

83369

İNSAN DOKU VE SİVİLARINDA HİDRÜRÜ
OLUŞTURULABİLEN BAZI ELEMENTLERİN
ATOMİK ABSORPSİYON SPEKTROFOTOMETRESİ
İLE ANALİZİNDE HİDRÜR OLUŞTURMALI
YÖNTEM VE ZEEMAN ETKİLİ ELEKTROTERMAL
YÖNTEMLERİN KARŞILAŞTIRILMASI

F. Nazlı DİNÇER

DOKTORA TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

1999

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**İNSAN DOKU VE SİVİLARINDA HİDRÜRÜ OLUŞTURULABİLEN BAZI
ELEMENTLERİN ATOMİK ABSORPSİYON SPEKTROFOTOMETRESİ İLE
ANALİZİNDE HİDRÜR OLUŞTURMALI YÖNTEM VE ZEEMAN ETKİLİ
ELEKTROTERMAL YÖNTEMLERİN KARŞILAŞTIRILMASI**

F. Nazlı DİNÇER

KİMYA ANABİLİM DALI

**ANKARA
1999**

Her hakkı saklıdır

Doç. Dr. Orhan Atakol danışmanlığında, F. Nazlı Dinçer tarafından hazırlanan bu çalışma 28/07/1999 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dah'nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Fitnat KÖSEOĞLU

İmza : 

Üye : Prof. Dr. Esma KILIÇ

İmza : 

Üye : Doç. Dr. Orhan ATAKOL

İmza : 

Yukarıdaki sonucu onaylarım

**Prof. Dr. Esma KILIÇ
Enstitü Müdürü**

ÖZET

Doktora Tezi

İNSAN DOKU VE SİVİLARINDA HİDRÜRÜ OLUŞTURULABİLEN BAZI ELEMENTLERİN ATOMİK ABSORPSİYON SPEKTROFOTOMETRESİ İLE ANALİZİNDE HİDRÜR OLUŞTURMALI YÖNTEM VE ZEEMAN ETKİLİ ELEKTROTERMAL YÖNTEMLERİN KARŞILAŞTIRILMASI

F. Nazlı DİNÇER

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Orhan ATAKOL

Jüri: Prof. Dr. Fitnat KÖSEOĞLU

Prof. Dr. Esma KILIÇ

Doç. Dr. Orhan ATAKOL

Çalışmada kan ve saçta kurşun konsantrasyonlarının tayininde hidrür oluşturmamı atomik absorpsiyon ve Zeeman zemin düzeltmeli elektrotermal atomik absorpsiyon yöntemleri karşılaştırıldı.

Örnekler mikrodalga yöntemiyle parçalandıktan sonra 0.72 mol/L HNO_3 içinde $(\text{NH}_4)_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, H_2O_2 , $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$, ve NaBiO_3 yükseltgenleri kullanılarak $\text{Pb}(\text{IV})$ oluşumu sağlandı. $\text{Pb}(\text{IV})$ 'ün kararlılığını artırmak için ortama kelatlaştırıcı olarak malik, laktik, tartarik ve salisilik asitler eklendi. NaBH_4 kullanılarak PbH_4 oluşturulduktan sonra, argon taşıyıcı gazı ile atomlaştırıcıya gönderilen kurşunun atomizasyonu alevde ısitılan kuvars T-hücre içinde gerçekleştirildi. Yapılan deneylerin sonucunda kurşun tayini için en uygun ortamın $(\text{NH}_4)_2\text{Cr}_2\text{O}_7 + \text{HNO}_3 +$ malik asit ortamı olduğuna karar verildi.

Bu koşullar sağlandıktan sonra kan ve saç örneklerinde kurşun konsantrasyonları HGAAS ile ölçüldü. Daha sonra aynı örneklerin kurşun konsantrasyonu ETAAS ile ölçüldü. Toplam 87 kişide ölçülen kurşun düzeylerinin istatistiksel faktörleri hesaplanarak sonuçlar irdelendi ve HGAAS'nın en güvenilir yöntem olarak kabul edilen ETAAS'ye alternatif bir yöntem olabileceği sonucuna varıldı.

1999, 98 sayfa

Anahtar Kelimeler: Kurşun, kan, doku, hidrür oluşturmamı atomik absorpsiyon, elektrotermal atomik absorpsiyon, Zeeman etkisi

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

THE COMPARATIVE STUDIES OF HYDRIDE GENERATION AND ZEEMAN EFFECT ELECTROTHERMAL ATOMIC ABSORPTION SPECTROPHOTOMETRIC TECHNIQUES FOR DETERMINATION OF SOME ELEMENTS IN HUMAN FLUIDS AND TISSUES

F. Nazlı DİNÇER

**Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry**

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Orhan ATAKOL

Jury: Prof. Dr. Fitnat KÖSEOĞLU

Prof. Dr. Esma KILIÇ

Assoc. Prof. Dr. Orhan ATAKOL

In this study, hydride generation atomic absorption and Zeeman background corrected electrothermal atomic absorption techniques was compared for determination of lead in blood and scalp hair.

Blood and hair samples were digested by microwave acid digestion and then Pb(IV) formation was realized by using $(\text{NH}_4)_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, H_2O_2 , $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$, ve NaBiO_3 in 0.72 mol/L HNO_3 . To increase the stability of Pb(IV) different chelating agents were added. Malic acid was a more suitable chelating agent than lactic, tartaric and salicyclic acids. After PbH_4 was formed by NaBH_4 was swept with argon into the heated quartz tube for atomization. $(\text{NH}_4)_2\text{Cr}_2\text{O}_7 + \text{HNO}_3 + \text{malic acid}$ medium was chosen as the most suitable medium.

After these conditions were fullfilled, Pb levels of the samples were measured first by hydride generation atomic absorption and then by Zeeman background corrected electrothermal atomic absorption techniques. Statistical factors of the Pb levels from 87 persons were evaluated and consequently it was decided that HGAAS could well be an alternative to the ETAAS method which is known as the most reliable.

1999, 98 pages

Key Words: Lead, blood, tissue, hydride generation atomic absorption, electrothermal atomic absorption, Zeeman effect

ÖNSÖZ

Bu çalışmada yapılan deneylerin tamamı Ankara Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi (BITAUM) Atomik Absorpsiyon Ünitesi Laboratuarlarında gerçekleştirilmiştir. Çalışma, Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından 97-25-00-06 No'lu Doktora Tezi Projesi ile desteklenmiştir.

TEŞEKKÜR

Doktora çalışmam sırasında en başından itibaren desteğini gördüğüm, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım değerli hocam Sayın Doç. Dr. Orhan Atakol'a öncelikle teşekkür etmek isterim.

Çalışmalarım sırasında benden destek ve yardımcılarını esirgemeyen başta Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Analitik Kimya Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Esma Kılıç olmak üzere Analitik Kimya Anabilim Dalı'nın tüm elemanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Deneysel çalışmalarımı yaptığım Ankara Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezinde'ki çalışma arkadaşım Tekniker Hanım Doğan ve Teknisyen Seda Demirel'e özverili çalışmaları nedeniyle içten teşekkür ederim.

Çalışmalarımda kullandığım örneklerin temininde bana yardımcı olan sevgili kardeşim Ankara Numune Hastanesi Doktorlarından Doç. Dr. Süleyman L. Dinçer'e teşekkür ederim.

Ayrıca çalışmalarım sırasında gösterdiği sabır ve desteğini unutamayacağım sevgili annem S. Saide Dinçer'e ve tezimin yazımı sırasında yardımcılarını esirgemeyen sevgili kuzenim Mustafa Göksu'ya da çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xiii
RESİMLER DİZİNİ.....	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	4
2.1. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi.....	4
2.1.1. Işık kaynakları.....	4
2.1.1.1. Oyuk katot lambaları	4
2.1.1.2. Buhar boşalım lambaları.....	5
2.1.1.3. Elektrotsuz boşalım lambaları.....	5
2.1.2. Atomlaştırıcılar.....	5
2.1.2.1. Alev.....	5
2.1.2.2. Elektrotermal atomlaştırıcılar.....	6
2.1.2.3. Soğuk buhar yöntemi.....	7
2.1.2. 4. Hidrür teknigi.....	7
2.1.3. Monokromatör	12
2.1.4. Alıcı ve kaydediciler	12
2.1.5. Atomik absorpsiyonda karşılaşılan girişimler	13
2.1.6. Zemin düzeltme yöntemleri	13
2.1.6.1. Zeeman etkisi ile zemin düzeltme	13
2.1.6.2. Diğer zemin düzeltme yöntemleri	16
2.2. Eser Elementlerin Önemi.....	17
2.3. Kurşun Toksisitesi ve İnsan Vücutuna Etkileri	21
2.4. Biyolojik Örneklerde Kurşun Tayin Yöntemleri.....	28

2.5. AAS'de Kurşun Tayini ile İlgili Genel Literatür Bilgileri.....	29
2.5.1. Biyolojik örneklerde kurşun tayininde AAS uygulamaları ...	32
2.5.1.1. FAAS uygulamaları.....	32
2.5.1.2. ETAAS uygulamaları.....	33
2.6. HGAAS ile Kurşun Tayini.....	34
2.6.1. Kurşun hidrürün atomizasyon mekanizması	38
2.6.2. Kurşun hidrürün oluşum mekanizması	39
2.6.3. Kurşun hidrür sistemindeki girişimler	40
2.6.3.1. Hidrürü oluşturabilen elementlerin etkisi	40
2.6.3.2. Alkali ve toprak alkali metallerin etkisi.....	42
2.6.3.3. Anyonların etkisi	42
2.6.3.4. Geçiş metallerinin etkisi	42
2.6.4. Düşük konsantrasyonlarda kurşun tayininde HGAAS'nın ETAAS'ye üstünlükleri.....	42
3. MATERİYAL VE YÖNTEM.....	44
3.1. Örneklerin Toplanması.....	44
3.2. Örneklerin Seçilmesi.....	44
3.3. Kullanılan Cihazlar.....	45
3.3.1. Atomik absorpsiyon spektrofotometresi.....	45
3.3.2. Hidrür sistemi.....	46
3.3.3. Mikrodalga örnek çözücü.....	48
3.3.4. Su saflaştırma sistemi	50
3.4. Kimyasal Maddeler.....	50
3.5. Kullanılan Çözeltiler.....	51
3.5.1 Kurşun standart çözeltileri.....	51
3.5.2. Sodyum borhidrür [sodyum tetrahidroborat (III)] çözeltisi.....	51
3.5.3. Amonyum bikromat çözeltisi.....	51
3.5.4. Sodyum bizmutat çözeltisi.....	52
3.5.5. Amonyum persülfat çözeltisi.....	52
3.5.6. Hidrojen peroksit çözeltisi.....	52
3.5.7. Malik asit çözeltileri.....	52

3.5.8. Tartarik asit çözeltileri.....	52
3.5.9. Salisilik asit çözeltileri.....	53
3.5.10. Laktik asit çözeltileri.....	53
3.6. Cam ve Plastik Malzemelerin Temizlenmesi.....	53
4. DENEYSEL ÇALIŞMA.....	54
4.1. Örneklerin Hazırlanması.....	54
4.1.1. Kan örneklerinin hazırlanması.....	54
4.1.2. Saç örneklerinin hazırlanması.....	54
4.2. Hidrür Sistemi ile Yapılan Çalışmalar.....	55
4.2.1. Hidrür sisteminde atomik absorpsiyon koşulları.....	55
4.2.2. Nitrik asit konsantrasyonunun seçilmesi.....	55
4.2.3. Kurşun standart çözeltileri ile yapılan denemeler.....	57
4.2.4. Sodyum borhidrür konsantrasyonunun etkisi.....	60
4.2.5. Örnek aspirasyon ve reaksiyon sürelerinin etkisi.....	62
4.2.6. Kelatlaştırıcı asitlerin etkisi.....	67
4.3. ETAAS ile Yapılan Çalışmalar.....	69
4.3.1. ETAAS'de atomik absorpsiyon koşulları.....	70
5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	72
5.1. Kurşun Hidrür Oluşumu İçin Uygun Ortamın Seçilmesi.....	72
5.2. HGAAS ve ETAAS ile Elde Edilen Sonuçlar.....	75
5.2.1. Kan ve saç örneklerinde kurşun konsantrasyonları.....	78
5.2.2. Geri kazanma verimleri.....	81
5.2.3. Sonuçların istatistiksel değerlendirmesi.....	82
5.2.3.1. Gruplar arası ortalamaların karşılaştırılması.....	82
5.2.3.2. Yöntemlerin kesinliklerinin karşılaştırılması.....	83
5.2.3.3. İki yöntemin sonuçları arasındaki farkın önemini hesaplanması.....	84
KAYNAKLAR.....	91

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

A	Absorbans
AAS	Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi
AFS	Atomik Fluoresans Spektroskopisi
ALA-D	δ -amino Levülinik Asit Dehidrataz
APDC	Amonyum Pirolidin Ditiyokarbamat
BAL	British Anti-Lewisite
C	Konsantrasyon
DMF	N,N-dimetil Formamid
E°	Standart Elektrot Potansiyeli
EDTA	Etilendiamin Tetra Asetik Asit
E.N.	Erime Noktası
ETAAS	Elektrotermal Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi
FAAS	Alevli Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi
GC	Gaz Kromatografisi
GFAAS	Grafit Fırılı Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi
H	Magnetik Alan Şiddeti
HGAAS	Hidrür Oluşturma Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi
ICP-AES	ICP (Inductively coupled plasma)-Atomik Emisyon Spektroskopisi
K.N.	Kaynama Noktası
MIBK	Metil İzobütil Keton
MS	Kütle Spektroskopisi
MΩ	Mega Ohm
N	Örnek (veya ölçüm) Sayısı
NAA	Nötron Aktivasyon Analizi
NMR	Nükleer Magnetik Rezonans Spektroskopisi
PAN-S	1-(2-piridilazo)-2-naftol-6-sülfonik asit
s	Standart Sapma
Sbir	Birleşik Standart Sapma
T	Tesla

TCA	Trikloro Asetik Asit
TFM	Tetrafluormethaxil
UV	Ultraviyole
V	Volt
W	Watt
X _{ort}	Ortalama Değer
XFS	X-ışınları Fluoressans Spektroskopisi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Bir atomik absorpsiyon spektrofotometresinin işlem sırası	4
Şekil 2.2. Hidrür sisteminde kullanılan laboratuarda hazırlanmış bir deney düzeneği.....	10
Şekil 2.3. Zeeman olayını gösteren yarılmalar yanında: $^1P_1 \rightarrow ^1S_0$ b) $^1D_2 \rightarrow ^1P_1$ geçişleri ve bu geçişlere karşılık gelen spektrum çizgileri.....	14
Şekil 2.4. Normal Zeeman etkisi ile atomik enerji düzeylerinin ayrılması.....	14
Şekil 2.5. Işığın magnetik alan düzlemine dik olduğunda zemin girişimi yapan türlerin absorpsiyon bantları	15
Şekil 3.1. Hitachi HFS-2 hidrür oluşturma sistemi'nin işleyiş şeması.....	47
Şekil 4.1. 100 ng/ml kurşunun absorbansının $(NH_4)_2Cr_2O_7$, $NaBiO_3$, $(NH_4)_2S_2O_8$ ve H_2O_2 ortamlarında HNO_3 konsantrasyonu ile değişimi.....	56
Şekil 4.2. 0-5 mg/L kurşun içeren çözeltilerde $(NH_4)_2Cr_2O_7$, $NaBiO_3$, $(NH_4)_2S_2O_8$ ve H_2O_2 ile elde edilen absorbansların konsantrasyonla değişimi.....	57
Şekil 4.3. 0-1 mg/L kurşun içeren çözeltilerde $(NH_4)_2Cr_2O_7$, $NaBiO_3$, $(NH_4)_2S_2O_8$ ve H_2O_2 ile elde edilen absorbansların konsantrasyonla değişimi.....	58
Şekil 4.4. 0-500 ng/ml kurşun içeren çözeltilerde $(NH_4)_2Cr_2O_7$, $NaBiO_3$, $(NH_4)_2S_2O_8$ ve H_2O_2 ile elde edilen absorbansların konsantrasyonla değişimi.....	58
Şekil 4.5. 0-200 ng/ml kurşun içeren çözeltilerde $(NH_4)_2Cr_2O_7$, $NaBiO_3$, $(NH_4)_2S_2O_8$ ve H_2O_2 ile elde edilen absorbansların konsantrasyonla değişimi.....	59
Şekil 4.6. 0-100 ng/ml kurşun içeren çözeltilerde $(NH_4)_2Cr_2O_7$, $NaBiO_3$, $(NH_4)_2S_2O_8$ ve H_2O_2 ile elde edilen absorbansların konsantrasyonla değişimi.....	59

Şekil 4.7. NaBH ₄ konsantrasyonunun (NH ₄) ₂ Cr ₂ O ₇ -HNO ₃ ortamında kurşun hidrür oluşumuna etkisi.....	60
Şekil 4.8. NaBH ₄ konsantrasyonunun NaBiO ₃ -HNO ₃ ortamında kurşun hidrür oluşumuna etkisi.....	61
Şekil 4.9. NaBH ₄ konsantrasyonunun H ₂ O ₂ -HNO ₃ ortamında kurşun hidrür oluşumuna etkisi.....	61
Şekil 4.10. NaBH ₄ konsantrasyonunun (NH ₄) ₂ S ₂ O ₈ -HNO ₃ ortamında kurşun hidrür oluşumuna etkisi.....	62
Şekil 4.11. Örnek aspirasyon süresinin (NH ₄) ₂ Cr ₂ O ₇ -HNO ₃ ortamında kurşun hidrür oluşumuna etkisi.....	63
Şekil 4.12. Örnek aspirasyon süresinin NaBiO ₃ -HNO ₃ ortamında kurşun hidrür oluşumuna etkisi.....	63
Şekil 4.13. Örnek aspirasyon süresinin H ₂ O ₂ -HNO ₃ ortamında kurşun hidrür oluşumuna etkisi.....	64
Şekil 4.14. Örnek aspirasyon süresinin (NH ₄) ₂ S ₂ O ₈ -HNO ₃ ortamında kurşun hidrür oluşumuna etkisi.....	64
Şekil 4.15. Reaksiyon süresinin (NH ₄) ₂ Cr ₂ O ₇ -HNO ₃ ortamında kurşun hidrür oluşumuna etkisi.....	65
Şekil 4.16. Reaksiyon süresinin NaBiO ₃ -HNO ₃ ortamında kurşun hidrür oluşumuna etkisi.....	65
Şekil 4.17. Reaksiyon süresinin H ₂ O ₂ -HNO ₃ ortamında kurşun hidrür oluşumuna etkisi.....	66
Şekil 4.18. Reaksiyon süresinin (NH ₄) ₂ S ₂ O ₈ -HNO ₃ ortamında kurşun hidrür oluşumuna etkisi.....	66
Şekil 4.19. (NH ₄) ₂ Cr ₂ O ₇ -HNO ₃ ortamında 100ng/ml kurşunun absorpsiyonunun kelatlaştırıcı asitlerle değişimi	67
Şekil 4.20. NaBiO ₃ -HNO ₃ ortamında 100ng/ml kurşunun absorpsiyonunun kelatlaştırıcı asitlerle değişimi	68
Şekil 4.21. 100 ng/ml kurşunun absorpsiyon piki: a. % 8 malik asit ile, b. Malik asit bulunmayan ortamda	69

Şekil 4.22. a. Matriks düzenleyici ile, b, c ve d. Mikrodalgada çözülmüş örneğin direkt enjeksiyonu ile elde edilen absorpsiyon pikleri.....	70
Şekil 5.1. HGAAS ile elde edilen standart ekleme grafikleri.....	75
Şekil 5.2. HGAAS ile elde edilen standart ekleme grafikleri.....	76
Şekil 5.3. HGAAS ile elde edilen çalışma grafikleri.....	76
Şekil 5.4. ETAAS ile elde edilen standart ekleme grafikleri.....	77
Şekil 5.5. ETAAS ile elde edilen çalışma grafiği.....	77
Şekil 5.6. Bu çalışmada elde edilen kan kurşun konsantrasyonları.....	86
Şekil 5.7. Literatürden elde edilen çeşitli çalışmalar ve bu çalışmada I. grupta bulunan kan kurşun konsantrasyonları.....	88

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. Örneklerin çözülmesinde uygulanan mikrodalga yakma programı.....	54
Çizelge 4.2. HGAAS'de atomik absorpsiyon çalışma koşulları.....	56
Çizelge 4.3. ETAAS'de atomik absorpsiyon çalışma koşulları.....	70
Çizelge 4.4. Örneklerin analizinde uygulanan sıcaklık programı.....	71
Çizelge 4.5. Matriks düzenleyici kullanılarak yapılan çalışmanın sıcaklık programı.....	71
Çizelge 5.1.ETAAS ve HGAAS ile elde edilen kurşun düzeylerinin ortalamaları ve standart sapmaları.....	78
Çizelge 5.2. Ankara'da yaşayan yetişkin bireylerde kan kurşun düzeyleri.....	79
Çizelge 5.3. Ankara dışında yaşayan yetişkin bireylerde kan kurşun düzeyleri.....	80
Çizelge 5.4. Kurşuna maruz kaldığı düşünülen işçi grubunda kan kurşun düzeyleri.....	80
Çizelge 5.5. Fen Fakültesi ve Araştırma Mekezi'nde çalışan 8 araştırmaciya ait kan kurşun düzeyleri.....	81
Çizelge 5.6. Fen Fakültesi ve Araştırma Mekezi'nde çalışan 5 araştırmaciya ait saç kurşun düzeyleri.....	81
Çizelge 5.7. ETAAS ve HGAAS yöntemleri için bulunan geri kazanma verimleri.....	82

RESİMLER DİZİNİ

Resim 3.1. Hitachi Z-8200 Polarize Zeeman atomik absorpsiyon Spektrofotometresi.....	45
Resim 3.2. Hitachi HFS-2 hidrür dönüştürme sistemi.....	46
Resim 3.3. Alevle ısıtılan kuvars hücre Elektrotermal atomlaştırıcı ve SSC-300 otomatik örnekleyici	48
Resim 3.4. Milestone MLS-1200 Mega mikrodalga sistemi.....	49
Resim 3.5. MDR 1000/6 mikrodalga yüksek basınç rotoru.....	50

1. GİRİŞ

İnsan doku ve vücut sıvılarında, diğer biyolojik örneklerde bulunan eser elementlerle ilgili çalışmalar son yıllarda üzerinde en çok durulan araştırma konularından biridir. Canlı organizmasında bulunan elementlerin çoğunun fonksiyonları ve etkileri bilinmekte birlikte, doğru ve rutin çalışmalara kolaylıkla uygulanabilecek analiz yöntemlerinin geliştirilmesi ile ilgili çalışmalar hala üzerinde durulması gereken konulardan biridir.

Biyolojik örneklerde eser element tayinleri ile ilgili çalışmalar, daha çok tip, gıda ve çevre bilimcilerin çalışmaları olarak karşımıza çıkmaktadır. Analiz yöntemlerinin geliştirilmesi, iyileştirilmesi ve analitik problemlerin giderilmesi ile ilgili çalışmalar ise çok az sayıdadır. Oysa bu elementlerin çoğu biyolojik örneklerde çok düşük konsantrasyonlarda bulunmaktadır ve tayin edilebilmeleri için duyarlılığı ve seçimliliği yüksek, doğru analiz yöntemlerine ihtiyaç vardır.

Canlı organizmasında eser element tayinleri için kullanılan yöntemler FAAS (Alevli atomik absorpsiyon spektroskopisi), ETAAS (Elektrotermal atomik absorpsiyon spektroskopisi), HGAAS (Hidrür oluşturma atomik absorpsiyon spektroskopisi), ICP-AES (ICP-atomik emisyon spektroskopisi), NAA (Nötron aktivasyon analizi), AFS (Atomik fluoresans spektroskopisi , XFS (X-ışınları fluoresans spektroskopisi) gibi yöntemlerdir. Bu yöntemler arasında en yaygın kullanılanları ise AAS (Atomik absorpsiyon spektroskopisi) yöntemleridir.

AAS yöntemleri arasında uygulama kolaylığı nedeniyle en çok tercih edilen FAAS'dır. FAAS gözlenebilme sınırları mg/L seviyesinde olduğu zaman uygundur. Gözlenebilme sınırları $\mu\text{g}/\text{L}$ seviyesinde ise ETAAS tercih edilmektedir. Ancak arsenik, selenyum, antimон, bizmut, kalay, germanyum, tellür, kurşun gibi kolay buharlaşabilen elementlerin $\mu\text{g}/\text{L}$ ve daha düşük konsantrasyonlarının tayini sözkonusu olduğu zaman ETAAS'de de analitik problemlerle karşılaşılmaktadır. Çeşitli matriks düzenleyicilerle (matrix modifier) bu güçlüklerin giderilmesine çalışılmasına rağmen her zaman yeterli olamamaktadır. Bu nedenle sözkonusu elementlerin asidik ortamda sodyum borhidrür

ile uçucu hidrürlerinin oluşturulabilmesi özelliğinden yararlanılarak HGAAS tekniği geliştirilmiştir. HGAAS, FAAS ve ETAAS'ye göre atomizasyon verimini arttırması, analiz elementini uçucu bir bileşidine çevirerek matriksten ayırması nedeniyle gözlenebilme sınırlarını düşürmekte ve yüksek seçimlilik sağlamaktadır.

Organizmada çok düşük konsantrasyonlarda ve karmaşık bir matriks içinde bulundukları için biyolojik örneklerde eser element tayinlerinde, atomik absorpsiyonda karşılaşılan pek çok fiziksel, kimyasal ve spektral girişimler analizlerin gözlenebilme sınırları, duyarlılık, doğruluk ve seçimliliklerini etkilemektedir. Bu nedenle biyolojik örneklerde eser element tayinleri için doğru yöntemin seçilmesi çok önemlidir.

İnsan organizmasında çeşitli dış etkilerle biriken ve hızlı kentleşme, gelişen teknoloji ile değişen çevre koşulları nedeniyle önemi giderek artan toksik bir element olan kurşunun kan ve dokudaki tayini için de en çok kullanılan yöntem AAS'dır. Günümüzde kan ve dokuda kurşun tayininde tercih edilen AAS tekniği ETAAS'dır ve tekniğin geliştirilmesi ve analiz şartlarının iyileştirilmesi ile ilgili çalışmalar hala devam etmektedir. Uygun olmamakla birlikte FAAS'de zaman zaman kullanılmaktadır. HGAAS tekniği uygulanarak kan ve dokuda kurşun tayini ile ilgili bir çalışmaya ise literatürde rastlanamamıştır. Ancak, toprak ve pirinçte (Li vd 1990), suda (Vijan ve Wood 1976), gıda örneklerinde (Bonilla vd 1987, Madrid vd 1989, Aroza vd 1989) kurşun tayini için HGAAS uygulamaları vardır ve başarılı sonuçlar elde edildiği bildirilmektedir.

Bu çalışma, toksik bir element olan ve insan vücudunda çeşitli organ ve dokularda birikerek önemli hasarlara yol açan kurşunun kanda ve dokuda tayini için ETAAS'ye alternatif olabileceği düşüncesiyle seçimliliği daha yüksek olan HGAAS'yi kullanarak yeni bir uygulama geliştirmek amacıyla planlandı.

Çalışmada kapalı sistem mikrodalga yöntemiyle yüksek sıcaklık ve yüksek basınçta parçalanan kan ve saç örneklerinde kurşun tayini HGAAS ve Zeeman zemin

düzeltilmeli ETAAS yöntemleri ile yapıldı ve HGAAS tekniğinin ETAAS'ye alternatif bir yöntem olup olamayacağı araştırıldı.

2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi

Atomik absorpsiyon spektroskopisi, gaz fazındaki atomların UV ve görünür alan ışınlarını absorplaması temeline dayanır. En yaygın kullanım alanı olan şekli alev başlıklı atomik absorpsiyon (FAAS)'dur. Fakat 1970'lardan itibaren gelişen teknoloji ile daha hassas ölçümlere ihtiyaç duyulmuş ve grafit fırın yöntemi (GFAAS veya ETAAS) geliştirilmiştir. Bunun ardından hidrür yöntemi (HGAAS) ve soğuk buhar yöntemi geliştirilmiştir ve böylece ultraeser elementlerin pek çok örnekte tayini mümkün olmuştur (Welz 1985).

