.1.5 Alüminyum Üretimi ve Kullanım Alanları

Yerküredeki en yaygın metallere biri olan alüminyumun üretiminde kullanılan başlıca ham madde boksittir. Boksit % 40 – 60 oranında alüminyum oksit (alümina) içerir (Bokovay, 1988). Rafinasyon sırasında Bayer Yöntemi ile boksit cevherinden alümina elde edilir. Burada boksit yüksek sıcaklıkta ve basınç altında kuvvetli kostik soda çözeltisiyle muamele edilir. Oluşan hidrat kristallendirildikten sonra oksit oluşumu için yakılır. İndirgeme aşamasında ise alümina; kriyolit eriği ve karbon elektrot kullanılarak Hall-Heroult'un elektrolitik prosesi ile saf Al metali haline getirilir (Dinman, 1983).

Alüminyumun kullanım alanı çok geniştir. Özellikle inşaat sektöründe, otomobil ve uçak yapımında, metal alaşımlarının üretiminde kullanılır. Ayrıca motor parçası, mutfak malzemesi, dekorasyon, trafik işaretleri, çit, meşrubat kutusu, gıda paketi, folyo, korozyon

önleyici kimyasal, katı roket yakıtı, protez diş yapımında kullanılır. Elektrik endüstrisinde güç bağlantıları, iletken, kablo ve tel yapımında kullanılır.

Al bileşiklerinin de kullanım alanları oldukça geniştir. Al tozu; boya, kaplama ve havai fişek yapımında kullanılır. Bentonit ve zeolit gibi doğal Al mineralleri suyun saflaştırılmasında, şeker rafinasyonunda, bira ve kağıt endüstrilerinde kullanılır. Al sülfat suyun saflaştırılmasında, boyamada mordan olarak ve kağıt üretiminde kullanılır. Diğer Al bileşikleri ise deri endüstrisinde tabaklamada, ilaç, tutkal, dezenfektan, diş macunu, kurşun kalem, deodorant, antiasit ve gıda maddesi yapımında kullanılır. Al silikatlar seramik endüstrisi gibi alanlarda ham madde olarak kullanılır. Alüminatlar ise çimento bileşeni olarak kullanılır. Alkil Al ürünleri ise düşük basınçta polietilen üretiminde katalizör olarak kullanılır (Çakın, 2002).

Çizelge 3.2. Alüminyum bileşikleri ve kullanım alanları

Al Bileşikleri	Kullanım Alanları
Alümler (şap)*	Alçı sıvalarda sertleştirici ve kurumayı hızlandırıcı ajan olarak, tanlama ve boyamada
Alüminyum oksitler*	Su arıtmada, beton katılaşmasında hızlandırıcı olarak (yoğun alüminyum oksit çimentoları)
Alkoksitler*	Cilalarda, tekstilde boya emdirmelerinde, kozmetikte, ilaç ürünlerinde ara kademe elemanı olarak
Borat*	Cam ve seramik üretiminde
Karbonat*	Antasidlerde
Klorürler	Susuz formu; asid katalizleyicisi olarak (özellikle Freidel-Crafts tipi reaksiyonlarda) diğer alüminyum bileşikleri için ara kademe kimyasalı olarak, kauçuk ve gres yağları üretiminde, ter önleyici olarak

	Hekzahidrat formu; ahşap korumada, ahır ve mezbahaların dezenfeksiyonunda, deodorantlarda, kozmetikte kanamayı durdurucu olarak, ham petrolün arıtılmasında, kumaş boyamada, parşömen kağıdının üretiminde
Klorohidrat	Çoğu terlemeyi önleyici ürünlerde ve deodorantlarda bulunur
Hidroksit	Mide antasitlerinde (Maalox [®] , Mylanta [®] , and Delcid [®]); kurutucu tozu olarak, terlemeyi önleyiciler ve diş bakım ürünlerinde ¹ , paketlenme maddelerinde, kimyasal ara madde olarak, plastiklerde doldurucu olarak, kauçuk, kozmetik ve kağıt sektöründe, ısı şoklarına karşı dayanıklılığı ve mekanik gücü artırıcı cam katkı maddesi olarak, seramikte, böbrek rahatsızlığı olan hastalarda plazmadaki fosfor oranını düşürücü olarak
İzopropoksit*	Sabun ve boya endüstrisinde, tekstilde su geçirmezliği sağlamakta
Nitrat	Antiperspirantlarda, deri tanlamada, korozyon inhibitörü olarak, yalıtım kağıdı hazırlanmasında, akkor tellerde, elementlerin ısıtılmasında kullanılan katot ışık tüplerinde
Oksit	Alüminyum elde edilmesinde, zımpara, ışık kırıcı (refraktör), seramik, elektrik yalıtkanları ve kağıt üretiminde, laboratuvar çalışmalarında, gazlar için adsorban olarak, kromatografik analizlerde, ısı rezistans tellerinde, ampullerde, gıda katkı maddesi olarak, endüstriyel ultrafiltrasyonda ve hemodiyalizde
Fosfat	Limiti aşmış mide antasitlerinde
Fosfit	Tahıllardaki böcek dezenfektanı olarak
Silikat*	Diş dolgularında, antasitlerde ve gıda katkı maddelerinde

Sülfat	<p>Su arıtma sistemlerinde ve kanalizasyonda yün benzeri tutucu olarak, kağıt endüstrisinde, suya ve ateşe dayanıklı kumaş yapımında, yağların arıtılmasında, su geçirmez çimento karışımlarında, terlemeyi önleyici ürünlerde, deri tanlamada, boyamalarda mordan olarak, bazı kimyasalların üretiminde ara madde olarak, tarımsal böceklerin yok edilmesinde, bitkilerin asiditesini arttırmak amacıyla toprak şartlandırıcısı olarak, sabun ve kozmetikte, alüminyum asetat kulak damlalarında</p> <p>% 5 – 10 oranında alüminyum sülfat içeren çözeltiler: ülser lokal uygulamalarında; mukoza yüzeyindeki problemlili bölgenin belirlenmesinde</p>
Trioksit*	Absorban, zımpara ve ışık refraktörü maddelerinde

ATSDR (1999); *IPCS (1997) ¹

3.1.6 Alüminyumun İnsan ve Çevre Sağlığına Etkisi

Alüminyumun doğada bulunması ve birçok alanda kullanılması onun günlük hayatta tüketimini kaçınılmaz kılar. Örneğin; içme suyu olarak kullanılan yüzey ve yer altı sularında doğal olarak değişen miktarlarda Al bulunmaktadır. Yüzey sularının arıtılmasında koagülant olarak ve bulanıklığı önlemek amacıyla alüminyum sülfat kullanılır. Bu aynı zamanda birçok patojen mikroorganizmaları da azaltır (Costello, 1984; Fitch ve McCollum, 1986).

Gıdalar Al'un metabolizmaya alınmasının ana kaynağı olarak bilinmektedir. İçme suyu günlük gıda tüketiminin %3'üdür. Bu iki kaynaktan metabolizmaya alınan Al'un gerçek biyoyararlılığı bilinmemektedir. Yapılan deneyler sudan absorplanan Al'un gerçek miktarının birçok faktöre bağlı olduğunu göstermiştir. Sindirim sisteminde çeşitli sebeplerle bulunan sitrat, fosfat veya çözünebilir organik türler bunlara örnektir (Nieber vd., 1995; Smith, 1995).

Düşük pH'larda Al, nötral veya yüksek pH'lara göre daha çok absorplanır (Rogder vd., 1991). Çoğu Al'un çözünür monomoleküler türlerine dönüştüğü düşük pH'lı midede Al absorpsiyonunun gerçekleşmediği düşünülmektedir (Froment vd., 1989). Buna karşılık nötral

¹ Diş macunlarında parlaticı olarak kullanılmıştı fakat pahalı olması yerine kalsiyum karbonat (CaCO₃) kullanılmasını mecbur kılmıştır.

pH'a yakın bağırsakta Al'un büyük bir kısmı çözünmeyen ve metabolizmaya alım için uygun olmayan türlere dönüştüğü belirtilmiştir. İnce bağırsaktaki daha yüksek pH'da taşınma için halen uygun olarak kalan fraksiyonun ise midede çeşitli organik moleküllerle kompleks oluşturmuş kısım olduğu belirtilmiştir (Reiber vd., 1995).

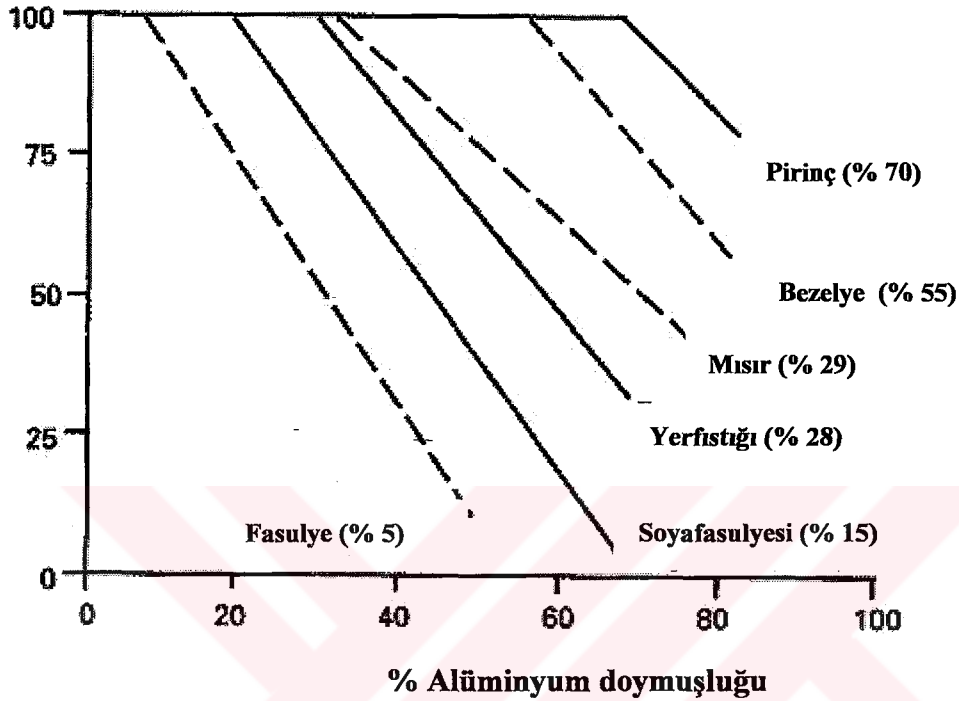
Tavşanlar üzerinde yapılan çalışmalar maltolun Al'un mide-bağırsak sistemindeki absorpsiyonunu desteklediğini göstermiştir (Kruck ve Crapper McLachlan, 1989). Domingo vd. (1993, 1994) askorbik ve laktik asidin fareler üzerinde aynı şekilde Al absorpsiyonunu arttırdığını göstermişlerdir. Partridge vd. (1989) çalışmalarında günlük diyetteki askorbik asid, sitrik asid, laktik asid ve malik asidin alüminyum hidroksitin çökme pH'ını yükselterek bağırsaktaki Al absorpsiyonunu arttırabileceğini savunmuşlardır.

Al'un nörolojik gelişmeye ve beyin fonksiyonlarına olan zararları, hayvanlar üzerindeki çalışmalarla aydınlatılmıştır. Yüksek miktarlarda Al'un metabolizmaya alımının çok çeşitli toksik etkileri vardır. Örneğin; kansızlık (Parkinson vd., 1981; Touam vd., 1983), kemik erimesi (Alfrey vd., 1976; Starkey, 1976), üremi (Banks vd., 1987) ve kalp yetmezliği (Starkey, 1976). Ek olarak alüminyumun birçok enzim aktivitesini azalttığı (Altmann vd., 1987) belirtilmiştir. Al'un hafıza kayıpları, denge bozukluğu, depresyon ve Alzheimer hastalığına sebep olabileceği savunulmuştur. Alzheimer hastalığına sebep olabilecek birçok genetik ve çevresel faktörler de öne sürülmüştür fakat hiçbiri henüz kanıtlanamamıştır. Yapılan çalışmada Crapper McLachlan ve Farnell (1986), sağlıklı insan beynindeki ortalama Al miktarının Alzheimer hastalığından etkilenmiş beyindeki miktardan daha az olduğunu bulmuşlardır.

Al'un çevreye etkisi genelde ortamın asiditesinin artması ile başlar. Doğal sulardaki ve topraktaki çözünmüş Al konsantrasyonu da artmış olur. Yapılan çalışmalarda Al'un suda yaşayan organizmalara ve karasal bitkilere zararlı olduğu bulunmuştur (Schofield vd., 1985). Bu etki ortamdaki Al konsantrasyonu ve Al türlerine göre değişmektedir. Henriksen vd. (1984) karların eridiği dönemde labil monomerik Al miktarının artmasıyla Norveç'te bulunan Atlantik Somon balık türünün öldüğünü rapor etmişlerdir. Marina bakterisi ve alglerin de Al zehirliliğine maruz kaldığı bilinmektedir (Helliwell, 1983). Suda yaşayan böceklerle beslenen bazı kuş türlerinde yetersiz üremeye neden olduğu bulunmuştur (Friberg vd., 1990).

Çoğu asidik topraklardaki Al zehirliliği, bitki büyüme ve gelişmesindeki en önemli problemlerdendir. Özellikle kök ve kök hücrelerindeki plazma membranı Al zehirlenmesinde bir numaralı hedeftir. En zehirli Al formu olan Al^{3+} 'nin çeşitli oksijen donörleriye (proteinler,

nükleik asitler, polisakkaritler) olan bileşiklerine maruz kalan bitkilerde hücre bölünmesi, hücre büyümesi ve taşıma sistemleri problemleri meydana gelmektedir. Al'a olan toleransları bilinmesine rağmen, buna tepki mekanizmaları halen kesin olarak açıklanamamıştır (Mossor-Pietraszewska, 2001).



Şekil 3.2 Bazı tahıl ürünlerinin % Alüminyum toleransı [1]

Hekza akua alüminyum ve bazı hidroksi komplekslerinin bitkiler için en zehirli formları olduğu bilinmektedir (Kinraide, 1991; Kochian, 1995). Al'un florür, fosfat, sülfat ve organik ligandla yaptığı komplekslerin ekinler üzerindeki zararlı etkileri bilinse de (Wicstrom, 2000) bu konudaki arazi çalışmaları devam etmektedir (Çakın, 2002).

3.2 Çalışmada Kullanılan Diğer Metaller Hakkında Genel Bilgiler

3.2.1 Demirin Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri

Kimyasal simgesi olan Fe, latince "demir" anlamına gelen 'ferrum' dan türetilmiştir. Demirin atom numarası 26, atom ağırlığı 55,85 ve özgül ağırlığı 7,86' dır.

Arı halde gümüşü beyaz renkli bir metal olan demir (Fe), dünyadaki metaller içinde en bol bulunanların ikincisi, elementler arasında ise dördüncüsüdür. Yeryüzünün çekirdeği, büyük miktarda metal demirden yapılmıştır. Ancak, yeryüzü kabuğunda demir, öteki maddelerle tepkimeye girmiş durumdadır. Arı durumda çok seyrek bulunur: Yalnızca bazı göktaşlarında

ve bazaltlı kayalarda bulunur.

Tüm bitkilerin, hayvanların ve insanların, yaşamak için demire ihtiyaçları vardır. İnsanlarda en büyük demir yüzdesi, kırmızı kan hücrelerinde bulunur. Hemoglobinin temel bölümlerinden birini oluşturur. Kasalarda ve dokularda, küçük miktarlar halinde bulunur.

Demir, küçük iğnelerden dev yapılara kadar, binlerce işlenmiş ürünün ana maddesidir. Kükürt ve oksijen gibi metallerle kolayca birleşir. Başka herhangi bir metalden çok daha büyük miktarlarda, alaşımlarda kullanılır. En yararlı ve ucuz metallerden biri olan çelik, demire küçük bir miktar karbon katılmasıyla elde edilir.

Bitkilerin gelişimini destekleyen önemli bir biyofil elementtir. Yeşil bitkilerde kloroplast (klorofil içeren canlı hücre) oluşumunda etki gösterir. Eksikliğinde yapraklarda sararmaya ve kurumaya neden olur. Klorofil molekülünün yapısında yer almıyorsa da, klorofil oluşumunda temel elementtir. Demir bazı solunum (peroksidaz, katalaz, ve sitokrom) enzimlerinin etkinlikleri üzerinde de etkilidir. O nedenle çay bitkisinde demir noksanlığı kolay gösterilir. Yaşlı yapraklarda daha fazla bulunur.

Demirin tıptaki en önemli kullanım yeri, hipokromik kansızlıkların tedavisindedir. Demir eksikliği durumu, hemoglobin oluşumunu engeller ve kırmızı kan hücrelerinin öteki işlevlerini yerine getirmesini de güçleştirir. Çok sayıdaki demir bileşiklerinden herhangi biri tedavide kullanılabilir. İnorganik tuzlar da, bu konuda aynı derecede etkilidirler.

3.2.2 Demir Bileşikleri

Demirin başlıca bileşiklerindeki yükseltgenme sayıları +2 ve +3' tür. Havada oksijenle demir oksit oluşturacak biçimde bileşir. Oldukça kararsız olan bu bileşiğin demir (III) oksit denilen ferrik oksit' e (Fe_2O_3) dönüşme eğilimi vardır. Ferrik oksit, demirin havası bol bir ortamda yakılmasıyla elde edilir. Ferro sülfür' ü (FeS) de kapsayan sülfürleri, hidrojen sülfürün (H_2S) amonyaklı ortamda demir tuzları ile etkileşiminden oluşur.

Demirin sülfürik asitte çözünmesiyle, soluk yeşil renkli ferrosülfat [$Fe_2(SO_4)_3$] oluşur. Ferrosülfat hava ile temas ettiğinde hızla, kahverengi ferrik sülfata dönüşür. Demir hidroklorik asit (HCl) ile birleşince, susuz halde beyaz renkli, dört hidrojenli haldeyse yeşil renkli ferro klorür ($FeCl_2$) oluşur. Demir klorla tepkiyince yer yer yeşile çalan ve siyahımsı-kırmızı renkli bir bileşik olan ferrik klorür oluşur [2].

3.2.3 Çinkonun Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri

Kimyasal simgesi olan Zn, latince "çinko" anlamına gelen 'zincum' dan türetilmiştir. Çinkonun

atom numarası 30, atom ağırlığı 65,39' dur.

Kimyasal bileşiklerinde çinkonun birleşme değeri genellikle +2'dir. +1 değerli bir kaç bileşiğine rastlanmıştır. Fakat +3 yada daha büyük değerli bileşiğine rastlanılmamıştır. En önemli bileşiklerinden çinkooksit (ZnO) ısıyı kolayca soğurma ve iletme özelliğine sahip olması nedeniyle genellikle kauçuk malzemelere ısı dağıtıcı olarak katılır.

Çinko sülfat ($ZnSO_4$), zararlı ot ilaçları ile fibrin ve yapay ipek üretiminin başlıca ham maddesini oluşturur.Çinko klorürün ($ZnCl_2$) su soğurma gücü çok yüksek olduğundan kurutma maddesi ve eritken olarak kullanılır. Sulu haldeki çinko klorürden , kerestelerin çürümesinin önlenmesinde yararlanır.

Zn, Pb, Hg, Cu gibi ağır metaller suda çok az miktarlarda bulunurlar. Bunların hepsi su hayvanları için toksiktir. Çoğu 1 ppm sınırında öldürücüdür.

Çinko normal miktarlarda bazı enzimatik fonksiyonlar için gereklidir ve birçok proteinlerde yapı elementi olarak bulunur. Bakır bazı enzimlerde bulunur ve pek çok omurgasızın kan proteininde solunum pigmenti halinde mevcuttur.

Çinko ve bakır özellikle deniz balıklarındaki protozonlardan meydana gelen hastalıkların tedavisinde kullanılır. Burada metalin toksik etkileri bir süre sonra $CaCO_3$ ile çökelmeyle giderilir. Çinko ve bakır balıklarda aşırı salgılanmaya neden olur ve balıklara zararlı olan bazı organizmaları öldürürler.

Çelatlaşma bakırın balıklara karşı zehirliliğini azaltır. Örneğin sitrik asitle çelatlaşan $CuSO_4$ daha az toksiktir. $pH = 6 - 8,5$ arasında çelatlaşma bakırın % 90 ının suda çözülmüş kalmasını sağlar. Çelatlaşmış bakır, bakırın uzun süre çözülmüş miktarlarda kalması istendiğinde denizde uygulanır. Fakat birçok bakteriler, hastalıktan koruyucu düzeylerde bakıra direnç gösterdiklerinden organik çelatları bozundurlar. Böylece Cu^{+2} iyonları karbonat iyonlarıyla birleşerek çöker. Balıklarda görülen ağır metal zehirlenmelerinde bakır, solungaç yüzeylerinde çözünmeyen organometalik bileşikler oluşturur. Başka bir görüşe göre solungaçlar içindeki proteinler kimyasal bozunmaya uğrar. Ayrıca bakırın, deniz balıklarının kan ve dokularında toplandığı gözlenmiştir.

$Pb(NO_3)_2$, $ZnSO_4$ ve $HgCl_2$ çözeltilerine konmuş bazı tatlı su balıklarında soluma hızının arttığı görülmüştür. Bu esnada oksijen harcama hızında düşme olur. Artan soluma hızı bakırla muamele edilmiş sulardaki balıklarda gözlenir. Ağır metaller solungaç üzerine çökerler ve salgıyı pıhtılaştırırlar. Böylece oksijen alınma zorlaşır [3].

Çay bitkisinde metabolik işlevlerin düzenli bir şekilde cereyanı için olduğu kadar kimi enzimlerin işlevleri için de gereklidir. Biyosfer için önemlidir. Bitki hormonu Auxin ile bir arada bulunur. Metabolik reaksiyonları teşvik eder. Gövde uzamasında etkilidir. Klorofil oluşumu ve karbon hidrat üretimi için gereklidir. Azot metabolizması ile de yakından ilgili olan çinko, bitkinin su absorpsiyonu üzerinde de etkili olmaktadır. Noksanlığında çay bitkisinin hasat tablası üzerindeki yapraklar küçülüp rozet oluşturduğu gibi orak şeklini de alabilmekte ya da kenarları girintili çıkıntılı olabilmekte ve yukarı doğru kıvrılmaktadır. Çinko genç yapraklarda daha çok bulunur.

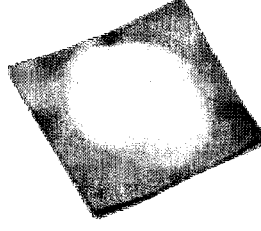
Havadan çok az etkilenen, parlatmaya elverişli, mavimsi beyaz elementtir ve kimyasal element simgesi Zn'dir. Çinkodan som ya da kaplama biçiminde hava korozyonuna karşı koruyucu olarak yararlanılır. Özgün niteliklerinden dolayı, çinko ağırlıklı alaşımların sanayide büyük bir önemi vardır; bu alaşımlardaki düzenli dağılım yüksek aralıkta çinko elde etme olanağından kaynaklanır. Bunlar ikili çinko (alüminyum)alaşımları ve üçlü çinko (alüminyum-bakır) alaşımlarıdır. Bu alaşımlar para basımında yaygın olarak kullanılan alaşımlardır. Çinko gerek kaplama ve parlatma malzemesi olarak, gerekse alaşım olarak para basımında önemli bir elementtir.

Diğer metallerle çok sayıda alaşımın yapısına katılır. Otomotiv, elektrik ve donanım endüstrilerinde kullanılan döküm kalıplarının yapımında da çinko yer alır. Demir ve benzeri metallerin, korozyona karşı önlem amacıyla galvanizlenmesinde de kullanılır. Çinko oksit; boya, yazıcı mürekkepleri, sabun, tekstil ürünleri, elektronik aletler, kauçuk yan ürünleri, yer kaplamaları, plastik ve kozmetik ürünler gibi günlük yaşamımızın çeşitli tamamlayıcılarında karşımıza çıkmaktadır. Çinko sülfat floresan özelliğe sahiptir ve parlak kadranların, floresan lambaların, X-ışını ve televizyon ekranlarının yapımında kullanılır.

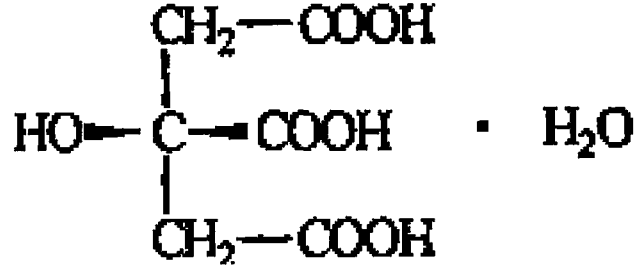
3.3 Sitrik Asid Hakkında Genel Bilgiler

3.3.1 Sitrik Asidin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Sitrik asid (2-Hidroksi-1,2,3-propantrikarboksilik asid, monohidrat), renksiz yarı saydam (Şekil 3.3) kristalize bir asittir. Molekül yapısı (Şekil 3.4), $C_6H_8O_7$ olup prensipte limon, misket limonu ve ananas suyunda bulunan karbonhidratların fermentasyonu ile türetilir. Oda sıcaklığında katıdır. Limon, portakal, ananas ve Bektaşî üzümü gibi meyvelerde hissedilen keskin tadı verir ve meyvenin kuru ağırlığının yaklaşık % 8'ni oluşturur. Sitrik asid meyve sularında kullanılır. Yemek yapımında kullanılan acı tuz sitrik asittir. Bazen ucuz şaraplara asiditeyi arttırmak için eklenir. Herhangi belirgin bir çevresel toksisitesi yoktur.



Şekil 3.3 Yarı saydam sitrik asit tozu



Şekil 3.4 Sitrik asitin molekül yapısı

Biyokimyasal olarak, tüm canlı hücrelerde gerçekleşen sitrik asit döngüsünde (TCA) önemli bir ara elemandır. Çevre dostu, antioksidan özellikli bir temizlik ajanıdır.

Sitrik asitin asiditesi çözelti içinde proton kaybeden üç karboksil grubunun bir sonucudur. Bu şekilde sitrat iyonu oluşur. Sitratlar asidik çözeltilerin pH'nın kontrolünde başarılı bir tampon görevi görürler ve birçok metal iyonu ile çelat oluştururlar.

3.3.2 Sitrik Asidin Kaynakları ve Kullanım Alanları

Sitrat (sitrik asit) doğada yaygın olarak bulunur ve tüm yaşayan hücrelerin doğal bileşenidir. Çoğu bakteri, sitoplazmik membranlarında sitratın hücre içine alımında aracılık eden taşıma sistemlerine sahiptir. Özümseven sitrat karbon enerji kaynağı olarak hem aerobik hem de anaerobik şartlar altında kullanılabilir. Aerobik şartlarda trikarboksilik asit döngüsünde (TCA) sitrat ayrılımı gerçekleşirken, anaerobik şartlarda üç ayrı fermentatif ara basamakla ayrılım gerçekleşir (Krom vd., 2000).

Endüstriyel olarak da hala en yaygın sitrik asit üretim tekniği *Aspergillus niger*'in sükroz üzerinde yetiştirilmesidir. Son çözeltiden küfün filtre edilmesinden sonra sitrik asit kalsiyum hidroksit ile kalsiyum sitrat elde etmek üzere çöktürülerek izole edilmiş olur. Buradan sülfürik asitle muamele edilerek sitrik asit rejenere edilir.

Bu yönteme alternatif olarak, sitrik asit bazen fermantasyon suyundan hidrokarbon çözeltisi ile ekstraksiyon yapılarak izole edilir. Bu adımı organik çözeltiden su ile yapılan ikinci bir ekstraksiyon izler.

ğu sitrik asit gıdalarda ve içeceklerde tat verici ve koruyucu olarak kullanılır. Birçok metalle yaptığı sitrat tuzları günlük olarak tükettiğimiz gıdalardaki minerallerin biyolojik olarak uygun formlara dönüştürmek için kullanılır. Tamponlama özelliği sayesinde ilaçlarda pH kontrolü için uygundur.

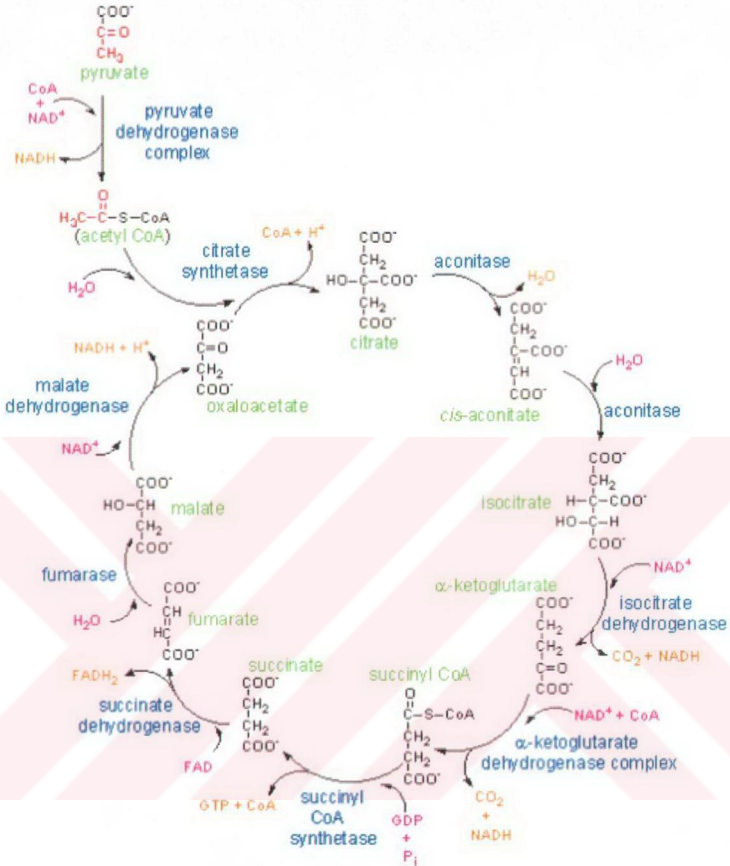
Sitrik asitin metallerle elat oluşturabilme yeteneği onun sabun ve deterjanlarda kullanımına olanak sağlar. Sert sulardaki metallerle elat oluşturarak temizleyicilerin köpük oluşturmasını sağlar ve yumuşatıcı gereksinimini ortadan kaldırır. Benzer olarak suların yumuşatılması amacıyla kullanılan iyon değiştirici materyallerin rejenerasyonunda kullanılır. Bu ortamda sitrik asit, metallerle sitrat kompleksleri oluşturarak çöker.

Sitrik asitin gıdalarda kullanımını birçok ulusal ve uluslar arası gıda kodeksleri tarafından güvenli kabul edilir. Hayatın birçok evresinde doğal olarak bulunur. Fazlası kolayca metabolize olur ve vücuttan atılır.

Kuru sitrik asitle veya derişik çözeltisiyle direk temas deri ve gözde tahrişe sebep olabilir. Bu sebeple çalışma esnasında koruyucu kıyafet giyilmelidir.

3.3.3 Biyokimyasal Açıdan Sitrik Asit

Sitrik asit döngüsü aynı zamanda trikarboksilik asit (TCA) ve Krebs döngüsü olarak adlandırılır. Bu enerji verici moleküllerin katabolik oksidasyonunda son olarak gerçekleşen en genel patikadır. İki karbon, asetil CoA olarak sitrik asit döngüsüne girer ve CO₂ olarak ayrılır. Döngü sırasında dört oksidasyon-indirgeme reaksiyonu gerçekleşir ( molekül NADH ve bir molekül FADH₂). Ayrıca yüksek enerjili bir fosfat bağı (GTP) da oluşur.



Şekil 3.5 TCA (trikarboksilik asit) döngüsü

Krebs döngüsü mitokondride gerçekleşir ve sekiz basamaktan oluşur. Döngünün ilk reaksiyonu asetil CoA'nın iki karbonlu asetil grubunun dört karbonlu bileşik oksaloasetata transfer olmasıyla gerçekleşir. Bu şekilde altı karbonlu bileşik sitrat oluşur. Daha sonra sitrat bir seri kimyasal reaksiyon gerçekleştirir. Önce birinci daha sonra ikinci karboksil grubunu karbondioksit olarak kaybeder. Döngünün oksidatif adımları sayesinde kullanılabilir hale gelen enerjinin çoğu enerji yüklü elektronlar olarak NADH oluşturmak üzere NAD^+ 'ye transfer edilir. Krebs döngüsüne giren her asetil grubu için üç NAD^+ molekülü NADH 'a indirgenir. Altıncı adımda elektronlar NAD^+ yerine elektron alıcı FAD 'a transfer olur.

Sitrik asit döngüsünün bir turunda, üç NADH ve bir FADH₂ oluşturmak üzere iki karbondioksit molekülü ve sekiz hidrojen atomu yer değiştirir. İki karbondioksit döngüye giren asetil grubunun iki karbonundan gelir. Asetil grubundan fazla miktarda oluşan hidrojenin bir kısmı da döngü reaksiyonları sonucundaki su moleküllerinden kaynaklanır. İki asetil molekülü bir molekül glikozdan meydana geldiği için döngü iki kez gerçekleşmek zorundadır. Her döngünün sonunda dört karbonlu okzaloasetat ayrılır ve sistem yeni bir döngü için hazır hale gelir. Burada guanozin trifosfat (GTP) formunda yüksek enerjili fosfat bağı oluşur. Bu yüksek enerjili fosfat ADP'ye ve oradan da canlı hücrelerin enerji kaynağı olarak kullandığı ATP'ye transfer olur (Early, 2004).

ATP sitrat-liyaz daha çok memeli canlılarda üretilen sitoplazmik bir enzimdir. Hücredeki asetil-CoA sentezinden sorumludur. Sitrattan asetil-CoA ve okzaloasetat oluşmasını katalizler (Elshourbagy vd., 1990).

Warner ve Lolkema (2002) yaptıkları çalışmada, *Bacillus subtilis*'in TCA döngüsü ve onunla ilgili bileşikler karbon kaynağı olarak kullanarak büyümesini incelemiştir. Büyümenin sitrat, d-izositrat, süksinat, fumarat ve L-malat ile desteklendiği ortamda 2-okzoglutarat, D-malat ve okzaloasetatın bulunmasının büyüme etkilemediğini gözlemiştir. Burada büyümenin çeşitli taşıyıcılarla sitrat ve izositratın hücre içine taşındığı ve kullanıldığını savunmuşlardır. Sitrat ve D-izositratın, CitM taşıyıcısıyla divalent iyonlu kompleksleri halinde organizmaya alındığını belirtmişlerdir (Boorsma vd., 1996; Krom vd., 2000). CitM'in, sitratı Mg²⁺, Mn²⁺, Ni²⁺, Co²⁺ ve Zn²⁺ kompleksleri olarak; CitH adlı başka bir taşıyıcının ise sitratı Ca²⁺, Ba²⁺ ve Sr²⁺ kompleksleri olarak tanıyıp organizma içine taşıdıklarını açıklamışlardır.

Sitrat +2 yüklü metallerle kararlı kompleks formları oluşturur. Çoğu sitrat taşıyıcıları kararlı haldeki metal-sitrat komplekslerini kendi ortamlarında gerekli bir eleman olarak kullanırlar. Yapılan çalışmada CitM ve CitH taşıyıcılarının her ikisi de metal iyonlarının sitrat alımını arttırdığını göstermişlerdir. Ancak ortama +2 yüklü metallerin eklenmesi çoğu taşıyıcı faaliyetinde inhibasyona sebep olmuştur (Krom vd., 2000). In vivo olarak yapılan çalışmalarda da bazı metal-sitrat türlerinin ATP sitrat liyaz enzim fonksiyonlarını inhibe ettiği görülmüştür (Melnick vd., 1996).

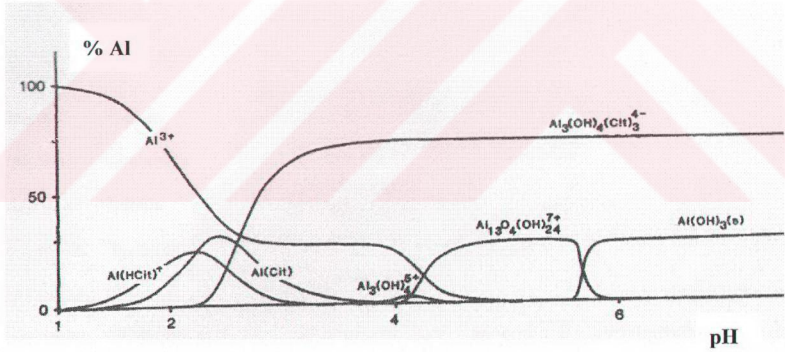
3.3.4 Sitrik Asit-Metal Kompleksleri

Sitrik asit çok dişli bir ligandır ve çeşitli metal iyonlarıyla kararlı kompleks moleküller oluşturur (Glusker, 1980). Komplekslerin türlerine göre mikroorganizmalarda tanınması ve

buna bağılı olarak da bozunma oranları ve miktarları farklıdır. Metal iyonları sitrik asidin bakterideki taşınma olayını birinci dereceden etkileyen faktörlerdir (Bergsma ve Konings, 1983; Silver vd., 1989; Joshi-Tope ve Francis, 1995)

Sitrat (sitrik asit) iki değerlikli iyonlarla kararlı kompleksler oluşturur. Sitratın sitoplazmik membrandan geçişi taşıyıcı proteinler tarafından gerçekleştirilen aktif bir aşamadır. Çoğu taşıyıcı proteinler serbest veya iki değerlikli iyonla kompleks oluşturmuş sitratı tanır (Bergsma ve Konings, 1983).

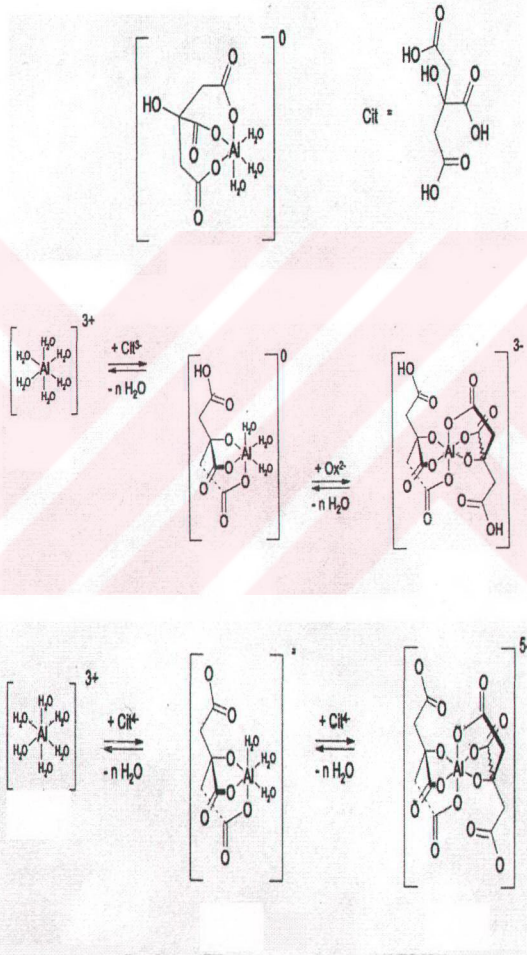
Alüminyumun sitrat gibi çeşitli organik asitlerle oluşturduğu kompleksler Al'un toprakta ve suda taşınmasında anahtar rol oynarlar (Jones vd., 1996a; 1996b; Haberhauer vd., 2002). Bu durumda en önemli etken ortamın pH'ıdır. Çeşitli komplekslerin uygun pH'larda insan vücuduna alımı yine uygun pH'larda bu kompleksin sistem içinde transferini sağlar. Temel olarak Al-sitrat (Al-Cit) komplekslerinin mide bağırsak sisteminin asidik bölümünde oluşması beklenir. Bu komplekslere örnek olarak $Al_3(OH)_4Cit_3$, $AlCit$ ve $AlHCit$ verilebilir. Şekil 3.6'da sitrik asit varlığında Al türlerinin dağılımına pH'ın etkisi gösterilmiştir (Slanina vd., 1986).