Bir atomik absorpsiyon spektrofotometresi ışık kaynağı, atomlaştırcı, monokromatör, alıcı ve kaydedici olmak üzere beş kısımdan oluşur. Şekil 2.1'de bir atomik absorpsiyon spektrofotometresinin işlem sırası verilmiştir.



Şekil 2.1. Bir atomik absorpsiyon spektrofotometresinin işlem sırası

2.1.1. Işık kaynakları

2.1.1.1. Oyuk katot lambaları

Oyuk katot lambaları atomik absorpsiyonda en çok kullanılan ışık kaynağıdır. Tungsten bir anot ve analiz elementinin metalinden yapılmış silindirik bir katottan oluşur. Elektrotlar, içinde düşük basınçta (1-2 mm Hg basıncında) neon, helyum veya argon gibi inert bir gaz bulunan bir cam tüp içerisinde yer alırlar. Katotla anot arasına düşük akım (5-50 mA), yüksek gerilim uygulandığında, içerde bulunan inert gazda bir gaz boşalımı olur ve (+) yüklü gaz iyonları oluşur ($\text{Ne} \rightarrow \text{Ne}^+ + e^-$). Oluşan bu (+) yüklü inert gaz iyonları hızla katoda doğru çekilirler ve katot metaline çarparak katot metalinden bir miktar koparırlar. Kopan bu parçacıklar analiz elementine aittir ve

elementin atomları katot önünde tozlaşırlar. Bu tozlaşmış atomlardan bir kısmı uyarılmış haldedir ve bu uyarılmış atomlar analiz elementine ait karakteristik ışımı yayarlar.

2.1.1.2. Buhar boşalım lambaları

Düşük basıçlı buhar boşalım lambaları düşük maliyeti ve yüksek ışuma şiddeti nedeniyle civa, talyum, çinko ve alkali metallerin tayininde önceleri sıkça kullanılmıştır. Ancak bu lambalar, bant genişlemesi, self absorpsiyon gibi dezavantajları nedeniyle yaygın kullanım alanı bulamamışlardır.

2.1.1.3. Elektrotsuz boşalım lambaları

Elektrotsuz boşalım lambaları yüksek ışuma kabiliyetleri ve bant genişliğini azaltmak gibi avantajları olan ve pahalı olmalarına rağmen AAS ve AFS'de kullanılabilen ışık kaynaklarıdır.

Bunların dışında alev de geçmişte bir ışık kaynağı olarak kullanılmıştır. Ayrıca döteryum lambaları, Yüksek basınçlı ksenon lambaları veya halojen lambaları gibi sürekli ışık kaynakları da kullanılabilir.

2.1.2. Atomlaştırıcılar

2.1.2.1. Alev

Alev atomik absorpsiyonda en eski ve kullanım alanı en geniş olan atomlaştırıcıdır. Alev başlıklı bir atomik absorpsiyon spektrofotometresinde atomizasyon çözelti halindeki örneğin aleve taşınması ile gerçekleşir. Örnek bir sprey (püskürtücü) çemberinin içindeki pnömatik bir sisleştirmeli tarafından alevin içine gönderilir. Analiz elementine ve şartlara bağlı olarak farklı alev sistemleri kullanılabilir. Doğal gaz/hava, doğal gaz/oksijen, hidrojen/hava, hidrojen/oksijen, hava/asetilen,

asetilen/oksijen, asetilen/diazot monoksit alevleri arasında en genel kullanılan hava/asetilen alevidir.

Alevde tayinler kolay ve çok hızlıdır. Ancak bazı dezavantajları vardır. Katı tanecikler alev sıcaklığına bağlı olarak çeşitli değişimlere uğrayabilirler. Organik maddeler yanar, inorganik maddeler diğer maddelerle veya alev gazları ile reaksiyona girerler. Katı taneciklerin erimesi veya buharlaşması sonucu birbirini takip eden reaksiyonların oluşması kaçınılmazdır. Bu da alevde meydana gelen girişimlerin en önemli sebebidir.

2.1.2.2. Elektrotermal atomlaştırmalar

Atomik absorpsiyonda en yaygın atomlaştırmacı alev olmakla birlikte özellikle düşük konsantrasyonların tayini söz konusu olduğunda yetersiz kalır. Bu amaçla 1970'li yılların başlarında grafit fırın tekniği geliştirilmiştir.

Grafit fırınlar içi boş bir grafit tüpten oluşur ve yanmayı önlemek için içinden ve dışından inert bir gaz geçirilir. Grafit tüp her iki tarafında birer kuvars pencere bulunan iki elektrot arasına yerleştirilmiştir. Örnek bir enjeksiyon deligidenden enekte edilir. Kullanılan örnek hacmi bir kaç μl mertebesindedir. Sıcaklığın programlanabilmesi amacıyla grafit küvet bir güç kaynağının bağlıdır. Örneğin enjeksiyonundan sonra ısıtma beş basamakta gerçekleşir:

- 1- Kurutma: Bu basamakta çözücü buharlaşarak uzaklaşır.
- 2- Parçalanma (Kül etme) : Bu basamakta örneğin atomlaşma sıcaklığından daha düşük bir sıcaklıkta buharlaşan moleküllerin ortamdan uzaklaşması ve böylece matriks etkisinin en aza indirilmesi sağlanır.
- 3- Atomlaşma: Bu basamakta örnekten atom buhar bulutu elde edilir. Sıcaklık gaz atomlarının bulunduğu optimum sıcaklık olarak seçilmesi gereklidir. Çok yüksek sıcaklık analiz elementinin ortamdan uzaklaşmasına, iyonlaşma ve uyarılmaya neden olur.
- 4- Temizleme: Çok yüksek sıcaklıkta küvette kalan artıklar temizlenir.

- 5- Soğutma : Bu basamak küvetin otomatik olarak soğutulması ve bir sonraki enjeksiyona hazırlanması basamağıdır.

2.1.2.3. Soğuk buhar yöntemi

Bu yöntem oda sıcaklığında buharlaşabilen civa için kullanılan bir yöntemdir. Kalay(II) klorür ve sülfürik asit ile reaksiyona sokulan civa buharları inert bir gaz yardımıyla atomlaştırıcıya taşınır. Herhangi bir ısıtma işlemine gerek olmadan çok düşük derişimlerdeki civanın AAS'de soğuk buhar yöntemi ile tayini mümkündür. Bunun için ticari olarak geliştirilen aynı zamanda HGAAS için de kullanılan pompalar kullanılabilir.

2.1.2. 4. Hidrür tekniği

Hidrojenle kovalent hidrürleri oluşturulabilen, öncelikle arsenik olmak üzere periyodik tabloda grup IV, V ve VI elementlerinin hidrürleri yüz yıldan fazla bir zamandan bu yana bilinmektedir. Gaz halindeki hidrürün reaksiyon ortamından kolayca uzaklaşabilme özelliği nedeniyle analiz elementi matriksinden tamamen ayrılmakta ve girişimlerden uzaklaşabilmektedir.

1950'lerin başında arsenik ve diğer hidrürü oluşturulabilen elementlerin kolorimetrik metodlarla tayini için bazı yöntemler geliştirilmiştir (Welz 1985). Hidrür, asit çözeltisi içinde çinko ile oluşturulmuş ve reaksiyon sonucunda ortaya çıkan gaz ürünler amonyum molibdat veya hidrazin sülfat çözeltisi içinden geçirilerek oluşan renkli kompleksin kolorimetrik tayini yapılmıştır. Bu yöntemlerin bazıları hala kullanılmaktadır.

Hidrür yöntemi atomik absorpsiyona ilk olarak Holak (1969) tarafından arsenik tayini için uygulanmıştır. Holak hidroklorik asitle asitlendirilmiş örneğe çinko ekleyerek hidrojen oluşturmuş ve arsini sıvı azot içinde tutarak toplamıştır. Reaksiyonun sonunda hafif ısıtarak azot buharları ile arsini argon hidrojen alevine taşmış ve atomik

absorpsiyon ile ölçmüştür. İlerleyen yıllarda bu konuda pek çok yayınlar yapılmasına rağmen yöntemin tam olarak kabul görmesi, uygulanması ve atomik absorpsiyon eihazının bir aksesuarı olarak pazarlanması zaman almıştır.

Hidroklorik asit ile çinko gibi bir metalin reaksiyonu ile ortaya çıkan hidrojenin arsenikle oluşturduğu hidrür atomik absorpsiyon uygulamaları bakımından hoş sürprizlere neden olmuştur. İlk uygulamalarda kullanılan reaksiyon kabı, içinde bulunan asitlendirilmiş örnek çözeltisi üzerine çinko eklemek üzere bir damlatma hunisinin monte edildiği cam kaptan ibaret açık bir sistemdir.

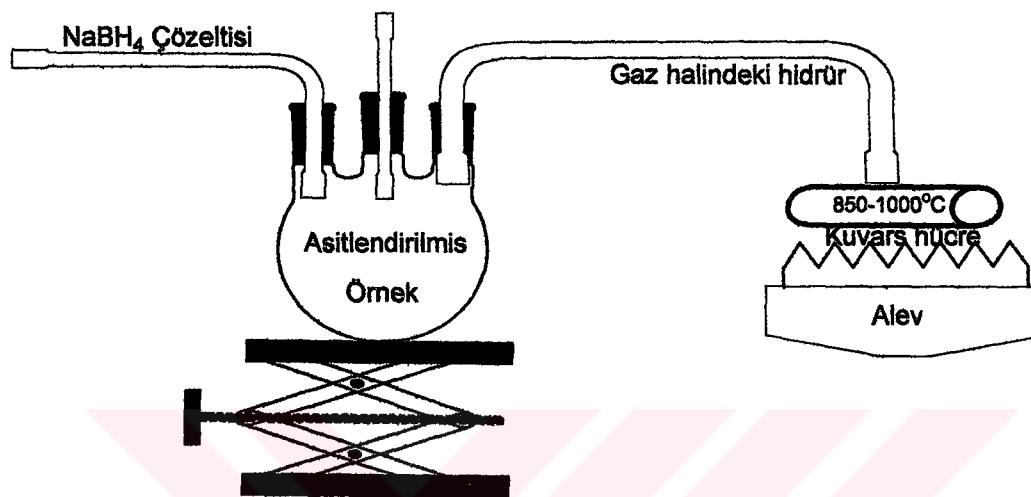
Otomatik bir sistemde Goulden ve Brooksbank (1974), indirgen olarak suda süspansiyon haline getirilmiş aluminyum tozu kullanmışlardır. Bu sistemde hidrürü oluşturabilmek için ısıtmak ve toplama kolonundan inert bir gaz ile taşımaya gerek duyulmuştur. Landsford vd (1974) indirgen olarak çinko kullanarak selenyum tayin edildiğinde büyük bir bölümü arseniğe ait olmak üzere civa ve nitratların da neden olduğu önemli girişimler olduğunu bildirmiştirlerdir. Buna rağmen 6 M hidroklorik asit ile asitlendirilmiş örneğe kalay (II) klorür eklenerek ve selenyum hidrürü taşımak için inert bir gaz kullanarak bu yöntemin kullanılabileceğini önermektedirler (Welz 1985). Pollock ve West (1972, 1973) sülfürik asit ve hidroklorik asit ile asitlendirilmiş örneğe magnezyum ve titan (III) klorür karışımı ekleyerek hidrür dönüşümünün olabildiğini bildirmiştirlerdir.

Metal/asit reaksiyonlarının bazı dezavantajları bulunmasına rağmen hidrür teknığının uygulanmasında az sayılamayacak derecede kullanılmışlardır. İndirgen olarak çinko kullanımı ile sadece antimon, arsenik ve selenyum tayin edilebilir. Ayrıca granül halindeki metal kullanıldığı için her zaman yeterli saflikta bulmak güçtür ve çalışmanın güvenilir olması için sık sık kör değerlerinin düzeltilmesine ihtiyaç vardır. McDaniel vd (1976) çinko ile hidrür oluşturma reaksiyonunda hidrürün sadece % 8'inin ayrılabildiğini, geri kalan % 90'dan fazla kısmın ise çöken çinko çamuru içinde reaksiyona girmeden kaldığını bildirmiştirlerdir. Bu yöntemin hidrür oluşturmada veriminin eser tayinler için yeterli olmadığı net olarak bilinmektedir.

İndirgen olarak sodyum borhidrürün kullanılmaya başlanması ile birlikte hidrür teknığında belirgin değişiklikler ortaya çıkmıştır. Sodyum borhidrürü kullanarak hidrür teknigi ile tayin edilebilen elementlerin sayısı artmış, antimon, arsenik, bizmut, selenyum, germanyum, tellur, kalay, kurşun gibi elementlerin yüksek seçimlilik ve duyarlılıkla tayini için yöntemler geliştirilmeye başlanmıştır (Welz 1985).

Başlangıcta sodyum borhidrür çinkoya benzer şekilde, asitlendirilmiş örnek üzerine pelletlerin parça parça eklenmesi şeklinde uygulanmıştır. Bu uygulama çinkoda olduğu gibi bazı problemlere ve kirlenmelere yol açtığı için çok kullanışlı bir yöntem değildir. Sodyum borhidrür peletleri etrafında bulunan bazik kuşak nedeniyle reaksiyon asidik bir ortamda olması gerektiği gibi gerçekleşmemiş ve kontrolü çok zor olmuştur (Welz 1985). McDaniel vd (1976) örneği 0.6 M hidroklorik asit ile asitlendirerek ve borhidrür peletlerini kullanarak yaptıkları çalışmalarında sadece hidrürün %10'unun aleve taşınabildiğini (selenyum için), hidroklorik asit konsantrasyonunu 6 M'a çıkartıp, hidrürü taşımak için azot gazı kullandıklarında ise verimin % 40-60 arttığını bildirmektedirler. Yamamoto ve Kumamaru (1976) bir çalışmalarda çinko ile pelet halinde kullanılan sodyum borhidrürü antimon, arsenik ve selenyum tayini için karşılaştırmışlar ve her iki indirgeninde kendilerine özel bazı girişimleri olduğunu, çinkonun arsenik tayini için, sodyum bor hidrürün ise diğer iki element için uygun olduğunu bildirmiştirlerdir. Sodyum borhidrürünün kullanılmaya başlanması ile birlikte yöntemin daha iyi uygulanabilmesi için reaksiyonun kontrol altında tutulması gereği ortaya çıkmış ve bunu sağlamak için de sodyum hidroksit kullanılmıştır. Zaman içerisinde yöntemi daha kullanışlı hale getirmek için çeşitli uygulamalar yapılmıştır. Daha çok borhidrür çözeltisini örneğe eklemek şeklinde uygulanmışsa da tersini yapan araştırmacılar da olmuştur. Reaksiyonun iyi olabilmesini sağlamak için magnetik karıştırıcılar veya çözeltinin içinden inert bir gazın geçirilmesi gibi uygulamalar vardır (Welz 1985). Yöntemin uygulanması için genel olarak kullanılan laboratuarda hazırlanan bir deney düzeneği şekil 2.2'de görülmektedir.

Sodyum borhidrürden başka, onun kadar iyi bir indirgen olan siyanoborhidrüründe (BH_3CN^-) AAS hidrür yönteminde kullanılabileceği bazı yazarlar tarafından önerilmiştir (Welz 1985). Nikel gibi katyonların yüksek konsantrasyonlarda ortamda bulunması ile hidrür veriminde önemli ölçüde artma olduğu ve girişimlerin büyük ölçüde yok olduğu da söylenmektedir.



Şekil 2.2. Hidrür sisteminde kullanılan laboratuarda hazırlanmış bir deney düzeneği

Hidrür yönteminin gelişmesi ile ilgili ilk çalışmalar hidrürün elde edilmesi ile ilgilidir. Elde edilen hidrürün atomlaştırıcıya ulaşılması ve yöntemin daha kullanışlı hale getirilmesi ile ilgili çalışmalar daha sonra yapılmıştır. Holak (1969) ilk deneylerinde arsini bir sıvı azot tuzağı içinde toplamış ölçüm sırasında ısıtarak buharlaştırmıştır. Bu uygulama daha sonra diğer araştırmacılar (Orheim ve Bovee 1974, Griffin vd 1975) tarafından da yüksek duyarlık ve girişimlerin önlenmesi avantajından dolayı kullanılmıştır. Örnek veya referans çözeltisinden hidrürün daha hızlı veya daha yavaş elde edilmesinden dolayı girişimlerin meydana gelmesi genel olarak doğru bir düşünücedir. Hidrürün bir sıvı azot tuzağı içinde toplanması ve ölçüm sırasında ısıtılarak buharlaştırılması bu dezavantajı önlemesi bakımından iyi bir uygulamadır. McDaniel vd (1976) radyoaktif izleyiciler kullanarak yaptıkları çalışmalarında hidrürün, sıvı azot içinde tutulması ve ölçüm sırasında ısıtılarak buharlaştırılması işlemi sırasında eğer sıvı azot içine cam boncuklar doldurulursa sadece kantitatif olarak tutulduğunu ve

atomizasyondan önce olası bozunmanın önlendiğini tespit etmişlerdir. Dondurma işleminden önce elde edilen hidrürün kurutulması gereklidir. Yüksek hidrasyon ısısı nedeniyle hidrürün parçalanmaya veya adsorbe edilmeye başlamadan kurumasını sağladığı için en uygun kurutucu kalsiyum klorürdür.

Hidrürün soğuk tuzakta tutulması ve onu izleyen ısıtma aşamasına kadar olan prosedür çok uzun zaman almaktadır. Fernandez ve Manning (1971) elde ettikleri hidrürü bir balonda toplayarak bir sistem geliştirmiştir. 15-30 saniyelik bir toplama zamanından sonra, hidrür ve hidrojen bir inert gaz akımı ile atomlaştırcıya taşınmıştır. Bu yöntemin bir dezavantajı bazı elementlerin hidrürlerinin toplama süresi içinde tamamen ve kolaylıkla dekompoze olmalarıdır.

Bu dezavantajı ortadan kaldırmak için Dalton ve Malanoski (1971) elde edilen hidrürü aleve direk olarak taşımayı önermişlerdir. Hidrürün reaksiyon kabından atomlaştırcıya taşınması için taşıyıcı bir gaza bile ihtiyaç duyulmadığını, bunun için reaksiyon sırasında ortaya çıkan hidrojenin yeterli olduğunu savunmuşlardır. Fakat daha sonraki araştırmalar hidrürün aleve taşınması için bir inert gaz tarafından sürükleşmesinin gerektiğini ve bunun hidrür verimini önemli ölçüde artırdığı yönündedir (McDaniel vd 1976).

Sonuç olarak, hidrürün direk olarak atomlaştırcıya taşınması, yani on-line yöntem hızlı ve kolay bir operasyon olması nedeniyle daha çok benimsenmiş ve bugün HGAAS pompaları AAS cihazlarının bir aksesuarı olarak bu şekilde dizayn edilmiştir.

Hidrürün atomizasyonu için başlangıçta, pek yaygın kullanımı olmayan argon (veya azot)/hidrojen alevi kullanılmıştır. Hidrürü direk aleve taşımak için inert gaz ve reaksiyon sırasında açığa çıkan hidrojenin kullanılması alev karakteristiklerinde anlamsız değişikliklere yol açmıştır.

Daha sonraki çalışmalarda geliştirilen hidrür tekniklerinde hidrürün atomizasyonu için elektrik veya alevle ısıtılan kuvars tüpler kullanılmıştır. Hidrürün direk aleve

gönderilmesine göre kuvars tüp kullanılması daha yüksek duyarlık sağlama, spektral zemin absorpsiyonunun ihmali edilebilir olması ve sinyal/gürültü oranını düzeltmesi nedeniyle daha avantajlıdır. Gaz halindeki hidrürün atomizasyonu ısıtılan kuvars tüpte nispeten kolaydır ve tüpün içindeki sıcaklığın artışı ile duyarlık da artmaka basit bir prosesle hidrürün atomizasyonu sağlanmaktadır. Atomizasyon basit termal bir ayırmada gerçekleşmekte, atomlaştırıcıya zaten zenginleşmiş olarak gelen analiz elementinin serbest atomlarına ayrışarak dekompoze olması kolayca sağlanmaktadır. Günümüzde de hidrür sisteminde atomizasyon için genel olarak düşük sıcaklıkta alevle ısıtılan kuvars T-tüpler kullanılmaktadır.

Hidrür tekniği üzerindeki çalışmalar büyük çoğunlukla pratik uygulamalara yönelme, girişimlerin elimine edilmesi ve deneysel verilerin iyileştirilmesi amacıyla yapılmıştır. İlk yapılan çalışmalarla laboratuar olanakları çerçevesinde el yapımı, araştırmacıların kendileri tarafından üretilen sistemler kullanılmıştır (Şekil 2.2). Araştırmalar daha çok atomizasyon mekanizmasına etki eden faktörler, duyarlığını artırıcı çalışmalar ve girişimler üzerinde yoğunlaşmıştır. Bunlara ek olarak deney koşulları, örnek hacmi, asit miktarı, konsantrasyon gibi pek çok parametreyi de içermektedir. Ayrıca analiz elementinin oksidasyon basamağı HGAAS'de en önemli rolü oynamaktadır (kinetik interferans). Reaksiyon kabında meydana gelebilecek kimyasal girişimler ve atomlaştırıcıda meydana gelebilecek gaz fazı girişimlerinin de rolü önemlidir.

2.1.3. Monokromatör

Monokromatörler tayin elementinin hattını diğer dalga boylardaki ışılardan ayırmak üzere kullanılan prizma veya optik ağılardır.

2.1.4. Alıcı ve kaydediciler

Alicilar, ışın sinyalini elektrik akımına dönüştüren cihazlardır. Alıcı olarak genellikle fotoçoğaltıcılar kullanılır. Fotoçoğaltıcılar, Cs-Sb veya Cs_2O dinotlardan

olusur. Bir katottan başlayarak dinotlarda çoğaltılan ışık enerjisi anotta elektrik sinyaline çevrilir. Bir kaydedici yardımıyla sonuç absorbans veya derişim olarak alınır.

2.1.5. Atomik absorpsiyonda karşılaşılan girişimler

Girişimler analizi bozucu etkilerdir. Atomik absorpsiyonda karşılaşılan girişimler dört gruba ayrılır:

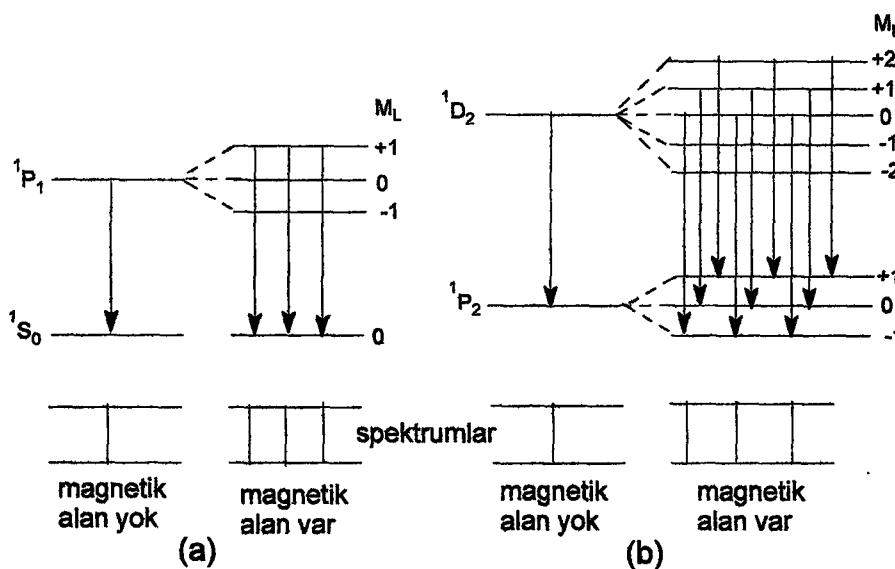
- 1- Fiziksel girişimler
- 2- Kimyasal girişimler
- 3- İyonlaşma girişimleri
- 4- Zemin Absorpsiyonu

2.1.6. Zemin düzeltme yöntemleri

Zemin girişimlerinin düzeltilmesi için çeşitli yöntemler önerilmiştir. Bunlar, çift hat yöntemi, sürekli ışık kaynağı kullanımı, Zeeman etkisi ile zemin düzeltme ve Smith-Hiefje yöntemleridir (Yıldız ve Genç 1993).

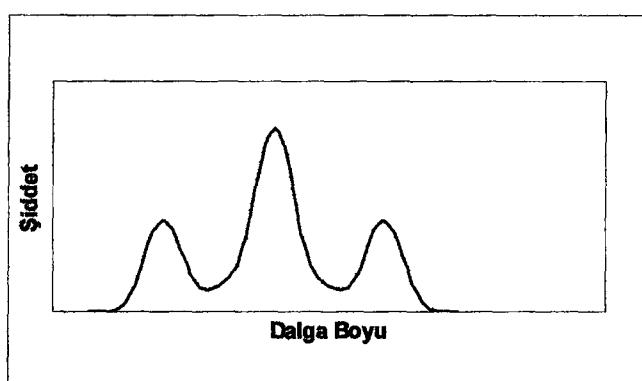
2.1.6.1. Zeeman etkisi ile zemin düzeltme

Zeeman zemin düzeltmesi Zeeaman olayı adı verilen olaydan yararlanarak istenmeyen zemin girişimlerinin bertaraf edilmesidir. Zeeman olayı Hollandalı Fizikçi (1902 Nobel Ödülü sahibi) Pieter Zeeman (1865-1943) tarafından gözlenmiştir. Magnetik alana konmuş olan bir atomda L ile gösterilen bir enerji düzeyi, M_L 'nin aldığı değerlerin sayısı kadar yani $(2L+1)$ tane alt enerji seviyesine yarıılır. Ancak $S=J=L=M_L=0$ koşulunda bu yarıılma olayı gözlenmez. Atomun terim simgesi 1S_0 ise atomun bu hali magnetik alanda yarılmaya uğramaz. Fakat 1P_1 halindeki atom üçe, 1D_2 halindeki atom beş enerji seviyesine yarıılır (Şekil 2.3). $\Delta M_L = \pm 1$ koşulunda ortaya çıkan D_1 , P_1 gibi atom hallerinde gözlenen bu olaya normal Zeeman olayı denir. $P_1 \rightarrow S_0$, $D_2 \rightarrow P_1$ atom geçişlerinde normal Zeeman Olayı etkilidir.



Şekil 2.3. Zeeman olayını gösteren yarılmalar yanında : a) $^1\text{P}_1 \rightarrow ^1\text{S}_0$ b) $^1\text{D}_2 \rightarrow ^1\text{P}_1$ geçişleri ve bu geçişlere karşılık gelen spektrum çizgileri

Ancak $S>0$ halinde normal Zeeman olayı biraz daha karışır, özellikle atom halleri $^3\text{P}_1 \rightarrow ^3\text{S}_1$ arasındaki geçişlerde daha zor açıklanabilir bir hal alır. Bu olaya da anormal Zeeman olayı adı verilir (Sarıkaya 1997). Anormal Zeeman olasılığı normal Zeeman'a göre daha azdır. Genelde $\text{P}_1 \rightarrow \text{S}_0$ geçişleri hakim olduğundan magnetik alanda bu geçiş üç enerji seviyesine ayrılır. Magnetik alan olmadan tek bir absorpsiyon bandı gözlenirken,

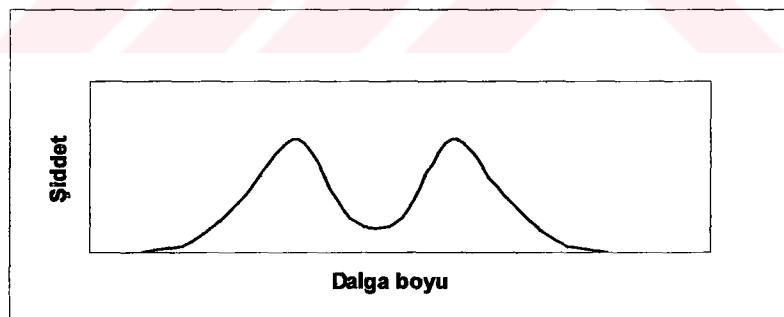


Şekil 2.4. Normal Zeeman etkisi ile atomik enerji düzeylerinin ayrılması
 σ^- bandı (solda), π bandı (ortada), σ^+ bandı (sağda)

kuvvetli bir magnetik alan varlığında üç absorpsiyon bandı görülür. Bu bantlardan bir tanesi analiz elementi ile aynı dalga boyundadır ve bu absorpsiyon bandına π bandı adı

verilir. Diğer bantlar π bandından biraz daha yüksek ve biraz daha düşük dalga boyalarında gözlenirler ve bunlara da σ bantları adı verilir (şekil 2.4).