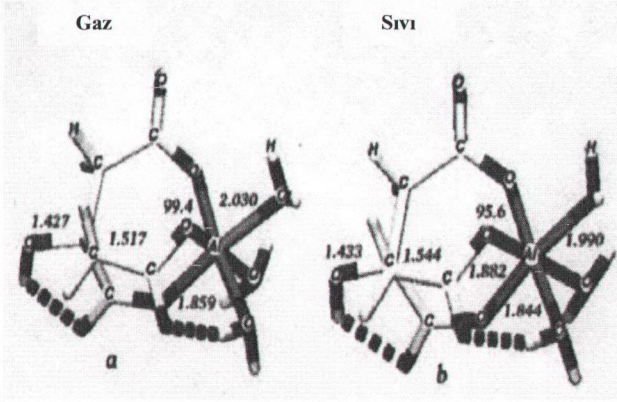
Şekil 3.6 Sitrik asit varlığında Al türlerinin dağılımına pH'ın etkisi

Şekil 3.6'da sitrik asit varlığında Al türlerinin dağılımına pH'ın etkisi gösterilmiştir (Slanina vd., 1986). Sitrik asidin üç karboksil grubu ve bir hidroksil grubuna sahip moleküler yapısı sebebiyle Al ile etkileşimi oldukça karmaşıktır. Al kationu ile oluşturabileceği çeşitli kompleks türleri vardır. Örneğin; mono-, bi- ve üç-dişli kompleks molekül kombinasyonları çok çeşitli şekillerde oluşabilir. Şekil 3.7'de üç dişli yapıların da bulunduğu X-ray denemeleri sonuçlarından faydalanılarak yüksek oranda rastlanan kompleks molekül yapıları

belirtilmiştir. Kristal yapı merkezi simetrik, tamamıyla protonlarını yitirmiş iki sitrat ligandının merkezde Al^{3+} kationuna bağlandığı oktahedral (sekizyüzlü) bir kompleksden oluşur (Matzapetakis vd., 1999). Şekil 3.8’ de bu kompleks yapılarının gaz ve sıvı fazlarındaki durumları belirtilmiştir. Bu yapılar oluşma yüzdesi yüksek kompleks moleküllerinin optimize edilmiş yapılarıdır (Aquino vd., 2001).



Şekil 3.7 Sitrat (Cit) ve heksaqua Al^{3+} ($[Al(H_2O)_6]^{3+}$) kompleksinin reaksiyonu sonucu oluşan bazı Al-sitrat kompleksleri



Şekil 3.8 Gaz ve sıvı fazlarında Al-sitrat kompleksinin molekül yapısı

4. DENEYSEL ÇALIŞMA

Deneyisel çalışmanın büyük bir kısmı İngiltere’de Royal Liverpool Üniversite Hastanesi laboratuvarlarında, Ağustos 2004 – Ocak 2005 tarihleri arasında gerçekleştirilmiştir.

4.1 Çalışmada Kullanılan Cihazlar ve Kimyasal Maddeler

4.1.1 Kullanılan Cihazlar

- 1) Otoenjeksiyon cihazı: Gilson Model FC 234
- 2) Örnek yükleyici pompa: Thermo Separation Products P4000 Quaternary Gradient
- 3) Fraksiyon toplayıcı: Gilson Model FC 204
- 4) Ayırma kolonu: Dionex column HPIC-CS2
- 5) HPIEC sistemi: LG Computer Systems PC de kayıtlı yazılım Gilson Unipoint Version 3.2 ile kontrol edilen Gilson 506/C System Interface Module



Şekil 4.1 HPIEC sistemi

- 6) UV-VIS Spektrofotometre: Varian-Cary 1E UV-visible, Kuvartz Kuvet



Şekil 4.2 Varian-Cary UV-VIS spektrofotometresi

- 7) GFAAS: Varian Spectraa yazılımı ile kontrol edilen Varian 220Z GFAAS



Şekil 4.3 Varian 220Z GFAAS cihazı

- 8) Analitik terazi: Agust Sauter D-7470
9) Destile su cihazı: Nüve, NS278

4.1.2 Çalışmada Kullanılan Kimyasallar ve Çözeltiler

4.1.2.1 Analitik Saflıktaki Kimyasallar

- Sitrik asid tayininde kullanılan kimyasallar
 - Aldrich, Sitrik asit , % 99,5, M = 192,1 g/mol
 - R-Biopharm, Tampon / L-MDH / L-LDH / NADH (1 numaralı şişe)
 - R-Biopharm, CL liyofilizat (2 numaralı şişe)
 - R-Biopharm, Stabilize edilmiş sitrik asit kalite kontrol çözeltisi [QC] = 1,9 mmol/l
 - Analar, Fisons, 1000 ppm Al standart
 - Analar, Fisons, 1000 ppm Zn standart
 - Analar, Fisons, 1000 ppm Fe standart
 - Analar, (BDH) NaOH (sodyum hidroksit), M = 40,0 g/mol
- Al³⁺ tayininde kullanılan kimyasallar
 - Analar, Fisons, 1000 ppm Al standart
 - Aldrich, 4,5-dihidroksi-1,3-benzendisülfonik asid, disodyum monohidrat tuzu (tiron)
 - Analar, Amonyum asetat, M = 11,08 g/mol
 - Analar, Saf asetik asit, % 99,5
 - Aldrich, Sitrik asit , % 99,5, M = 192,1 g/mol
 - Sigma, Sülfirik asit, % 10 v/v
 - Analar, Fisons, Amonyum sülfat
 - Aldrich, Maleik asit (C₄H₄O₄), M = 116,1 g/mol
 - Aldrich, Alüminyum asetat (C₂H₃O₄Al), M = 120,0 g/mol
 - Aldrich, Okzalik asit dihidrat (C₂H₂O₄.2H₂O), M = 126,1 g/mol
 - Aldrich, Alüminyum laktat [CH₃CH(OH)CO₂]₃Al, M = 294,20 g/mol
 - Aldrich, Maltol (C₆H₆O₃), M = 126,11 g/mol
 - Aldrich, Florür, M = 41,99 g/mol

4.1.2.2 Hazırlanan Çözeltiler

- Sitrik asid tayini için gerekli çözeltiler UV-metodun (BOEHRINGER MANNHEIM / R-BIOPHARM, Citric Acid UV-Method) uygulama notuna bağlı kalınarak aşağıdaki şekilde hazırlandı:
 - Ticari kitin 1 numaralı şişesi metotta öngörülen şekilde 12 ml destile su ile çözüldü.
 - Ticari kitin 2 numaralı şişesi 0,3 ml destile su ile çözüldü.

- Ticari kitin 3 numaralı kalite kontrol çözeltisi herhangi bir işlem yapılmadan kullanıldı.
- Sitrik asit çözeltisi (3 mmol/l): Yarı saydam katı sitrik asitten 0,28815 g tartılarak bir miktar destile su içinde çözüldü ve 500 ml'ye tamamlandı.
- Metal stok çözeltileri (3 mmol/l): 1000 ppm'lik stok çözeltilerinden sırasıyla 1,345 ml Al, 8,38 ml Fe alınarak 50 ml'ye ve 1,963 ml Zn alınarak 15 ml'ye sitrik asit çözeltisiyle tamamlandı. Çözelti pH'ları 7,0 - 7,5'e 1 M NaOH çözeltisi ile ayarlandı.
- Çalışmalarda kullanılan meyve suları 1:3 oranında destile su ile seyreltildi.
- Al³⁺ tayini için hazırlanan çözeltiler;
 - Al stok çözeltisi: 1,345 ml Al alınarak 50 ml'ye tamamlandı ve gerekli seyreltmeler destile su ile yapıldı.
 - Tiron belirteci (0,3 mM Tiron; 3 M Amonyum asetat içinde): 22,576 g amonyum asetat 100 ml suda çözüldü ve pH 6,2'ye asetik asitle ayarlandı. Daha sonra 0,0096 g tiron eklendi.
 - Sitrik asit çözeltisi (3 mmol/l): Yarı saydam katı sitrik asitten 0,28815 g tartılarak bir miktar destile su içinde çözüldü ve 500 ml'ye tamamlandı. pH 7,0-7,5'e 1 M NaOH çözeltisi ile ayarlandı.
 - Hareketli faz çözeltisi: 20 ml 0,5 M sülfirik asit çözeltisi üzerine 26,42 g amonyum sülfat eklendi 1 L'ye destile suyla tamamlandı.
 - Çay örnek çözeltisi: 0,1 g çay 10 ml su ile kaynatıldı ve santrifüjleme sonrasında üstte kalan sıvı kısım analizlerde kullanıldı.
 - Çalışmalarda kullanılan meyve suları 1:3 oranında destile su ile seyreltildi.
 - Alüminyum florür çözeltisi (1 mmol/l F⁻ + 0,5 mmol/l Al³⁺): 1000 ppm stok F çözeltisinden 0,420 ml alınarak 5 ml'ye 2 mmol/l F çözeltisi elde etmek üzere destile su ile tamamlandı ve eşit hacimle 1 mmol/l Al çözeltisi ile birleştirildi.
 - Alüminyum-laktat çözeltisi (1 mmol/l): Al-laktat katısından 0,003 g tartılarak 10 ml'ye destile su ile tamamlandı.
 - Alüminyum-asetat çözeltisi (1 mmol/l): Al-asetat katısından 0,0012 g tartılarak 10 ml'ye destile su ile tamamlandı.
 - Alüminyum maltol çözeltisi (1 mmol/l Maltol + 0,5 mmol/l Al³⁺): Maltol katısından 0,005 g alınarak 10 ml'ye 4 mmol/l maltol çözeltisi elde etmek üzere destile su ile tamamlandı. Yapılan seyreltme ardından elde edilen 2 mmol/l maltol çözeltisi ve eşit hacimle 1 mmol/l Al çözeltisi ile birleştirildi.

4.2 Uygulanan Yöntemler

4.2.1 Sitrik Asidin Enzimatik Biyoanalizi

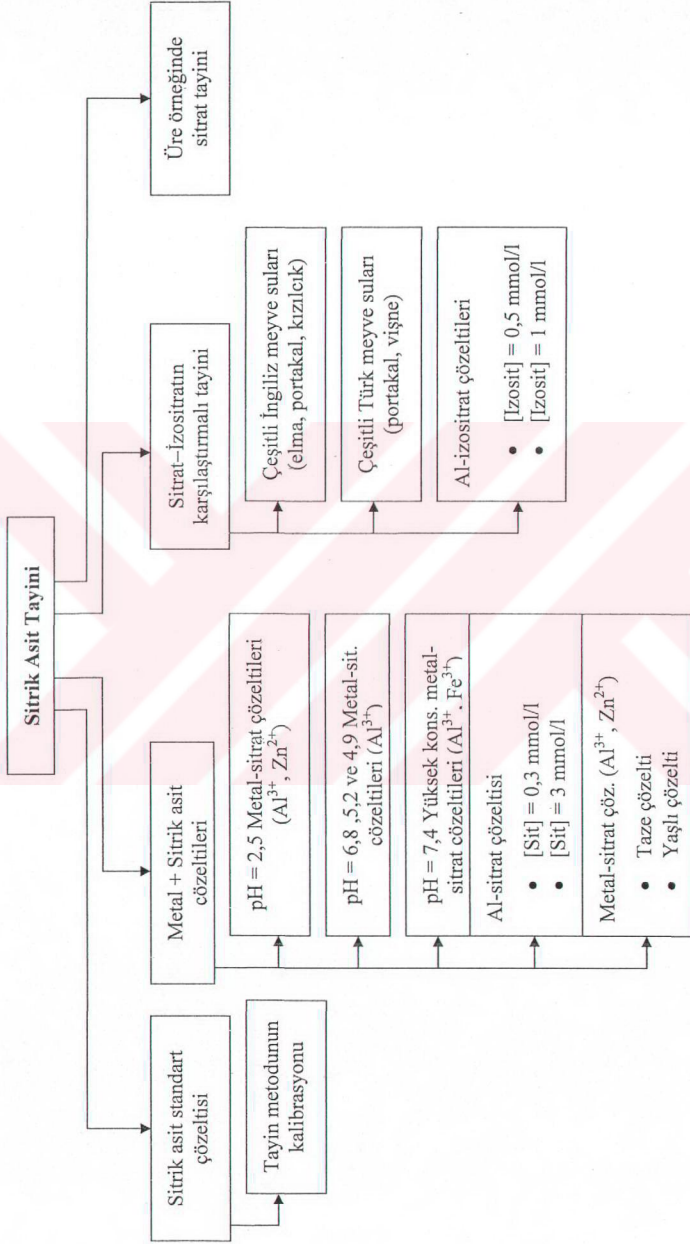
Çalışma şartları aşağıda görüldüğü gibi çeşitli sentetik ve doğal örnekler hazırlandı ve Bölüm 2.3'te açıklanan şekilde sitrat tayini yapıldı. Çizelge 4.1'de ticari metotta belirtilen UV spektrofotometrik tayini yapılacak örnek içerikleri belirtilmiştir.

- Dalgaboyu: 340 nm
- Cam küvet: 1,00 cm ışık yolu
- Sıcaklık: 20-25°C
- Son hacim: 0,755 ml
- Okuma suya karşı yapıldı

Çizelge 4.1 Sitrik asit tayin metoduna göre UV-VIS Spektrofotometrik tayini yapılacak örnek içerikleri

Küvete aktarılan	Referans	Örnek
1 No'lu şişe çözeltisi	0,250 ml	0,250 ml
Örnek çözeltisi	-	0,05 ml
Distile Su	0,5 ml	0,450 ml
Küvete aktarılan çözeltileri karıştır, 5 dk sonra (A ₁) absorbandsını oku ve aşağıdaki çözeltiyi ekleyerek reaksiyonu başlat;		
2 No'lu şişe çözeltisi	0,005 ml	0,005 ml
Reaksiyon başlayan çözeltiyi karıştır, 5 dk sonra (A ₂) absorbandsını oku		

Şekil 4.4'te sitrik asitin enzimatik biyoanalizi akım şemasında kullanılan sentetik ve doğal örnek çözeltileri özetle verilmiştir. Bu çözeltilerin yukarıda açıklanan şekilde analizi yapılmış ve elde edilen absorpsiyonları 2.1 ve 2.2 numaralı denklemlerde uygun şekilde yerleştirilip sitrat konsantrasyonları hesaplanmıştır.



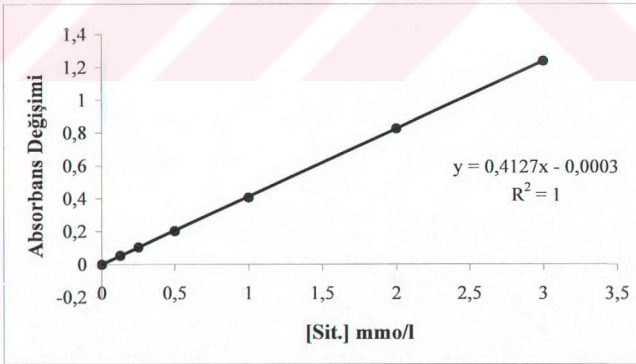
Şekil 4.4 Sitrik asit çalışma akım şeması

4.2.1.1 Sitrik Asit Standart Çözeltisinde Sitrat Tayini

- Tayin metodunun kalibrasyonu ve ticari kitin sistemimize uygunluğunun incelenmesi amacıyla 0-3 mmol/L arasında değişen konsantrasyonlarda sitrik asit standartları hazırlandı ve Bölüm 2.3'te açıklanan şekilde metoda uygun olarak sitrat tayini yapıldı. Çizelge 4.2'de Standart sitrik asit çözeltisinin spektrofotometrik ölçüm sonrası elde edilen absorbas değerleri ve (2.1), (2.2) denklemlerine göre konsantrasyonlarının hesabı verilmiştir. Şekil 4.5'te elde edilen konsantrasyon grafiği verilmiştir.

Çizelge 4.2 Standart sitrik asit örnek çözeltisi

Saat	10:19							
[cit] mM	A ₁	A ₂	A ₁ -A ₂	Ref. Abs	~ Abs	C (g/l)	C (mol/l)	C (mmol/l)
0	1,5053	1,48	0,0253	0,0253	0	0	0	0,000
0,125	1,4805	1,4012	0,0793	0,0253	0,054	0,0272	0,00013	0,129
0,25	1,4824	1,3522	0,1302	0,0253	0,1049	0,05283	0,00025	0,251
0,5	1,4845	1,2558	0,2287	0,0253	0,2034	0,10245	0,00049	0,488
1	1,4957	1,0627	0,433	0,0253	0,4077	0,20535	0,00098	0,977
2	1,4878	0,6358	0,852	0,0253	0,8267	0,41638	0,00198	1,981
3	1,4883	0,2245	1,2638	0,0253	1,2385	0,62379	0,00297	2,968
QC	1,4288	0,5673	0,8615	0,0253	0,8273	0,41669	0,00198	1,983



Şekil 4.5 Sitrat tayin metodu kalibrasyon grafiği

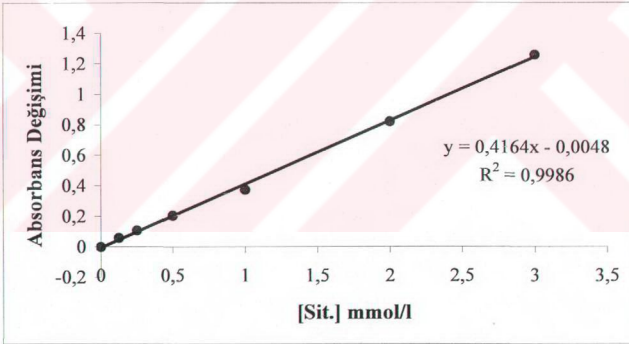
Kalibrasyon grafiğinde görüldüğü gibi korelasyon sabitinin 1 olması metodun sisteme uyum sağladığını belirtmektedir. Çizelge 4.2'de QC olarak belirtilen kalite kontrol çözeltisinin de

olması gereken konsantrasyonda olduğu deneysel hata olmadığını göstermektedir.

Çizelge 4.3'de paralel yapılan çalışmanın sonuçları ve Şekil 4.6'da elde edilen deneysel sonuçların grafiği verilmiştir.

Çizelge 4.3 Standart sitrik asit örnek çözeltisi

Saat	15:00							
[cit] mmol/l	A ₁	A ₂	A ₁ -A ₂	Ref. Abs	~ Abs	C (g/l)	C (mol/l)	C (mmol/l)
0	1,4416	1,4164	0,0252	0,0252	0	0	0	0,000
0,125	1,4658	1,3809	0,0849	0,0252	0,0597	0,03007	0,00014	0,143
0,25	1,4978	1,3641	0,1337	0,0252	0,1085	0,05465	0,00026	0,260
0,5	1,4742	1,2436	0,2306	0,0252	0,2054	0,10345	0,00049	0,492
1	1,4597	1,0599	0,3998	0,0252	0,3746	0,18867	0,0009	0,898
2	1,4439	0,5967	0,8472	0,0252	0,822	0,41402	0,00197	1,970
3	1,4522	0,1679	1,2843	0,0252	1,2591	0,63417	0,00302	3,018
QC	1,3481	0,4918	0,8563	0,0252	0,8334	0,41976	0,002	1,998



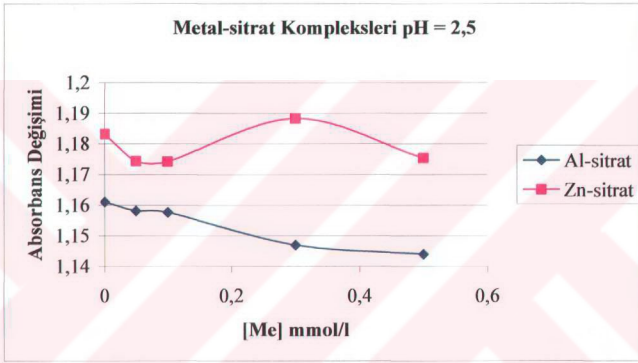
Şekil 4.6 Sitrat tayin metodu kalibrasyon grafiği

Elde edilen sonuçlar ve grafikten görüldüğü gibi kalibrasyon sonuçları tekrarlanabilir düzeydedir. Kalite kontrol çözeltisi konsantrasyonu deneysel herhangi bir hatanın olmadığını, korelasyon sabitinin 0,9986 olması da metodun güvenilirliğini göstermektedir.

4.2.1.2 Metal-Sitrik Asit Çözeltilerinde Sitrat Tayini

Sitrat tayininde kullanılan ticari kitin metal-sitrik asit çözeltilerindeki uyumunu incelemek amacıyla bir seri sentetik metal-sitrat çözeltileri hazırlandı. Bu çözeltilerin pH, metal ve sitrat konsantrasyonu, hazırlanan çözeltilerin taze hazırlanmış veya bekletilmiş olmaları gibi değişen parametrelere karşı davranışları incelendi.

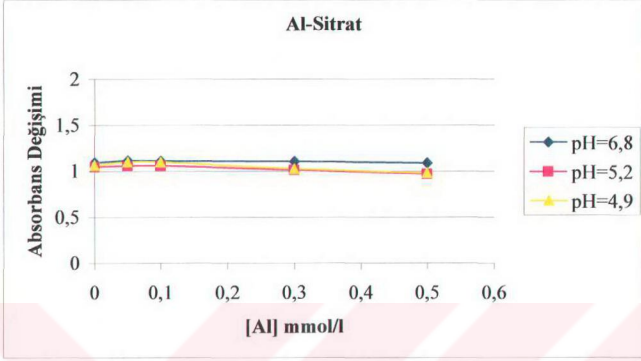
- pH'ları yaklaşık 2,5 olan Al-sitrat ($[Al^{3+}] \cong 0-0,5$ mmol/l, $[Sitrat] \cong 3$ mmol/l) ve Zn-sitrat ($[Zn^{2+}] \cong 0-0,5$ mmol/l, $[Sitrat] \cong 3$ mmol/l) çözeltileri hazırlandı ve enzimatik raksiyonun kompleks molekül varlığındaki davranışları incelendi. Şekil 4.7'de yapılan deneysel çalışma sonucu elde edilen grafik verilmiştir.



Şekil 4.7 Al-sitrat ve Zn-sitrat çözeltileri spektrofotometrik tayini

Yukarıdaki grafikte görüldüğü gibi uygulanan pH'ta iyi sonuçlar elde edilemiştir. Al-sitrat eğrisinin davranışı beklenene daha yakın olmakla beraber bu pH aralığının çalışma şartlarına uygun olmadığı görülmektedir.

- pH'ları 6,8, 5,2 ve 4,9 olan Al-sitrat ($[Al^{3+}] \cong 0-0,5$ mmol/l, $[Sitrat] \cong 3$ mmol/l) çözeltileri hazırlandı ve enzimatik reaksiyonun vücut pH'ına yakın ve kompleks molekül varlığındaki davranışı incelendi.

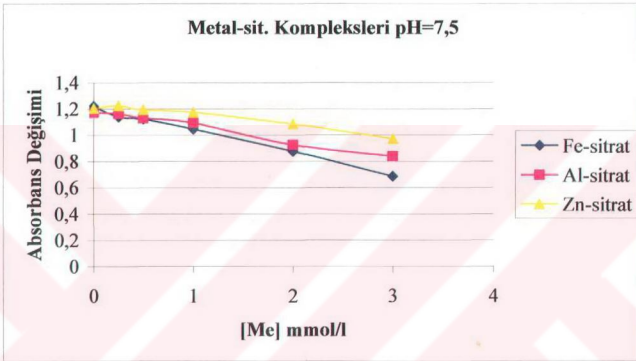


Şekil 4.8 Al-sitrat çözeltileri spektrofotometrik tayini

Şekil 4.8'de görüldüğü gibi metotta önerilen yüksek pH'ta çalışma sonuçları daha iyidir ve üç çalışma pH'ında da belirgin bir değişme yoktur. Bu bize Al'un enzim çalışması üzerinde henüz bir inhibasyonunun olmadığını gösterir. Yani sitrat metoda uygun enzimatik reaksiyonları gerçekleştirmektedir.

Farklı pH'larla yapılan çalışma sonucu belirgin bir etki görülmemesi yüksek konsantrasyonlu örnek çözeltilerinin çalışılması sonucunu getirmiştir. Bu sebeple;

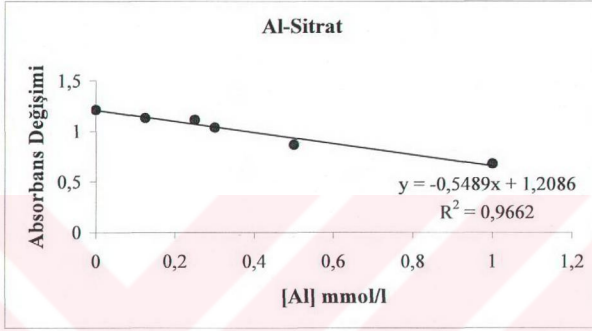
- pH'ları yaklaşık 7,5 olan, yüksek konsantrasyonlu Al-sitrat ($[Al^{3+}] \cong 0-3$ mmol/l, [Sitrat] $\cong 3$ mmol/l), Fe-sitrat ($[Fe^{3+}] \cong 0-3$ mmol/l, [Sitrat] $\cong 3$ mmol/l) ve Zn-sitrat ($[Zn^{2+}] \cong 0-3$ mmol/l, [Sitrat] $\cong 3$ mmol/l) çözeltileri hazırlandı ve sitrat tayini yapıldı. Deneysel sonuçlarından elde edilen grafik Şekil 4.9'da verilmiştir.



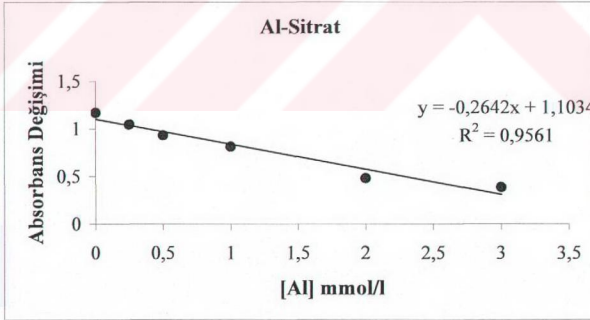
Şekil 4.9 Fe-sitrat, Al-sitrat ve Zn-sitrat çözeltileri spektrofotometrik tayini

Şekil 4.9'da görüldüğü gibi metal-sitrat komplekslerinin sitrat liyaz enzimi çalışması üzerine belirgin bir inhibasyonu söz konusudur. Sırasıyla grafiklerin korelasyon sabitleri $R^2_{Fe-sit} = 0,9948$, $R^2_{Al-sit} = 0,9847$, $R^2_{Zn-sit} = 0,9948$ dir ve kalite kontrol çözeltilisinin ölçülen konsantrasyonu $QC=1,9 - 2,1$ aralığındadır. Bu şartlar altında metodun çalışmasında deneysel bir hata yok ve sistem metotla uyum içinde denilebilir.

- Önceki denemelerden farklı olarak bu deneysel çalışmada iki ayrı sitrat ve alüminyum konsantrasyonları kullanıldı ($[Al^{3+}] \cong 0-3$ mmol/l, $[Sitrat] \cong 3$ mmol/l ve $[Al^{3+}] \cong 0-1$ mmol/l, $[Sitrat] \cong 0,3$ mmol/l). İki ayrı sistemin enzimatik reaksiyon üzerine davranışı ve etkileri incelendi. Şekil 4.10'da düşük konsantrasyonlu al-sitrat çözeltileri ve Şekil 4.11'de yüksek konsantrasyonlu al-sitrat çözeltileri denemelerinden elde edilen absorbsans değişim grafikleri verilmiştir.



Şekil 4.10 Al-sitrat ([Sit] = 0,3 mmol/l) çözeltileri spektrofotometrik tayini

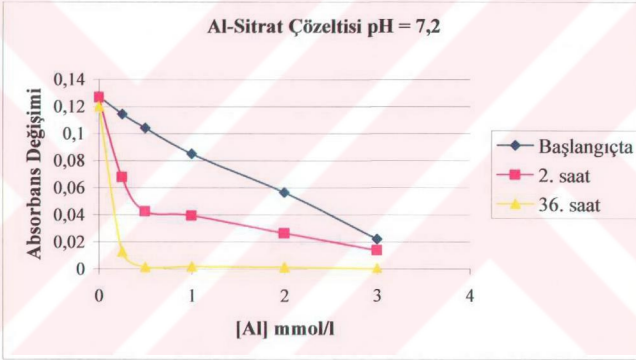


Şekil 4.11 Al-sitrat ([Sit] = 3 mmol/l) çözeltileri spektrofotometrik tayini

Yukarıdaki grafiklerden anlaşılacağı gibi düşük sitrat konsantrasyonunda enzimatik reaksiyonunun inhibasyonu daha fazladır. Bu sitrat konsantrasyonu karşısında fazla miktarda bulunan Al'un enzim çalışmasına etkisinin, birebir konsantrasyon oranına kıyasla daha belirgin olduğunu göstermektedir.

Sitrik asitin enzimatik biyoanalizinde incelenen pH, metal türleri ve sitrik asit konsantrasyonları parametrelerinin ardından yapılan bir diğer inceleme de çeşitli metal-sitrat çözeltilerinin taze ve yaşlı (48 saat bekletilmiş) olmaları üzerine yapıldı. Bu amaçla aşağıda belirtilen çözeltiler hazırlandı;

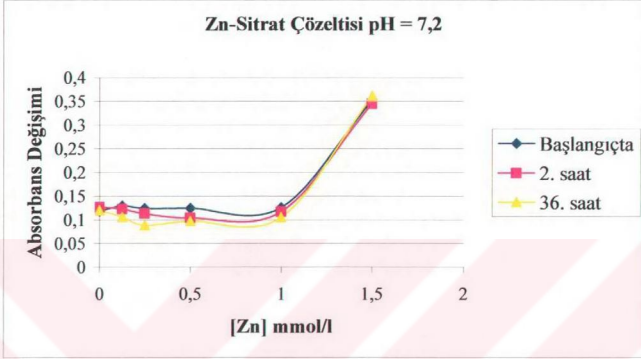
- Sitrat konsantrasyonu 0,3 mmol/l olan metal-sitrat (Al-sitrat ve Zn-sitrat) çözeltileri hazırlandı ve bu çözeltilerin taze ve yaşlı (bekletilmiş) olmaları halinde reaksiyon davranışı incelendi. Şekil 4.12'de 0,3 mmol/l sabit sitrat konsantrasyonunda ve 0 – 3 mmol/l arasında değişen Al konsantrasyonunda hazırlanan çözeltilerin 0 – 48 saat aralıklarında yapılan spektrofotometrik analiz sonuçlarından elde edilen grafik verilmiştir.



Şekil 4.12 Al-sitrat ([Sit] = 0,3 mmol/l) çözeltileri spektrofotometrik tayini

Grafikte de görüldüğü gibi taze Al-sitrat çözeltilerinin enzimatik reaksiyona belirgin bir inhibasyon etkileri gerçekleşmektedir. Ancak yaşlı çözeltide bu etkiye rastlanmamaktadır.

Aşağıda görülen Şekil 4.13'de ise aynı şartlarda 0,3 mmol/l sabit sitrat konsantrasyonunda ve 0-3 mmol/l arasında değişen Zn (çinko) konsantrasyonunda hazırlanan çözeltilerin 0 – 48 saat aralıklarında yapılan spektrofotometrik analiz sonuçlarından elde edilen grafik verilmiştir.

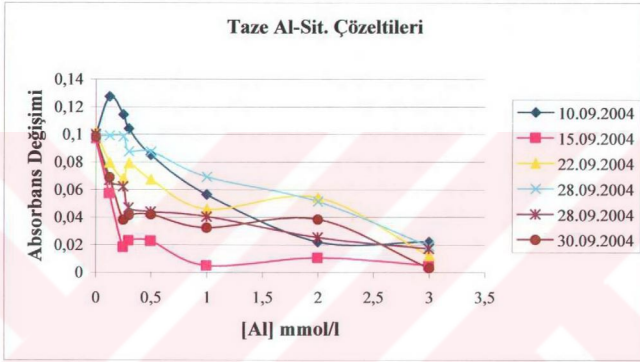


Şekil 4.13 Zn-sitrat ([Sit] = 0,3 mmol/l) çözeltileri spektrofotometrik tayini

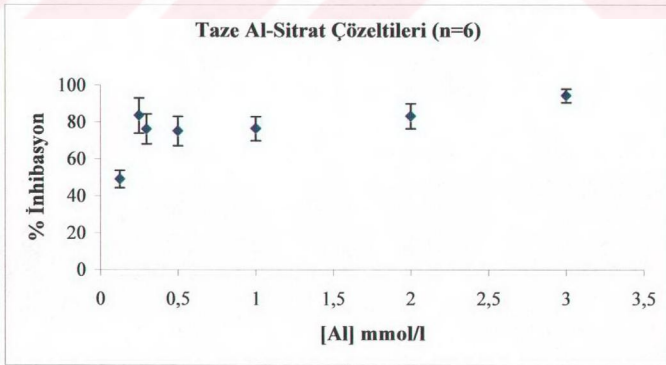
Şekil 4.13'te görüldüğü üzere çinkonun sitratın enzimatik biyoanalizi üzerinde bir inhibasyonu yoktur. Taze ve yaşlı çözeltilerin de enzim çalışması üzerinde herhangi bir etkisi olmamaktadır.

Metal-Sitrik asit çözeltilerinde sitrat tayin çalışmalarında son olarak;

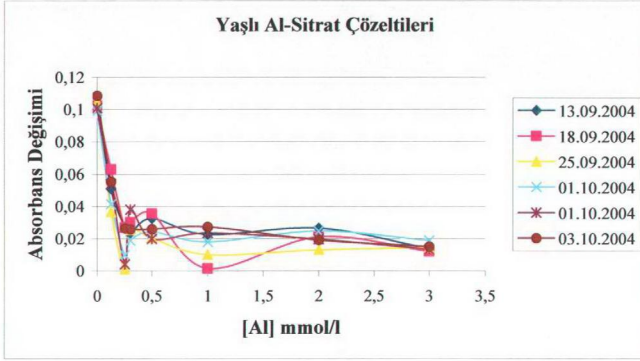
- Al-sitrat çözeltilerinin taze ve yaşlı olma durumlarının değişen sitrat konsantrasyonuyla ilişkisi önce $[Sit]=0,3$ mmol/l, sonra $[Sit]=1$ mmol/l için incelendi. Şekil 4.14'te taze ve Şekil 4.16'da yaşlı çözeltilerin spektrofotometrik tayin sonuçları verilmiştir. Elde edilen sonuçların inhibasyon yüzdeleri ise taze çözeltiler için Şekil 4.15'te ve yaşlı çözeltiler için Şekil 4.17'de belirtilmiştir.



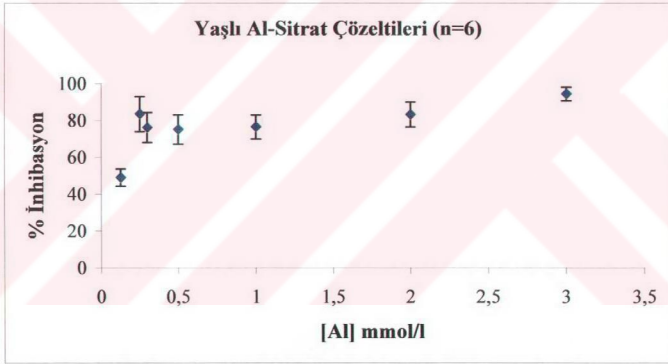
Şekil 4.14 Taze Al-sitrat ($[Sit] = 0,3$ mmol/l) çözeltileri spektrofotometrik tayini



Şekil 4.15 Taze Al-sitrat ($[Sit] = 0,3$ mmol/l) çözeltileri inhibasyon yüzdesi

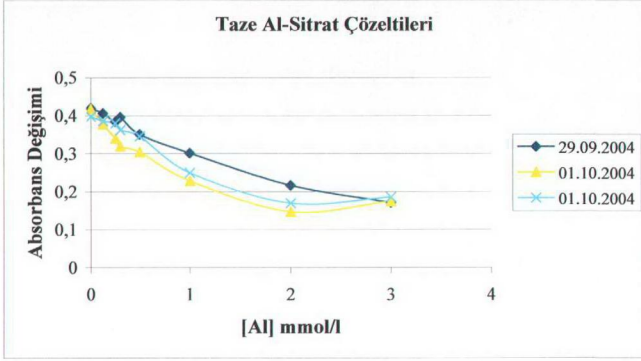


Şekil 4.16 Yaşlı Al-sitrat ([Sit] = 0,3 mmol/l) çözeltileri spektrofotometrik tayini

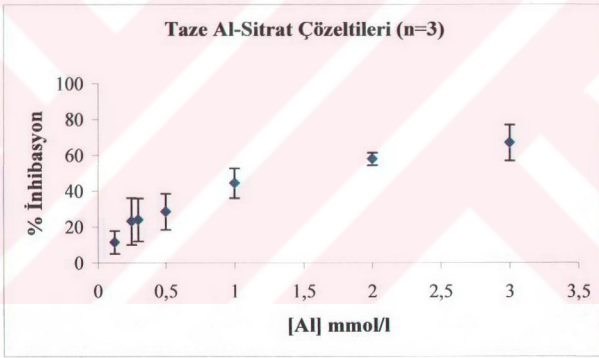


Şekil 4.17 Yaşlı Al-sitrat ([Sit] = 0,3 mmol/l) çözeltileri inhibasyon yüzdesi

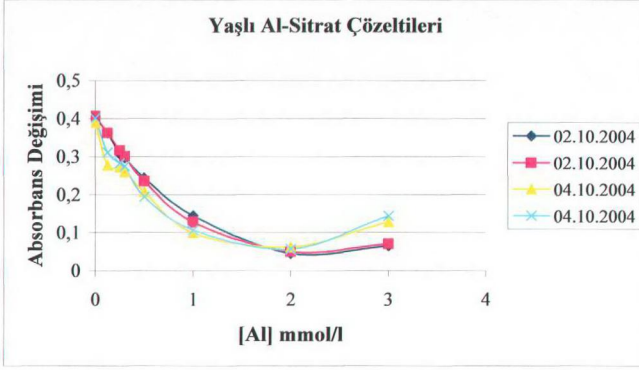
Taze ve yaşlı çözeltilerin sitrat tayini üzerine etkilerini incelemek amacıyla yapılan çalışmalar göstermiştir ki; taze hazırlanmış çözeltilerin sitrat liyaz enziminin çalışmasında belirgin bir inhibasyonu vardır. Ancak bu etki yaşlı çözeltilerde görülmemektedir. Yine aynı çalışmalar Al-sitrat kompleks oluşum oranının taze çözeltilerde 1:3, yaşlı çözeltilerde 1:1 olduğunu göstermektedir.



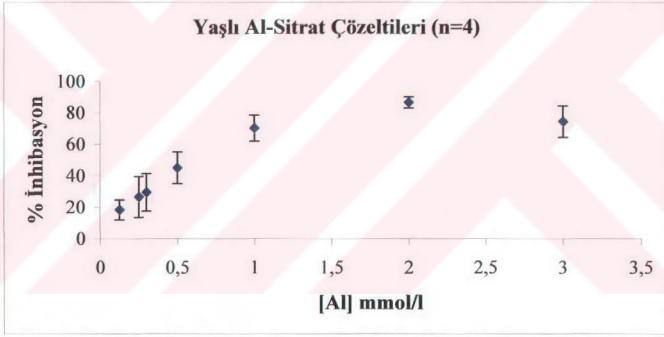
Şekil 4.18 Taze Al-sitrat ([Sit] = 1 mmol/l) çözeltileri spektrofotometrik tayini



Şekil 4.19 Taze Al-sitrat ([Sit] = 1 mmol/l) çözeltileri inhibasyon yüzdesi



Şekil 4.20 Yaşlı Al-sitrat ([Sit] = 1 mmol/l) çözeltileri spektrofotometrik tayini



Şekil 4.21 Yaşlı Al-sitrat ([Sit] = 1 mmol/l) çözeltileri inhibasyon yüzdesi

Taze ve yaşlı Al-sitrat çözeltilerinin 1 mmol/l konsantrasyonunda sitrat ile komplekslerinin sitrat liyaz enziminin çalışması üzerine etkileri de düşük konsantrasyonlu sitrat komplekslerinde elde edildiği gibidir. Taze çözeltilerin enzim çalışması üzerinde belirgin bir inhibasyonu mevcuttur ancak bu etki yaşlı çözeltilerde görülmemektedir.

4.2.1.3 Sitrat ve İzositratın Karşılaştırmalı Tayini

- Sitrik asidin enzimatik biyoanalizini değişik matrislerde uygulamak amacıyla günlük olarak tüketilen pH'ları 2,5 - 3,5 arasında değişen çeşitli İngiliz meyve sularında (elma, portakal ve kızılcık) sitrat ve izositrat tayinleri yapıldı. Çizelge 4.4'te deneysel çalışmalarda kullanılan meyve sularında yapılan sitrat ve izositrat tayinleri sonucu elde edilen konsantrasyonlar ve bunların standart sapma sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4.4 İngiliz marka meyve suyunda sitrat ve izositrat konsantrasyonları (n = 4)

Meyve Suyu	[Sit] mmol/l	Std.Sapma(sitrat)	[İzosit] mmol/l	Std.Sapma(izositrat)
Elma	0,343	0,0024	-0,0395	0,0415
Kızılcık	2,595	0,0459	0,1495	0,0017
Portakal	2,697	0,0156	-0,0521	0,0106

Elde edilen sonuçlar kızılcık ve portakal suyunda yüksek miktarda sitrat olduğunu göstermektedir. Buna karşın elma suyunda sitrat konsantrasyonu düşüktür. İzositrat konsantrasyonu ise beklenen düzeyde ve çok düşük miktardadır.