Zeeman zemin düzeltmesi kullanıldığında grafit fırın etrafında sabit bir magnet ($H \sim 1\text{ T}$), ayrıca oyuk katot lambasının çıkışına da bir polarizör takılır. Bu polarizör, oyuk katot lambadan gelen ve her yönde titreşen ışığı titreşim düzlemleri arasında 90° fark bulunan iki polarize ışın demeti haline getirir. Polarizörün konumu ürettiği polarize ışın demetinden bir tanesinin titreşim düzleminde ışının magnetik vektörü ile dış magnetik alanın yönü aynı olacak şekildeyken, bu halde polarizörden geçen ışın analiz elementi ve girişim yapan diğer türler tarafından absorplanır ve şekil 2.4'deki gibi bir absorpsiyon bandı ortaya çıkar. Daha sonra polarizör 90° çevrilerek bu kez magnetik alan yönüne dik bir titreşim düzleminde ışık yollayabilir. Polarizör, periyodik aralıklarla önce magnetik alana paralel, sonra dik yönde polarize ışık demetlerini sırasıyla üretir. Işık magnetik alana dik bir düzlemden titreştiği zaman absorpsiyon değişir ve π bandı ortadan kaybolur, çünkü analiz elementinin atomları bu ışını absorplayamazlar. Zemin girişimine neden olan atomların dağılımı gelişigüzel olduğundan σ bantları olduğu gibi kalır (şekil 2.5).



Şekil 2.5. Işığın magnetik alan düzlemine dik olduğunda zemin girişimi yapan türlerin absorpsiyon bantları (σ bantları)

Magnetik alana paralel ve dik yönde gözlenen absorpsiyon sinyalleri arasındaki fark analiz elementinin atomlarının absorbansını verir. Zeeman zemin düzeltme yöntemi günümüzde bilinen en iyi zemin düzeltme yöntemidir.

2.1.6.2. Diğer zemin düzeltme yöntemleri

Çift hat yöntemi, absorbansın iki farklı dalga boyunda iki kez ölçülmesi ilkesine dayanır. Birinci ölçüm analizi yapılan elementin ışığı absorpladığı karakteristik dalga boyunda yapılır. Elde edilen absorbans analizi yapılan elementin atomlarının absorbansı ile zemin girişimine neden olan diğer türlerin absorbanslarının toplamına eşittir. İkinci ölçüm ise, analizi yapılan elementin atomlarının absorpsiyon yapamayacağı fakat birinci dalga boyuna çok yakın bir dalga boyunda yapılır. Bu dalga boyu bir asal gaz veya başka bir elementin oyuk katot lambasından elde edilen bir hat olabilir. İkinci dalga boyunda ölçülen absorbans, sadece zemin girişimine neden olan türlerin absorbansıdır. İki ölçüm arasındaki farkorneğe ait gerçek absorbans değerini verir.

Zemin düzeltmesi için sürekli ışık kaynağının kullanılması yönteminde, spektrofotometreye oyuk katot lambasına ek olarak, döteryum veya halojen lambası gibi geniş bir dalga boyu aralığında ışıma yapabilen bir ışık kaynağı yerleştirilir. Bu iki kaynağı yaydığı ışımalar bir ışık bölücü yardımıyla atomlaştırıcıya kadar ulaştırılır. Oyuk katot lambasının yaydığı ışık, atomlaştırıcıda bulunan analiz elementinin atomları ve zemin girişimine neden olan türler tarafından absorplanır. Sürekli ışık kaynağının yaydığı ışığın analiz elementinin atomları tarafından absorplanan kısmı, lambanın yaydığı ışığın şiddetine oranla ihmali edilebilecek kadar azdır. Böylece, sürekli ışık kaynağının yaydığı ışımının sadece zemin girişimine neden olan moleküller ve diğer türler tarafından absorplandığı kabul edilebilir. Zemin girişimlerinin düzeltilmesinde en yaygın olarak kullanılan bu yöntemde, uygun elektronik sistemlerle bu iki sinyalin farkı ölçülür. İki sinyal arasındaki fark,orneğin gerçek absorbans değerini verir.

Zemin girişimlerinin düzeltilmesi için kullanılan bir başka yöntem de Smith-Hieftje yöntemidir. Oyuk katot lambasına yüksek akım uygulandığında gaz iyonları ile uyarılan metal atomu sayısı artacağından lambanın emisyon şiddeti de artar. Yüksek akım ve bunun neden olduğu yüksek sıcaklık, katot metalinin buharlaşmasına neden olur ve katot önünde temel seviyede atomların oluşmasına yol açar. Temel seviyedeki bu atomlar, çarpışmaların artmasıyla hat genişliklerinin artmasına, yani basınç

genişlemesine neden olur. Bu atomlar ayrıca, oyuk katot lambasının yaydığı ışımı absorplayarak analiz elementinin absorplayacağı dalgaboyundaki ışığın şiddetini de azaltırlar. Oyuk katot lambasının emisyon şiddetindeki bu azalmaya özabsorpsiyon (self absorpsiyon) adı verilir. Oyuk katot lambası düşük akımda çalıştırıldığında yaydığı ışma, atomlaştırıcıda bulunan analiz elementinin atomları ve zemin girişimine neden olan moleküller ve diğer türler tarafından absorplanır. Daha sonra lamba çok kısa bir süre için ve periyodik olarak yüksek akımda çalıştırılırsa özabsorpsiyon nedeniyle, lambanın yaydığı ve analiz elementinin absorpsiyon yapabileceği dalga boyunun şiddetindeki azalma sonucu sadece zemin girişimine neden olan türler tarafından absorplanır. Böylece iki absorpsiyon sinyali arasındaki fark, analiz elementine ait atomların absorbansını verir.

2.2. Eser Elementlerin Önemi

Normal insan vücudunda 40'tan fazla element bulunur. Bunların 30 kadarının biyolojik fonksiyonları bilinmekte ve insan vücutu için esansiyel oldukları kabul edilmektedir. Bu elementlerin sınıflandırılması fonksiyonlarına ve analiz yöntemlerine göre yapılmıştır. Nispeten yüksek konsantrasyonda ($>100 \text{ mg/L}$) olan ve FAAS ve FAES gibi yöntemlerle kolaylıkla tayin edilebilen elementler major elementler olarak tanımlanmıştır. Oysa insan vücudunda bulunan elementlerin çoğu eser miktarlardadır ve tayin edilebilmeleri için ETAAS ve HGAAS gibi daha duyarlı yöntemlere ihtiyaç vardır (Delves 1981).

Major esansiyel elementler, sodyum, potasyum, kalsiyum ve magnezyum ile sınırlanabilir. Eser elementlerin ise sınıflandırılması üç genel başlık altında yapılabilir:

Esansiyel elementler: Demir, bakır, çinko, mangan, selenyum, molibden, kobalt ve vanadyum,

Esansiyel olmayan ve tedavi amaçlı kullanılan elementler: Aluminyum, altın, bizmut, galyum, lityum ve platin,

Toksik elementler: Kurşun, kadmiyum, gümüş, berilyum, nikel, arsenik, civa, antimon, tellür, seryum ve talyumdur.

Esansiyel elementler canlı vücutunda mutlaka bulunması gereken elementlerdir ve eksikliklerinde çeşitli sorunlar ortaya çıkar. Sözgelimi demir hemoglobin yapısında bulunur ve eksikliği “Demir Eksikliği Anemisi” adı verilen bir çeşit kansızlığa neden olur. Keza çinko büyümeye ve gelişmeden, yara iyileşmesinin hızlanması, serbest radikallerin oluşumunu önlemesine kadar çok sayıda fonksiyonu olan ve 300'den fazla enzimin yapısında bulunan bir elementtir. Selenyumun da serbest radikal inhibitörü olarak rol oynadığı bilinmektedir.

Bunların dışında kalan ve çeşitli dış etkilerle canlı vücutunda biriken esansiyel olmayan veya toksik elementlerin belli konsantrasyonlarının üzerinde bulunması insan sağlığı ve diğer canlılar için risk oluşturur.

Yakın geçmişe kadar insan vücutunda bulunan eser elementlerin fonksiyonları bilinmiyordu. Bunun nedeni de bu elementlerin insan doku ve vücut sıvılarında çok düşük olan konsantrasyonlarını ölçebilecek analitik yöntemlerin gelişmemiştir.

1930'lardan önce canlı vücutunda demir, sodyum, potasyum ve kalsiyum dışında anorganik element olduğu bilinmiyordu. Bakır, çinko, selenyum gibi elementlerin varlığı tespit edilememiştir. Çünkü o yıllarda analitik kimyada klasik analiz yöntemlerinden aletli analize henüz geçilmediğinden tayin sınırları oldukça yüksekti. Sözgelimi insan vücutunda çinkonun varlığı ilk olarak 1939 yılında anlaşılmıştır (Bertini vd 1994). 1947-1956 yılları arasında analitik kimyada önemli atılımlar olmuş ve klasik yöntemlerden aletli analiz yöntemlerine geçilmiştir. 1947'de ilk ticari MS, 1952'de ilk ticari GC, 1955'de ilk ticari FAAS, 1953'de ilk ticari NMR yapılmıştır (Skoog vd 1998). Bu gelişmeye birlikte analizlerde seçicilik ve tayin sınırlarının olumlu yöne doğru hızla değiştiği görülür. Örneğin insan dokularında çok az miktarlarda bulunan selenyum ve kobaltin varlığı tespit edilmiş ve daha sonra bu elementlerin

vücuttaki fonksiyonları üzerine çalışmalar yapılmıştır. Selenyumun hemoglobini oksidatif hasardan koruyan bir enzim olan glutation peroksidazın, kobaltın vitamin B₁₂'nin yapısında bulunduğu, çinkonun çok sayıda enzimin kofaktörü olarak rol oynadığı anlaşılmış ve bu elementlerin eksikliğinde pek çok fonksiyon bozukluğunun ortaya çıktığı gözlenmiştir.

Bazı elementlerin toksik etkileri de önceleri bilinmiyordu. Ortaçağın ünlü hekimi Paracelsus civa(II) bileşiklerini cilt hastalıklarında (sedef, cüssam gibi) ilaç olarak kullanmıştır (Greenwood ve Earnshaw 1994). 1926 yılına kadar civanın toksik etkileri anlaşılmamış, bu tarihte Alfred Stock adında bir kimyacı bor bileşikleri üzerine sentezler yaparken kendi vücutunda ortaya çıkan anomalilikleri fark ederek civanın tehlikelerine dikkat çekmiştir (Greenwood ve Earnshaw 1994). Ancak o yıllarda aletli analiz yöntemleri henüz gelişmemiş olduğundan insan vücutunda biriken civayı saptayabilecek bir yöntem henüz yoktu ve bu nedenle yaklaşık on yıl bu konu ile kimse ilgilenmemiştir. 1935 yılında Japonya'da Minamoto koyunda bir civa tesisi yanında bulunan bir balıkçı köyünde 50'den fazla insanın kısa aralıklarla ölmesi, sakat doğumlar ve çok sayıda düşük olayı dikkatleri bu yöreye çevirmiştir ve bu hastalığa Minamoto Sendromu adı verilmiştir. (Ana Britannica 1994). Ancak söz konusu hastalığın kaynağının civa olduğunu kesinleşmesi 1952 yılında gerçekleşmiştir. O zamana kadar insan vücutunda 30-35 mg civanın bu sonuçlara yol açabileceğini kimse düşünmemiştir. Analitik kimya, tıp ve çevre bilimcilerin katkılarıyla civa günümüzde tehlikeli ve atıkları kontrol altında tutulması gereken elementler sınıfına girmiştir.

Yine çarpıcı bir örnek olarak aluminyum ile Alzheimer Hastalığı arasındaki ilişki verilebilir. 1920'li yıllarda özellikle Japon araştırmacılar aluminyumu yüzyılın metali olarak tanımlamışlar ve kapı, pencere aksamları, mutfak eşyaları o yillardan başlayarak aluminyumdan imal edilmiştir. Metalin işlenme kolaylığı ve ucuzluğundan dolayı üçüncü dünya ülkelerinde bu durum halen devam etmektedir. Ancak 1960'lı yillardan sonra aletli analiz yöntemlerinin gelişmesi ile aluminyumun Alzheimer Hastalığı'na yol açtığı kesin bulgularla saptanmış ve aluminyum eşya üretimi kısıtlanmış, hatta bazı

alanlarda tamamen yasaklanmıştır. Bu gün bir çok ilaç ve serumda aluminyum miktarının 10 ppb'den daha yüksek olmaması zorunluluğu getirilmiştir.

Bunların dışında bir başka örnek de topraktaki azot bakterileri tarafından üretilen bir enzim olan molibden nitrogenaz ve bu enzimi aktive eden Mo(III) iyonudur (Bertini vd 1994). Enzimin aktivasyonu için gereken molibden miktarı o kadar azdır ki, toprakta bulunabilen 8-10 ppb molibden tuzları bunun için yeterlidir. Bazı topraklarda molibden eksikliği nedeniyle doğal azot döngüsü içindeki azotun toprağa fiksasyonu gerçekleşmez. Molibdenin bitkilerin büyümesindeki rolünün anlaşılmasıından sonra Mo(III) tuzları gübreleme yöntemlerinde kullanılmaya başlanmıştır.

Yukarıda sözünü edilen elementlerin tayin edilebilmesi için gelişmiş analitik yöntemlere ihtiyaç olduğu açıktır. Eser elementlerin canlılardaki denge konsantrasyonları analitik yöntemlerin gelişmesi ile yeni yeni saptanabilmektedir. Günümüzde gerek analitik kimya, gerek tıp, çevre ve gıda alanındaki bilim adamları eser elementlerin canlı organizması üzerindeki olumlu ve olumsuz etkilerini bilmektedir. Bu da son 20 yılda eser elementlerle ilgili bir çok süreli yayınlar ortaya çıkmasını ve “Biyoinorganik Kimya” adı verilen yeni bir bilim dalının doğmasını sağlamıştır.

Son yıllarda kurulan modern tekniklerle donatılmış hastane laboratuvarlarında alışlagelmiş rutin cihazların yanısıra AAS gibi analitik cihazların da bulunduğu görülmektedir. Bunun nedeni de çeşitli hastalıkların tanı ve tedavilerinde eser elementlerin önemini anlaşılmış olmasıdır.

Verilen örneklerden eser elementlerin önemi açıkça anlaşılmaktadır. İnsan organizması ve çevre sağlığı açısından eser element analizlerinin son derece sürpriz sonuçlar ortaya çıkaran ve kısa vadede yararlı sonuçlara dönüştürülebilen analizler olduğuna da dikkat çekmek gerekmektedir. Organizmada bulunan eser elementlerin bir kısmının konsantrasyonları, fonksiyonları ve analiz yöntemlerinin geliştirilmesi hala araştırmaya açık ve analitik kimyacıların ilgi göstermesi gereken konulardan biridir. Bu

elementlerden biri de bu çalışmanın özü olan kurşundur. Kurşunun insan organizmasında pek çok fonksiyon bozukluklarına yol açan bir element olduğu bilinmekle birlikte özellikle sınırlı olan konsantrasyonlarının tayini ile ilgili çalışmalar hala sürdürmektedir (Miller vd 1987, D'Haese vd 1991, Burguera vd 1997, Yen vd 1997). Bu nedenle bu çalışma planlanmış ve insan vücutundaki kurşunun tayin edilebilmesi için seçiciliği yüksek bir analiz yöntemi geliştirilmeye çalışılmıştır.

2.3. Kurşun Toksisitesi ve İnsan Vücutuna Etkileri

Kurşun, mavimsi gri renkte ağır bir metaldir. E.N. 327°C, K.N. 1744°C'dir. Asetat, nitrat tuzları suda çözündüğü halde, kurşun sülfat suda çözünmez. Organik kurşun bileşiklerinden alkil kurşun bileşikleri lipofil özellikle olup toksikolojik açıdan önemlidir. Kurşun tarihin çok eski devirlerinden beri bilinmekte ve kullanılmaktadır. M.Ö. 3000 yılında Sümerler ilk kurşun heykeli yapmışlardır. Daha sonraları kurşun oksit ve kurşun sülfür makyaj malzemesi olarak kullanılmıştır. Romalılar ise su dağıtımında kurşun borular kullanmışlar, ayrıca lezzet vermesi için şarabı kurşun kaplarda bekletmişlerdir (Vural 1996). Manahan (1984)'a göre 500 yıldan fazla dünya tarihinde rol oynayan bu büyük imparatorluğun yöneticilerinin ve aristokratlarının davranış bozuklukları ve bazı hastalıkları kullandıkları kurşun yemek ve şarap kaplarının neden olduğu kronik kurşun zehirlenmesine bağlanabilir.

Günümüzde ise, kurşun ve bileşikleri başlıca boyaya, akümülatör, seramik, porselen, vulkanize kauçuk, metal alaşımaları (matbaa dizgisi, lehim, bronz gibi), kurşun boru yapımında, vuruntuyu önlemek için benzin katkı maddesi olarak (alkil kurşun bileşikleri), plastifiyan, çocuk oyuncakları elektronik iletkenler, lastik, lehim, kabloların örtülmesinde, çatı yapımında, yiyecek muhafazalarında, böcek öldürücü ilaçların yapımında, pillerde ve mermi çekirdekleri yapımında kullanılmaktadır (Dökmeci 1994, Vural 1996).

Yakın çevrede en önemli kurşun kaynağı benzine katılan tetraetil kurşun veya tetrametil kurşundur. Benzine katılan kurşun miktarı 130 mg/L (ABD) ile 400 mg/L

(İsviçre) arasında değişmektedir. Türkiye'de süper benzine 400 mg/L, normal benzine ise 150 mg/L kurşun katılmaktadır. Benzine katılan bu bileşikler, yanma sonucu eksoz gazlarıyla havaya kurşun halojenürler, kurşun oksit, kurşun oksi karbonat şeklinde yayılırlar. Trafiğin yoğun olduğu şehir havasında kurşun miktarı $1-10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ve hatta daha yüksek konsantrasyonda olabilir. Katı ve sıvı yakıtlar da cinsine bağlı olarak, havaya kurşun verebilir. Ancak bu egzos gazlarının yanında ikinci derecede kalır.

Xintaras (1992)'a göre ise, egzos dumanından, kurşun madenlerinden ve çeşitli kaynaklardan atmosfere yayılan kurşun bileşikleri zaman içerisinde toprakta birikerek depolanmaktadır. Nehirlerdeki çözünmemiş kurşun miktarının, topraktaki kurşun miktarına oranının 1:27 olması bunun göstergesidir ve kurşun zehirlenmesinin ana kaynağı topraktır. Xintaras aynı zamanda topraktaki kurşun konsantrasyonu ile kan kurşun konsantrasyonu arasında güçlü bir pozitif korelasyon olduğunu ve genel olarak topraktaki her 1000 ppm kurşunun kan kurşun düzeyini $3-7 \mu\text{g}/\text{dl}$ oranında arttığını ifade etmektedir.

Kurşun ve tuzlarıyla akut zehirlenmeler sık görülmez. Ancak kronik kurşun zehirlenmeleri toksikoloji önemlidir. Sindirim yolundan organizmaya giren kurşun bileşiklerinin çoğu mide asidinin etkisiyle absorpsiyonu güç bileşikler oluşturduğundan %5-10 oranında emilirler ve bu yolla daha çok kronik kurşun zehirlenmeleri ve gastroenterit meydana gelir. Toz ve buhar şeklindeki bileşiklerin solunmasıyla kolayca absorbe olup kana geçebilir (Dökmeci 1994).

Dolaşımda kurşun büyük ölçüde kırmızı kan hücrelerine (% 80-90) az bir kısmı da plazma proteinlerine bağlanır. Organizmaya giren kurşun karaciğer, dalak, kemik iliği, böbrekler, kas, santral sinir sistemi, ve keratinize yapılar gibi çeşitli organ ve dokularda birikir. Daha sonra buralardan serbest hale geçen kurşun kalsiyum bağımlı olarak kemik dokusunda (kurşun fosfat) birikir. Kronik zehirlenmelerde serum yanında karaciğer ve böbrek gibi organlarda da analitik kurşun saptanması yapılabilir. Serbest kurşunun vücuttan atılımı feçes (dişki) ve böbrekler yoluyla olur. Mesleki olarak kurşunla temas etmeyen kişilerin de kan ve idrarlarında bir miktar kurşun bulunur. Bu, besin ya da ağız

yoluyla alınan kurşunla, yakıt olarak kurşunlu benzin kullanan taşıt araçlarının eksozlarından çıkan kurşunun solunum yoluyla vücutta alınması ile olur. Ayrıca eksoz gazlarından ortama yayılan kurşun, toprağa geçerek su ve yiyeceklerdeki kurşun miktarını artırır. Bitkisel kaynaklı besinlerde yetiştiği toprağa bağlı olarak kurşun miktarı 0-2.5 mg/kg, balık ve deniz ürünlerinde 0.2-2.5 mg/kg, et ve yumurtada 0-3.7 mg/kg kadar kurşun bulunur. Endüstride havada kurşun için eşik limit değer 0.2 mg/m³; normal hava kirliliği standarı ise 5 µg/m³, tür. Besinlerde en fazla 7 mg/m³, sitrus meyveleri için ise en çok 1 ppm'e müsaade edilmektedir. İçme suları standardına göre Türkiye'de en fazla 0.05 ppm, Su Ürünleri Tüzüğü'ne göre akarsularda en fazla 0.5 ppm olmalıdır (Vural 1996).

Suda çözünen inorganik kurşun tuzlarının akut öldürücü dozları 20 g, maksimum limit değer ise, 10 g/70 kg insandır. Suda az çözünenler (kurşun karbonat gibi) için öldürücü doz 30 g'dır. Günde devamlı 2 mg kurşun emilimi haftalar sonra kronik zehirlenmeye neden olabilir. Tetraetil ve tetrametil kurşunun havadaki müsaade edilen en yüksek konsantrasyon değeri 0.075 ppm'dir.

Kurşun başlıca sindirim ve solunum yolu ile emilir. Gastrointestinal yoldan kurşun emilimi yavaştır. Bu yolla besinlerle alınan kurşun miktarı günde 300-500 µg arasındadır. Bir defalik kurşun alımı ile öldürücü dozda kurşun absorbe olmaz, ancak gastrointestinal sisteme irritasyon nedeni ile ölüm görülebilir. Bir çok kurşun tuzları mide suyunda ve kanda oldukça çözünürler. Metalik kurşun bile doku sıvalarında çözünebilir. Genel olarak yetişkinlerde ağız yolu ile alınan kurşunun % 10'u, çocuklarda ise % 40'ı gastrointestinal sistemden emilir. Solunum yolu ile kurşun emilimi ise havadaki kurşun tozlarının tanecik büyüklüğü ve kimyasal bileşimine bağlı olarak değişir. Endüstri (filiz kavrulması, akümülatör fabrikaları) havasında daha çok kurşun oksit bulunduğu halde, kirli şehir havasında kurşun halojenür, oksit, karbonat, sülfat ve fosfat bileşikleri halinde bulunur. Yapılan araştırmalara göre 0.1-0.3 µm büyüklüğündeki kurşun taneciklerinin kurşun bileşiklerinin cinsi, solunum hız ve derinliğine bağlı olarak, % 27-62'si absorbe olur (Vural 1996). Organik kurşun bileşiklerinin ayrıca deri yolu ile absorpsiyonları önemlidir. Havadaki kurşun

konsantrasyonu ile kandaki kurşun düzeyi arasındaki ilişkiyi araştıran birçok çalışmalar yapılmıştır (Vural 1996). Bu çalışmalara göre genel olarak, normal havadaki her 1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ kurşunun, kandaki kurşun düzeyini %1-2 (100 ml kanda 1-2 $\mu\text{g}/\text{Pb}$) artıracığı ileri sürülmektedir. Ayrıca endüstri, besin ve yakın çevrede kurşuna maruz kalma ile kandaki kurşun düzeyi arasındaki ilişkileri matematiksel olarak ifade eden formüller önerilmiştir. Havadaki kurşun düzeyi ile kan kurşun düzeyi arasındaki ilişkiyi gösteren bir çalışmada (Iblee 1994) akü fabrikasında çalışan işçilerin kan kurşun konsantrasyonları ile fabrikanın farklı bölgelerindeki havanın kurşun konsantrasyonları ölçülmüştür. Bölgelere göre havada ve kanda kurşun miktarları sırasıyla $92.01 \mu\text{g}/\text{m}^3$ - $32.19 \mu\text{g}/\text{dl}$, $87.83 \mu\text{g}/\text{m}^3$ - $35.42 \mu\text{g}/\text{dl}$, $36.31 \mu\text{g}/\text{m}^3$ - $17.33 \mu\text{g}/\text{dl}$, $4.2 \mu\text{g}/\text{m}^3$ - $7.78 \mu\text{g}/\text{dl}$ olarak bulunmuştur.

Kurşun uzun süre organizmada kalabilen bir elementtir. Biyolojik yarı ömrü bazı kaynaklara göre 700-800 gün (Dökmece 1994), bazlarına göre 1400 gün (Gündüz 1994) kadardır. Absorbe olan kurşunun atılım hızı çok yavaştır ve bu nedenle hayat boyunca vücutta birikir. Genç ve orta yaştarda daha çok yumuşak dokularda toplanmaktadır. Absorbe olan kurşun, kana geçerek kısa zamanda dengeye ulaşır, kan dolaşımı yolu ile çeşitli organlara (aort, kıkıldak, böbrek, pankreas, akciğer, dalak ve kaslar) dağıılır. Ayrıca yaş ilerledikçe kemikte toplanma oranı artar. İleri yaştarda (50-60 yaş) vücut kurşununun % 90'ının kemiklerde toplandığı bildirilmektedir (Vural 1996). Kemikler dışında böbrek ve karaciğerdeki kurşun konsantrasyonu önem taşımaktadır. Böbrek ve bazı dokularda kurşun proteine bağlanarak yoğun ve kurşunca zengin hücre içi inklüzyon cisimciklerini oluşturur.

Kurşun tipik bir kümülatif zehirdir. Absorbe olan kurşunun feçes ve idrarla atılması çok yavaştır. Ayrıca saç ve epitel dokunun dökülmesi sırasında ve terle atılır. Kurşun atılıminin %76'sı idrarla, geri kalan ise gastrointestinal salgı (safra % 16) ve diğer yollarla olmaktadır. İnorganik kurşun serum proteini ile bağlanmış olarak kanda dolaşır. Tetraetil kurşun, karaciğerde çok daha toksik trietyl kurşuna dönüşür ve kan kurşun düzeyinden çok idrar kurşun miktarının artmasına neden olur.

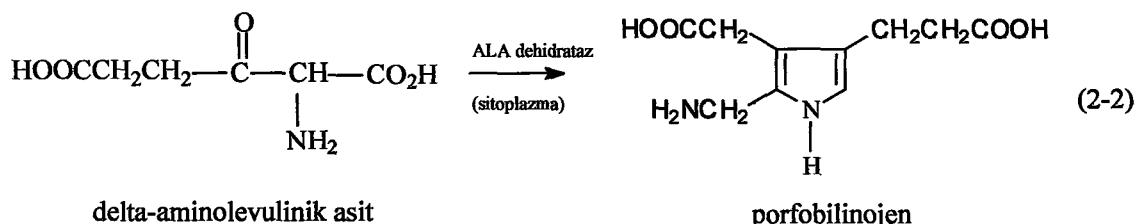
Kurşunun kemiklerde tutulması (inaktif kurşun) kemikten kasa geçmesi (aktif kurşun) kalsiyum metabolizmasına benzer. Bu nedenle kalsiyum verilmesi kan ve yumuşak dokulardan kurşunun kemiklere geçerek depolanmasına neden olur. Ayrıca kalsiyumun kemiklerden mobilize olmasına etken olan asidozis, iyodürler, paratiroid hormon gibi faktörler, kurşunun da atılımını hızlandırırlar. Ca-Na₂EDTA'da kurşun atılımını hızlandırır (Vural 1996). Kurşun ve kalsiyumun kimyasal benzerliği nedeniyle bütün vücutta bulunan kemikler bir kurşun deposu görevi yapar. Kemiklerde depolanmış olan bu kurşun fosfatlarla kemikten serbest hale geçerek yumuşak dokulara transfer olduğu zaman toksik etkisini gösterir (Manahan 1984).