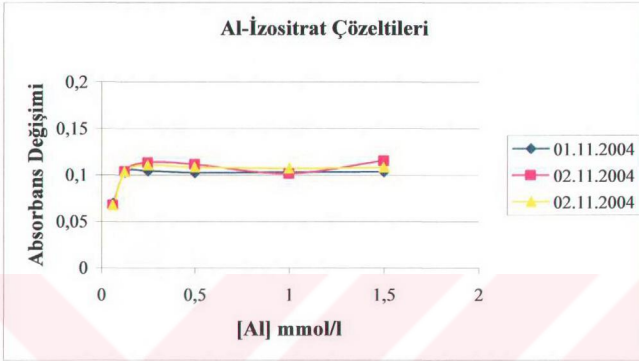
- İngiliz marka meyve sularında yapılan çalışmalara paralel bir seri çalışma da Türk markalı portakal ve vişne suyunda yapıldı. Meyve sularında sitrat konsantrasyonu incelendi. Spektrofotometrik tayini yapılan ve pH'ları 5,0 – 5,3 arasında değişen meyve suyu konsantrasyonları Çizelge 4.5'te verilmiştir.

Çizelge 4.5 Türk marka meyve suyunda sitrat konsantrasyonları (n = 4)

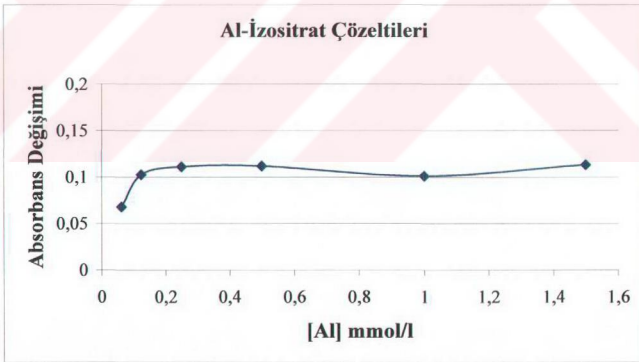
Meyve Suyu	[Sit] mmol/l	Std. Sapma
Vişne	2,5706	0,0212
Portakal	2,6069	0,0688

Elde edilen sonuçlar meyve sularının İngiliz veya Türk üretimi olmasının sitrat konsantrasyonunda bir değişim yaratmadığını göstermektedir. Bununla beraber elde edilen sonuçlar yüksek bulunmuştur. Yapılan çalışmada kalite kontrol çözeltisi konsantrasyonu metotta belirtilen sınır içindedir.

- Alüminyumun izositrata tayini üzerinde herhangi bir inhibasyonu olup olmadığını incelemek amacıyla izositrata konsantrasyonu iki ayrı konsantrasyonda sabit tutularak ($[İzositrat]=0,5$ mmol/l ve $[İzositrat]=1$ mmol/l) Al-izositrata çözeltileri hazırlandı ve enzimatik reaksiyonunun davranışı incelendi (R-Biopharm, 2004).



Şekil 4.22 Al-izositrat ($[İzositrat] = 0,5$ mmol/l) çözeltileri spektrofotometrik tayini



Şekil 4.23 Al-izositrat ($[İzositrat] = 1$ mmol/l) çözeltileri spektrofotometrik tayini

İzositrat tayin sonuçları Al'un enzimatik reaksiyon üzerinde bir inhibasyonu olmadığını göstermektedir. Çalışmalarda kalite kontrol çözeltisi konsantrasyonu $[QC] = 1,9 - 2,1$ arasında değişmektedir. Burada ne Al ne de izositrat konsantrasyonu etkili değildir.

4.2.1.4 İdrar Örneğinde Sitrat Tayini

Yapılan çalışmalar sitrik asit tayin metodunun birçok matrise uygulanabildiğini göstermiştir. Bu hem elde edilen kalibrasyon grafikleri korelasyon sabitleri hem de kalite kontrol çözeltisi konsantrasyon değerlerinden anlaşılmaktadır. Sitrik asit metodunun biyolojik örneklerdeki durumunu incelemek ve hastalık teşhisinde yardımcı bilgi olması amacıyla Royal Liverpool Hastahanesi hastalarından alınan bazı idrar örnekleri çalışıldı. Çizelge 4.6'da bu idrar örneklerinin sitrat ve çalışma esnasında kalite kontrol çözeltisi QC'nin konsantrasyonları verilmiştir.

Çizelge 4.6 İdrar örneği sitrat konsantrasyonları

İdrar Örneği	[Sit] mmol/l	Std. Sapma	QC
1	2,4806	0,0428	2,0284
2	2,3884	0,0089	2,0332
3	1,2913	0,0462	2,0258

Sonuçlar idrar örneği çalışmasında herhangi deneysel bir hata olmadığını göstermektedir.

4.2.2 Alüminyumun Spektrofotometrik Tayini

Yapılan çalışmanın bu bölümünde Al'un tiron belirteci ile yapılan çalışma şartları verilmiştir. Tayin UV-Spektrofotometrik olarak yapılmış olsa da ayırma yöntemi olarak HPIEC ve sadece deneme amacıyla GFAAS kullanılmıştır.

Spektrofotometrik çalışma şartları aşağıda görüldüğü gibi çeşitli sentetik ve doğal örneklerde Al tayini yapıldı. Şekil 4.24'te Al'un tiron belirteci ile gerçekleştirilen çalışma akım şeması verilmiştir.

- Dalgaboyu: 310 nm
- Cam küvet: 1,00 cm ışık yolu
- Sıcaklık: 20-25°C
- Son hacim: 1 ml
- Okuma suya karşı yapıldı

Hazırlanan tüm örneklerin spektrofotometrik tayin amacıyla tiron belirteci ile birleştirilme şartları aşağıdaki gibidir:

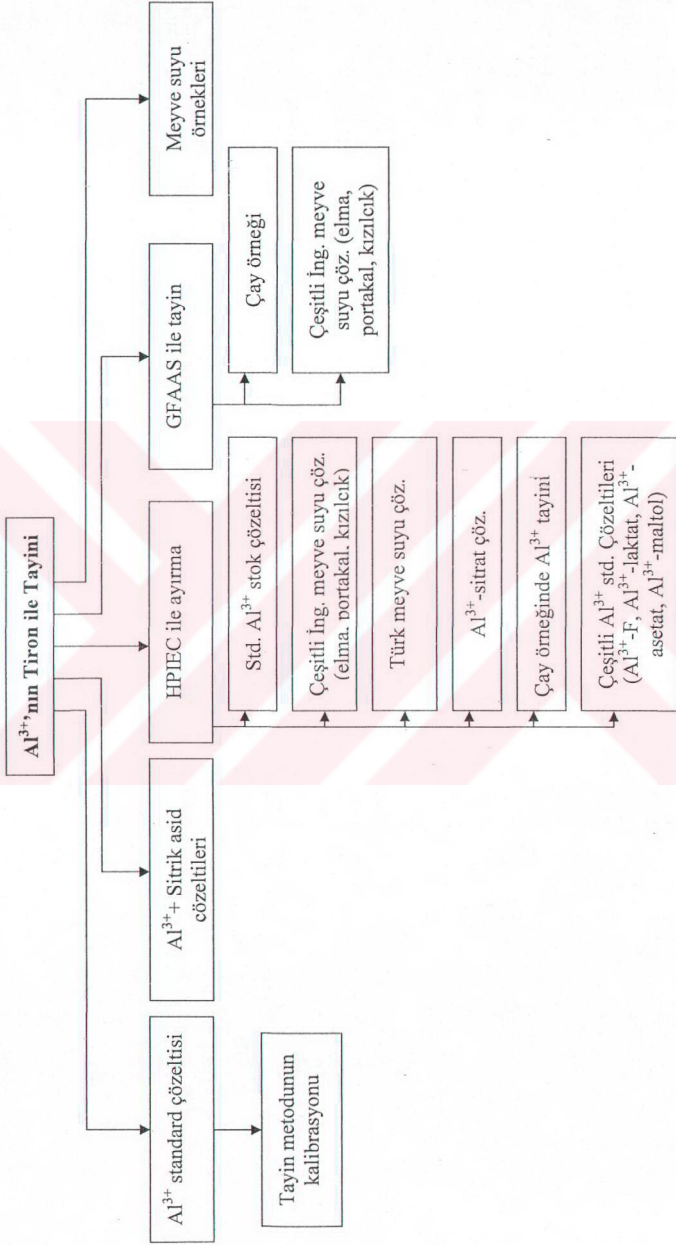
500 µl tiron belirteci

50 µl örnek çözelti

450 µl destile su



Kuartz küvete nakledilen

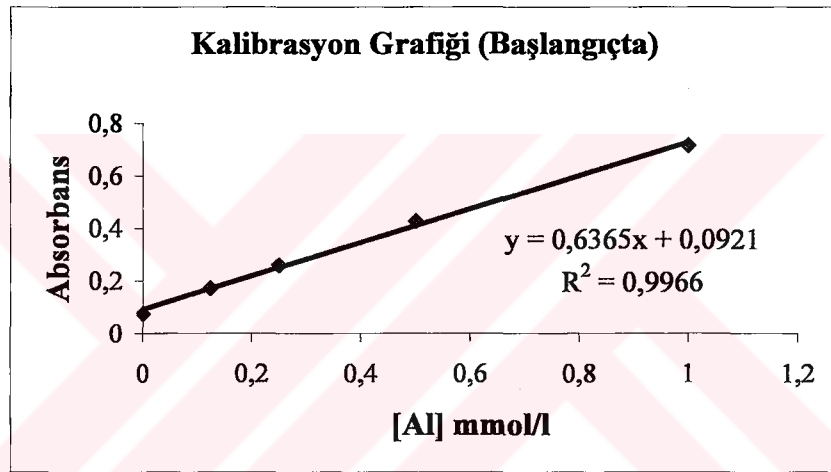


Şekil 4.24 Al³⁺'ün tiron belirteci ile spektrofotometrik tayini akım şeması

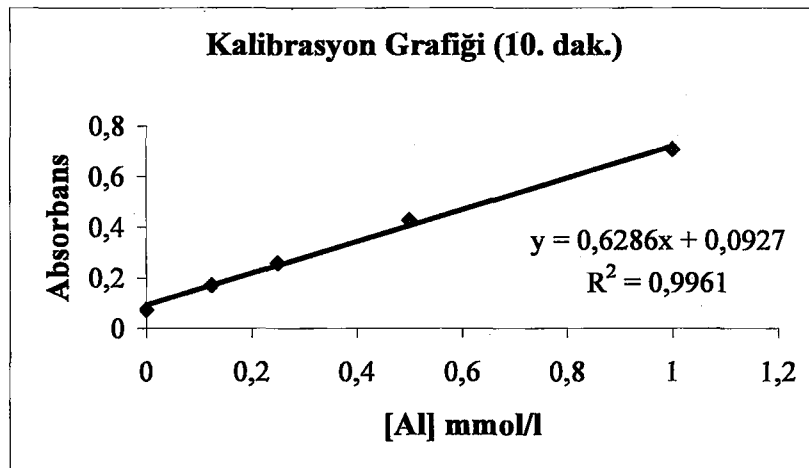
4.2.2.1 Standart Al³⁺ Çözeltisinde Spektrofotometrik Tayin

Tiron belirteci ile uygulanacak yöntemin uyumunu incelemek ve metodun kalibrasyonu amacıyla bir seri Al³⁺ standart çözeltileri hazırlandı ve spektrofotometrik tayinleri yapıldı.

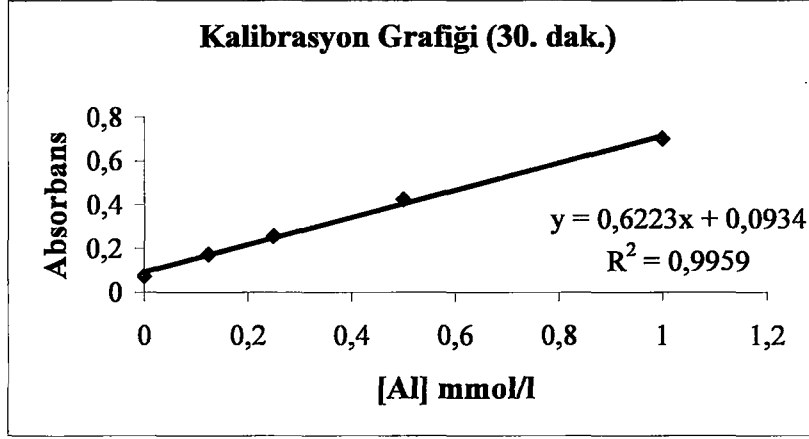
- Değişen konsantrasyonlarda ([Al]= 0-1 mmol/l) alüminyum standard çözeltisinin Tiron (4,5-dihidroksi-1,3-benzendisülfonik asid, disodyum monohidrat tuzu) kompleks oluşturucu ajan ile karışım örneklerinin 0, 10, 30 dakika ve 24 saat sonlarında spektrofotometrik olarak tayini yapıldı. Şekil 4.25 – Şekil 4.28’de metodun kalibrasyonu için yapılan deney sonuçları verilmiştir.



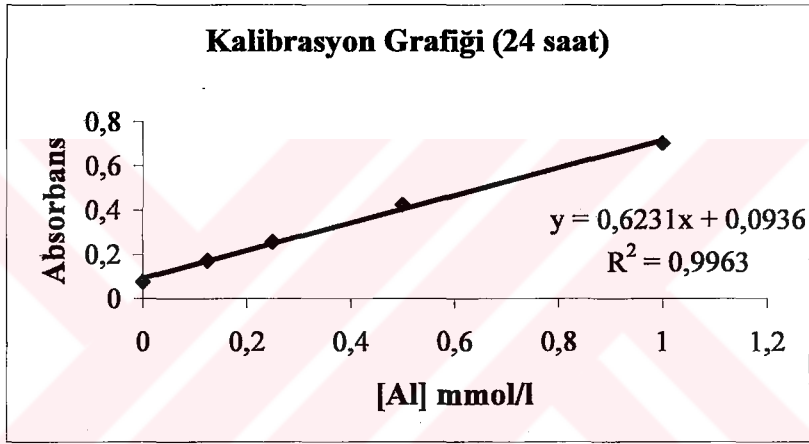
Şekil 4.25 Al'un spektrofotometrik tayini kalibrasyon grafiği (Başlangıçta)



Şekil 4.26 Al'un spektrofotometrik tayini kalibrasyon grafiği (10. dak)



Şekil 4.27 Al'un spektrofotometrik tayini kalibrasyon grafiği (30. dak)



Şekil 4.28 Al'un spektrofotometrik tayini kalibrasyon grafiği (24 saat)

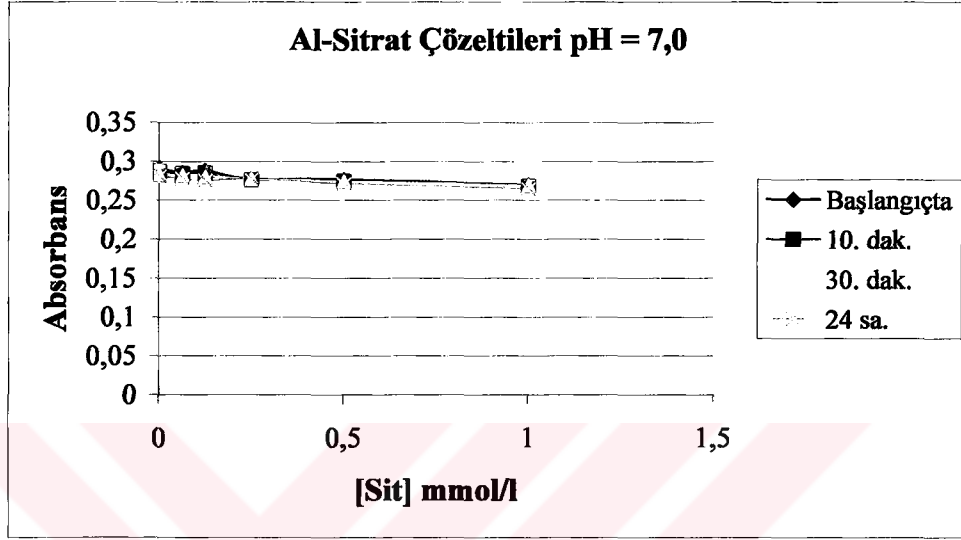
Kalibrasyon grafiklerinden görüldüğü gibi korelasyon sabitleri 0,9950 üzeridir. Bu uygulanan metot için iyi bir değerdir ve tiron belirtecinin Al tayini için uygun olabileceğini açıklamaktadır. Yapılan çalışmalarda taze çözeltiler hazırlanmış ve buna uygun olarak 0 – 5 dakika arasında elde edilen kalibrasyon grafiği kullanılmıştır.

4.2.2.2 Al³⁺ - Sitrik Asit Çözeltilerinde Al Tayini

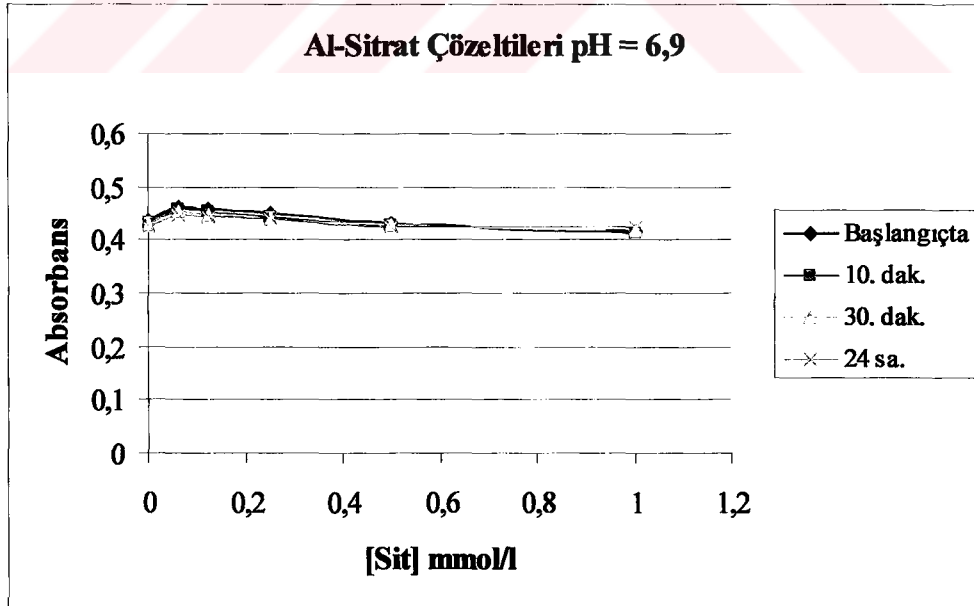
Standart Al çözeltilerinde tiron belirtecinin uygunluğu test edildikten sonra metodun sentetik Al³⁺-sitrik asit çözeltilerine uygunluğu incelendi. Bu amaçla;

- Değişen konsantrasyonlarda sitrat ([Sitrat]= 0-0,0625 mmol/l) ve iki ayrı konsantrasyonda sabit tutulan alüminyum ([Al³⁺]= 0,25 mmol/l ve [Al³⁺]= 0,5 mmol/l) ile hazırlanan Al-sitrat çözeltilerinin tiron ile karışımının spektrofotometrik olarak

alüminyum tayinleri yapıldı ve Al-sitrat ile Al-tiron komplekslerinin birbirine göre bağlanma güçleri incelendi. Şekil 4.29'da $[Al^{3+}] = 0,25$ mmol/l olan Al-sitrat çözeltilerinin 0, 10, 30 dakika ve 24 saat sonraki çalışma grafikleri ve Şekil 4.30'da $[Al^{3+}] = 0,5$ mmol/l olan Al-sitrat çözeltilerinin 0, 10, 30 dakika ve 24 saat sonraki çalışma grafikleri verilmiştir.



Şekil 4.29 Al-sitrat ($[Al^{3+}] = 0,25$ mmol/l) çözeltileri spektrofotometrik tayini



Şekil 4.30 Al-sitrat ($[Al^{3+}] = 0,5$ mmol/l) çözeltileri spektrofotometrik tayini

Grafiklerde Al-tiron tayininde sitrik asit varlığının belirgin bir etkisinin olmadığı, zamanın da bu durumu etkilemediği ve Al-tiron kompleksinin daha kuvvetli olduğu görülmektedir.

4.2.2.3 HPIEC ile Ayırma ve Al³⁺ Tayini

Çalışma akışı aşağıda görüldüğü gibi çeşitli sentetik ve doğal örneklerde Bölüm 2.3'te açıklanan şekilde HPIEC ile ayırma ve tiron belirteci ile Al³⁺ tayini yapıldı.

Kasyon İyon Değiştirici HPLC (yüksek performanslı sıvı kromatografisi) ile ayırma şartları aşağıda verilmiştir:

- Dionex kolon; HPIC-CS2
- Hareketli faz: 0,01 M H₂SO₄ / 0,1 M (NH₄)₂SO₄
- Akış hızı: 1,0ml/dak., Termo ayırmalı düşük basınçlı karıştırıcı pompa
- Enjeksiyon hacmi: 200 µl
- Gilson fraksiyon toplayıcıda alınan fraksiyon hacmi: 1ml
- M³⁺ iyonları ölçümü: Tiron ile reaksiyonları sonucunda, spektrofotometrik olarak
- pH 6,2: 0,3 mmol/l Tiron 3 mmol/l ammonyum asetat içinde

Örnek çözeltileri



HPIEC ile ayırma



Fraksiyonların elde edilmesi



Fraksiyon + Tiron karışımlarının elde edilmesi

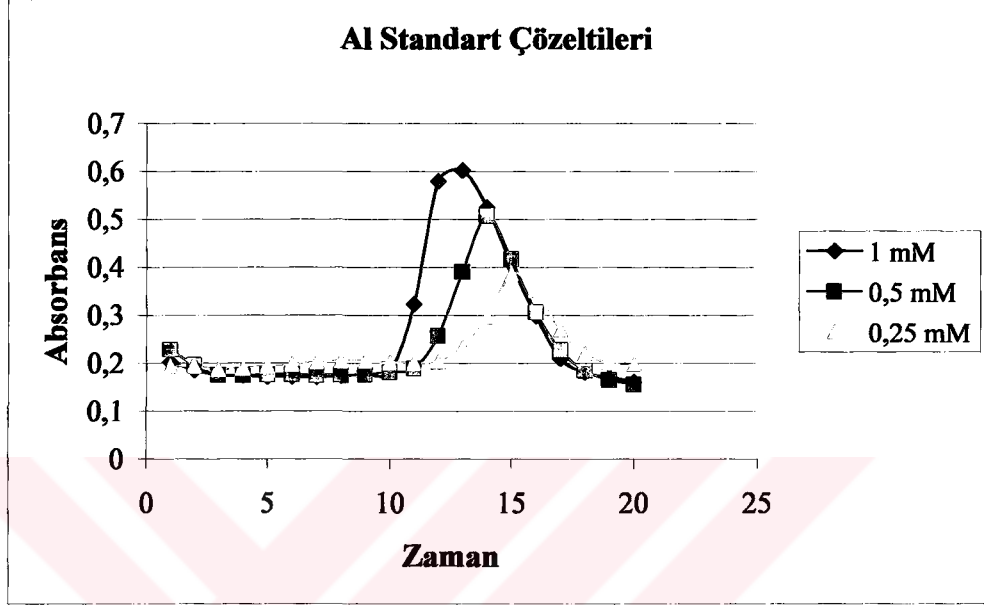


310.00 nm'de suya karşı spektrofotometrik ölçüm



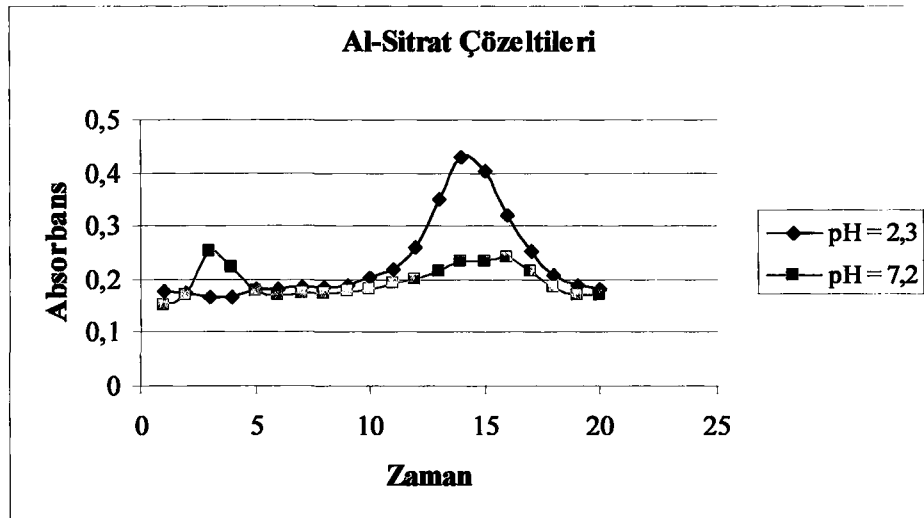
Kromatogramların elde edilmesi

- Öncelikle stok çözeltileri incelemek amacıyla 1000 ppm'lik stok çözeltiden 0,25, 0,5 ve 1 mmol/l konsantrasyonlarındaki alüminyum standart çözeltileri hazırlandı ve önceden açıklanan çalışma prensibine uygun olarak alüminyum tayini yapıldı. Şekil 4.31'de yapılan HPIEC ayırması ve tironla spektrofotometrik deteksiyon sonrası elde edilen kromatogramlar verilmiştir.



Şekil 4.31 Al standart çözelti kromatogramları

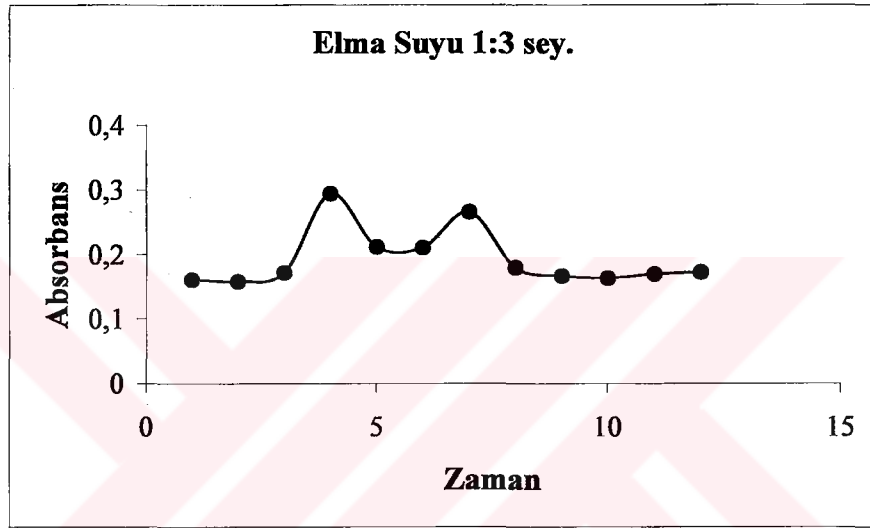
- Yapılan standart çalışmasına ek olarak standart Al-sitrat ($[Al^{3+}] = 0,5 \text{ mmol/l}$, $[Sit] = 1 \text{ mmol/l}$) karışım çözeltisinde pH 2,3 ve pH 7,2'de Al tayini yapıldı. Şekil 4.32'de çalışma sonucu elde edilen kromatogramlar verilmiştir.



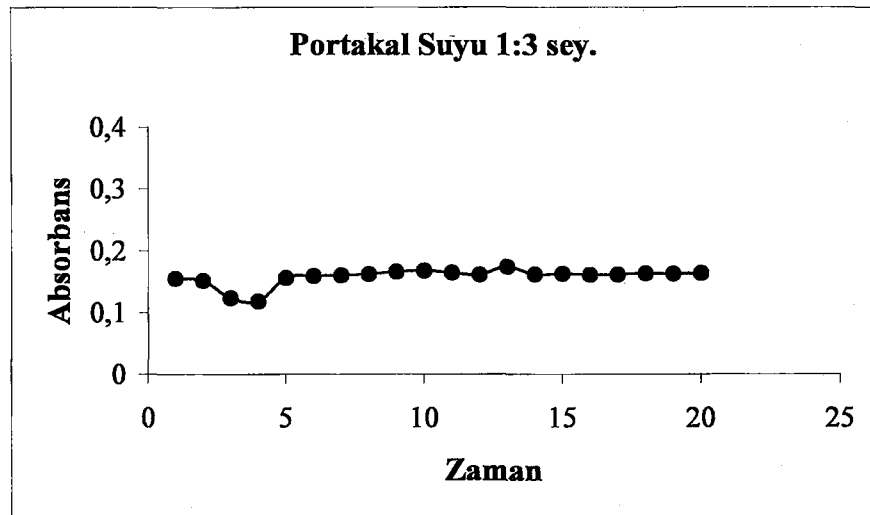
Şekil 4.31 Al-sitrat ($[Al^{3+}] = 0,5 \text{ mmol/l}$, $[Sit] = 1 \text{ mmol/l}$) çözeltileri kromatogramı

Sentetik çözeltilerle yapılan çalışmalar çözelti pH'nın denemelerde etkili olduğunu buna karşın konsantrasyonların aynı derecede etkili olmadığını göstermektedir. Sentetik çözeltilerin ardından doğal örneklerde Al tayini yapıldı. Bu amaçla;

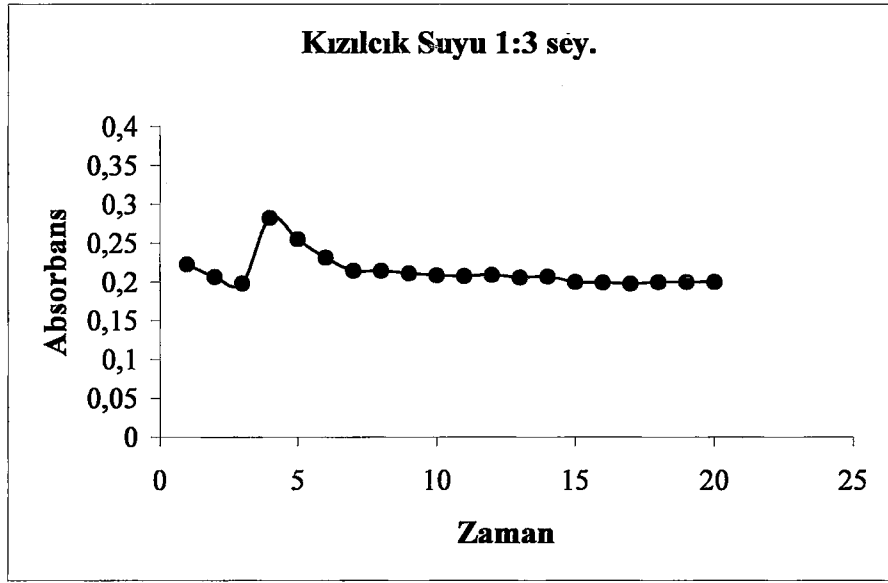
- Bir İngiliz markasının 1:3 oranında seyreltilmiş meyve sularında (elma, portakal ve kızılcık) ve bir Türk meyve suyu markasının 1:3 oranında seyreltilmiş vişne suyunda Al tayini yapıldı. Şekil 4.32 – Şekil 4.34'te İngiliz marka meyve suyu örneklerinden elde edilen kromatogramlar verilmiştir.



Şekil 4.32 İngiliz marka meyve suyu kromatogramı

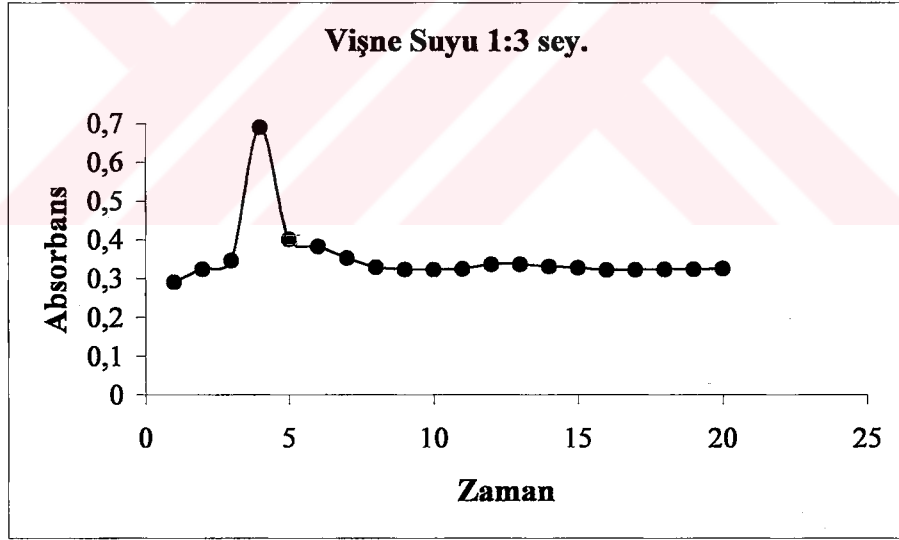


Şekil 4.33 İngiliz marka meyve suyu kromatogramı



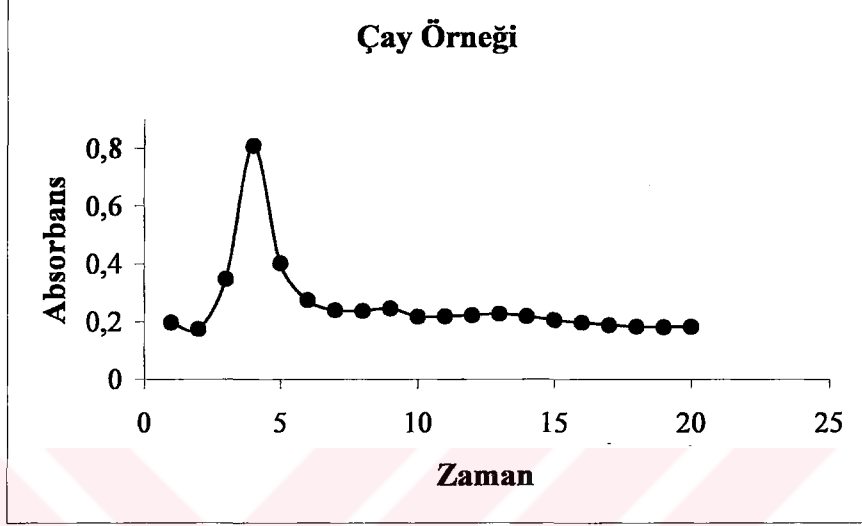
Şekil 4.34 İngiliz marka meyve suyu kromatogramı

Şekil 4.35'te Türk marka vişne suyu örneğinden elde edilen kromatogram verilmiştir.

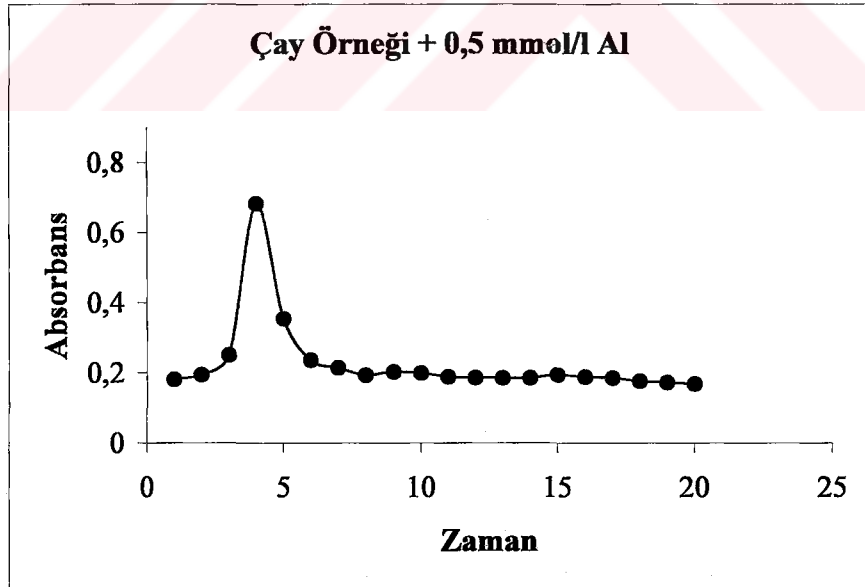


Şekil 4.35 Türk marka vişne suyu kromatogramı

- Günlük olarak tüketilen en yaygın içeceklerden biri olarak çay rneği de incelenmiştir. Şekil 4.36'da önceden açıklanan Şekilde hazırlanan çay rneği deney sonucu kromatogramı ve Şekil 4.37'de bu örneğe 0,5 mmol/l Al³⁺ eklenmiş çözelti kromatogramı verilmiştir.



Şekil 4.36 İngiliz marka çay rneği kromatogramı

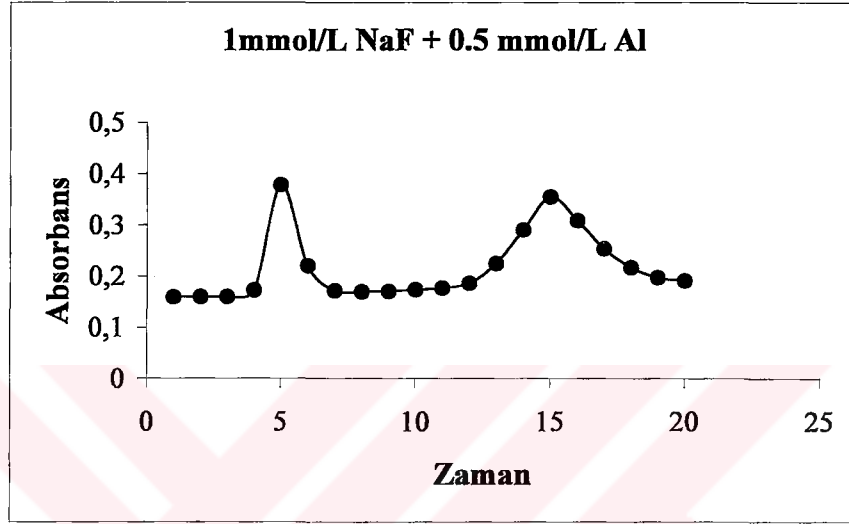


Şekil 4.37 İngiliz marka çay + 0,5 mmol/l Al rneği kromatogramı

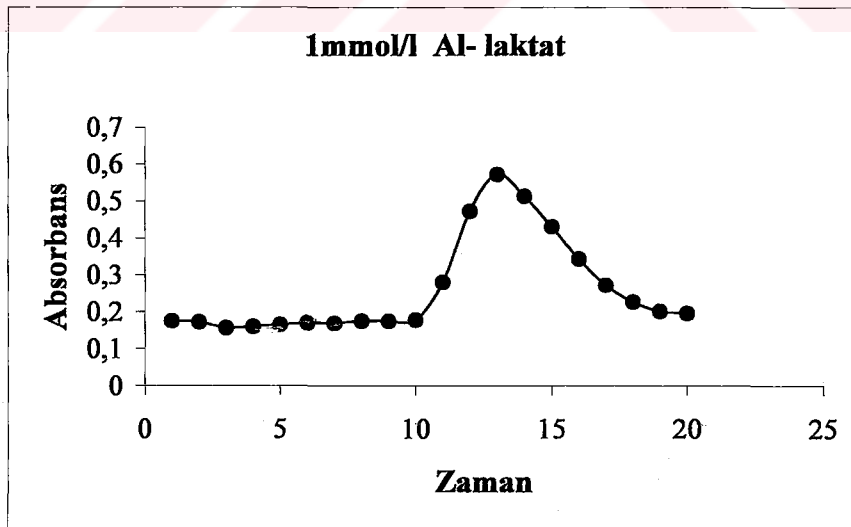
Elde edilen bu kromatogramlar stok Al çözeltilerinden elde edilenlerle karşılaştırılmış, meyve suyu ve çay rneği içeriğinde bulunması olası Al kompleksleri araştırılmıştır.