Sürekli kurşuna maruz kalma ile “kurşun absorpsiyonu” meydana gelir. Absorpsiyon her zaman zehirlenmeye yol açmayı bilir. Ancak belirli bir miktarдан sonra kurşun absorpsiyonu bir çok organ ve sistemleri etkilemektedir. Bu etkiden zarar gören başlıca organlar ise hematopoietik sistem, merkezi sinir sistemi, perifer sinirler ve böbreklerdir.

Kurşunun en önemli biyokimyasal etkisi, hem sentezini bozmasıdır (Manahan 1984). Bu da hematolojik problemlere yol açar. Ağır metal iyonları (Pb^{2+} , Hg^{2+} , Cd^{2+}) çok etkili enzim inhibitörleridir. Metiyonin ve sistein gibi amino asitlerde -SCH₃ ve -SH gruplarına bağlanarak tersinmez reaksiyonlar sonucu kompleksler oluştururlar:



Pb^{2+} iyonu, asetil kolinesteraz, alkanen fosfataz, adenosin trifosfataz, karbonik anhidraz ve sitokrom oksidaz enzimlerini inhibe eder. Hem sentezine etkisi anahtar rolü oynayan enzimleri inhibe etmesinden kaynaklanır. Hem sentezinin ana basamağı δ -aminolevulinik asidin porfobilinojene dönüşme basamağıdır.



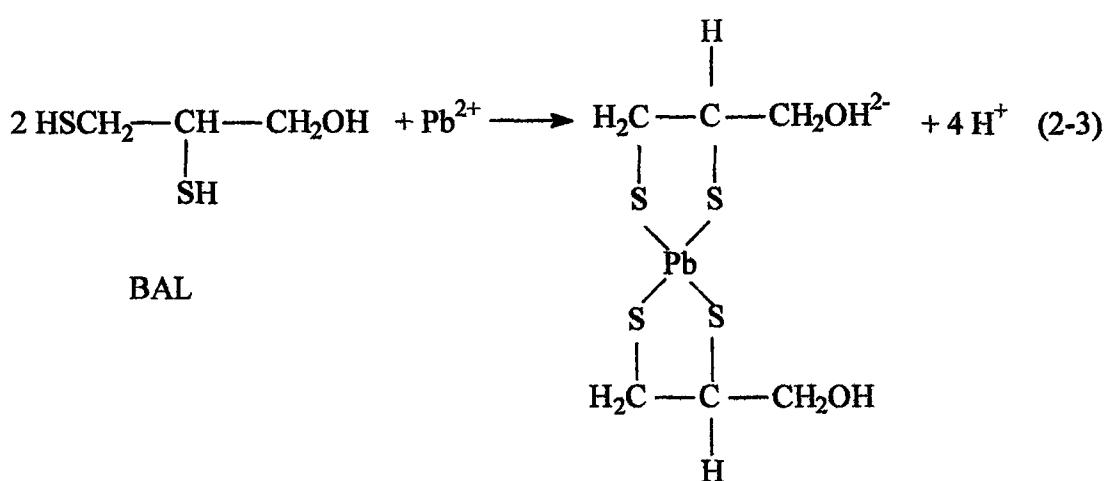
Kurşunun ALA-dehidrataz enzimini inhibe etmesi ile porfobilinojene dönüşemeyen δ-amino levulinik asit birikir ve idrarla atılımı artar. Kurşun hem sentezini diğer basamaklarında da baştan başa inhibe eder. Bunun sonucunda hemoglobin sentezi ve hemin gereksinimi olan sitokromlar gibi diğer solunum pigmentlerinin sentezi bozulur. Aynı zamanda yaşam için enerji üreten oksijen ve glukozun kullanımını da engeller.

Manahan (1984)'a göre kurşunun beyin ve sinir hücreleri üzerine biyokimyasal etkisinin nasıl olduğu çok iyi bilinmemekte ve halen araştırılmaktadır. Ancak kurşun zehirlenmesinde ortaya çıkan belirtiler yorgunluk, konvulziyona (çırınma, sara nöbeti) bağlı baş ağrısı, crebral palsy (beyin felci), körlük ve zekada gerilik şeklinde kendini göstermektedir. Böbreklere etkisi ise, idrarla atılımdan önce böbrekler tarafından absorplanan glukoz, fosfataz ve amino asitlerin metabolik prosesini inhibe etmek şeklindedir. Vural (1996)'a göre kurşunun merkezi sinir sistemi üzerine etkisi yaşı ve kurşunla zehirlenmenin şekline bağlıdır. İnorganik kurşuna kronik ve subkronik maruz kalma sonucu "kurşun ensefalopatisi" görülür. Kurşun ensefalopatisisinin başlıca belirtileri karamsarlık, sinirlilik, huzursuzluk, baş ağrıları, kas titremesi, adalelerde koordinasyon bozukluğu ve hafıza kaybıdır. Bu belirtiler konvülziyonlara, komaya ve ölüme kadar gidebilir. Kurşunun kan beyin engelini geçerek, kalsiyumla yarışmalı olarak beyne yerleştiği gösterilmiştir. Burada kurşunun beynin enerji metabolizması, büyümeye ve gelişme hızı ile ilgili enzimleri inhibe ederek etkisini gösterdiği ileri sürülmektedir. Çocuklar ve zenci ırkı kurşun ensefalopatisine daha duyarlıdır. Çocuklarda klinik olarak da gözlenen ensefalopati, yüksek dozda kurşun maruziyetinde görülür ($80 \mu\text{g}/100\text{ml}$ kan ve üstünde). Son 20-25 yılda yapılan çalışmalara göre, kandaki kurşun düzeyi $80 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ altında olduğu zaman da klinik olarak

gözlenemeyen ve psikomimetrik olarak gösterilebilen bulgulara rastlanmıştır. Örneğin kandaki kurşun düzeyi 50-70 µg/100 ml olduğunda çocukların bilme yeteneğinde düşme 5 veya daha fazla IQ puanı olmaktadır. Çocuklarda kurşun absorpsiyonu ile ilgili gelişme eksiklikleri, kandaki kurşun düzeyi 30-50 µg/100 ml olduğunda da görülebilir.

Organik kurşun bileşiklerinin (alkil kurşun bileşikleri) merkezi sinir sistemi üzerine etkisi daha çok psişik özellikte olup; hallucinasyon, delusion, ve aşırı heyecan başlıca belirtileridir. Kurşun periferik ve otonom sinir sistemini de etkiler. Böylece ortaya çıkan kurşun felcinin en önemli belirtisi, ekstensor kaslarda zayıflık görülmesidir. Ayrıca kurşun, barsağın anatomič intervasyonuna üzerine de etkiyerek, kolik görülmesine yol açar (Vural 1996). Kurşun biriminin yetişkinlerde görülen en önemli olumsuz etkilerinden biri de, kan basıncındaki yükselmedir.

Hem sentezinde olduğu gibi kurşunun zararlı etkileri geri dönüşümsüzdür ve belirtilerin ortaya çıkması için çok uzun bir kurşun maruziyetine gerek yoktur. Kurşun zehirlenmesinde tedavi için kelatlaştırıcılar kullanılabilir. Kalsiyum EDTA ve British anti-Lewisite (BAL) tedavi için en sık kullanılan maddelerdir. BAL, I. Dünya Savaşı sırasında kullanılan ve arsenik içeren zehirli bir gaz olan Lewisite için geliştirilmiş bir antidottur. Kurşunla oluşturduğu kompleks karaciğer ve böbreklere zarar vermeden vücuttan atılabilir (Manahan 1984).



Kurşunla zehirlenmenin tanısı ve birikimin biyolojik izlenmesi kimyasal testlerle yapılabilir. Kurşun absorpsiyonunun derecesini ve kişilerde mesleki olarak maruz kalma sonucu kurşun etkilerini erken tanımlamak için:

- 1- Kanda kurşun düzeyi
- 2- İdrarda doğrudan veya kelatlaştırıcı madde ile atılan kurşun miktarı
- 3- Saç, diş, kemikler gibi dokulardaki kurşun miktarı
- 4- Kandaki ALA-D aktivitesi
- 5- Porfirin metabolizması ile ilgili testler
- 6- Hematolojik araştırmalar yapılır.

Kurşun absorpsiyonu ve kurşundan etkilenmenin tanısında en iyi kriter kan kurşunu tayinidir. Vücutta toplanan kurşun biriminin yaklaşık %2'si kanda bulunur. Bunun %90'ı eritrositlerde toplanmıştır. Yapılan araştırmalara göre, normalde kurşuna maruz kalmadığı kabul edilen yetişkin ve çocuklarda kan kurşun düzeyi 0-40 µg/100 ml arasında değişir. Bu değer 80 µg/100 ml' ye kadar tehlikesiz kabul edilir. Kandaki kurşunun 80-120 µg/100 ml arasında olması absorpsiyonun arttığını gösterir. Şiddetli zehirlenmelerde ve tehlikeli durumlarda kan kurşun düzeyi 120 µg/100 ml'nin üzerine çıkar. Kandaki kurşun konsantrasyonu büyük önem taşır. Endüstride veya kirli havada bulunan kurşuna maruz kalma veya çocuklarda kurşun tarama testlerinde, kan kurşun düzeyi önemli bir göstergedir. Ayrıca kan kurşunu, absorbe olan kurşunun biyolojik etkisinin de bir ölçüsüdür. Doz-etki (cevap) ilişkisinde, doz, "kan kurşun düzeyi" ile ifade edilir (Vural 1996).

2.4. Biyolojik Örneklerde Kurşun Tayin Yöntemleri

Kan, idrar ve dokularda kurşun tayini için kullanılan en eski yöntemlerden biri, kurşunun dithizon ile kloroform fazında oluşturduğu parlak kırmızı renkli kompleksin 515 nm'de spektrofotometrik tayinine dayanır (Vural 1996).

Günümüzde ise artık bu tür yöntemler terkedilmiş ve kurşun tayininde daha duyarlı ve güvenilir olan AAS yöntemleri kullanılmaktadır (Shuttle ve Delves 1986,

Burguera vd1987, Miller vd 1987, Nicholson vd 1989, D'Haese vd 1991, Tinggi vd 1992, Gayón vd 1993, al-Saleh vd 1994, İbieble vd 1994, Tracqui vd 1994, Yee vd 1994, Baranowska vd 1995, Chlopicka vd 1995, Hallen vd 1995, Qiao vd 1995, Yen vd 1997).

Kanda kurşun tayini için AAS kadar sık olmamakla birlikte anodik sıyırmaya voltametrisi ile yapılan çalışmalara da literatürde rastlanmıştır (Schilling ve Bain 1988, Feldman vd 1995).

2.5. AAS'de Kurşun Tayini ile İlgili Genel Literatür Bilgileri

Kurşun atomik absorpsiyonda çok fazla girişim meydana gelmeden farklı alevlerle en kolay tayin edilebilen elementlerden biridir. Bazı araştırmacılar tarafından hava/propan alevi önerilmekle birlikte en genel kullanılan hava/asetilen alevidir. Dagnal ve West (1964) bu alevde ortaya çıkabilecek alüminyum, berilyum, zirkonyum, fosfat ve sülfatlardan kaynaklanan minor girişimlerin EDTA eklenmesiyle büyük ölçüde ortadan kaldırılabilirliğini göstermişlerdir.

Kurşunun en önemli rezonans hatları (dalga boyları) 217.0 nm ve 283.3 nm dir. 217.0 nm hattı 283.3 nm'deki hattına göre daha duyarlı olmasına ve zemin absorpsyonunu azaltıcı etkisine rağmen sinyal/gürültü oranının küçük olması nedeniyle 283.3 nm hattı daha çok kullanılmaktadır.

Issaq ve Zielinski (1974), kurşun içeren sulu çözeltilerin seyretildiği zaman dayanıklılığını kaybettiğini bildirmiştir. Bu kayıp nitrik asit eklenmesiyle önlenebilmektedir.

Zaman içerisinde kurşunun çok düşük konsantrasyonlarının (gözlenebilme sınırı 0.01 mg/L civarında) ölçülmesi gereksinimi ortaya çıkışınca alevli AAS yeterli olmamış ve daha duyarlı tayin yöntemlerine ihtiyaç duyulmuştur. Bunun için önceleri Küvet (sampling boat) tekniği (Kahn vd 1968) veya Delves Sistemi (Delves 1970)

kullanılmıştır. Ancak atomik absorpsiyonda en önemli gelişmelerden biri olan grafit fırın tekniği ile bu soruna gerçek çözüm bulunmuştur.

Duyarlılık ve gözlenebilme sınırını iyileştirme atomik absorpsiyonda en önemli amaçlardan biridir. Sisleştirci/alev (nebulizer/burner) sisteminin yetersizliğini ortadan kaldırmak ve iyileştirmek amacıyla çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Sisleştirci/alev sisteminin iki dezavantajı aspire edilen örneğin sadece %10'unun aleve ulaşabilmesi ve aleve püskürtülen örneğin aleve taşınmasının sisleştircisinin aspirasyon hızı ile sınırlanmış olmasıdır. Küvet (sampling boat) tekniği (Kahn vd 1968) ile bu iki dezavantajın ikisi birden ortadan kalkmıştır. Bu teknikte az miktar örnek (maksimum 1 ml) küçük bir tantal küvet içine koyularak çözelti kurutulur. Kurutulmuş olan örnek tantal kabin içinde aleve yerleştirilerek atomizasyon sağlanır. Örnek çok kısa bir sürede birkaç saniyede kantitatif olarak atomize olur. Bu atomizasyonun sinyali dar, uzun, keskin bir sinyaldir. Atomizasyon sıcaklığı 1200°C civarındadır ve yöntem sadece arsenik, bizmut, kadmiyum, kurşun, civa, selenyum, gümüş, tellür, talyum ve çinko gibi kolay atomize olabilen elementler için kullanışlıdır. Söz konusu elementler için uygulanan bu yöntem gözlenebilme sınırlarını 20-50 kat arttırmıştır. Küvet tekniği hızla benimsenmiş ve toksikolojik, çevre kontrolü, kan idrar gibi direk analiz edilebilen biyolojik örneklerde kullanılmaya başlanmıştır (Kahn ve Sebestyen 1970). Favretto-Gabrielli vd (1980) kurutulup toz haline getirilmiş midyelerde kurşun tayini için, Burrel ve Wood (1969) su, Lamm vd (1973) süt ve diğer gıda maddelerinde eser element analizlerine başarı ile uygulamışlardır.

Delves Yöntemi (Delves 1970) ise, küvet tekniğinin değiştirilerek geliştirilmiş şeklidir. Delves bu yöntemi özellikle kanda kurşun tayini için geliştirmiştir. Delves Yöntemi'nde küçük yuvarlak nikel bir kap uzun bir tantal küvet ve bunların üzerine monte edilmiş nikel veya kuvars açık bir tüp vardır. İşık kaynağı tüpün içinde atomize olan elementi görecek şekilde ayarlanmıştır. Kan örneği nikel kap içinde ısıtıcı tabla üzerinde kurutulduktan sonra aleve yerleştirilir. Alevden açık tüp içine gelen analit buharları burada tayin edilir. Delves'in bu yöntemi pek çok araştırcı tarafından kontrol edilmiş (Fernandez ve Kahn 1971) ve grafit fırın yöntemi geliştirilinceye kadar kanda

kurşun tayini için geliştirilen yöntem çok az miktarlarda kan örneği ile kurşun tayininde özellikle tarama çalışmalarında kullanılmıştır (Ediger ve Coleman 1972, Rose ve Willden 1973).

Çeşitli örneklerde kurşun tayini ile ilgili yapılan ilk çalışmalarda kurşunun uçuculuğundan kaynaklanan spektral ve spektral olmayan bazı girişimler rapor edilmiştir. Ottaway (1976) klorüre bağlı önemli girişimleri bildirmiştir (Welz 1985). Klorür varlığında kurşun sinyallerinin sürekli zayıflamasını kurşun klorürün moleküller formda buharlaşması şeklinde açıklamıştır. Ayrıca magnezyum klorürün grafit tüpün içinde buhar fazı girişiminden de bahsetmektedir. Henn (1977) % 5'lik hidroklorik asitin önemli ölçüde var olan girişiminin örnek ve referans çözeltilerine molibden eklenerek etkin bir biçimde azaltılabilğini göstermiştir (Welz 1985). Vickrey vd (1980) grafit tüpün zirkonyumla kaplanmasıının da benzer etkiyi gösterdiğini bildirmiştir.

Behne vd (1975) perklorik aside bağlı sinyal zayıflamasından bahsetmektedirler (Welz 1985). Perklorik asit ısı ile patlama özelliğinden dolayı grafit küvette zaten kullanılamaz. Wegsscheider (1977) fosforik asitin diğer asitlerin aksine sinyal şiddetini artırdığını bildirmektedir (Welz 1985). Hodges ve Skelding (1981) idrarda kurşun tayininde molibdenle birlikte ortofosforik asit eklenmesinin matriks etkisini en aza indirdiğini kanıtlamışlardır.

Hinderberger vd (1981) idrar gibi bazı biyolojik örneklerde matriks modifikasyonu için primer amonyum fosfat ve L'vov platform küvet kullanılarak girişimlerin engellenebileceğini bildirmiştir. Bu durumlarda matriks modifikasyonu için magnezyum nitrat kullanıldığında nispeten daha yüksek sıcaklıklarda çalışılabilir ve termal ön işlemler için sıcaklık 950°C'ye kadar çıkabilir. L'vov platform küvet kullanıldığından optimum atomizasyon sıcaklığı 1900°C'dir.

Kurşun hidrür yöntemi ile de tayin edilebilen bir elementtir. Fakat bu konuda yapılan ilk çalışmalarda genellikle duyarlılığın düşük olduğu bildirilmiştir (Welz 1985).

Thompson ve Thomerson (1974) gözlenebilme sınırını 0.1 mg/L olarak bulmuşlardır (Welz 1985). Fleming ve Ide (1976) tartarik asit ve potasyum bikromat ekleyerek duyarlığı anlamlı ölçüde artırabilmişler, ancak bakır ve nikelin bazı girişimlerinin olduğunu bildirmişlerdir. Vijan ve Sadana (1980) hidrür yöntemini kullanarak mangan dioksit ile bir ön çöktürmeden sonra içme suyunda kurşun tayin etmişlerdir.

Bir çok araştırcı kromatografik yöntemlerle AAS kombine sistemlerde benzinde (Segar 1974, Coker 1975) ve havada (Chau vd 1976) organo kurşun bileşiklerini tayin etmişlerdir. Sirota ve Uthe (1977) ekstraksiyondan sonra dokuda tetraalkil kurşunu tayin etmeyi başarmışlardır.

Brimhall (1969) ve Kirchhof (1969) üç kurşun izotopu için (206, 207, 208) izotop oyuk katot lambalarının yapılması ile AAS'de tayinlerinin olası olduğunu bildirmişlerdir (Welz 1985).

2.5.1. Biyolojik örneklerde kurşun tayininde AAS uygulamaları

2.5.1.1. FAAS uygulamaları

Geleneksel alev ile kurşunun 217 nm'de tayininde duyarlık 0.0044 A'da 0.39 $\mu\text{mol/L}$ ($\sim 80 \mu\text{g/L}$)' dir . Kursundan etkilenmemiş normal insanların kan kurşun konsantrasyonu 0.2-1.2 $\mu\text{mol/L}$ ($40-250 \mu\text{g/L}$) arasında, idrar kursun konsantrasyonu ise 0.05-0.4 $\mu\text{mol/L}$ ($10-80 \mu\text{g/L}$) arasındadır (Delves 1981). Bu nedenle klasik alev yetersiz kalmaktadır. Thompson ve Godden (1976) 200 μl kanı 1+1 oranında Triton-X 100 ile seyrelterek 0.5 $\mu\text{mol/L}$ ($\sim 103 \mu\text{g/L}$) kurşunu hava/asetilen alevinde tayin edebilmişlerdir. Bunun için aralıklı aspirasyon (pulsed-nebulization), çok genişletilmiş bir skala ve cihaz parametrelerini çok dikkatle kontrol etmeleri gerekmıştır. Bu yöntem sadece yüksek kurşun konsantrasyonlarının tayini ile sınırlı kalmakta ve daha düşük konsantrasyonlar için ancak yaklaşık tahminlere yardımcı olabilmektedir. Çözücü extraksiyonundan sonra kanda FAAS ile daha düşük kurşun konsantrasyonlarının tayini mümkün olabilmektedir. Kan proteinlerini uzaklaştırmak için TCA ile çöktürme, Triton-X 100 ile hemoliz etme (Hessel 1968) ve asitte tam olarak çözme bunlardan

bazılarıdır. Kopito vd (1974) proteinlerin çöktürülmesi sırasında ^{203}Pb kullanarak kantitatif olarak kurşunun %92-79'unun geri kazanıldığını bildirmiştirlerdir. Hessel (1968) Triton-X 100 ile hemolizden sonra APDC ile kurşunun kompleksini oluşturup pH 2-4'de MIBK ile ekstrakte ederek organik çözücüdeki kurşunu alevde 217 nm'de tayin etmiştir. Bu yöntem iyi sonuç vermiş ve bir çok araştırcı tarafından kullanılmıştır. Delves (1981) doku, feçes, gıda maddeleri ve dişte kurşunu çözücü ekstraksiyonundan önce asitle çözüp daha sonra APDC/MIBK ile pH 2.8'de ekstrakte ederek FAAS ile tayin etmiştir.

Bazı araştırcılar biyolojik materyalde kurşun tayini için asitte yakma işleminden sonra ekstraksiyon yönteminin en iyi yöntem olduğunu savunurken (Delves 1981), bazıları da (Kopito vd 1974) bu tayin yönteminin özellikle örnek hazırlama kısmını çok zaman alıcı bulmakta ve pek çok hata kaynağının olduğunu söylemektedirler. Schlebush ve Niehoff (1974) ekstraksiyon ve zenginleştirmeye rağmen özellikle normal değerlerin ($\sim 10 \mu\text{g Pb}/100 \text{ ml}$) saptanmasında alevde tayininin yeterince duyarlı bir yöntem olmadığını söylemektedirler (Welz 1985).

2.5.1.2. ETAAS uygulamaları

Kanda kurşun tayini ile ilgili ETAAS ile yapılan ilk çalışmalar pek tatmin edici sonuç vermemiştir. Volosin vd (1975) karbon çubuk fırın kullanılarak ne direkt yöntemle, ne de Triton-X 100 ile seyrelterek doğru sonuç alamadıklarını bildirmiştirlerdir. Volosin vd, ayrıca kanda kurşun tayini için ekstraksiyon basamağını da denemişler, ancak başarılı olamadıklarını bildirmiştirlerdir (Welz 1985). Başka yazarlar Triton-X 100 (Kubassik ve Volosin 1974) veya nitrik asit ile yapılan basit bir ön işlem ile idrarda kurşun tayininin (Machata ve Binder 1973) kolaylaştığını bildirmiştirlerdir. Alt ve Massmann (1978) GFAAS ile kanda kurşun tayini için üç yöntemi karşılaştırmışlardır. Amoyum nitrat eklenmesi, bir kuarterner amonyum hidroksit içinde çözme ve basınçlı çözme (pressure digestion) yöntemlerini uygulayarak direkt tayinleri karşılaştırmışlar ve her üç yöntemde uyumlu sonuçlar bulmuşlardır. Stoeppler vd (1978) tam kanda kurşun tayini için geliştirdikleri yöntemi otomatize etmişlerdir. Bu yöntemde deproteinizasyon

icin nitrik asit eklenmis ve aynı zamanda matriks modifier olarak da rol oynamıştır ve direkt supernatan sıvısından kurşunu tayin etmişlerdir. Fernandez (1975) sadece Triton-X ile seyreltip sulu referans çözeltilere karşı direkt tayin yöntemi geliştirmiştir ve bu yöntem sonradan otomatize edilmiş ve birçok laboratuvar içi testlerle doğruluğu kanıtlanmıştır (Welz 1985).

Hinderberger vd (1981) matriks modifikasyonu için primer amonyum fosfat kullanarak L'vov platform küvet ile kanda ve idrarda kurşun tayini ile ilgili bütün girişimlerin elimine edilebildigini göstermişlerdir. Bunun üzerine, hemen arkasından Fernandez ve Hilligoss (1982) Hinderberger'in metodunu değiştirerek Triton-X 100 ile örnekleri seyreltmış ve matriks modifikasyonu için primer amonyum fosfat kullanmıştır (Welz 1985).

Karaciğer ve böbrek dokusunda kurşun tayini için, Carpenter (1981) kuarternler amonyum hidroksit içinde enzimatik çözme (digestion) önermektedir. Bu yöntemin karaciğer ve plasenta dokusunda mükemmel bir şekilde grafit fırında direkt tayne çok uygun olduğunu bildirmektedir. Wittmers vd (1981) kemik külünde kurşun tayin ederken, nitrik asit içinde çözülmüş örneğe lantan çözeltisi eklemiştir (Welz 1985). Langmyhr vd (1978) kemik ve dişte kurşunu direkt katı örnekte tayin etmişlerdir.

2.6. HGAAS ile Kurşun Tayini

Hidrür oluşturma ile atomik absorpsiyon tayinleri As, Se, Bi, Sn, Ge, Pb, Sb ve Te gibi asidik ortamda uçucu hidrürlerine dönüştürülebilen elementler için kullanılan bir yöntemdir. HGAAS atomizasyon verimini arttırması ve analiz elementini uçucu bir bileşigine çevirerek matriksten ayırması nedeniyle FAAS ve ETAAS'ye üstünlük sağladığı için $\mu\text{g/L}$ ve veya daha düşük konsantrasyonların tayininde yüksek seçimliliğe sahiptir.

Kurşun hidrürle ilgili çalışmalar diğer hidrürlere göre daha azdır. Bunun nedeni kurşun hidrürün oluşturulmasındaki güçlükler, verimin ve oluşan uçucu hidrür kararlılığının düşük olması ile açıklanabilir.

Kurşun hidrürün analitik uygulaması ilk Thompson ve Thomerson tarafından 1974'de bildirilmiştir (Madrid ve Cámara 1994). Thompson ve Thomerson'un çalışmaları ETAAS ile HGAAS'yi düşük konsantrasyonların tayininde karşılaştırmak şeklindedir ve çok başarılı olmamıştır.

Kurşun hidür, PbH_4 , oda sıcaklığında kararsızdır (K.N. ~ -13°C) ve saf olarak elde edilmesi çok zordur (Paneth ve Rabinowitsch 1925). İlk uygulamalar, Mg-Pb alaşımı üzerinde HCl reaksiyonu, bir kurşun elektrot kullanarak kurşun ve hidrojenin seyreltik H_2SO_4 'de elektrolizi şeklindedir. Bu çalışmaların hiçbirini kurşun hidrürün oluşumunu direk olarak göstermemiştir.

Hidrürlerin hepsi SeH_2 ve AsH_3 kadar kolay meydana gelmezler. Kovalent karakterli uçucu hidrürler arasında GeH_4 , AsH_3 , SeH_2 , SnH_4 , SbH_3 , TeH_2 , PbH_4 , BiH_3 ve HgH_2 sayılabilir. Bu hidrürlerde bağ enerjisi ve oluşum entalpileri ile ilgili yapılan deneyler kararlılık sırasının $GeH_4 > SeH_2 > SnH_4 > TeH_2 > PbH_4 > BiH_3$ şeklinde olduğunu göstermiştir (Saalfeld ve Svec 1963, Cotton ve Wilkinson 1967). Kurşun ve bizmut hidrürleri bu seride kararlılığı en az olan hidrürlerdir. Kurşun hidrürün düşük kararlılığı ve uçuculuğu, fiziksel, kimyasal ve termodinamik özelliklerinin iyi incelenmemesi HGAAS ile $NaBH_4$ kullanılarak kurşun tayini için yöntemin gelişmesine engel olmuştur.