Meyve suyu ve çay örneklerinde bulunması ihtimali olan Al komplekslerinin kromatogramlarını incelemek amacıyla;

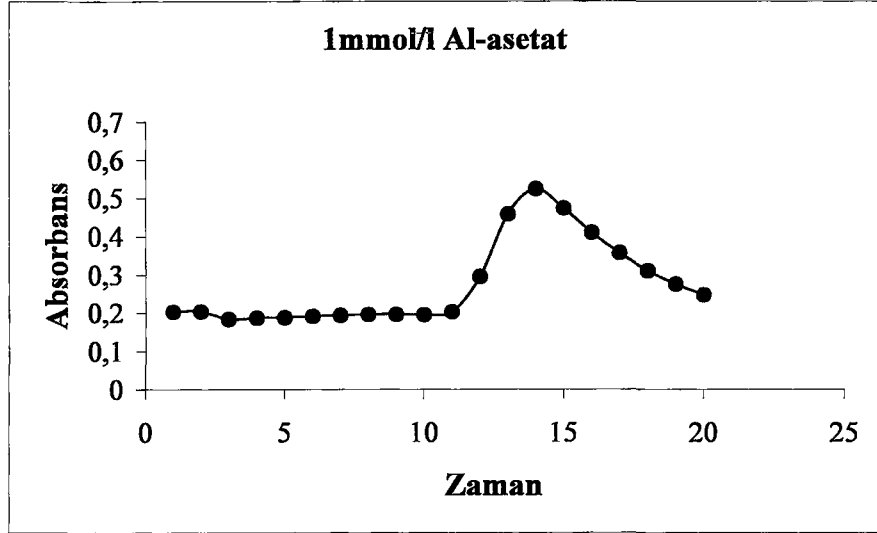
- 1 mmol/l NaF + 0,5 mmol/l Al³⁺, 1 mmol/l Al-laktat, 1mmol/l Al-asetat, 1 mmol/l Maltol + 0,5 mmol/l Al³⁺ çözeltilerinde kromatografik Al tayini yapıldı. Şekil 4.38 – Şekil 4.41’da bu çalışmalar sonucu elde edilen kromatogramlar verilmiştir.



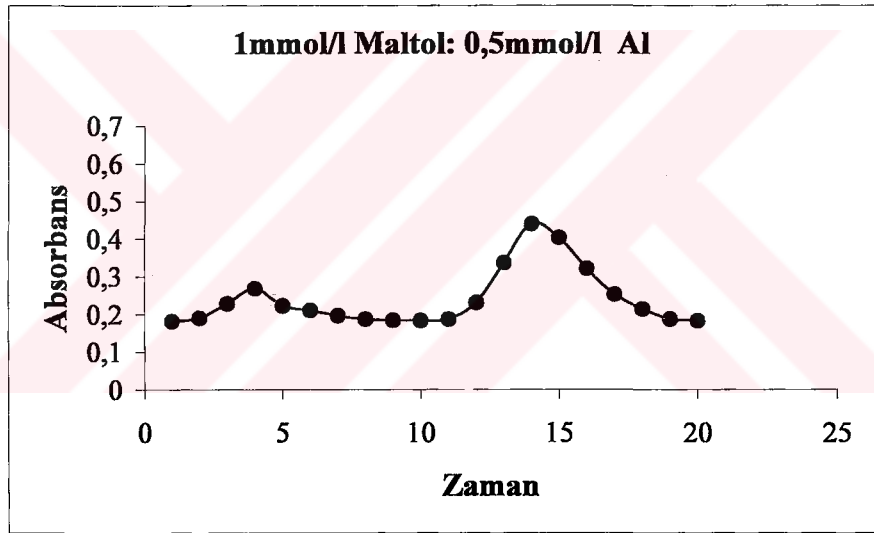
Şekil 4.38 1 mmol/l NaF + 0,5 mmol/l Al³⁺ çözeltisi kromatogramı



Şekil 4.39 1 mmol/l Al-laktat çözeltisi kromatogramı



Şekil 4.40 1 mmol/l Al-asetat çözeltisi kromatogramı



Şekil 4.41 1 mmol/l Maltol + 0,5 mmol/l Al³⁺ çözeltisinin kromatogramı

Elde edilen bu Al-tuzu örnekleri kromatogramları referans olarak kullanılmış ve meyve suyu ve çay örneklerinden elde edilen kromatogramlarla karşılaştırılmıştır. Bu da bize olası Al türleri hakkında aydınlatıcı bilgi vermiştir. Referans kromatogramların örnek çözeltiler ile karşılaştırmaları sonuçlar ve tartışma bölümünde daha detaylı açıklanmıştır.

4.2.2.4 Çeşitli Meyve Suyu Örneklerinde Al³⁺ Tayini

Bu çalışmanın HPIEC ile ayırma yönteminden farkı burada herhangi bir ayırma yapılmadan doğrudan meyve suyu örnekleri tiron belirteci ile birleştirilerek spektrofotometrik okuma yapılmıştır. Bu amaçla;

- Bir İngiliz markasının meyve sularının (elma, portakal ve kıvılcık) normal (N) ve santrifüj (S) işlemi sonrasında elde edilen çözeltilerinin ve çay demi örneğinin tiron kompleks oluşturucu ajan ile karışımlarında alüminyum tayini yapıldı. Deneysel çalışma sonuçları Çizelge 4.7’de verilmiştir. Sonuçların elde edilmesinde Şekil 4.25’te verilen kalibrasyon grafiği kullanılmıştır.

Çizelge 4.7 Meyve suyu ve çay demi örneklerinde Al³⁺ konsantrasyonları

Meyve Suyu	Ort. Abs.	[Al] mmol/l
N. Portakal	0,181 ± 0,001	0,158
S. Portakal	0,179 ± 0,0002	0,155
N. Kıvılcık	0,427 ± 0,004	0,554
S. Kıvılcık	0,434 ± 0,0002	0,566
N. Elma	0,651 ± 0,016	0,915
S. Elma	0,672 ± 0,017	0,949
Çay Demi	3,004 ± 0,002	1,128

Paralel dört okuma sonunda elde edilen sonuçlar meyve sularında en yüksek Al konsantrasyonuna sahip olanın çay demi olduğunu göstermektedir.

4.2.2.5 GFAAS ile Al³⁺ Tayini

En yaygın Al³⁺ tayin yöntemlerinden biri olan grafit fırın AAS çalışmanın bu bölümünde daha önceki yapılan çalışmalara paralel ve bir kontrol niteliğinde gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla çeşitli meyve suyu ve çay örneklerinde GFAAS ile Al tayini yapılmıştır. Alüminyumun GFAAS tayini metodu olarak Royal Liverpool Hastahanesi laboratuvarlarında kullanılan ve cihaz kullanım kılavuzunda rutin analizler için uygun görülen yöntem kullanılmıştır (Roberts, 2004).

Bu amaçla meyve sularında ve çay örneğinde Al³⁺ tayini grafit fırınlı atomik absorpsiyon kromatografisi ile yapılmıştır ve elde edilen sonuçlar Çizelge 4.8’de verilmiştir.

Çizelge 4.8 Meyve suyunda ve çay deminde GFAAS ile tayin edilen Al³⁺ konsantrasyonları

Örnek	[Al] $\mu\text{mol/l}$
Portakal Suyu	1,99 \pm 0,166
Kızılcık Suyu	0,84 \pm 0,06
Elma Suyu	9,55 \pm 0,120
Çay Demî	480 \pm 0,09

GFAAS ve HPIEC ile elde edilen sonuçların karşılaştırması Çizelge 4.9'da verilmiştir.

Çizelge 4.9 GFAAS ve HPIEC ile tayin sonucu elde edilen Al konsantrasyonları

Örnek	[Al] $\mu\text{mol/l}$	
	HPIEC	GFAAS
İng. Marka Portakal suyu	158	1,99
İng. Marka Kızılcık suyu	554	0,84
İng. Marka Elma suyu	566	9,55
İng. Marka Çay deminde	1128	480

Çizelge 4.9'de görüldüğü gibi GFAAS ile elde edilen sonuçlar HPIEC ve UV-spektrofometrik olarak elde edilenlerden oldukça düşük bir düzeydedir. Bu durumun olası sebepleri sonuçlar ve tartışma bölümünde daha ayrıntılı bir şekilde ele alınmıştır.

Meyve sularında ve çay demi gibi içeceklerde bulunması öngörülen sınır değerleri belirleyici bir referansa rastlanmamakla beraber çeşitli sağlık örgütlerinin bildirdiği içme suyunda Al konsantrasyonu limit değerleri Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Çizelge 4.10 Su kalite standardı

[Al]	EHL	WHO	EPA	EEC	S. Africa
mg / l	0,001	0,2	0,2 - 0,5	0,2	0,2
$\mu\text{mol} / l$	0,3	74,1	74,1 - 185,3	74,1	74,1

5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

5.1 Sitrik Asit (Sitrata) Tayin Sonuçları

Sitrik asitin enzimatik biyoanalizi Bölüm 2.3'te açıklanan metoda bağlı kalınarak, deneysel çalışmalar kısmında açıklanan şekilde gerçekleştirilmiştir.

5.1.1 Sitrik Asit standart Çözeltisinde Sitrata Tayini

Metodun kalibrasyonu amacıyla yapılan bu çalışmaların sonuçları Çizelge 4.2 ve kalibrasyon grafiği Şekil 4.5'te verilmiştir. Buna göre metodun incelenmesini sağlayan en önemli parametreler olarak QC (kalite kontrol çözeltisi) ve R^2 (korelasyon sabiti) ele alınırsa, bunların sonuç değerleri CORESTA grubunun (1993) elde ettiği ve R-Biopharm (2004) uygulama notunda verilen sonuçlarla uyumludur. Kalite kontrol çözeltisi konsantrasyonu literatürde belirtildiği gibi 1,9 – 2,1 mmol/l arasındadır. Korelasyon sabiti ise yaklaşık 1'dir. Bu da metodun uygulanan sisteme uyumunu açıklamaktadır.

5.1.2 Metal-Sitrik Asit Çözeltilerinde Sitrata Tayini

Sitrata tayini için kullanılan ticari kitin metal-sitrat çözeltilerindeki uyumunu ve çalışılabilir pH aralığını incelemek amacıyla yapılan çalışmalar sonucunda Şekil 4.7'de görüldüğü gibi düşük pH'ta iyi bir sonuç elde edilememiştir. Literatürde önerilen şekilde uygulanan yüksek pH'ta ise Şekil 4.8'de görüldüğü gibi daha iyi sonuçlar elde edilmiştir.

Fe, Al ve Zn metalleriyle yapılan çalışmalarda ve Şekil 4.9'da elde edilen sonuçlarda görüldüğü gibi metal iyonlarının sitrat molekülü ile bağlanıcı bir eğilimi ve sitrat liyaz enzimi çalışması üzerinde belirgin bir inhibasyonu söz konusudur. Bu bilgiler de literatürle (Venturini-Soriano ve Berthon, 2001) uyum içerisindedir.

Daha sonra farklı Al ve sitrat konsantrasyonlarında Al-sitrat çözeltileri ile yapılan çalışmalar sonucunda düşük konsantrasyonlu sitrat ve konsantrasyon oranı fazla Al çözeltilerinde reaksiyon inhibasyonunun daha fazla olduğu görülmüştür (Şekil 4.10). Bu da Al-sitrat arasındaki birleşme oranının 1:1'den fazla olduğunu açıklamaktadır.

Al-sitrat çözeltileri ile yapılan bir diğer çalışma da bu çözeltilerin taze ve yaşlı (bekletilmiş) olma durumlarında enzimatik reaksiyon üzerine etkileridir. Şekil 4.12'de açıkça görüldüğü gibi yaşlanmanın sitrat liyaz enzimi çalışması üzerine belirgin bir inhibasyonu söz konusudur. Fakat bu etki yaşlı çözeltilerde görülmemektedir. Bu bilgiler de yine açıklanan literatürle uyum içindedir. Yaşlanma etkisi Zn metali ile yapılan çalışmalarda incelenmiştir ancak

Zn'nun davranışında herhangi bir etki görülmemiştir.

Al-sitrat çözeltilerinin yaşlanma etkilerini istatistiksel değerle açıklayabilmek amacıyla 0,3 mmol/l ve 1,0 mmol/l konsantrasyonlarında sabit tutulan Al-sitrat çözeltileri ile bir seri paralel deneyler yapılmıştır. Buna göre taze çözeltiler belirgin bir inhibasyon gösterirken yaşlı çözeltilerin reaksiyona bir etkileri yoktur. Bu sitrat konsantrasyonuna bağlı değildir.

5.1.3 Sitrat ve İzositratın Karşılaştırmalı Tayini

Sitrik asit tayin metodunu değişik matrislere uygulamak amacıyla çeşitli meyve suyu örneklerinde sitrat ve izositrat konsantrasyonu incelemesi yapılmıştır. Çizelge 4.4'te İngiliz marka ve Çizelge 4.5'te Türk marka meyve suyu analiz sonuçları verilmiştir. Bu sonuçlara göre üretim ülkesi meyve suyu sitrat içeriklerinde bir fark oluşturmamakta ve bu konsantrasyonlar birbirine eşit olmaktadır. Metodun uygunluğu da literatürle (R-Biopharm, 2004) uyumludur. İzositrat metoduna uygun olarak yapılan deneysel çalışmalarda da Al metalinin enzimatik reaksiyon üzerinde bir etkisinin olmadığı görülmüştür.

5.1.4 İdrar Örneğinde Sitrat Tayini

Sitrik asit analizlerinin son örneği olarak Royal Liverpool Hastahane hastalarının bazı idrar örnekleri çalışılmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.6'da verilmiştir. Rutin çalışmalar sonucu elde bilgiler doğrultusunda 24 saat süresince toplanan idrar örneklerinde ortalama sitrat konsantrasyonu 2,5 mmol/gün olarak belirlenmiştir. Buna göre Çizelge 4.6'da elde edilen değerler literatür bilgilerle uyumludur.

5.2 Alüminyumun Spektrofotometrik Tayini

Alüminyumun spektrofotometrik tayini deneysel kısımda açıklandığı şekilde gerçekleştirilmiştir.

5.2.1 Standart Al^{3+} Çözeltisinde Spektrofotometrik Tayin

Tiron belirtecinin sisteme uygunluğunu incelemek amacıyla yapılan çalışmada Şekil 4.25 ve Şekil 4.26'da görüldüğü gibi korelasyon sabiti değerleri iyidir. Bu da sistemin uygunluğunu açıklamaktadır.

5.2.2 Al^{3+} -Sitrik Asit Çözeltilerinde Al^{3+} Tayini

Değişen konsantrasyonlarda sitrat ve iki ayrı konsantrasyonda sabit tutulan Al çözeltileri ile değişik pH ve zamanlarda yapılan deneyler sonucunda Al-tiron kompleksinin Al-sitrat

kompleksinden daha kuvvetli olduğu görülmüştür. Şekil 4.29 ve Şekil 4.30'da sonuçları verilen deneylerde konsantrasyon, yaşlanma, pH parametrelerinin etkisi olmamıştır. Elde edilen sonuçlar literatürle (Yap, 1997) uyumludur.

5.2.3 HPIEC ile Ayırma ve Al³⁺ Tayini

Bölüm 2.2.2'de açıklandığı gibi ve çalışma şartları deneysel bölümde açıklandığı şekilde Al HPIEC yöntem kullanılarak fraksiyonlandırılmış ve ardından tiron belirteci ile spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir.

Öncelikle bir referans bilgi oluşturması açısından stok Al çözelti örnekleri ve Al-sitrat çözeltileri kullanılmıştır. Daha sonra çeşitli meyve sularında HPIEC ile Al türleştirmesi yapılmıştır. Burada amaç meyve sularında varolması muhtemel Al türlerini incelemektir. Meyve suyu örneklerinde bir İngiliz ve bir Türk markası kullanılmıştır.

Meyve suyu ve çay demi örneklerinde Al türlerini incelemek ve doğal gıdalarda bunu belirleyebilmek için bazı Al tuzlarının HPIEC ile ayırması ve tiron belirteci ile tayinleri yapılarak bu sonuçlar doğal örneklerle karşılaştırılmıştır. Literatüre (Venturini-Soriano ve Berthon, 2001; Haberhauer vd. 2002) uyumlu olarak meyve sularında genellikle rastlanan tür Şekil 4.41'de görülen, Al-maltol analizinde ilk beş dakika içerisinde elde edilen tür olmuştur. Buna ek olarak Şekil 4.31'de Al-sitrat örneği çalışmasında 7,2 pH'ında ilk beş dakikada elde edilen kromatograma benzer kromatogramlar da yine meyve suyu örneklerinde rastlanmıştır. Bu da en yüksek olarak Şekil 4.35'te Türk vişne suyunda görülmüştür. Meyve suyu ve çay içeriğindeki Al konsantrasyonları Çizelge 4.7'de verilmiştir. Literatürde gıdalarda özellikle fındık, tahıl, süt ürünleri ve işleminden geçmiş peynirde Al 0,001 – 69,5 mg / 100g sınır değerlerinde bulunabilir. Bu çay deminde 2 – 8 mg / l arasında değişebilir.

Elde edilen sonuçlar göstermektedir ki çay demi en yüksek konsantrasyonda Al içermektedir. Bu bilgiler literatürle (De-song vd., 2004) uyumludur.

5.2.4 GFAAS ile Al³⁺ Tayini

Çalışmanın son bölümünde literatür bilgileri ışığında Al tayin yöntemlerinden biri olan grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektrometresi (GFAAS) yöntemi kullanılmıştır. Bu aynı zamanda bir önceki çalışmaya karşılaştırma sonuçları elde etmek amacıyla yapılmıştır. Yapılan GFAAS analiz sonuçları Çizelge 4.8'de verilmiştir. Karşılaştırma olarak özetlenen sonuçlar ise Çizelge 4.9'da görülmektedir.

Elde edilen sonuçlar beklenmedik oranda birbirinden farklılık göstermiştir. Burada görüldüğü

gibi GFAAS sonuçları HPIEC'ye oranla oldukça düşüktür. Bunun sebebi olarak tiron belirtecinin sadece Al değil diğer 3+ değerlikli metallere yapabileceği kompleksler olduğu savunulmaktadır. Literatürde yapılan çalışmalarda tiron Fe gibi metallerin de spektrofotometrik tayinlerinde kullanılmıştır ve edinilen sonuçlar bunu desteklemektedir. Çay deminde elde edilen yüksek konsantrasyonun çayın tüketimi esnasında seyreltilmesi suretiyle azaldığı göz önüne alınmalıdır.

Royal Liverpool Üniversite hastahanesi laboratuvarında idrar ve serum rutin analizlerinde HPIEC yöntemi kullanılmasına rağmen GFAAS ile yapılan çalışmaların daha güvenilir olduğu görülmektedir. Yapılan literatür çalışmalarında meyve suyu ve çay demi gibi içeceklerde olamsı gereken Al konsantrasyonu sınır değerlerine rastlanmamıştır. Ancak bilgi vermesi açısından Dünya Sağlık örgütlerinin ortak yayınladığı bildiriye göre içme sularında Al konsantrasyonu sınır değerleri Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Yapılan tüm çalışmalar doğrultusunda sitrat tayininde herhangi bir beklenmedik sonuçla karşılaşılmanın, Al tayininde yukarıda açıklanan bir gelişme olmuştur. Bu da bize ileride yapılabilecek çalışmalar konusunda ışık tutmaktadır. İleride yapılabilecek çalışmalara da öncelikle tiron belirteci ile yapılan analizlerde diğer metallerin girişim etkilerinin giderilmesi sağlanmalıdır. Bu şekilde farklı yöntemlerle kıyaslama aşamasında daha yakın sonuçlar elde edilebilir.

KAYNAKLAR

Alfrey, A.C., LeGrendre, G.R. ve Kaehny, W.D., (1976), "The Dialysis Encephalopathy Syndrome. Possible Aluminum Intoxication", N. Engl. J. Med., 294(4): 184-188.

Alfrey, A.C., (1994), Life Chem. Rep., 11: 197.

Alltech Application Note #A0008, (1998), Determination of Aluminyum by Ion Chromatography.

Altmann, P., Al-Salihi, F., Butter, K., Cutler, P., Blair, J., Leeming, R., Cunningham, J. ve Marsh, F., (1987), "Serum Aluminum Levels and Erythrocyte Dihydropteridine Reductase Activity in Patients on Hemodialysis", N. Engl. J. Med., 317: 80-84.

American Public Health Association, (1995), American Water Works Association and Water Environment Federation. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 19th Edition, American Public Health Association, Washington DC.