Thompson ve Thomerson (1974) yaptıkları çalışmada, kurşun hidrürü 0.2 mol/L HCl ile asitlendirilmiş bir örneğin %1 (w/v) $NaBH_4$ ile direk reaksiyonu ile oluşturulmuştur. Atomizasyon bir hava/asetilen alevi içine yerleştirilmiş kuvars T-tüp içinde gerçekleştirılmıştır. Gözlenebilme sınırı 0,1 $\mu g/ml$ olarak bulunmuştur. Bu çalışmada asit ve sodyum borhidrür konsantrasyonlarının ikisi de kritik sınırdadır ve hidrür dönüşüm verimi çok azdır (< % 5) (Madrid ve Cámara 1994).

Fleming ve Ide (1976) ve Vijan ve Wood (1976) kurşun hidrürün verimini artırmak için ilk girişimleri yapmışlar ve yükseltgen olarak $K_2Cr_2O_7$ ve H_2O_2 kullanarak $NaBH_4$ ile oluşturulan hidrür verimini artıracak bu konudaki problemleri aşmışlardır. Her iki çalışmada da PbH_4 verimi artmış ve analiz duyarlılığı da buna bağlı olarak artmıştır. Bu çalışmalar HGAAS ile kurşun tayininin başlangıç noktasını olmuşlardır. Fleming ve Ide'nin çalışmasında çelikte As, Bi, Pb, Se ve Te tayinleri HGAAS ile yapılmıştır. Hidrür dönüşümü potasyum bikromat-tartarik asit ortamında gerçekleştirılmıştır ve verim ~ % 10 civarındadır. Verimin artması Potasyum bikromatın yükseltgen etkisine bağlanabilir. Metot demir ve çelikte kurşun analizi için alternatif bir metot olarak sunulmuştur. Aynı yıl Vijan ve Wood, kurşunun HGAAS ile yarı otomatik tayinini tanımlamışlar ve yöntemi hava, su ve bitkilerde kurşun tayinine uygulamışlardır. Bu çalışmada örnekte bulunan kurşun % 0,7 (v/v) HNO_3 veya % 1 (v/v) $HClO_4$, %12 (v/v) H_2O_2 ve % 4 (w/v) $NaBH_4$ ile reaksiyona sokularak hidrürüne dönüştürülmüştür. PbH_4 elektriksel olarak 860 °C'ye ıstılmış bir kuvars tüp içine azot gazı ile taşınmış ve absorbans 217.0 nm'de okunmuştur. Karakteristik konsantrasyon ve gözlenebilme sınırı sırasıyla 0,6 ve 0,1 $\mu\text{g/L}$ 'dir.

Jin ve Taga (1982), potasyum bikromat-malik asit, hidrojen peroksit-nitrik asit ve amonyum persülfat-nitrik asit karışımlarını karşılaştırmışlar ve persülfat-nitrik asit karışımı diğerlerine göre en verimli yükseltgen olmakla birlikte düşük seçimlilik göstermiştir (Madrid ve Cámara 1994). Li vd (1990) oksalik asit ve seryum(III) amonyum nitratı KBH_4 ile kullanmışlar ve metodu toprak referans materyalinde kurşun tayini için başarıyla uygulamışlardır.

Madrid vd (1990), potasyum bikromat ortamında kurşun hidrür oluşumunun verimi üzerine farklı asitlerin etkisini incelemiştir (Madrid ve Cámara 1994). Bu çalışmada potasyum bikromatın tercih edilmesinin nedeni hidrojen peroksit ve amonyum persülfata göre daha seçici olmasıdır. Malik, laktik, tartarik, sitrik, oksalik, benzoik ve nitrik asitleri denemişler ve en iyi sonuçları laktik, malik ve tartarik asitle elde etmişlerdir. Laktik asit içlerinde en uygun olarak bildirilmektedir. Laktik asit varlığında reaksiyon ortamında PbH_4 veriminin hatrı sayılır ölçüde artmış olması

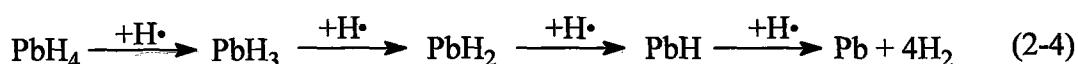
reaksiyon kinetiklerinin artmasına bağlanmıştır. Kurşunun hidrürü dönüşümünde NaBH_4 konsantrasyonunun etkisi selenyum ve arsenik gibi elementlere göre daha önemlidir. Optimum NaBH_4 konsantrasyonları laktik asit-potasyum bikromat ortamında % 4 (w/v), persülfat-nitrik asit ortamında % 8 (w/v), peroksit nitrik asit ortamında % 10 (w/v) olarak bildirilmektedir. % 4 (w/v) NaBH_4 ile potasyum bikromat ortamında gözlenebilme sınırı 0,4 $\mu\text{g/L}$ bulunmuş ve yöntem balık ve sebze örneklerinde kurşun tayinine uygulanmıştır.

Farklı bir çalışma da Hengwu vd (1993) tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada kelatlaştırıcı etkisi incelenmiştir. 1-(2-piridilazo)-2-naftol-6-sülfonik asit (PAN-S), bromoprogallol kırmızısı, Alizarin Red S ve prokateşin violenin kurşun hidrür verimini anlamlı ölçüde artttığını bulmuşlardır. PAN-S içlerinde en etkili olmalıdır. Karakteristik konsantrasyon 1,3 $\mu\text{g/L}$ olarak rapor edilmiştir. Yöntem su örneklerinde denenmiş ve tekrarlanabilirlik %90-%105 olarak bulunmuştur. Mekanizma kurşun hidrürün direk oluşumu, kararsız Pb^{4+} 'nın kelat oluşturmuş Pb^{2+} ile yer değiştirmesi şeklinde önerilmektedir.

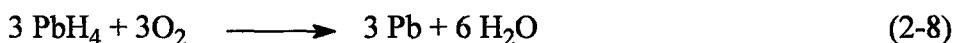
Aznarez vd (1984), susuz bir ekstraksiyon fazı içinde kurşun için bir buhar fazı yöntemi rapor etmişlerdir (Madrid ve Cámara 1994). Kurşun hidrür, kloroform extraktı içinde oluşturulmuş kurşun prolidin-1-karboditiyoat'a DMF (dimetil formamid) içinde hazırlanan sodyum borhidür eklerek oluşturulmuştur. Önerilen yöntem için gözlenebilme sınırı 1 $\mu\text{g/L}$ olarak verilmektedir. Kurşunun organik faz içinde ekstraksiyonu seçimiği arttırmıştır. Yazarlar organik fazdan kurşun hidrür elde edilmesi ile yükseltgen madde ihtiyacının ortadan kalkacağını iddia etmektedirler. Yöntem BCS standart çeliklerinde ve havadan geçen partiküllerde kurşun tayini için uygulanmıştır. Aynı grup, daha sonra benzinde kurşun tayini için örneği DMF ile seyreltip, yine DMF içinde hazırlanan sodyum borhidür kullanarak direk enjeksiyon ile kurşun hidrür oluşturmuştur (Madrid ve Cámara 1994). Nerin vd (1987) ise organik çözücüde PbH_4 'ün hiç oluşmadığını ve elde edilen sinyallerin PbR_4 sinyalleri olduğunu, PbH_4 oluşumu için mutlaka sulu ortam gerektiğini vurgulamaktadır (Madrid ve Cámara 1994).

2.6.1. Kurşun hidrürün atomizasyon mekanizması

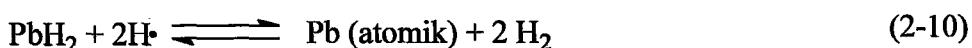
Welz ve Melcher (1983), alevde ısıtılan kuvars tüpte atomizasyon mekanizmasının hidrojen radikal reaksiyonu ile yürüdüğünü önermektedirler:



Optimum duyarlılık yalnızca oluşan hidrürün tipine bağlı değildir. Oksijen konsantrasyonunun minimizasyonu ile atomizasyon sıcaklığına da bağlıdır. Yüksek sıcaklıkta ($\sim 1000^\circ\text{C}$) çok küçük miktarda oksijen çözünmesiyle örnek yeterli olabilirse optimum duyarlılık elde edilebilir. Düşük sıcaklıkta sistemdeki oksijen yeterli olmayabilir ve optimum duyarlılık için oksijen eklenmesi gerekebilir (Madrid ve Cámarra 1994). Ortamda yeterli oksijen yoksa H ve O radikalleri ile katalizlenen reaksiyon şöyle önerilmektedir (Madrid ve Cámarra 1994):



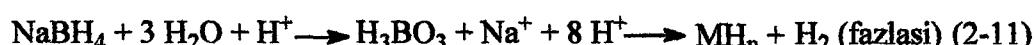
Forsyth ve Marshall (1985), düşük sıcaklıkta hidrojen radikallerinin oluşmasının kuvars tüpte kurşun hidrürün atomizasyonuna sadece katılmakla kalmayıp kuvars yüzeyinde uçucu kurşunun birikmesine neden olduğunu bildirmiştir:



Kuvars tüpün iç yüzeyinin durumu duyarlılığı büyük ölçüde etkiler. Yüksek sıcaklıkta ($\sim 1000^{\circ}\text{C}$) SiOH gruplarının kuvars yüzeyinde hidrojenle reaksiyona girmesi H radikallerinin kaybedilmesine neden olur. Bu nedenle iyi bir performans için kuvars tüpün HF ile yıkanması önerilmektedir (Welz ve Melcher 1983).

2.6.2. Kurşun hidrürün oluşum mekanizması

Hidrür oluşumu NaBH_4 -asit indirgen sisteminin reaksiyonu ile gerçekleşir:



Kurşunun hidrürü dönüşümünde yükseltgen maddelerin varlığı Pb^{2+} , Pb^{4+} ya yükseltgerek kurşunun tayin duyarlığını arttırır. Bununla beraber bu yükseltgenlerle Pb^{4+} oluşumunun mekanizması henüz tam olarak bilinmemektedir. Yükseltgen maddelerin kurşun hidrür oluşumuna etkileri ve E° değerleri arasındaki üstel bağıntı artış etkilerine göre sırayla $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ($E^\circ = 1.33 \text{ V}$) < H_2O_2 ($E^\circ = 1.78 \text{ V}$) < $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ ($E^\circ = 2.01 \text{ V}$) şeklindedir.

Kurşun hidrür oluşumunda NaBH_4 'ün H^+ donörü olarak kararsız Pb^{4+} bileşiklerinin oluşmasındaki rolü şöyle gösterilebilir (Madrid ve Cámara 1994):



Ortamda kelatlaştırıcı maddelerin bulunması Pb^{2+} 'nın Pb^{4+} ya dönüşümünü kolaylaştırmaktadır. Ara ürün oluşumunda ve stabilizasyonda kelatlaştırıcı olarak laktik, malik ve tartarik asit kurşunun hidrürü dönüşümünü artttırıcı etki yaptığı bildirilmiştir (Madrid ve Cámara 1994).

2.6.3. Kurşun hidrür sistemindeki girişimler

Analiz elementi matriksten gaz halinde hidrürü şeklinde ayrıldığı için HGAAS'de spektral girişimler önemsizdir. Spektral olmayan iki tür girişimden birincisi, hidrür dönüşümü boyunca sıvı faz içinde ortaya çıkabilecek ve gaz fazındaki analiz elementini etkileyebilecek girişimlerdir. İkincisi ise, hidrüre dönüşebilen çok sınırlı sayıdaki elementin buhar fazı girişimleridir. Bu girişimler hidrür oluşum hızını etkileyerek azaltabilirler.

Madrid ve Cámarra (1994)'ya göre hidrür oluşumda seçimlilik, ortama, yükseltgen maddeye, kelatlaştırıcıya ve atomizasyon sistemine bağlıdır. Kurşunun HGAAS'de seçimliliği sistematik olarak beş tip girişimden etkilenmektedir:

- 1- Hidrürü oluşturan elementler
- 2- Alkali ve toprak alkali metaller
- 3- Anyonlar
- 4- Geçiş metalleri
- 5- Partiküler etkiler

2.6.3.1. Hidrürü oluşturan elementlerin etkisi

Henüz tam olarak bilinmemekle birlikte AsSb gibi kararlı diatomik moleküllerin hidrürüne dönüşmesi (Ditrich ve Mandry 1986) veya serbest H radikalleri için hidrür türlerinin atomlaştırıcıda yarışması sözkonusu olabilir (Welz ve Melcher 1983).

Kurşun hidrür diğer hidrür formundaki elementlerden çok az etkilenir. Amonyum persülfat, potasyum bikromat ve hidrojen peroksit gibi yükseltgen maddelerle kurşun hidrürün oluşumu sırasında Sb, As ve Sn hidrürlerin oluşum oranı kurşunun 1:50.000'i kadardır. Bu da özellikle potasyum bikromatın girişim yok edici (interferences-free) etkisinin çok yüksek olmasından kaynaklanır. Se ve Te'ün hidrojen peroksit ve persülfat ortamlarında kurşuna göre hidrür oluşum oranlarının 1:1 ve 1:10 oranında olduğu

bildirilmektedir (Madrid ve Cámara 1994). D'Ulivo ve Papoff (1985), 5 µg/L kurşun sinyalinin Se ve Te'ün 200 µg/L seviyesinde olduğu zaman problem olduğunu, diğer hidrür formundaki elementlerin ise Pb sinyaline etkisi olmadığını göstermişlerdir (Madrid ve Cámara 1994).

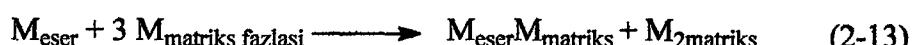
Bonilla vd (1987)'ye göre nitrik asit-hidrojen peroksit ortamında Se ve Te'ün Pb sinyaline etkisi %65 ve %84'dür. As, Bi ve Sb'un ise etkisi yok denecek kadar azdır (1:10.000).

Madrid vd (1988)'e göre, nitrik asit-amonyum persülfat ortamında Se^{4+} 'ün girişim oranı 1:100, Sn^{4+} , Bi^{3+} ve As^{3+} 'nın ise analitik sinyale etkisi yoktur (1:100.000).

Se^{4+} , Sb^{3+} , Bi^{3+} , Sn^{4+} , Te^{4+} ve As^{3+} dan gelen girişimler laktik asit-potasium bikromat ortamında incelenmiş, Se ve Te'ün oranının 1:100.000'e düşüğü görülmüştür. Bu da anlamlı değildir (Madrid ve Cámara 1994).

Bu çalışmalar göstermektedir ki HGAAS ile Pb tayininde hidrür formundaki elementlerin girişimleri önemli değildir.

Welz ve Melcher (1983) kararlı diatomik moleküllerin oluşumu şeklinde bir girişimden söz etmektedir. Ditrich ve Mandry (1986) ise şöyle önermektedir:



Elementlerarası girişimler genellikle atomlaştırıcıda gerçekleşir. Hidrür oluşumu sırasında sıvı fazda olabilecek girişimler ise seçilen yükseltgen maddeye bağlı olarak ortadan kaldırılabilir.

2.6.3.2. Alkali ve toprak alkali metallerin etkisi

Alkali ve toprak alkali metallerin girişim oranları $1:10^6$ kadardır. Hatta analitik sinyale pozitif bir etkisi olduğu bildirilmekle beraber henüz tam olarak açıklanamamıştır (Bonilla vd 1987).

2.6.3.3. Anyonların etkisi

Çok miktarda klorür ve bromür varlığında analitik sinyalin $1:100.000$ oranında etkilendiği bildirilmektedir (Madrid ve Cámara 1994). Oysa klorür ETAAS'de en önemli girişimlerden biridir.



Sodyum borhidrür ile reaksiyon PbH_4 'ün verimini artırmakta ve reaksiyon sağa doğru kaymaktadır. Sülfat, perklorat, fosfat ve EDTA ile benzer şekilde Zn^{2+} ile de çalışılmış ve bu iyonların kurşunun analitik sinyaline etkisinin olmadığı anlaşılmıştır (Castillo vd 1985, Madrid ve Cámara 1994).

2.6.3.4. Geçiş metallerinin etkisi

Hidür sisteminde kuşun tayini ile ilgili olarak geçiş metallerinin etkisi hala tartışımlı bir konudur. Genel kanı $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ + malik veya tartarik asit ortamında geçiş metali etkilerinin en aza indirgendiği yönündedir (Madrid ve Cámara 1994).

2.6.4. Düşük konsantrasyonlarda kurşun tayininde HGAAS'ın ETAAS'ye üstünlükleri

Yakın zamana kadar biyolojik örneklerde kurşunun tayini için ETAAS kullanılmıştır. Çok yüksek matriks etkisi yüzünden tayinler 283.3 nm dalga boyunda yapılmış ve daha duyarlı bir dalga boyu olan 217.0 nm kullanılamamıştır. ETAAS'de

mutlaka bir matriks düzenleyiciye ihtiyaç duyulmuştur. HGAAS, ETAAS'ye bir alternatif olarak geliştirilmiştir ve avantajları vardır. Bu avantajlar, özellikle biyolojik örneklerde kurşunun tayininde önemli rol oynar (Madrid ve Cámara 1994):

- 1- Analiz elementini matrikten ayırdığı için yüksek seçimlilik sağlar ve olası matriks girişimlerini ortadan kaldırır.
- 2- 283.3 nm'ye göre daha duyarlı bir dalga boyu olan 217.0 nm'de çalışmaya olanak verir.
- 3- ETAAS'den daha ucuza mal olur.
- 4- Analiz süresi daha kısaltır.
- 5- Otomasyona daha uygundur.
- 6- ETAAS'de kullanımı elverişsiz olan HClO_4 'ün mineralizasyonda kullanılmasına olanak verir.
- 7- Gözlenebilme sınırı ng/L seviyesindedir ve özellikle ultra-eser seviyelerde kurşun analizinin kolaylıkla yapılmasını sağlar.

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

Çalışmada Ankara Numune Hastanesi Hematoloji Laboratuari'na başvuran rastgele seçilmiş 71 hastadan ve NEL Nükleer Elektronik Sanayi'nde çalışan, kurşuna maruz kaldıkları düşünülen 8 kişiden alınan kan örnekleri ile , Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü ve Araştırma Merkezi'nden gönüllü olan 8 kişiden alınan kan ve 5 kişiden alınan saç örnekleri kullanıldı.

3.1. Örneklerin Toplanması

Kan örnekleri tek kullanımlık vacutainer iğneleri ile vakumlu K₃EDTA'lı tüpler içine alındı. Kandaki kurşunun ~ % 90'ının eritrositlerde bulunması nedeniyle kanda kurşun tayini için tam kan kullanıldı. K₃EDTA'nın buradaki rolü ise antikoagulan olarak kanın pihtilaşmasını önlemektir. Kan örnekleri -20°C'de analizleri yapılmaya kadar saklandı.

Saç örnekleri paslanmaz çelik bir makas ile oksipital bölgeden (başın enseye yakın arka kısmından) kesilerek alındı. Analiz için saçın köke yakın 1-2 cm'lik kısmı kullanıldı. Bunun nedeni vücuttaki element konsantrasyonunu göstermesi bakımından en son uzayan ve vücuda en yakın kısım olmasıdır.

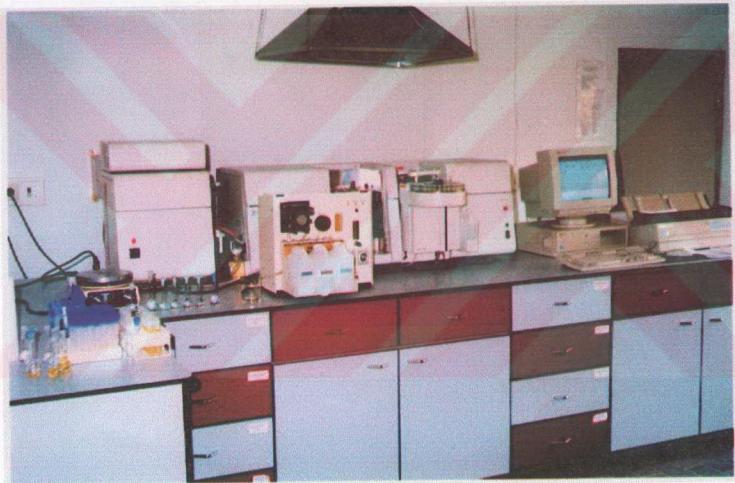
3.2. Örneklerin Seçilmesi

Ankara Numune Hastanesi'nden alınan kan örnekleri iki gruba ayrılarak incelendi. Birinci grup, Ankara'da yaşayan ve yoğun trafik ve kirli çevre koşullarından etkilenen 43 kişiden, ikinci grup ise kırsal kesimden gelen ve yaşamlarını daha temiz çevre koşullarında sürdürden 28 kişiden oluşmaktadır. A.Ü. Fen Fakültesi ve Araştırma Merkezi örnekleri de ayrı bir grup olarak değerlendirildi. Kurşuna maruz kalan grubu ise NEL Nükleer Elektronik Sanayi işçileri oluşturdu.

3.3. Kullanılan Cihazlar

3.3.1. Atomik absorpsiyon spektrofotometresi

Ölçümler Hitachi Z-8200 Polarize Zeeman atomik absorpsiyon spektrofotometresi (resim 3.1) ile yapıldı. Cihaz polarize Zeeman etkili zemin düzeltme sistemine sahip ve tamamen bilgisayar kontrollü olarak çalışmaktadır. 8 elementin ardarda tayinine olanak verebilen bir lamba tutucu sistemi bulunmaktadır.

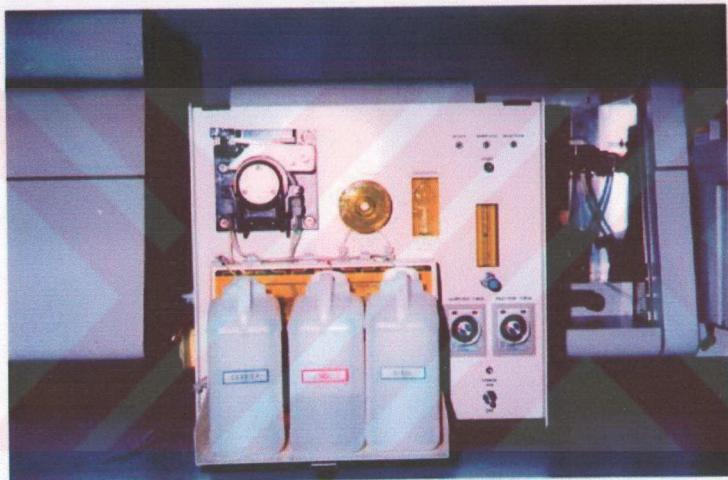


Resim 3.1. Hitachi Z-8200 Polarize Zeeman atomik absorpsiyon spektrofotometresi

Alev ve elektrotermal atomlaştırcıların her ikisi de spektrofotometre üzerinde kullanıma hazır olarak mevcuttur. Alev sisteminde Hitachi SSC-110 , grafit sisteminde ise Hitachi SSC-300 otomatik örnekleyiciler kullanılmaktadır.

3.3.2. Hidrür sistemi

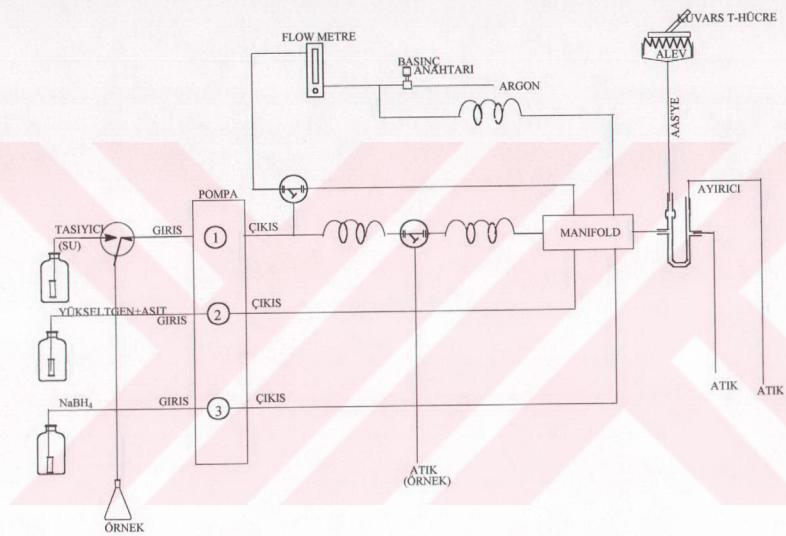
Kurşunun hidrürü dönüştürülmesi için Hitachi HFS-2 hidrür dönüştürme sistemi kullanıldı (resim 3.2). Bu sistem AAS cihazına bağlanabilen bir perilstatik pompadan ibaret otomatik bir sistemdir.



Resim 3.2. Hitachi HFS-2 hidrür dönüştürme sistemi

Pompadan çıkan gaz halindeki hidrür buharları argon gazi akışı ile aleve yerleştirilmiş kuvars T-hücre içine gönderilerek atomizasyon sağlanmaktadır (resim 3.3, şkil 3.1)

Örnek aspirasyon süresi ve reaksiyon süresi 0-60 s arasında ayarlanabilmektedir. Kullanılan reaktifler 3 ayrı kanaldan, örnek ayrı bir aspirasyon borusu ile sisteme gönderilmektedir. Reaktiflerin örneğin cihaza girişi ve hidrür sisteminin ayrıntılı işleyiş şeması şkil 3.1'de verilmiştir.



Sekil 3.1. Hitachi HFS-2 hidrür oluşturma sistemi'nin işleyiş şeması



Resim 3.3. Alevle ısıtılan kuvars hücre (solda)
Elektrotermal atomlaştırcı ve SSC-300 otomatik örnekleyici (sağda)

3.3.3. Mikrodalga örnek çözücü

Örneklerin asit parçalanıp analize hazırlanması için Milestone MLS-1200 Mega (resim 3.4) Mikrodalga Fırın (microwave acid digestion system) kullanıldı. Mikrodalga fırın yüksek güçte mikrodalga enerjisi ile çeşitli örneklerin uygun asit karışımı içinde çözülmesini sağlayan ve özellikle AAS ve ICP analizleri için geliştirilmiş bir sistemdir.

Cihazın software'i 20 yakma programını hafızada tutabilecek, 10 basamağa kadar program yapmaya uygun şekilde hazırlanmıştır. Ayrıca bilgisayar kontrollü olarak da çalışabilmekte ve bir referans kabı içine yerleştirilen basınç ve sıcaklık problemleri yardımıyla örnek kabının iç ve dış sıcaklığı ile basıncın bir grafikle ekrandan takip edilmesine olanak vermektedir.



Resim 3.4. Milestone MLS-1200 Mega mikrodalga sistemi

Bu çalışmada örneklerin parçalanması için MDR 1000/6 mikrodalga yüksek basınç yakma rotoru (resim 3.5) kullanıldı. Rotor kapalı kapta yakma işlemleri için dizayn edilmiştir ve 110 barr basınçta, 240°C sıcaklığı kadar dayanıklıdır. Bir defada TFM örnek kapları kullanılarak 6 adet örneğin kısa sürede parçalanması sağlanabilmektedir.

Mikrodalga ile parçalanmalarda işlem çok kısa (\sim 20 dakika) süregi için hız önemli bir avantajdır. Bunun yanısıra kapalı kap içinde ve yüksek basınçta çalışılabildeği için buharlaşma kayıpları önlenir ve bu nedenle az miktarda reaktifle çalışılabilir. Böylece reaktiflerden gelebilecek kirlenmeler en aza indirgenir.

Bu çalışmada mikrodalga fırın sağladığı en önemli avantaj ise, örneklerin kapalı kaplar içinde çözülmesine olanak sağladığı için kurşun, kadmiyum, selenyum, arsenik, cıva, kalay, bizmut, tellür gibi kolay buharlaşan elementlerin çözme işlemi sırasında ortamdan uzaklaşması riskini ortadan kaldırmasıdır.



Resim 3.5. MDR 1000/6 mikrodalga yüksek basınç rotoru

3.3.4. Su saflaştırma sistemi

Jencons Autostill marka su distilasyon cihazı ile elde edilen su Labconco deionize su cihazından geçirilerek $\sim 18\text{ M}\Omega$ iletkenlikte deionize su elde edilmektedir. Deneylerde kullanılan tüm çözeltiler bu su ile hazırlandı.

3.4. Kimyasal Maddeler

Amonyum Persülfat, SIGMA A-6761

Amonyum Bikromat, Riedel de Häen, rein, krist. 12203

Aseton, Merck, 13

Deionize Deterjan, Aldrich, 33,097-3 Aquet liquid detergent

Hidroflorik Asit (% 40), Merck, 337

Hidrojen Peroksit (% 30), Merck, 8597

Laktik Asit; Merck, reinst, 366

Malik Asit, Riedel de Häen, rein, 39276

Nitrik Asit (% 65), Merck, 442
Salisilik Asit; Merck, extra pure, 631
Sodyum Borhidrür, Merck, fine granular, 806372
Sodyum Bizmutat, Merck, pro analysi, 6348
Tartarik Asit, Merck, pro analysi, 804

3.5. Kullanılan Çözeltiler

3.5.1 Kurşun standart çözeltileri

Kurşun standart çözeltileri Wako Pure Chemical Industries Ltd. Lot No. YLF9103 1000 mg/L'lik kurşun stok standart çözeltisinden hazırlandı. Stok standart çözelti $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 'nin 0.1 M HNO_3 içinde çözülmesi ile hazırlanmıştır. Deneysel çalışmalarında kullanılan standartlar, stok standarttan aynı oranda HNO_3 içinde seyreltildi.

3.5.2. Sodyum borhidrür [sodyum tetrahidroborat (III)] çözeltisi

Örneklerin kurşun konsantrasyonlarının ölçümlü sırasında % 4'lük (w/v) NaBH_4 çözeltisi kullanıldı. Çözelti 1 g NaOH (% 0.1 w/v) ile 40 g NaBH_4 'ün 1000 ml suda çözülmesi ile hazırlandı. Yöntemin optimizasyonu sırasında % 2, % 4, % 6 ve % 8'lük NaBH_4 çözeltileri de kullanıldı.

NaBH_4 çözeltilerinin taze olarak kullanımından hemen önce hazırlanması gerekmektedir. Tüm NaBH_4 çözeltileri 0.45 μ Millipore filtreden süzüldükten sonra kullanıldı.

3.5.3. Amonyum bikromat çözeltisi

% 2'lük (w/v) $(\text{NH}_4)_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ çözeltisi, 2 g $(\text{NH}_4)_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 'nin 0.72 mol/L 100 ml HNO_3 içinde çözülmesi ile hazırlandı.

3.5.4. Sodyum bizmutat çözeltisi

% 2'lik (w/v) NaBiO_3 çözeltisi, 2 g NaBiO_3 'ün 0.72 mol/L 100 ml HNO_3 içinde çözülmesi ile hazırlandı.

3.5.5. Amonyum persülfat çözeltisi

% 2'lik (w/v) $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ çözeltisi, 2 g $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ 'in 0.72 mol/L 100 ml HNO_3 içinde çözülmesi ile hazırlandı.

3.5.6. Hidrojen peroksit çözeltisi

2 ml (% 30 v/v) hidrojen peroksinin 0.72 mol/L 100 ml HNO_3 içinde çözülmesi ile hazırlandı.

3.5.7. Malik asit çözeltileri

3.5.3'de anlatılan amonyum bikromat ve 3.5.4'de anlatılan sodyum bizmutat çözeltileri % 1, % 2, % 4, % 6, % 8, % 10, %12 ve % 14 malik asit (w/v) içerecek şekilde seri olarak hazırlandı.

3.5.8. Tartarik asit çözeltileri

3.5.3'de anlatılan amonyum bikromat ve 3.5.4'de anlatılan sodyum bizmutat çözeltileri % 1, % 2, % 4, % 6, % 8, % 10, %12 ve % 14 tartarik asit (w/v) içerecek şekilde seri olarak hazırlandı.

3.5.9. Salisilik asit çözeltileri

3.5.3'de anlatılan amonyum bikromat ve 3.5.4'de anlatılan sodyum bizmutat çözeltileri % 1, % 2, % 4, % 6, % 8, % 10, %12 ve % 14 salisilik asit (w/v) içerecek şekilde seri olarak hazırlandı.

3.5.10. Laktik asit çözeltileri

3.5.3'de anlatılan amonyum bikromat ve 3.5.4'de anlatılan sodyum bizmutat çözeltileri % 1, % 2, % 4, % 6, % 8, % 10, %12 ve % 14 laktik asit (v/v) içerecek şekilde seri olarak hazırlandı.

Tüm çözeltiler kullanımdan hemen önce taze olarak hazırlandı.

3.6. Cam ve Plastik Malzemelerin Temizlenmesi

Deneylerde kullanılan tüm cam ve plastik malzemeler en az 48 saat % 10'luk (v/v) nitrik asit çözeltisi içinde bekletildikten sonra üç kez distile su ile yıkanarak durulandı ve üç kez de deiyonize sudan geçirildikten sonra kurutularak kullanıldı.

Atomlaştırıcıda kullanılan kuvars T-hücrenin temizliği her çalışmadan önce kısa bir süre % 10 (v/v) HF içinde bekletilerek yapıldı.

Mikrodalga firında örnek çözmede kullanılan özel TFM kapların temizliği ise yine mikrodalga fırın kullanılarak yapıldı. Cihazın kullanma kitabında önerildiği şekilde her bir kabin içine 5 ml HNO₃ (% 65) koyularak cihaz 5 dakika 500 W güçte çalıştırılarak kaplar temizlendi ve deiyonize su ile iyice durulanıp kurutulduktan sonra kullanıldı.

4. DENEYSEL ÇALIŞMA

4.1. Örneklerin Hazırlanması

Örneklerin parçalanması ve analize hazırlanması amacıyla 3.3.3'de anlatılan mikrodalga örnek çözücü kullanıldı. Kan ve saç örneklerinin her ikisi için de aynı yakma programı uygulandı. Kullanılan mikrodalga programı çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Örneklerin çözülmesinde uygulanan mikrodalga yakma programı

Aşama	Zaman (dakika)	Güç (W)
1	2	250
2	2	0
3	6	250
4	5	400
5	5	650

4.1.1. Kan örneklerinin hazırlanması

3.1'de açıklandığı şekilde toplanan kan örnekleri nitrik asit, su ve hidrojen peroksit karışımında parçalandı. Bu amaçla 2 ml kan örneği üzerine 2 ml nitrik asit, 2 ml su ve 1 ml hidrojen peroksit eklenderek çizelge 4.1'deki mikrodalga yakma programı uygulandı. Toplam hacim 10 ml olacak şekilde seyreltildi.

4.1.2. Saç örneklerinin hazırlanması

Saç örnekleri yakma işleminden önce yağ ve kirlerinden arındırıldı. Bunun için örnekler önce bir gece deiyonize deterjan (%1 v/v) içinde bekletildi. Sonra deiyonize su ile durulandı ve her birinin üzerine ~25 ml aseton eklenderek 10 dakika bekletildi. Bir kez daha su ile yıkandıktan sonra tekrar aseton eklenderek bekletildi. 70°C'de etüvde

sabit tartıma gelinceye kadar kurutuldu ve tartıldı (Dinçer ve Akar 1995). Tartımları alınan saç örnekleri 1 ml nitrik asit, 1 ml su ve 0,5 ml hidrojen peroksit eklenerek 4.1'de anlatıldığı şekilde yakılarak parçalandı. Toplam hacim 5 ml olacak şekilde seyreltildi.

4.2. Hidrür Sistemi ile Yapılan Çalışmalar

Çalışmanın başlangıcında kurşunun yüksek konsantrasyonlarından başlanarak farklı konsantrasyon aralıklarında standart kurşun çözeltileriyle dört ayrı yükseltgen madde kullanılarak denemeler yapıldı. Yükseltgen madde olarak amonyum bikromat, amonyum persülfat, hidrojen peroksit ve sodyum bizmutat kullanıldı.

Bu yükseltgen maddeler önce en uygun nitrik asit konsantrasyonunun belirlenmesi amacıyla nitrik asidin farklı konsantrasyonlarında 100 ng/ml kurşun ile denendi. Bunu izleyen aşama düşük konsantrasyonlarda kurşun tayininde iyi performans gösteren yükseltgen maddelerin seçilmesi ve kelatlaştırıcı asitlerin etkilerinin incelenmesidir. Bu şekilde en uygun asit-yükseltgen-kelatlaştırıcı karışımı seçilerek örneklerin analizinde kullanıldı. İllerleyen bölümlerde burada kısa olarak özetlenen sözkonusu aşamalar ayrıntılı olarak açıklanacaktır.

4.2.1. Hidrür sisteminde atomik absorpsiyon koşulları

Hitachi Z-8200 AAS ve HFS-2 Hidrür sistemi için programlanan çalışma koşulları çizelge 4.2'de verilmiştir.

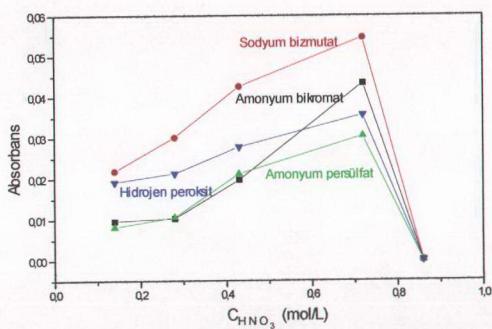
4.2.2. Nitrik asit konsantrasyonunun seçilmesi

3.5.3, 3.5.4, 3.5.5 ve 3.5.6'da açıklanan amonyum bikromat, sodyum bizmutat, amonyum persülfat ve hidrojen peroksit çözeltileri 0.14, 0.28, 0.43, 0.72 ve 0.86 mol /L HNO_3 içinde hazırlanarak % 4 NaBH_4 çözeltisi ile reaksiyonu sonucunda 100 ng/ml kurşunun absorpsiyonundaki değişim ölçüldü. Kurşunun absorbans değerlerinin nitrik

Çizelge 4.2. HGAAS'de atomik absorpsiyon çalışma koşulları

Işık Kaynağı	Hitachi marka oyuk katot lambası
Dalga Boyu	217.0 nm
Lamba Akımı	10.0 mA
Slit genişliği	1.30 nm
Atomlaştırıcı	Alevle ısıtılan kuvars T- hücre
Alev	Hava/Asetilen alevi
Asetilen Akış Hızı	1.0 L/dak.
Hava Basıncı	200 kPa
Hava Akış Hızı	17.8 L/dak.
Alev Yüksekliği	12.5 mm
Taşıyıcı Gaz	Argon
Argon Akış Hızı	150 ml/dak.
Reaksiyon Süresi	30 s
Örnekleme Süresi	30 s
Ölçüm Süresi	20 s
Ölçüm Yöntemi	Standart Ekleme
Zemin Düzeltmesi	Yok

asit konsantrasyonu ile paralel olarak arttığı gözlandı (şekil 4.1). Ancak 0,72 mol/L'nin üzerinde çalışıldığı zaman reaksiyon çok şiddetlendiği ve hidrür sisteminde sıvı taşarak atomlaştırıcıya kadar ulaştığı için daha yüksek HNO_3 konsantrasyonlarında çalışmamadı.



Şekil 4.1. 100 ng/ml kurşunun absorbansının $(\text{NH}_4)_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, NaBiO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ ve H_2O_2 ortamlarında HNO_3 konsantrasyonu ile değişimi

4.2.3. Kurşun standart çözeltileri ile yapılan denemeler

Çalışmanın bu bölümünde 3.5.1'de açıklandığı şekilde hazırlanan kurşun standart çözeltileri ile, $(\text{NH}_4)_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, NaBiO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ ve H_2O_2 'nin 0.72 mol/L HNO_3 içinde hazırlanan çözeltileri incelendi. Deneyler % 4 NaBH_4 kullanılarak yapıldı. Kurşunun çalışılan konsantrasyon aralıkları ve söz konusu dört ayrı yükseltgen-asit karışımında absorbansların konsantrasyona göre değişimi:

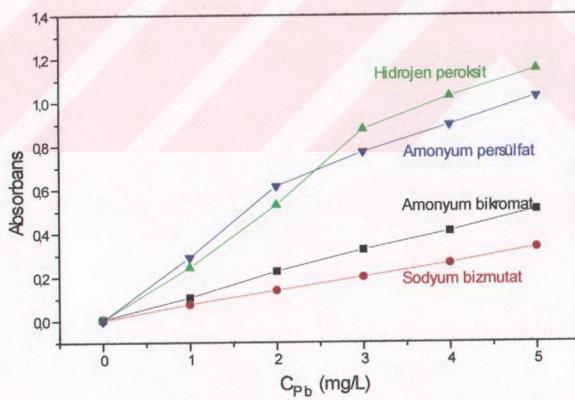
0 ile 5 mg/L arasında, şekil 4.2'de

0 ile 1 mg/L arasında, şekil 4.3'de

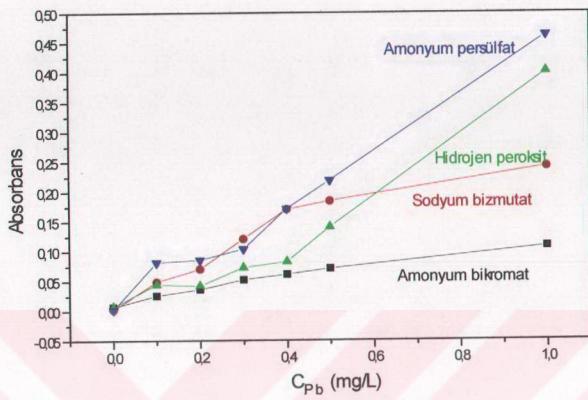
0 ile 500 ng/ml arasında, şekil 4.4'de

0 ile 200 ng/ml arasında, şekil 4.5'de

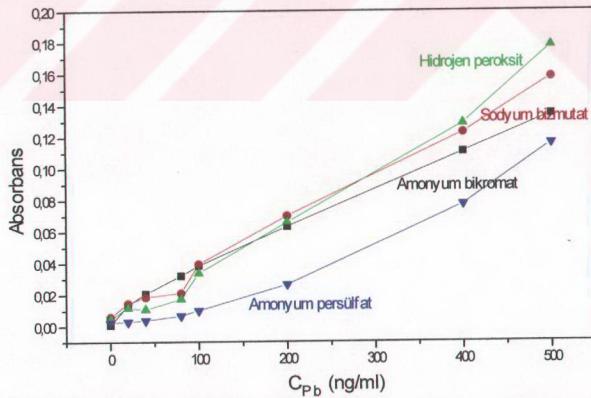
0 ile 100 ng/ml arasında, şekil 4.6'da görülmektedir.



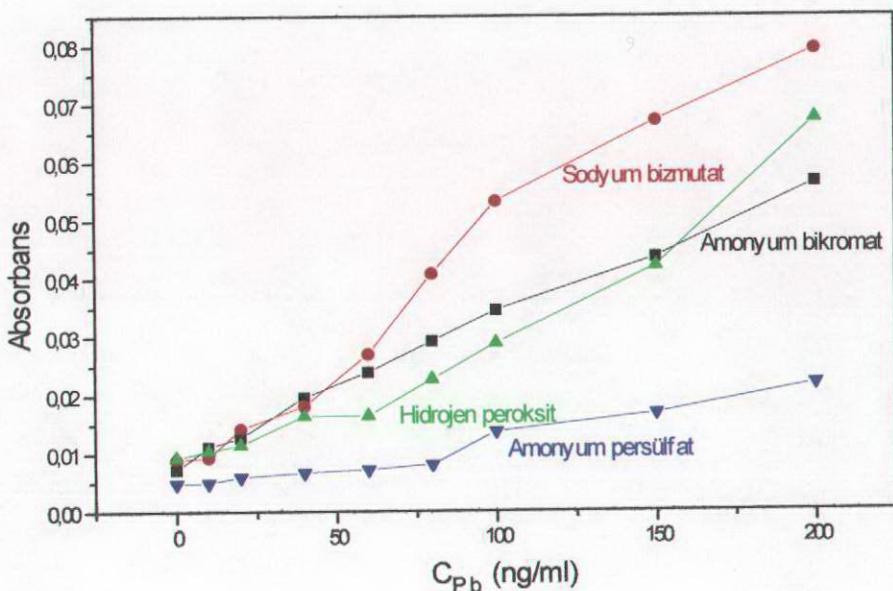
Şekil 4.2. 0-5 mg/L kurşun içeren çözeltilerde $(\text{NH}_4)_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, NaBiO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ ve H_2O_2 ile elde edilen absorbansların konsantrasyonla değişimi



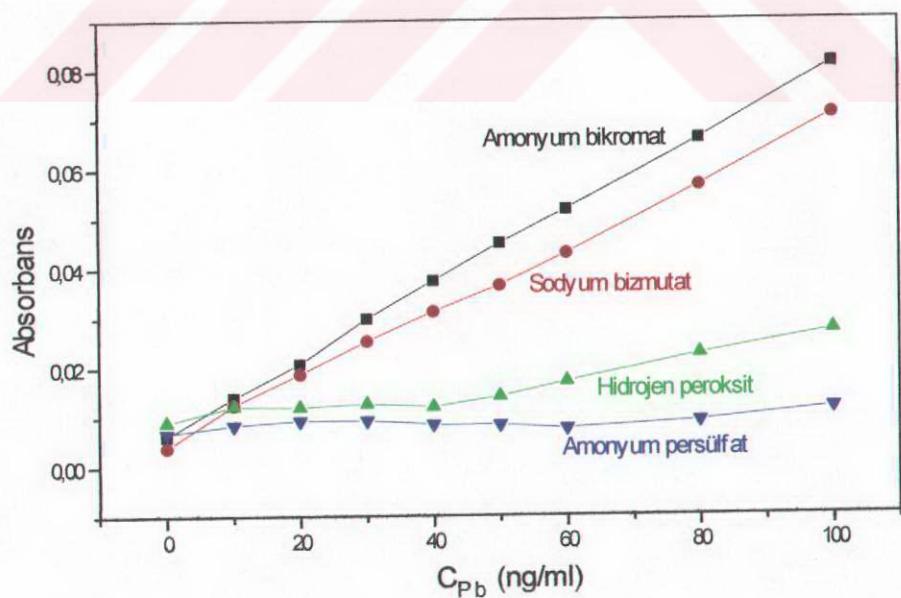
Şekil 4.3. 0-1 mg/L kurşun içeren çözeltilerde $(NH_4)_2Cr_2O_7$, $NaBiO_3$, $(NH_4)_2S_2O_8$ ve H_2O_2 ile elde edilen absorbansların konsantrasyonla değişimi



Şekil 4.4. 0-500 ng/ml kurşun içeren çözeltilerde $(NH_4)_2Cr_2O_7$, $NaBiO_3$, $(NH_4)_2S_2O_8$ ve H_2O_2 ile elde edilen absorbansların konsantrasyonla değişimi



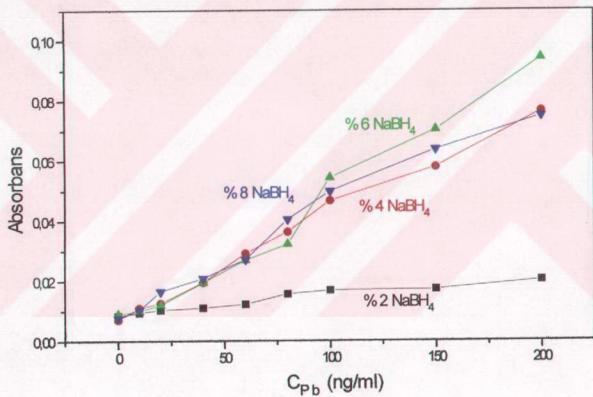
Şekil 4.5. 0-200 ng/ml kurşun içeren çözeltilerde $(NH_4)_2Cr_2O_7$, $NaBiO_3$, $(NH_4)_2S_2O_8$ ve H_2O_2 ile elde edilen absorbansların konsantrasyonla değişimi



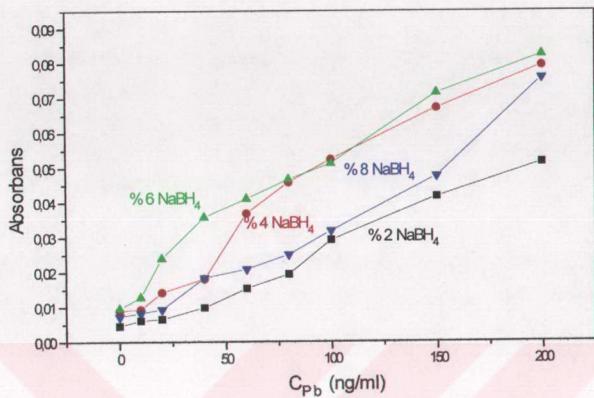
Şekil 4.6. 0-100 ng/ml kurşun içeren çözeltilerde $(NH_4)_2Cr_2O_7$, $NaBiO_3$, $(NH_4)_2S_2O_8$ ve H_2O_2 ile elde edilen absorbansların konsantrasyonla değişimi

4.2.4. Sodyum borhidrür konsantrasyonunun etkisi

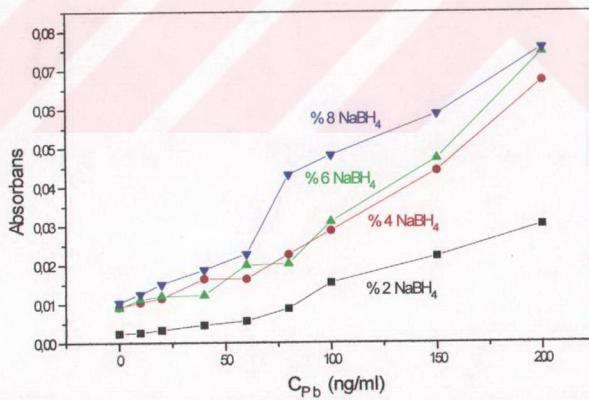
Buraya kadar olan kısmda NaBH_4 konsantrasyonu % 4 olarak seçilmişti. Ancak PbH_4 oluşumunda NaBH_4 konsantrasyonunun etkisi göz önünde bulundurularak 4.2.3'de sözü edilen yükseltgen-asit karışımının her biri için 0-200 ng/ml konsantrasyon aralığındaki kurşun standart çözeltileri ile çalışıldı. Karışımın % 2, % 4, % 6 ve % 8 NaBH_4 ile reaksiyonlarının sonucunda en uygun NaBH_4 konsantrasyonu seçildi. NaBH_4 konsantrasyonunun yükseltgen-asit karışımı üzerine etkisi şekil 4.7, 4.8, 4.9 ve 4.10'da verilmiştir.



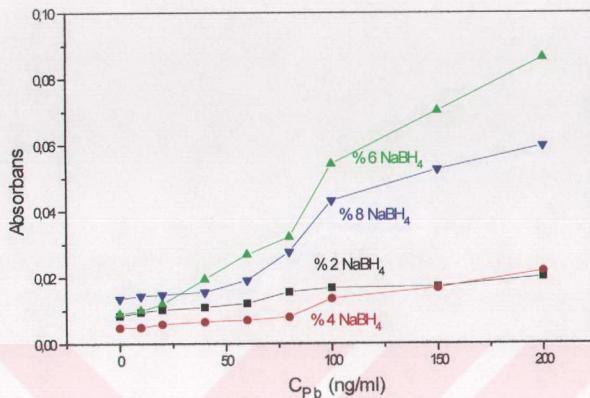
Şekil 4.7. NaBH_4 konsantrasyonunun $(\text{NH}_4)_2\text{Cr}_2\text{O}_7-\text{HNO}_3$ ortamında kurşun hidrür oluşumuna etkisi



Şekil 4.8. NaBH_4 konsantrasyonunun $\text{NaBiO}_3\text{-HNO}_3$ ortamında kurşun hidrür oluşumuna etkisi



Şekil 4.9. NaBH_4 konsantrasyonunun $\text{H}_2\text{O}_2\text{-HNO}_3$ ortamında kurşun hidrür oluşumuna etkisi



Şekil 4.10. NaBH_4 konsantrasyonunun $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8-\text{HNO}_3$ ortamında kurşun hidrür oluşumuna etkisi

4.2.5. Örnek aspirasyon ve reaksiyon sürelerinin etkisi

Hitachi HFS-2 hidrür sisteminde örnek aspirasyon ve reaksiyon süreleri 30 s olarak önerilmektedir. Fakat kurşunun hidrür sistemindeki çalışmaları yaygın olmadığından örnek aspirasyon ve reaksiyon sürelerindeki artışın hidrür oluşumunu da artırmabileceğini düşündürmek için önce reaksiyon süresi sabit tutularak örnek aspirasyon süresinin etkisi, daha sonra örnek aspirasyon süresi sabit tutularak reaksiyon süresinin etkisi incelendi. Bu işlemler yine yükseltgen-asit karışımının hepsine uygulandı. Örnek aspirasyon süresinin etkisini gösteren grafikler şekil 4.11, 4.12, 4.13 ve 4.14'de görülmektedir. Reaksiyon süresinin etkisi ise şekil 4.15, 4.1, 4.17 ve 4.18'de izlenebilir.

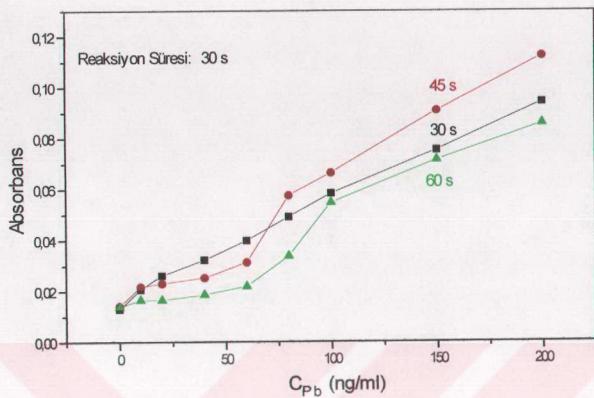
% 4 NaBH_4 ile yapılan deneylerde reaksiyon ve örnek aspirasyon süreleri:

1- Reaksiyon süresi: 30s (sabit)

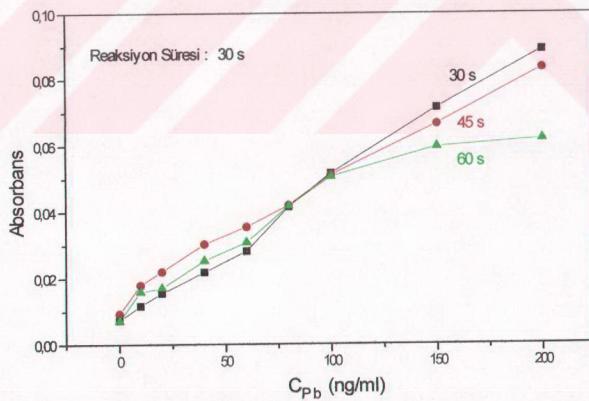
Örnek aspirasyon süresi: 30, 45 ve 60 sn olarak değiştirildi.

2- Örnek aspirasyon süresi: 30s (sabit)

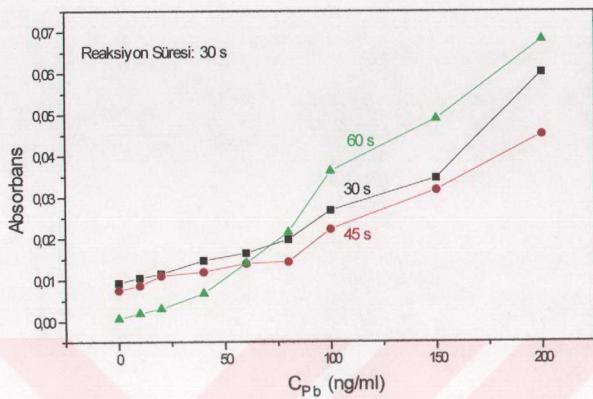
Reaksiyon süresi: 30, 45 ve 60 sn olarak değiştirildi.