Andersson, M., (1988), Water Air Soil Pollut., 39: 439.

ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry), (1999), "Aluminum", (Cas # 7429-90-5, Atlanta.

Aquino, A.J.A., Tunega, D., Haberhauer, G., Gerzabek, M.H. ve Lischka, H., (2001), "A Density-Functional Investigation of Aluminium(III)-Citrate Complexes", Phys. Chem. Chem. Phys., 3: 1979-1985.

Banks, W.A., Kastin, A.J. ve Banks, M.F., (1987), "Evidence for Aluminum as the Toxin in the Glucose Intolerance of Uremia (Pseudodiabetes)", Clin. Res., 35(1): 31A.

Barnes, R.B., (1975), Chem. Geol., 15: 177-190.

Bergsma, J. ve Konings, W.N., (1983), "The Properties of Citrate Transport in Membrane Vesicles from *Bacillus Subtilis*", Eur. J. Biochem., 134: 151-156.

Bohn, H., McNeal, B. ve O'Connor, G., (1979), Soil Chemistry, Wiley Interscience, New York.

Bokovay, G., (1988), "Aluminum, In: Canadian Minerals Yearbook", Mineral Resources Branch, Department of Energy, Mines and Resources, Ottawa, p.8.1-8.26.

Bonnuci, E., Ballanti, P., Berni, S. ve Della, R., (1994), Life Chem. Rep., 11: 225.

Boorsma, A., van der Rest, M.E., Lolkema, J.S. ve Konins, W.N., (1996), "Secondary Transporters for Citrate and the Mg²⁺-citrate Complex in *Bacillus subtilis* are Homologous Proteins", J. of Bacteriol., 178: 6216-6222.

Clarke, N., Danielsson, L.G. ve Sparen, A., (1996), Pure & App'. Chem., 68: 1597.

Crappier McLachlan, D.R. ve Farnell, B.J., (1986), Aluminum in Human Health. In: Aluminum in the Canadian Environment, M. Havas and J.F.Jaworski (eds.), NRCC No. 24759, National Research Council of Canada, Ottawa.

Cronan, C.S. ve Grigal, D.F., (1995), "Use of Calcium/Aluminium Ratios as Indicators of Stress in Forest Ecosystems", Journal of Environmental Quality, 24: 209-226.

Çakın, D., (2002), Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul.

- De-song, T., Sheng-rong, S., Xun, C., Yu-yan, Z. ve Chong-yang, X., (2004), "Interaction of Catechins with Aluminum in Vitro", *Journal of Zhejiang Univ. Science*, 5(6): 668-675.
- Dinman, B.D., (1983), "Aluminium, Alloys and Compounds", Parmeggiani L ed. *Encyclopedia of Occupational Health and Safety*, Geneva, International Labour Organisation, 1: 131-135.
- Dionex Application Note 69, (1991), Determination of Aluminium in Complex Matrices Using Chelation Ion Chromatography.
- Domingo, J.L., Gomez, M., Llobet, J.M., del Castillo, D. ve Corbella, J., (1994), "Influence of Citric, Ascorbic and Lactic Acids on the Gastrointestinal Absorption of Aluminum in Uremic Rats", *Nephron*, 66: 108-109.
- Domingo, J.L., Gomez, M., Sanchez, D.J., Llobet, J.N. ve Corbella, J., (1993), "Effect of Various Dietary Constituents on Gastrointestinal Absorption of Aluminum from Drinking Water and Diet", *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, 79: 377-380.
- Dougan, W.K. ve Wilson, A.L., (1974), *Analyst*, 99:413.
- Downard, A. J., Powell, K. J. ve Money, S. D., (1997), "Speciation Determination of Aluminium (Al^{3+}) by Flow Injection Amperometry via the 1,2-Dihydroxyanthraquinon-3-sulfonik Asid Complex", *Analytica Chimica Acta*, 349:111-120.
- Drabek, O., Borukova, L., Mladkova, L. ve Kocarek, M., (2003), "Possible Method of Aluminium Speciation in Forest Soils", *Jurnal of Inorganic Biochemistry*, 97:8-15.
- Driscoll, C.T., (1980), Ph.D. Thesis, Cornell University, U.S.A., 103-113.
- Driscoll, C.T., (1984), *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 16: 267-283.
- Drücke, T. B., Jouhanneau, P., Banide, H., Lacour, B., Yiou, F. ve Raisbeck, G., (1997), "Effects of Silicon, Citrate and Fasting State on the Intestinal Absorption of Aluminium in Rats", *Clinical Science*, 92:63-67.
- Early, C., (2004), *The Biochemistry Yearbook*, Kent State University, Kent.
- Ebdon, L., Pitts, L., Cornelis, R., Crews, H., Donard, O. F. X. ve Quevauviller, Ph., (2001), *Trace Metal Speciation For Environment, Food and Health*, Royal Society of Chemistry, Cambridge.
- EHL, (1998), Environmental Health Laboratories Broad Spectrum Test, Informative Poster, Indiana.
- Elshourbagy, N.A., Near, J.C., Kmetz, P.J., Sathe, G.M., Southan, C., Stricker, J.E., Gross, M., Young, J.F., Wells, T.N.C. ve Groot, P.H.E., (1990), "Rat ATP Citate-Lyase mRNA", *The Journal of Biological Chemistry*, 265(3): 1430-1435.
- Erdemoğlu, S.B., Pyrzynska, K. ve Güçer, Ş., (2000), "Speciation of Aluminium in Tea Infusion by Ion-Exchange Resins and Flame AAS Detection", *Analytica Chimica Acta*, 411: 81-89.
- Finger, A., Khur, S. ve Engelhardt, U.H., (1992), *J. Chem.*, 10: 624.
- Flaten, A.K. ve Lund, W., (1997), "Speciation of Aluminium in Tea Infusions Studied by Size Exclusion Chromatography with Detection by Post-column Reaction", *The Science of the Total Environment*, 207:21-28.

- Friberg, L., Anderson, A., Johansson, N., Nordberg, G. ve Skerfving, S., (1990), National Swedish Environmental Protection Board, Report 3823.
- Froment, D.P., Molitoris, B.A., Buddington, B., Miller, N. ve Alfrey, A.C., (1989), "Site and Mechanism of Enhanced Gastrointestinal Absorption of Aluminum by Citrate", *Kidney Int.*, 36(6): 978-984.
- Gardner, M.J. ve Gunn, A.M., (1991), Bioavailability of Aluminum from Food and Drinking Water, Alzheimer's Disease and the Environment, Proceedings of the Conference, Lord Walton of Detchant (ed.), Royal Society of Medicine, Round Table Series No.26, p.79, London.
- Gardner, M.J. ve Gunn, A.M., (1995), "Speciation and Bioavailability of Aluminum in Drinking Water", *Chemical Speciation and Bioavailability*, 7(1): 9-16.
- Garrels, R. M., MacKenzie, F. T. ve Hunt, C., (1975), *Chemical Cycles and the Global Environment*, Wm. Kaufman, Los Altos.
- Glusker, J.P., (1980), "Citrate Conformation and Chelation: Enzymatic Implications", *Acc. Chem. Res.*, 13: 345-352.
- Goto, K., Ochi, H. ve Okura, T., (1958), *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 31: 783-784. Driscoll, C.T., (1980).
- Göttlein, A., (1998), "Determination of Free Al^{3+} in Soil Solutions by Capillary Electrophoresis", *European Journal of Soil Science*, 49: 107-117.
- Habehauer, G., Aqino, A., Tunega, D., Gerzabek, M.H. ve Lischka, H., (2002), "The Potential of Theoretical Calculations to Estimate the Stability of Al^{3+} -Citrate, Oxalate and Acetate Complexes", 17th WCSS, Symposium No.7, 14-21 August 2002, Thailand.
- Hanning, A., (1988), Technic. Lic. Thesis, The Royal Institute of Technology, Stockholm.
- Harris, W. R., (1992), "Equilibrium Model for Speciation of Aluminum in Serum", *Clin. Chem.*, 38(9):1809-1818.
- Helliwell, S., Batley, G.E., Florence, T.M. ve Lumsden, B.G., (1983), *Environ. Technol. Lett.*, 4. 141-144.
- Helmholtz, O., Hudson, L.K., Misra, C., Wefers, K., Stark, H. ve Danner, M., (1985), *Aluminum Compounds, Inorganic*, Ullman's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Al: Abrasives to aluminum oxide, 5th revised ed. Weinheim, Verlag Chemie.
- Henriksen, A., Skogheim, O.K. ve Rosseland, B.O., (1984), "Episodic Changes in pH and Aluminium-Speciation Kill Fish", *Norwegian Salmon River Vatten*, 40: 255-260.
- Hudson, L.K., Misra, C. ve Wefers, K., (1985), *Aluminum Oxide*, Ullman's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Al: Abrasives to aluminum oxide, 5th revised ed. Weinheim, Verlag Chemie.
- Hue, N.V., Craddock, G.R. ve Adams, F., (1986), "Effect of Organic Acids on Aluminium Toxicity in Subsoils", *Soil Science Society of America Journal*, 50: 28-34.
- ISO (1994), *Water Quality – Determination of Aluminium: Spectrophotometric Method Using Pyrocatechol Violet*, Geneva, International Organization for Standardization (ISO 10566:1994 (E)).

ISO (1996), Water Quality – Determination of 33 Elements by Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy, Geneva, International Organization for Standardization (ISO 11885:1996 (E)).

ISO (1997), Water Quality – Determination of Aluminium – Atomic Absorption Spectrometric Methods, Geneva, International Organization for Standardization (ISO 12020:1997 (E)).

Izco, J.M., Tormo, M., Haris, A., Tong, P.S. ve Jimenez-Flores, R., (2003), “Optimization and Validation of a Rapid Method to Determine Citrate and Inorganic Phosphate in Milk by Capillary Electrophoresis”, American Dairy Science Association, J. Dairy Sci. 86:86-95.

Jones, D.L., Prabowo, A.M. ve Kochian, L.V., (1996a), “Aluminum-Organic Acid Interactions in Acid Soils: II. Influence of Solid Phase Sorption on Organic Acid-Al Complexation and Al Rhizotoxicity”, Plant and Soil, 182: 229-237.

Jones, D.L. ve Kochian, L.V., (1996b), “Aluminum-Organic Acid Interactions in Acid Soils: I. Effect of Root-Derived Organic Acids on the Kinetics of Al Dissolution”, Plant and Soil, 182: 221-228.

Joshi-Tope, G. ve Francis, A.J., (1995), “Mechanisms of Biodegradation of Metal-Citrate Complexes by *Pseudomonas Fluorescens*”, Journal of Bacteriology, 177 (8): 1989-1993.

Kinraide, T.B., (1991), Plant Soil, 134:167.

Kochian, L.V., (1995), Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 46: 237.

Kosh, K.R., Pougnet, M.A.B, De Villiers, S. ve Monteagudo, F., (1988), “Increased Urinary Excretion of Aluminium After Drinking Tea”, Nature (London), 333:122.

Krom, B.P., Warner, J.B., Konings, W.N. ve Lolkema, J.S., (2000), “Complementary Metal Ion Specificity of the Metal-Citrate Transporters CitM and CitH of *Bacillus Subtilis*”, Journal of Bacteriology, 182: 6374-6381.

Kruck, T.P.A. ve Crapper McLachlan, D.R., (1989), Aluminum as a Pathogenic Factor in Senile dementia of The Alzheimer Type: Ion Specific Chelation. In: Alzheimer’s Disease and Disorders, K. Iqbal, H.M. Wisniewski and B. Winblad (eds.), Alan R. Liss, Inc., New York, NY. Prog. Clin. Biol. Res., 317: 1155-1167.

Lever, A.B., (1996), Coord. Chem. Rev., 149: 1.

Liang, P., Yang, L., Hu, B. ve Jiang, Z., (2003), “ICP-AES Detection of Ultratrace Aluminum(III) and Chromium(III) Ions with a Microcolumn Preconcentration System Using Dynamically Immobilized 8-Hydroquinoline on TiO₂ Nanoparticles”, Analytical Sciences, 19: 1167-1171.

Massey, R. C. ve Taylor, D., (1988), “in Aluminium in Food and the Environment”, Royal Society of Chemistry, London.

Martin, R.B., (1986), “The Chemistry of Aluminum as Related to Biology and Medicine”, Clin. Chem., 32(10): 1797-1806.

Martin, R.B., (1988), “Bioinorganic Chemistry of Aluminium”, Metal Ions in Biological Systems, Vol. 24, Aluminium and its Role in Biology, eds Siegel, S. with Siegel, A., Marcel Dekker, Inc., New York.

- Melnick, J.Z., Srere, P.A., Elshuorbagy, N.A., Moe, O.W., Preisig, P.A. ve Alpern, R.J., (1996), "Adenosine Triphosphate Citrate Lyase Mediates Hypocitraturia in Rats", *J. Clin. Invest.*, 98(10): 2381-2387.
- Mossor-Pietraszewska, T., (2001), "Effect of Aluminium on Plant Growth and Metabolism", *Acta Biochimica Polonica*, 48(3):673-686.
- Nieber, E., Gibson, B.L., Oxman, A.D. ve Kramer, J.R., (1995), "Health Effects of Aluminum: A Critical Review with Emphasis on Aluminum in Drinking Water", *Environ. Rev.*, 3: 29-81.
- Parkinson, I.S., Ward, M.K. ve Kerr, D.N.S., (1981), "Dialysis Encephalopathy, Bone Disease and Anemia: the Aluminium Intoxication Syndrome During Regular Hemodialysis", *J. Clin. Pathol.*, 34: 1285-1294.
- Pennington, J.A.T., (1988), "Aluminium Content of Foods and Diets", *Food Addit. Contam.*, 5(2): 161-232.
- Pyrzynska, K., Bulska, E., Guçer, S. ve Hulanicki, A., (1999), "Aluminium Speciation in Naturel Waters", *Chem. Anal.*, 44: 1.
- R-Biopharm, (2004), "UV-Method of Citric Acid in Foodstuffs and Other Materials", Boehringer Mannheim, Cat. No. 10139076035, Glasgow, Scotland.
- R-Biopharm, (2004), "UV-Method of D-Isocitric Acid and Its Esters in Foodstuffs and Other Materials", Boehringer Mannheim, Cat. No. 0414433, Glasgow, Scotland.
- Reiber, S., Kukull, W. ve Standish-Lee, P., (1995), "Drinking Water Aluminum and Bioavailability", *J. Am. Water Works Assoc.*, 88: 86-100.
- Roberts, E., (2004), *Water Aluminium Standard Operating Procedure, Version. 1 Ver. Date:02/03/04*, Liverpool, UK.
- Rodger, R.S.C., Muralikrishna, G.S., Halls, D.J., Henderson, J.B., Forrest, J.A., Macdougall, A.I. ve Fell, G.S., (1991), "Rantidine Supresses Aluminum Absorption in Man", *Clin. Sci.*, 80: 505-508.
- Rogeberg, E.J.S. ve Henriksen, A., (1985), *Vatten*, 41: 48-53.
- Rost-Siebert, K., (1983), "Aluminium-Toxizitat und Toleranz an Keimpflanzen von Fichte (*Picea abies* Karst.) und Buche (*Fagus silvatica* L.)", *Allgemeine Forstzeitschrift*, 26/27: 686-689.
- Sanz-Medel, A., Fairman, B. ve Wrobel, K., (1996), in *Element Speciation in Bioinorganic Chemistry*, S. Caroli, ed., John Wiley and Sons, New York, 135:223-254.
- Sargazi, M., (2003), "Biochemical and Cytological Studies of Metal-Induced Damage to Kidney Proximal Tubular Cells", PhD Thesis, The University of Liverpool, Liverpool, UK.
- Schecher, W.D. ve Driscoll, C.T., (1987), "An Evaluation of Uncertainty Associated with Aluminum Equilibrium Calculations", *Water Resour. Res.*, 23(4): 525-534.
- Schofield, G.L., Galloway, J.N. ve Hendrey, G.R., (1985), *Water Air Pollution*, 26: 403.
- Seip, H.M., Müller, L. ve Naas, A., (1984), "Aluminium Speciation: Comparison of Two Spectrophotometric Analytical Methods and Observed Concentrations in Some Acidic Aquatic Systems in Southern Norway", *Water Air Soil Pollut.*, 23: 81-95.

Silver, S., Misra, T.K. ve Laddaga, R.A., (1989), Bacterial Resistance to Toxic Heavy Metals, In T.J. Beveridge and R.J. Doyle (ed.), Metal Ions and Bacteria, John Wiley & Sons, Inc., New York.

Slanina, P., Frech, W., Ekström, L. G., Lööf, L., Slorach, S. ve Cedergren, A., (1986), "Dietary Citric Acid Enhances Absorption of Aluminum in Antiacids", Clin. Chem., 32(3): 539-541.

Smith, L.F., (1995), "Public Health Role, Aluminium and Alzheimer's Disease", Environmetrics, 6(3):277-286.

Soriano, M. V. ve Berthon, G., (2001), "Aluminum Speciation Studies in Biological Fluids Part 7. A Quantitative Investigation of Aluminum(III)-Malate Complex Equilibria and Their Potential Implications for Aluminum Metabolism and Toxicity", Journal of Inorganic Biochemistry, 85:143-154.

Starkey, B.J., (1987), "Aluminium in Renal Disease: Current Knowledge and Future Developments", Ann. Clin. Biochem., 24: 337-344.

Stumm, W. ve Morgan, J. J., (1970), "Aquatic Chemistry", Wiley Interscience, New York.

Toftgaard, N.T., (1976), "A Method for Enzymatic Determination of Citrate in Serum and Urine", Scand J Clin Lab Invest., 36(6):513-519.

Touam, M., Martinez, F., Lacour, B., Bourdon, R., Zingraff, J., Di Giulio, S. ve Drüeke, T., (1983), "Aluminium-induced, Reversible Microcytic Anemia in Chronic Renal Failure: Clinical and Experimental Studies", Clin. Nephrol., 19(6): 295-298.

Turner, R.C., (1969), Can. J. Chem., 47: 2521-2527.

Venturini-Soriano, M ve Berthon, G., (2001), "Aluminum Speciation Studies in Biological Fluids Part 7. A Quantitative Investigation of Aluminum(III)-Malate Complex Equilibria and Their Potential Implications for Aluminum Metabolism and Toxicity", Journal of Inorganic Biochemistry, 85: 143-154.

Wade, K. ve Banister, A.J., (1973), The Chemistry of Aluminium, Gallium, Indium and Thallium: Comprehensive Inorganic Chemistry, Oxford, New York, Pergamon Press, 12:993-1036.

Warner, J.B. ve Lolkema, J.S, (2002), "Growth of *Bacillus subtilis* on Citrate and Isocitrate is Supported by the Mg²⁺ - Citrate transporter CitM", Microbiology, 148: 3405-3412.

Wicstrom, T., Clarke, N., Derome, K., Derome, J. ve Rogeberg, E., (2000), "Comparison Study of Five Analytical Methods for the Fraction and Subsequent Determination of Aluminium in Natural Water Samples", J. Environ. Monit., 2: 171-181.

Wild, A. ed. (1988), Russel's Soil Conditions and Plant Growth, 11th ed. Harlow, Longman Scientific & Technical.

Wren, C.D. ve Stephenson, G.L., (1991), Environ. Pollut., 71: 105.

Yap G., (1997), PhD Thesis, The University of Liverpool, Liverpool, UK.

Yokel, R.A., (2002), "Aluminium Chelation Principles and Recent Advances", Coordination Chemistry Reviews, 228: 97-113.

Zatta, P.F., (1993), Trace Elem. Med., 10: 120.

INTERNET KAYNAKLARI

[1] www.agnet.org

[2] www.kimyaokulu.com

[3] www.orfeteknik.com.tr



ÖZGEÇMİŞ

Doğum tarihi 13.07.1979

Doğum yeri İstanbul

Lise 1993 - 1998

Ataköy Hasan Polatkan Süper Lisesi

Lisans 1998 - 2003

Yıldız Üniversitesi Fen - Edebiyat Fak.
Kimya Bölümü

Yüksek Lisans 2003 - 2005

Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Bölümü, Analitik Kimya Anabilim Dalı

Staj yaptığı yerler

2001

Abdi İbrahim İlaç Fabrikası, İstanbul, Türkiye

2002

House of Prince Sigara Fab.,Kopenhag, Danimarka

2002

Start Akü Fabrikası, İstanbul, Türkiye

2004

Royal Liverpool Üniversite Hastahanesi, Liverpool,
İngiltere