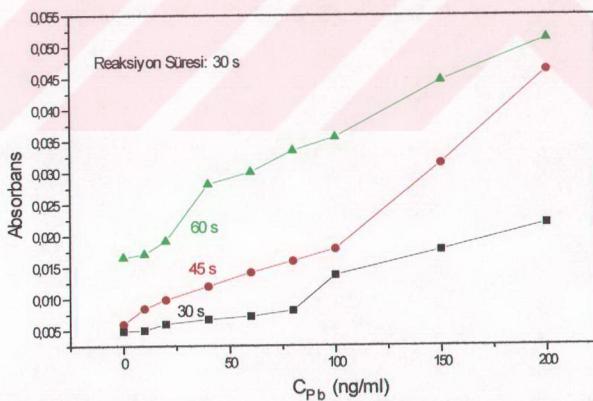
Şekil 4.11. Örnek aspirasyon süresinin $(\text{NH}_4)_2\text{Cr}_2\text{O}_7\text{-HNO}_3$ ortamında kurşun hidrür oluşumuna etkisi



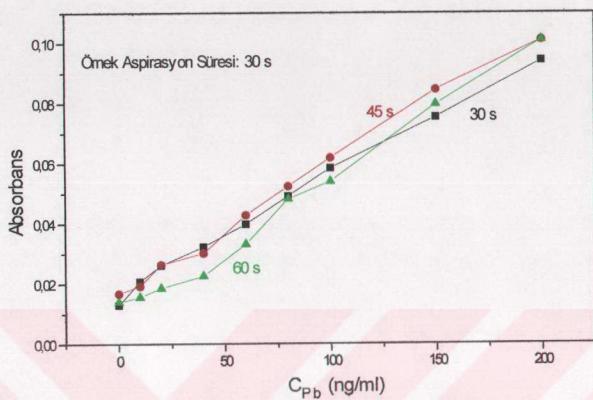
Şekil 4.12. Örnek aspirasyon süresinin $\text{NaBiO}_3\text{-HNO}_3$ ortamında kurşun hidrür oluşumuna etkisi



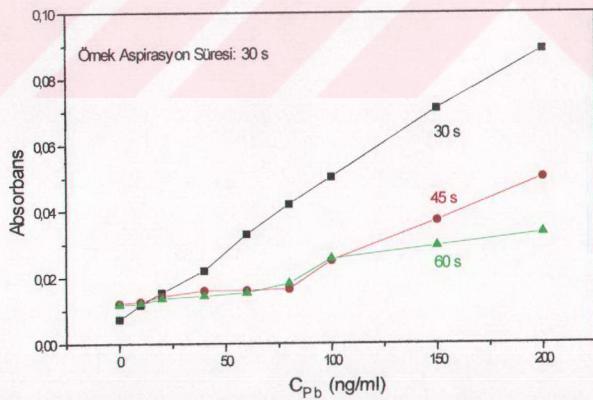
Şekil 4.13. Örnek aspirasyon süresinin $H_2O_2\text{-HNO}_3$ ortamında kurşun hidrür oluşumuna etkisi



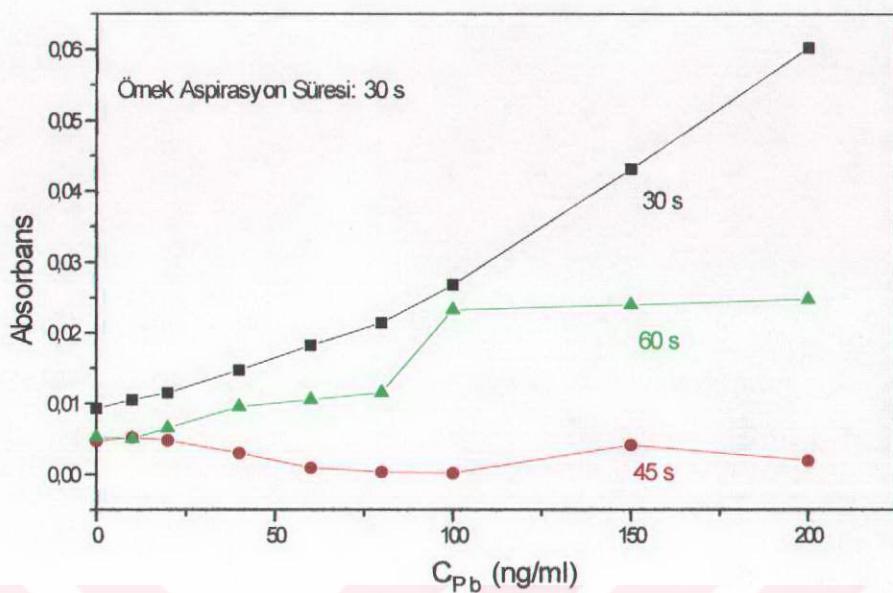
Şekil 4.14. Örnek aspirasyon süresinin $(NH_4)_2S_2O_8\text{-HNO}_3$ ortamında kurşun hidrür oluşumuna etkisi



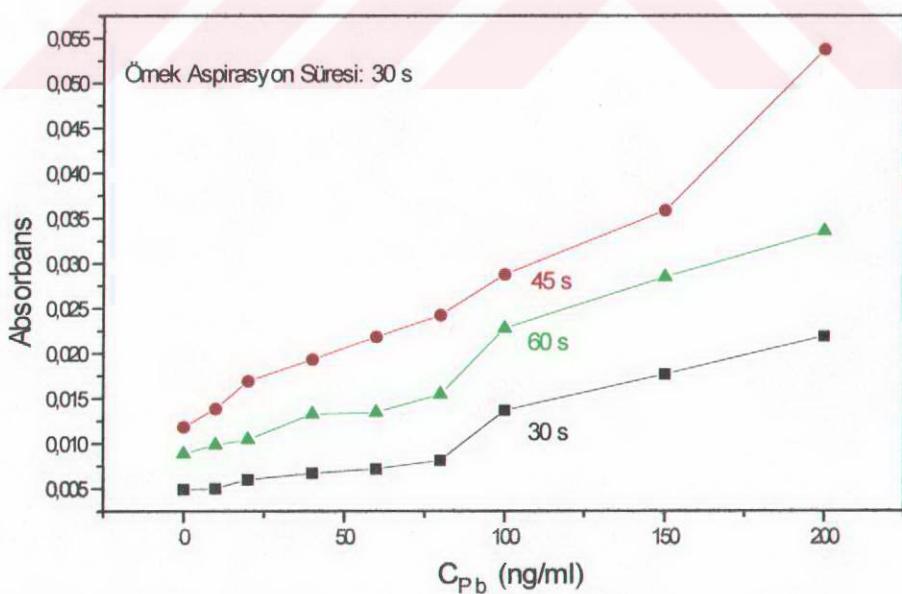
Şekil 4.15. Reaksiyon süresinin $(\text{NH}_4)_2\text{Cr}_2\text{O}_7\text{-HNO}_3$ ortamında kurşun hidrür oluşumuna etkisi



Şekil 4.16. Reaksiyon süresinin $\text{NaBiO}_3\text{-HNO}_3$ ortamında kurşun hidrür oluşumuna etkisi



Şekil 4.17. Reaksiyon süresinin H_2O_2 - HNO_3 ortamında kurşun hidrür oluşumuna etkisi

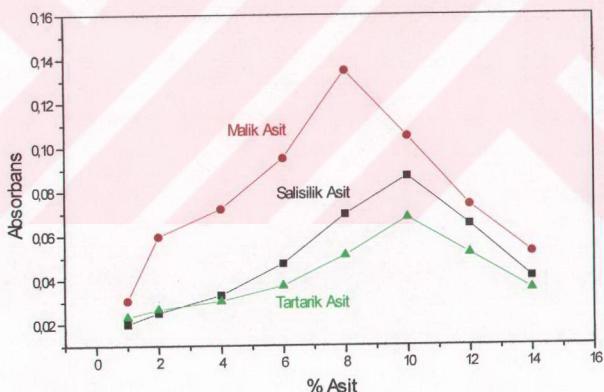


Şekil 4.18. Reaksiyon süresinin $(NH_4)_2S_2O_8$ - HNO_3 ortamında kurşun hidrür oluşumuna etkisi

4.2.6. Kelatlaştırcı asitlerin etkisi

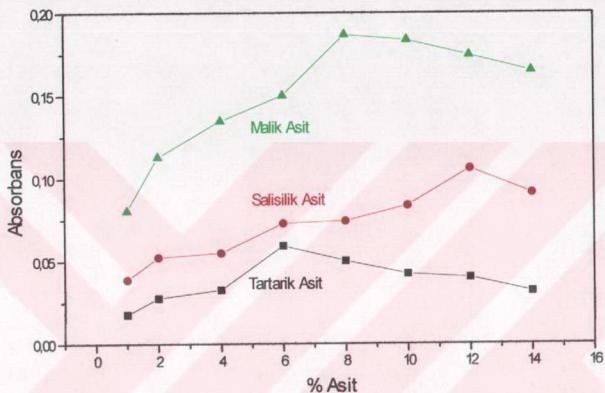
Çalışmanın buraya kadar olan bölümlerinde amonyum bikromat, sodyum bizmutat, hidrojen peroksit ve amonyum persulfat yükseltgenleri ile çalışıldı ve kurşun hidrür oluşumu için özellikle düşük konsantrasyonlarda sodyum bizmutat ve amonyum bikromat ortamlarının en iyi ortamlar olduğuna karar verildi.

Seçilen bu iki yükseltgen madde ortamında kelatlaştırcı asitlerin bulunması ile Pb^{4+} 'nın kararlılığı artmaktadır. Kelatlaştırcı maddenin seçilmesi amacıyla 3.5.7, 3.5.8, 3.5.9 ve 3.5.10'da açıklandığı şekilde hazırlanan yükseltgen + nitrik asit + kelatlaştırcı karışımıları hazırlandı ve 100 ng/ml kurşun çözeltisinde % 4 NaBH₄ kullanılarak absorbanslar ölçüldü. Kullanılan kelatlaştırcılar malik, tartarik, laktik ve salisilik asittir.



Şekil 4.19. $(NH_4)_2Cr_2O_7-HNO_3$ ortamında 100ng/ml kurşunun absorpsyonunun kelatlaştırcı asitlerle değişimi

En iyi sonucu vermesi beklenen laktik asit çok şiddetli reaksiyon verdiği için tipki nitrik asidin yüksek konsantrasyonlarında olduğu gibi kullanılamadı. Diğer üç kelatlaştırıcıının % 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12 ve 14 (w/v) oranlarında ortamda bulunması ile 100 ng/ml kurşunun absorpsiyonundaki değişimler şekil 4.19'da (amonyum bikromat için) ve şekil 4.20'de (sodyum bizmutat için) görülmektedir.

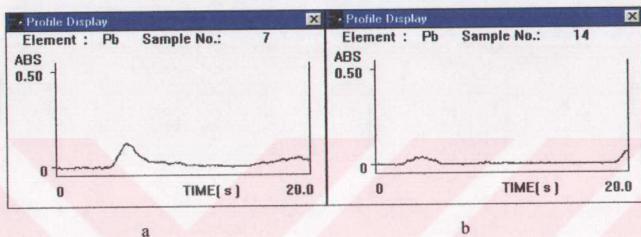


Şekil 4.20. $\text{NaBiO}_3\text{-HNO}_3$ ortamında 100ng/ml kurşunun absorpsiyonunun kelatlaştırıcı asitlerle değişimi

Şekil 4.19 ve 4.20'den de izlendiği gibi ortamda % 8 (w/v) oranında bulunan malik asidin absorbans değerlerini büyük ölçüde artttırduğu açıktır. Bu artış sodyum bizmutat ortamında amonyum bikromata göre çok daha fazladır. Bu nedenle önce örneklerin kurşun tayini için sodyum bizmutat + nitrik asit + malik asit ortamında çalışılmasına karar verildi. Nitrik asitle karşılaştığı zaman sodyum bizmutat koyu renkli bizmut oksitleri vererek çözünmüdü ve şimdide kadar yapılan çalışmalarla bu çökelek süzülerek çalışmalar gerçekleştirildi. Fakat örneklerin analizi için daha önceki deneylerde gerektiğiinden daha fazla çözeltiye ihtiyaç duyuldu ve hem süzme sırasında hem de reaksiyon kabında sodyum bizmutatin yükseltgen etkisini büyük ölçüde kaybettiği gözlandı. Bu nedenle sodyum bizmutatla çalışmanın uygun olmadığını ve

örneklerin analizi için amonyum bikromat (%2 w/v) + nitrik asit (0,72 mol/L) + malik asit (% 8 w/v) karışımının daha uygun olduğunu karar verildi. Tayinler standart ekleme ve çalışma grafiği yöntemleri kullanılarak yapıldı.

Amonyum bikromat ve % 8 malik asit ortamında 100 ng/ml kurşun ile elde edilen absorpsiyon piki şekil 4.21.a'da, malik asit bulunmayan ortamda elde edilen absorpsiyon piki ise şekil 4.21.b'de verilmiştir.



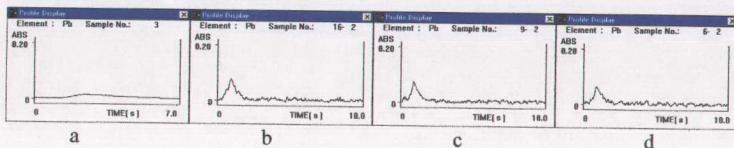
Şekil 4.21. 100 ng/ml kurşunun absorpsiyon piki: a. % 8 malik asit ile, b. Malik asit bulunmayan ortamda

4.3. ETAAS ile Yapılan Çalışmalar

Bu çalışmada asıl amaç HGAAS'nın kurşun tayininde genel olarak kullanılan ETAAS'ye bir alternatif yöntem olup olamayacağının araştırılmasıdır. Şimdiden kadar yapılan deneyler bunun mümkün olduğunu göstermiştir.

ETAAS ile yapılan araştırmalarda genellikle kanda kurşun tayini için örnek direkt olarak analiz edilmekte ve ortama bazı matriks düzenleyiciler eklenmektedir. Bu çalışmada örneklerin mikrodalga örnek çözütüde hazırlanması matriks düzenleyiciye gereksinimi ortadan kaldırdığı için ETAAS ile yapılan tayinlerde de büyük rahatlık sağlanmıştır. Mikrodalga yöntemiyle yüksek basınç ve yüksek sıcaklıkta örneklerin tamamen parçalanması sağlandığı için matriks etkisi büyük oranda yok olmuş ve parçalanma esnasında kullanılan nitrik asit yeterli olmuştur. Şekil 4.22.a'da matriks düzenleyici olarak $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (2g/L) + HNO_3 (2 ml/L) + Triton X-100 (0,5 ml/L)

kullanıldığından (Bannon vd 1994) bir örneğin ve 4.22 b, c ve d'de mikrodalga ile çözülmüş bazı örneklerin direkt enjeksiyonunda grafit küvette elde edilen absorpsiyon pikleri görülmektedir.



Şekil 4.22. a. Matriks düzenleyici ile, b, c ve d. Mikrodalgada çözülmüş örneğin direkt enjeksiyon ile elde edilen absorpsiyon pikleri

Örneklerde kurşun tayinleri 4.1.1 ve 4.1.2'de açıklandığı şekilde hazırlanarak direkt enjeksiyonla standart ekleme ve çalışma grafiği yöntemleri kullanılarak yapıldı.

4.3.1. ETAAS'de atomik absorpsiyon koşulları

ETAAS uygulamasında kullanılan atomik absorpsiyon koşulları çizelge 4.3'de, grafit fırının sıcaklık programı ise çizelge 4.4'de verilmiştir. Çizelge 4.5 ise deneme amaçlı yapılan matriks düzenleyici eklenen çalışmanın sıcaklık programını içermektedir.

Çizelge 4.3. ETAAS'de atomik absorpsiyon çalışma koşulları

Işık Kaynağı	Hitachi marka oyuk katot lambası
Dalga Boyu	283.3 nm
Lamba Akımı	7.5 mA
Slit Genişliği	1.30 nm
Küvet Tipi	Pyrolytic kaplama küvet
Enjeksiyon Hacmi	20 µl
Sıcaklık Kontrolü	Optik
Zemin Düzeltmesi	Zeeman etkili zemin düzeltme

Çizelge 4.4. Örneklerin analizinde uygulanan sıcaklık programı

Basamak	İlk Sıcaklık (°C)	Son Sıcaklık (°C)	Ramp (s)	Hold (s)	Gaz Akışı (ml/dak)
Kurutma	80	140	40	30	200
Kül etme	400	400	30	20	200
Atomlaşma	2000	2000		10	Yok
Temizleme	2200	2200		4	200

Çizelge 4.5. Matriks düzenleyici kullanılarak yapılan çalışmanın sıcaklık programı

Basamak	İlk Sıcaklık (°C)	Son Sıcaklık (°C)	Ramp (s)	Hold (s)	Gaz Akışı (ml/dak)
Kurutma	50	120	40	30	200
Kül etme	800	800	30	20	200
Atomlaşma	1800	1800		10	Yok
Temizleme	2200	2200		4	200

5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

5.1. Kurşun Hidrür Oluşumu İçin Uygun Ortamın Seçilmesi

Çalışmada, $(\text{NH}_4)_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$, NaBiO_3 ve H_2O_2 yükseltgenlerinin ortamlarında Pb^{2+} nın Pb^{4+} ya yükseltgenmesi sağlandıktan sonra aşırı miktarda NaBH_4 eklenerek PbH_4 oluşturuldu. Oluşan PbH_4 , argon gazı ile alevde ısıtılmış kuvars T-hücre içine taşınarak kurşunun atomizasyonu sağlandı.

Çalışmanın başlangıcında kurşunun yüksek konsantrasyonlarından yola çıkılarak sözü edilen yükseltgen ortamlarında kurşunun hidrürre dönüşüm verimi incelendi. İlk bakışta, özellikle yüksek konsantrasyonlarda (şekil 4.2 ve şekil 4.3) amonyum persülfat ve hidrojen peroksitin performansının amonyum bikromat ve sodyum bizmutata göre daha iyi olduğu göze çarpmaktadır. Düşük konsantrasyonlarda elde edilen sonuçlar ise, tam tersine amonyum bikromat ve sodyum bizmutat ortamlarının daha etkili olduğunu göstermektedir (şekil 4.5 ve şekil 4.6). Bu durum şekil 4.4'de açık olarak görülmektedir.

Sodyum borhidrür konsantrasyonunun kurşun hidrür verimine etkisi şekil 4.7, 4.8, 4.9 ve 4.10'da görülmektedir. Amonyum bikromat-nitrik asit ortamında artan sodyum borhidrür konsantrasyonun % 4 ve % 8 (w/v) arasında etkisi olmadığı gözlandı. (şekil 4.7). Sodyum bizmutat-nitrik asit ortamında da sodyum bizmutat konsantrasyonunun % 8 (w/v)'e çıkarılmasının herhangi bir etkisi olmadığı (şekil 4.8). Hidrojen peroksit-nitrik asit ve amonyum persülfat-nitrik asit ortamlarında ise, yüksek sodyum borhidrür konsantrasyonu absorbansı artırdı (şekil 4.9 ve şekil 4.10). Diğer iki ortamda sodyum borhidrür konsantrasyonunun % 4 (w/v) olduğu durumda yeterli sonuç alındığı için bunun önemi yoktur. Aynı zamanda sodyum borhidrürün çok yüksek konsantrasyonlarının kullanılmasının sakıncaları da vardır. Birincisi sodyum borhidrür pahalı bir maddedir ve daha az kullanılarak da istenen verim elde edilebiliyorsa kilolarca sodyum borhidrür kullanılmasının anlamlı değildir. Bundan daha da önemlisi çok fazla sodyum borhidrür kullanılması ile reaksiyon sırasında hidrojen çıkışları da çok artacağından bu durum kuvars tüpte atomizasyon sırasında sorunlara yol açabilir.

Hidrür sisteminde çalışılırken, örnek aspirasyon süresi ve reaksiyon sürelerinin iyi tespit edilmesi gereklidir. Minimum örnek hacmi ile maksimum verimin alınması hedeflenmelidir. Çünkü aspirasyon süresi doğrudan aspire edilen örneğin hacmini artırmaktadır. Aspire edilen örnek hacminin aspirasyon süresi ile ayarlanabilir olması aslında hidrür sisteminin ETAAS ve FAAS'ye en önemli üstünlüklerinden biridir. Birkaç saniye içinde 1-50 ml arasında örneğin tamamının atomlaştırıcıya ulaşması atomlaştırıcıda analiz elementinin atom sayısı yoğunluğunu artırmaktadır ve bu da istenen bir durumdur. Özellikle düşük konsantrasyonlarda çok önemli bir avantajdır. Bu nedenle örnek aspirasyon ve reaksiyon süreleri ile denemeler yapılarak en uygun sürelerin seçilmesi sağlandı.

Hitachi HFS-2 hidrür sistemi için önerilen örnek aspirasyon ve reaksiyon süreleri 30-40 saniye arasındadır. Buna rağmen bu sürelerin artmasının hidrür verimini de artıracığı düşüncesiyle farklı süreler için denemeler yapıldı. Amonyum bikromat, sodyum bizmutat ve hidrojen peroksitte örnek aspirasyon süresinin artırılmasının kurşun hidrür verimine pek etkisinin olmadığı gözlandı (Şekil 4.11, 4.12 ve 4.13). Amonyum persülfatla yapılan çalışmada ise örnek aspirasyon süresi 60 s olduğunda anlamlı ölçüde artış oldu (Şekil 4.14). Fakat absorbans değerleri izlenirse bunun pek anlamlı olmadığı görülür. Ayrıca bir başka faktör de bu çalışmada kullanılan örneklerin niteliğidir. Çünkü örnek aspirasyon süresinin artması aynı zamanda kullanılan örnek hacminin de artması anlamına gelmektedir ki bu da daha fazla kan örneğine ihtiyaç olduğu anlamına gelir. Bu da istenmeyen bir durumdur. Ayrıca amonyum bikromat ve sodyum bizmutat gibi büyük örnek hacmi gerektirmeyen yükseltgenler varken amonyum persülfatın bu özelliği bu çalışma için anlamlı değildir.

Reaksiyon süreleri için de aynı durum geçerlidir. Amonyum bikromat ve sodyum bizmutat 30 s reaksiyon süresinde çalışmadan beklenen performansı yeterince göstermektedirler.

Tüm bu deneylerin sonucunda, söz konusu dört yükseltgen madde arasında amonyum bikromat ve sodyum bizmutatın kurşun hidrürün oluşumunda kullanılabilecek

en iyi yükseltgenler olduğuna karar verildi. Bu nedenle kelatlaştırıcı asitlerle Pb^{4+} 'nın ortamındaki kararlılığını artırmak amacıyla yapılan deneyler de bu iki yükseltgen madde ile sınırlandı. Şekil 4.19 ve 4.20'de her iki yükseltgen madde için de malik asidin en uygun olduğunu göstermektedir. 4.2.6'da açıklanan nedenlerle örneklerin analizi için amonyum bikromat (% 2 w/v) + nitrik asit (0,72 mol/L) + malik asit (% 8 w/v) karışımının en uygun ortam olduğuna karar verildi.

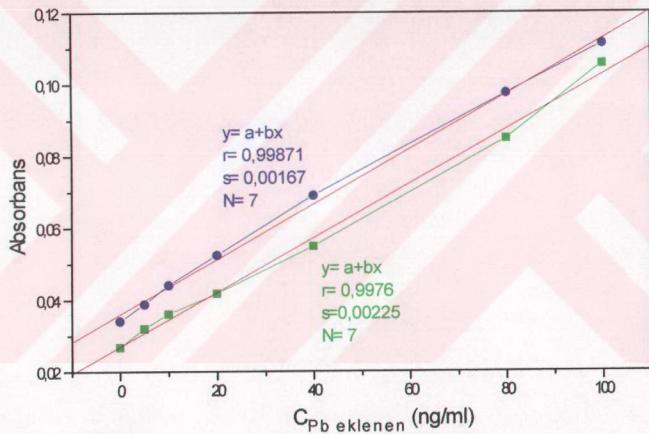
Bikromat ortamı literatürde de kurşun hidrür için en seçici ortam olarak bildirilmektedir (Madrid ve Cámara 1994). Bu çalışmada bikromat ortamına karar verilmiş olması, diğer yükseltgen maddelerle kesinlikle çalışılamaz anlamına gelmemelidir. Deneysel bölümde konu ile ilgili grafikler incelendiğinde çalışılan yükseltgen maddelerin hepsi ile bir miktar kurşunun hidrüre dönüştüğü sonucu çıkmaktadır. Literatürde de bunun örnekleri vardır. Zhang vd (1992), amonyum persülfat, nitrik asit ve perklorik asit ortamında % 10 (w/v) sodyum borhidrür ile çalışmışlardır. Cacho vd (1992), şarapta kurşun tayini için % 21 (w/v) sodyum borhidrür ile hidrojen peroksit-hidroklorik asit ortamını kullanmışlar ve çok iyi sonuç aldıklarını bildirmektedirler. Marid vd (1989), amonyum persülfat-nitrik asit ortamında % 8 (w/v) sodyum borhidrür kullanarak gıda örneklerinde kurşun tayin etmişlerdir. Aroza vd (1989), nitrik asit-hidrojen peroksit ortamında % 7 (w/v) sodyum borhidrür ile midye ve domatesteki kurşun tayin etmişler ve sonuçları ETAAS ile karşılaştırarak çok uyumlu olduğunu bildirmişlerdir. Bonilla vd (1987), yine hidrojen peroksit-nitrik asit ortamında % 10 (w/v) sodyum borhidrür ile çalışarak gıda örneklerinde buldukları sonuçları ETAAS ile karşılaştırmışlar ve uyumlu bulmuşlardır.

Sözkonusu çalışmaların hepsinde kullanılan sodyum borhidrür konsantrasyonunun yüksekliği dikkat çekmektedir. Bu durum bu çalışma ile de uyum içindedir. Şekil 4.9 ve 4.10'da görüldüğü gibi hidrojen peroksit ve amonyum persülfat ortamlarında ancak yüksek konsantrasyonlarda sodyum borhidrür ile iyi sonuç alınabilmektedir. Amonyum bikromat ortamı için ise % 4 sodyum borhidrür yeterli olmaktadır.

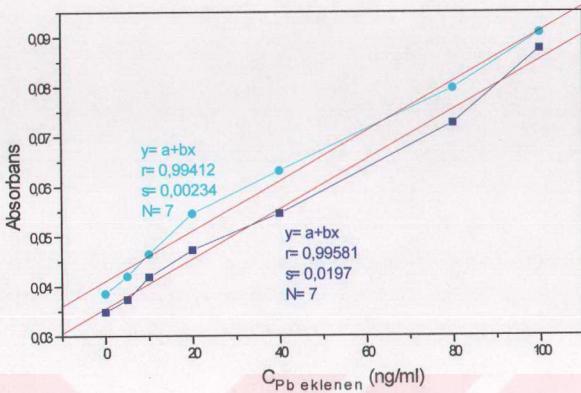
5.2. HGAAS ve ETAAS ile Elde Edilen Sonuçlar

Örneklerin analizi sırasında genel olarak standart ekleme yöntemi kullanıldı. Ancak standart eklemde çok miktarda örnek gereği için miktarları az olan örneklerde kurşun konsantrasyonları çalışma grafiği kullanılarak ölçüldü.

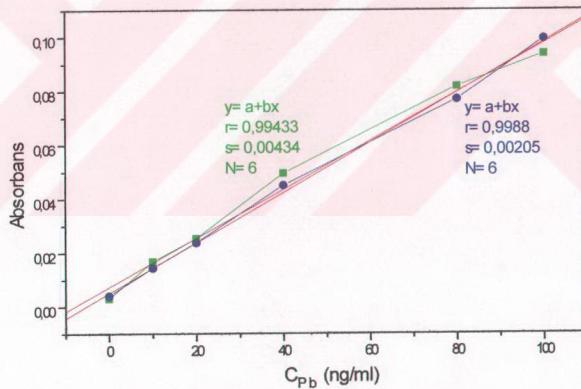
5.1'de açıklandığı şekilde seçilen amonyum bikromat ortamında HGAAS'de elde edilen standart ekleme ve çalışma grafiği örnekleri şekil 5.1, 5.2, ve 5.3'de verilmiştir.



Şekil 5.1. HGAAS ile elde edilen standart ekleme grafikleri

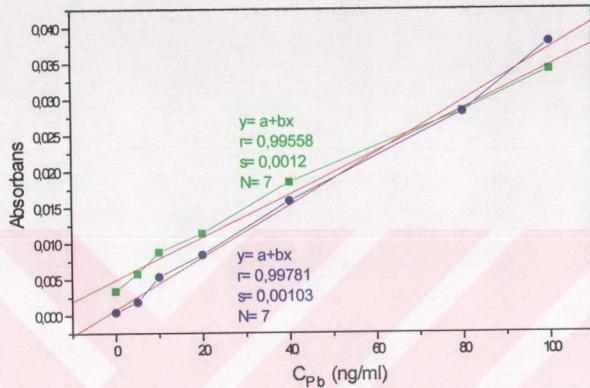


Şekil 5.2. HGAAS ile elde edilen standart ekleme grafikleri

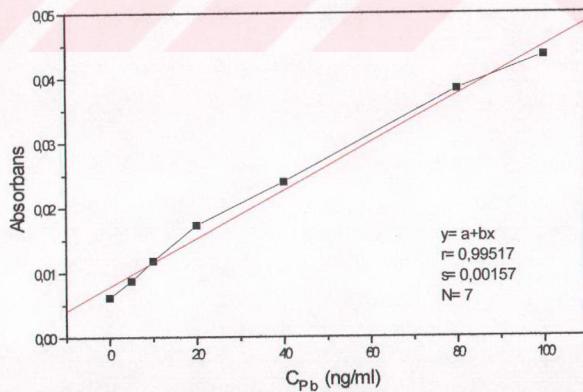


Şekil 5.3. HGAAS ile elde edilen çalışma grafikleri

ETAAS'de elde edilen standart ekleme ve çalışma grafiği örnekleri şekil 5.4 ve 5.5'de verilmiştir.



Şekil 5.4. ETAAS ile elde edilen standart ekleme grafikleri



Şekil 5.5. ETAAS ile elde edilen çalışma grafiği

5.2.1. Kan ve saç örneklerinde kurşun konsantrasyonları

3.2'de açıklandığı şekilde örnekler 5 gruba ayrılarak değerlendirildi. Grupların herbiri için hesaplanan ortalama ve birleşik standart sapmaları çizelge 5.1'de, bireylerin her birinde bulunan değerler ise:

- I. Grup: Ankara'da yaşayan yetişkin 43 bireye ait kan kurşun düzeyleri çizelge 5.2'de,
- II. Grup: Ankara dışında yaşayan yetişkin 28 bireye ait kan kurşun düzeyleri çizelge 5.3'de,
- III. Grup: NEL Nükleer Elektronik Sanayii'nde çalışan 8 işçiye ait kan kurşun düzeyleri çizelge 5.4'de,
- IV. Grup: A.Ü. Fen Fakültesi ve Araştırma Merkezi'nde çalışan 8 araştırmacıya ait kan kurşun düzeyleri çizelge 5.5'de,
- V. Grup: A.Ü. Fen Fakültesi ve Araştırma Merkezi'nde çalışan 5 araştırmacıya ait saç kurşun düzeyleri çizelge 5.6'da verilmiştir.

Çizelge 5.1. ETAAS ve HGAAS ile elde edilen kurşun düzeylerinin ortalamaları ve standart sapmaları

Grup	ETAAS ile Elde Edilen Sonuçlar (ng/ml)			HGAAS ile Elde Edilen Sonuçlar (ng/ml)		
	X _{ort}	S _{bir}	N	X _{ort}	S _{bir}	N
I	75.87	1.39	43	75.23	0.96	43
II	68.47	1.55	28	72.04	0.98	28
III	109.34	2.03	7	108.86	0.98	7
IV	68.00	0.79	8	68.42	0.71	8
V	0.94*	0.038	5	0.95*	0.036	5

* µg/g

Çizelge 5.2. Ankara'da yaşayan yetişkin bireylerde kan kurşun düzeyleri

Birey	% 95 Güven Sınırında N= 3 için $X_{\text{ort}} \pm ts/(N)^{1/2}$	
	ETAAS ile elde edilen sonuçlar (ng/ml)	HGAAS ile elde edilen sonuçlar (ng/ml)
1	84.30 \pm 5.60	91.00 \pm 3.68
2	81.33 \pm 2.82	80.67 \pm 1.10
3	24.67 \pm 2.79	20.67 \pm 2.82
4	23.30 \pm 3.83	25.30 \pm 1.10
5	14.00 \pm 1.84	13.46 \pm 0.92
6	30.00 \pm 3.68	31.67 \pm 2.12
7	80.33 \pm 2.82	77.00 \pm 1.84
8	24.00 \pm 1.84	25.00 \pm 1.84
9	23.33 \pm 4.67	22.16 \pm 1.56
10	50.33 \pm 2.82	57.23 \pm 0.70
11	19.67 \pm 2.82	21.33 \pm 0.74
12	64.47 \pm 1.01	62.67 \pm 1.71
13	15.30 \pm 1.12	13.86 \pm 0.77
14	41.00 \pm 1.84	43.67 \pm 1.44
15	15.67 \pm 1.20	17.60 \pm 0.98
16	15.33 \pm 1.10	13.80 \pm 0.64
17	20.33 \pm 2.82	21.77 \pm 1.25
18	61.33 \pm 3.97	65.93 \pm 1.66
19	45.30 \pm 1.10	48.97 \pm 2.06
20	25.00 \pm 9.20	25.77 \pm 0.95
21	30.00 \pm 3.68	26.90 \pm 0.31
22	64.67 \pm 1.10	58.73 \pm 2.13
23	71.33 \pm 2.82	74.37 \pm 2.21
24	52.67 \pm 4.64	52.37 \pm 1.16
25	73.33 \pm 2.82	68.30 \pm 3.10
26	44.66 \pm 1.05	41.40 \pm 1.60
27	100.33 \pm 2.82	98.34 \pm 1.25
28	45.40 \pm 1.38	40.73 \pm 1.34
29	71.40 \pm 2.58	73.07 \pm 2.02
30	70.67 \pm 2.82	72.13 \pm 1.67
31	42.67 \pm 4.64	44.37 \pm 1.10
32	46.70 \pm 2.74	42.17 \pm 1.91
33	61.67 \pm 5.30	60.23 \pm 1.99
34	89.67 \pm 3.97	92.17 \pm 2.04
35	103.33 \pm 2.82	99.70 \pm 2.67
36	119.13 \pm 2.61	122.40 \pm 1.04
37	35.17 \pm 0.86	33.77 \pm 1.84
38	28.87 \pm 1.47	29.00 \pm 3.60
39	29.17 \pm 1.40	31.00 \pm 1.84
40	54.67 \pm 1.10	49.45 \pm 1.31
41	54.77 \pm 1.44	58.30 \pm 1.14
42	74.65 \pm 3.51	69.83 \pm 0.28
43	75.53 \pm 1.05	76.23 \pm 2.28

Çizelge 5.3. Ankara dışında yaşayan yetişkin bireylerde kan kurşun düzeyleri

% 95 Güven Sınırında N= 3 için $X_{ort} \pm ts/(N)^{1/2}$		
Birey	ETAAS ile elde edilen sonuçlar (ng/ml)	HGAAS ile elde edilen sonuçlar (ng/ml)
1	111.67 ± 5.32	116.96 ± 3.24
2	74.00 ± 1.84	69.67 ± 2.13
3	113.33 ± 5.32	112.80 ± 1.70
4	64.41 ± 2.56	61.62 ± 1.19
5	36.03 ± 2.04	36.43 ± 1.12
6	64.87 ± 3.50	67.40 ± 1.01
7	74.00 ± 1.84	71.70 ± 1.80
8	35.00 ± 0.55	37.30 ± 1.75
9	70.17 ± 2.32	69.23 ± 0.90
10	71.67 ± 2.94	72.10 ± 1.31
11	94.67 ± 1.10	91.07 ± 1.77
12	60.00 ± 1.84	61.76 ± 1.66
13	80.50 ± 1.62	80.53 ± 1.31
14	80.57 ± 2.82	77.40 ± 1.44
15	68.73 ± 2.06	71.60 ± 1.40
16	64.17 ± 2.34	65.53 ± 2.06
17	120.73 ± 3.68	117.13 ± 2.92
18	105.60 ± 4.16	107.47 ± 0.85
19	64.56 ± 1.10	64.50 ± 1.30
20	67.67 ± 6.33	64.73 ± 2.17
21	206.67 ± 5.30	209.53 ± 1.32
22	79.37 ± 1.56	79.37 ± 1.66
23	60.33 ± 1.10	58.57 ± 1.12
24	48.77 ± 2.50	51.07 ± 1.60
25	74.26 ± 2.02	73.40 ± 1.60
26	74.67 ± 1.10	76.33 ± 1.10
27	69.67 ± 1.10	67.77 ± 2.02
28	50.0 ± 3.13	48.23 ± 2.45

Çizelge 5.4. Kurşuna maruz kaldığı düşünülen işçi grubunda kan kurşun düzeyleri

% 95 Güven Sınırında N= 3 için $X_{ort} \pm ts/(N)^{1/2}$		
Birey	ETAAS ile elde edilen sonuçlar (ng/ml)	HGAAS ile elde edilen sonuçlar (ng/ml)
M.M.	70.73 ± 1.21	71.70 ± 1.51
A.U.	144.67 ± 1.10	142.67 ± 1.77
A.G.	113.33 ± 5.30	115.53 ± 1.36
D.G.	121.67 ± 5.61	124.63 ± 1.40
M.A.	129.33 ± 1.10	125.50 ± 1.25
M.D.	104.67 ± 14.16	103.57 ± 1.97
A.A.	81.00 ± 1.84	78.47 ± 1.40
M.D.	598.33 ± 14.10	590.90 ± 2.91

Çizelge 5.5. Fen Fakültesi ve Araştırma Mekezi’nde çalışan 8 araştırmacıya ait kan kurşun düzeyleri

% 95 Güven Sınırında N= 3 için $X_{\text{ort}} \pm ts/(N)^{1/2}$		
Birey	ETAAS ile elde edilen sonuçlar (ng/ml)	HGAAS ile elde edilen sonuçlar (ng/ml)
S.D.	100.67 ± 1.10	102.47 ± 1.73
H.D.	59.67 ± 1.10	58.43 ± 1.18
O.A.	85.67 ± 2.12	88.40 ± 1.77
R.K.	74.67 ± 1.10	74.40 ± 1.12
S.D.	54.50 ± 1.14	56.50 ± 1.80
E.K.	49.33 ± 1.10	48.37 ± 2.06
S.D.	64.23 ± 1.99	62.40 ± 1.30
N.D.	54.67 ± 1.10	56.40 ± 1.30

Çizelge 5.6. Fen Fakültesi ve Araştırma Mekezi’nde çalışan 5 araştırmacıya ait saç kurşun düzeyleri

% 95 Güven Sınırında N= 3 için $X_{\text{ort}} \pm ts/(N)^{1/2}$		
Birey	ETAAS ile elde edilen sonuçlar ($\mu\text{g/g}$)	HGAAS ile elde edilen sonuçlar ($\mu\text{g/g}$)
H.D.	1.46 ± 0.05	1.37 ± 0.06
S.D.	0.55 ± 0.06	0.59 ± 0.09
O.A.	2.06 ± 0.08	2.16 ± 0.08
M.A.	0.25 ± 0.02	0.24 ± 0.01
E.K.	0.39 ± 0.08	0.39 ± 0.04

5.2.2. Geri kazanma verimleri

Geri kazanma verimlerinin hesaplanması çizelge 5.5’deki son iki örnek kullanıldı. Bunun için örnekler üzerine 20 ng/ml olacak şekilde kurşun standartı eklendi ve ölçümü yapıldı. Geri kazanma verimleri iki yöntem için hesaplanarak çizelge 5.7’de verilmiştir. Çizelgede verilen ortalama lara dikkat edilirse HGAAS’de hesaplanan standart sapmalar ETAAS’ye göre daha düşüktür. Bu da HGAAS’nın tekrarlanabilirliğinin daha iyi olduğunu bir ölçüsü olarak kabul edilebilir.

Çizelge 5.7. ETAAS ve HGAAS yöntemleri için bulunan geri kazanma verimleri

% 95 Güven Sınırında N= 3 için $X_{\text{ort}} \pm ts/(N)^{1/2}$				
Örnek	Kurşun Konsantrasyonu (ng/ml)	Pb_{eklenen} (ng/ml)	Eklemeden Sonra	
			Bulunan Kurşun (ng/ml)	Verim
ETAAS için				
S.D.	64.23 \pm 1.99	20	85.33 \pm 2.81	95.08 \pm 12.44
N.D.	54.67 \pm 1.10	20	74.33 \pm 2.12	101.95 \pm 11.39
HGAAS için				
S.D.	62.40 \pm 1.30	20	84.67 \pm 1.10	89.87 \pm 4.36
N.D.	56.40 \pm 1.30	20	75.33 \pm 1.10	105.7 \pm 5.83

5.2.3. Sonuçların istatistiksel değerlendirmesi

İstatistik hesaplamalar çizelge 5.1'de verilen ortalama, birleşik standart sapma ve N değerlerine göre yapıldı.

5.2.3.1. Gruplar arası ortalamaların karşılaştırılması

Gruplar arası ortalamalar arasındaki farkın önemli olup olmadığıının karşılaştırılması için,

$|X_{\text{ort} 1} - X_{\text{ort} 2}| < ts_{\text{bir}}[(N_1+N_2) / (N_1N_2)]^{1/2}$ formülü kullanıldı (Skoog vd 1996).

I. ve II. grubun karşılaştırılması

Serbestlik derecesi = 43+28-2= 69 için % 95 güven aralığında $t=1.96$

ETAAS

$|X_{\text{ort} I} - X_{\text{ort} II}| = 75.87 - 68.74 = 7.4 > 0.66$ ($t=1.96$, $s_{\text{bir}}= 1.39$ için)

$|X_{\text{ort} I} - X_{\text{ort} II}| = 75.87 - 68.74 = 7.4 > 0.74$ ($t=1.96$, $s_{\text{bir}}= 1.55$ için)

HGAAS

$|X_{\text{ort} I} - X_{\text{ort} II}| = 75.23 - 72.04 = 3.19 > 0.42$ ($t= 1.96$, $s_{\text{bir}}= 0.96$ için)

$$|X_{\text{ort I}} - X_{\text{ort II}}| = 75.23 - 72.04 = 3.19 > 0.43 \quad (t=1.96, s_{\text{bir}}=0.98 \text{ için})$$

Deneysel ortalamaların farkının t'den hesaplanan değerden daha büyük olması iki ortalama arasındaki farkın önemli olduğunu göstermektedir. Bu da Ankara'da yaşayan grubun Ankara dışında yaşayan gruba göre kurşundan daha çok etkilendiğini gösterir. Bunun nedeni de büyük şehir havasında daha fazla bulunan egzos gazı ve ısınma için kullanılan kalorifer yakıtları gibi etkilerin daha fazla olması şeklinde açıklanabilir.

I. ve III. grubun karşılaştırılması

$$\text{Serbestlik derecesi} = 43+7-2 = 48 \text{ için } \% 95 \text{ güven aralığında } t=1.96$$

Bu karşılaştırmada hesaplamlarda daha büyük olan III. grubun s_{bir} değeri kullanıldı.

ETAAS

$$|X_{\text{ort I}} - X_{\text{ort III}}| = |75.87 - 109.34| = 33.47 > 1.62 \quad (t=1.96, s_{\text{bir}}=2.03 \text{ için})$$

HGAAS

$$|X_{\text{ort I}} - X_{\text{ort III}}| = |75.23 - 108.86| = 33.63 > 0.78 \quad (t=1.96, s_{\text{bir}}=0.98 \text{ için})$$

I. ve III. grupların karşılaştırmasında da iki ortalama arasındaki fark t'den hesaplanana göre çok büyük bulundu. III. grup kurşuna maruz kalan işçi grubudur ve aynı şehirde yaşayan I. gruba göre kan kurşun düzeylerinin oldukça yüksek olduğu açık olarak görülmektedir. Bu karşılaştırmada çizelge 5.4'de en sonda yer alan işçinin kurşun düzeyi dahil edilmedi. Bu işçi ile ilgili olarak edinilen bilgilerden bu işyerinde diğerlerine göre çok uzun bir süredir çalıştığı ve ayrıca ek iş olarak otomobil işçiliği de yaptığı öğrenildi.

5.2.3.2. Yöntemlerin kesinliklerinin karşılaştırılması

HGAAS ve ETAAS yöntemlerinin kesinliklerinin karşılaştırılması için F testi yapıldı (Skoog vd 1996). Hesaplamlarda daha kesin olduğu kabul edilen yöntemin varyansının paydada yer alması kuralına uygun olarak ETAAS ile elde edilen sonuçlara ait varyanslar paydada yer aldı. Çünkü ETAAS HGAAS'ye göre daha eski ve yaygın kullanımı olan bir yöntemdir ve HGAAS kanda kurşun tayini için ilk defa bu çalışmada kullanılmıştır. Bu nedenle referans yöntem olarak ETAAS'nın kabul edilmesi

gerekmektedir. Burada kullanılan varyanslar her yöntem için elde edilen birleşik standart sapmaların karesidir. Bu şekilde yapılan hesaplamada:

$$F = s_1^2 / s_2^2 \text{ formülüne göre,}$$

I. grup için,

$$F = (0.96)^2 / (1.39)^2 = 0.48 < 1.00 \text{ (F için \% 5 seviyesinde kritik değer)}$$

II. grup için,

$$F = (0.98)^2 / (1.55)^2 = 0.40 < 1 \text{ (F için \% 5 seviyesinde kritik değer)}$$

III. grup için,

$$F = (0.98)^2 / (2.03)^2 = 0.23 < 4.28 \text{ (F için \% 5 seviyesinde kritik değer)}$$

IV. grup için,

$$F = (0.71)^2 / (0.79)^2 = 0.81 < 4.28 \text{ (F için \% 5 seviyesinde kritik değer)}$$

IV. grup için,

$$F = (0.036)^2 / (0.038)^2 = 0.90 < 5.05 \text{ (F için \% 5 seviyesinde kritik değer)}$$

Grupların tamamında bulunan F değerleri, F için \% 5 seviyesinde verilen kritik değerlerden küçüktür. Bu da iki yöntemin kesinlikleri arasında \% 95 olasılıkla bir fark bulunmadığını göstermektedir.

5.2.3.3. İki yöntemin sonuçları arasındaki farkın önemini hesaplanması

İki yöntemden elde edilen sonuçların ortalamalarının karşılaştırılması ve aradaki farkın önemli olup olmadığını görmek amacıyla,

$$|X_{\text{ort } 1} - X_{\text{ort } 2}| < t s_{\text{bir}} [(N_1 + N_2) / (N_1 N_2)]^{1/2} \text{ formülü kullanıldı (Skoog vd 1996).}$$

I. grup için,

Serbestlik derecesi $43+43-2= 84$ için \% 95 güven aralığında $t= 1.96$

$$|X_{\text{ort I ETAAS}} - X_{\text{ort I HGAAS}}| = |75.87 - 75.23| = 0.64 > 0.59 \text{ (\(s_{\text{bir}}= 1.39\), } t= 1.96 \text{ için)}$$

II. grup için;

Serbestlik derecesi $28+28-2= 54$ için \% 95 güven aralığında $t= 1.96$

$$|X_{\text{ort II ETAAS}} - X_{\text{ort II HGAAS}}| = |72.04 - 68.47| = 3.57 > 0.81 \text{ (\(s_{\text{bir}}= 1.55\), } t= 1.96 \text{ için)}$$

III. grup için,

Serbestlik derecesi $7+7-2=12$ için \% 95 güven aralığında $t= 2.18$

$$|X_{\text{ort III ETAAS}} - X_{\text{ort III HGAAS}}| = |109.34 - 108.86| = 0.48 < 2.36 \quad (s_{\text{bir}} = 2.03, t = 2.18 \text{ için})$$

IV. grup için,

Serbestlik derecesi $8+8-2=14$ için % 95 güven aralığında $t= 2.14$

$$|X_{\text{ort IV ETAAS}} - X_{\text{ort IV HGAAS}}| = |68.42 - 68.00| = 0.42 < 0.84 \quad (s_{\text{bir}} = 0.79, t = 2.14 \text{ için})$$

I. grup için,

Serbestlik derecesi $5+5-2=8$ için % 95 güven aralığında $t= 2.31$

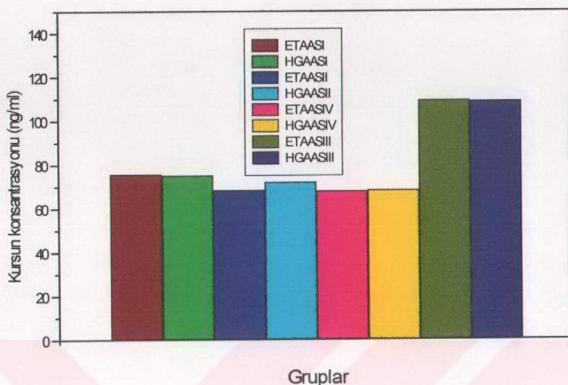
$$|X_{\text{ort V ETAAS}} - X_{\text{ort V HGAAS}}| = |0.95 - 0.94| = 0.01 < 0.06 \quad (s_{\text{bir}} = 0.038, t = 2.31 \text{ için})$$

I. ve II. grupta iki ortalama arasındaki fark t 'den hesaplanandan daha büyük bulundu. Bu da iki yöntemin ortalamaları arasındaki farkın önemli olduğunu göstermektedir.

İstatistik değerlendirmelerin sonucunda, referans yöntem olarak kabul edilen ETAAS'den elde edilen sonuçlarla HGAAS'den elde edilen sonuçların birbiri ile uyumlu oldukları söylenebilir. Her iki yöntemle bulunan kan kurşun sonuçları şekil 5.6'da bir grafikle verilmiştir ve burada da bu uyum açık olarak görülmektedir.

Çalışmada hem ETAAS, hem de HGAAS ile elde edilen Kan kurşun düzeyleri insanlar için verilen fizyolojik sınırlar içinde kalmaktadır. Literatürde çeşitli araştırma sonuçlarından elde edilen kan kurşun düzeyleri oldukça heterojen bir dağılım göstermektedir (şekil 5.7).

Wang ve Demshar (1992), 452 yenidoğan bebekte yaptıkları çalışmada kan kurşun düzeyini 39.4 ± 26.9 ng/ml olarak bildirmektedirler. Bu çalışma ETAAS ile ve $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ -TritonX-100 matriks düzenleyici kullanılarak yapılmıştır.

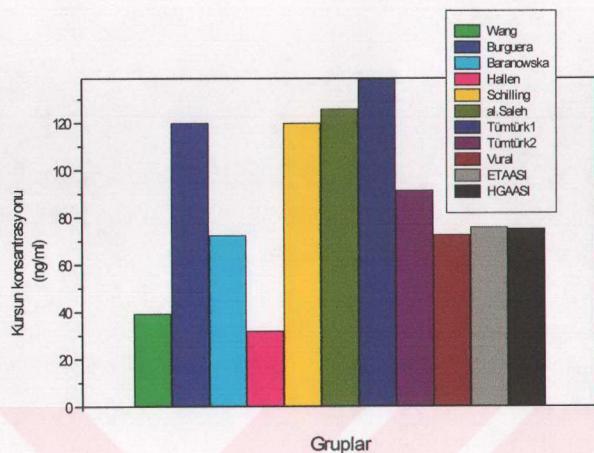


Şekil 5.6. Bu çalışmada elde edilen kan kurşun konsantrasyonları

Burguera (1997), yaptığı çalışmada 120 ± 15 ng/ml kan kurşun düzeyi ortalaması bulduğunu ve sonuçların 45-166 ng/ml arasında değiştiğini bildirmektedir. Baranowska (1995), mikrodalga ile nitrik asit ortamında çözduğu örneklerde kan kurşun düzeyi ortalamasını 72.50 ng/ml bulduğunu yaşı yakma yöntemine göre mikrodalganın daha avantajlı olduğunu bildirmektedir. Hallen vd (1995), ETAAS ile kan kurşun düzeyi için 32 ng/ml konsantrasyon bildirmektedirler. Tracqui vd (1994), çok yüksek miktarda kurşuna maruz kalan işçilerde kan kurşun düzeyini 100-770 ng/ml arasında bulduklarını ve ortalamanın 384 ± 143.4 ng/ml olduğunu ifade etmektedirler. Aynı çalışmada saç kurşun düzeyi için ise 3-243 ng/mg konsantrasyon aralığı ve 102.4 ± 72.6 ng/mg ortalama bildirilmektedir. Schilling ve Bain (1988), Montana ve Idaho'da 0-5 yaş arası 546 çocukta anodik siyrma voltometrisi ile 120 ± 70 ng/ml kan kurşun düzeyi bulduklarını bildirmektedirler. Qiao vd (1995), Zeeman ETAAS ile yaptıkları çalışmada 44 kişide kan kurşun konsantrasyonlarının 10-200 ng/ml arasında olduğunu bildirmektedirler. Chlopicka vd (1995), Güney Polonya'da kirlenmenin yüksek olduğu endüstriyel bir bölgede kurşuna maruz kalan 7-12 yaş arası çocukların saç kurşun

konsantrasyonunun 4.81 ± 5.91 ng/mg olarak bildirmektedirler. Bu çalışmada standart sapmanın ortalamadan büyük olması sonuçlardaki farklılığın da çok büyük olduğunu göstermektedir. Feldman vd (1995) anodik sıyırmaya voltametrisi ile kan kurşun seviyesini kurşundan az etkilenen insanlarda 17-92 ng/ml arasında bildirmiştir. al-Saleh vd (1994), Sudi Arabistanda 1047 çocuğun % 20'sinde kan kurşun konsantrasyonunun 125.9 ng/ml'nin üzerinde olduğunu bildirmektedirler. Tümtürk (1998) , sağlıklı 12 çocukta kan kurşun düzeyinin 138.8 ± 14.4 ng/ml ve sonuçların dağılımının 7.1-226.2 arasında, yetişkin 20 kişide ise 91.5 ± 8.3 ng/ml dağılımın ise 53.5-164.3 arasında olduğunu bildirmektedir. Vural vd (1990), sağlıklı kişilerde kan kurşun konsantrasyonunu 72.6 ± 53.2 , sonuçların dağılımını ise 12.0-228.4 olarak bildirmektedirler.

Örnek olarak verilen bu çalışmalarda en çok dikkati çeken sonuçların yayıldığı konsantrasyon aralığının çok büyük olmasıdır. Ancak çalışmaların hepsinde normal insanlar için bulunan değerler fizyolojik konsantrasyon sınırları içindedir. Fakat ortalama değerlere bakıldığında çok çeşitlilik gösterdikleri göze çarpmaktadır. Bunun nedeni seçilen yöntem olabileceği gibi yaşanan çevre koşulları, kurşuna maruziyetin derecesi ve süresi de olabilir. Bir başka faktör ise, çalışılan materyalin cinsidir. Kanın vücuttaki esas fonksiyonlarından biri transportasyondur (taşımaya). Bu nedenle kanda ölçülen eser element konsantrasyonlarının fizyolojik olarak anlamlı doku depoları ile denge halinde olup olmadığı çok net olarak bilinmemektedir. Bu da bir eser elementin vücuttaki durumu ile ilgili olarak kanın yanında daha sabit bir başka parmetrede daha ölçülmesinin daha uygun olacağı sonucunu doğurmaktadır (Mertz 1985). Ancak vücut depoları ile ilgili gerçek bilgiyi verebilecek böbrek, karaciğer, kemik gibi dokuların elde edilmesi mümkün değildir. Daha kolay elde edilebilen saç, tırnak gibi dokular kullanılabilir. Bu çalışmada çok az sayıda da olsa saçta ölçümler yapılmış, fakat saç boyası, perma ve estetik problemler yüzünden daha fazla saç örneğinde çalışmam mümkün olamamıştır.



Şekil 5.7. Literatürden elde edilen çeşitli çalışmalar ve bu çalışmada
I. grupta bulunan kan kurşun konsantrasyonları

Kanda kurşun tayinlerinden elde edilen sonuçlardaki çeşitliliğin en önemli nedenlerinden birisi de seçilen yöntemdir. Ancak bu konuda referans olabilecek bir yöntem de tam olarak gösterilememektedir. NAA ile kurşun tayini mümkün değildir. Anodik, katodik ve absorptif sıvırmalarda girişimler çok fazladır. XRD ve XRF ile ppm seviyesinin altına inmek mümkün değildir. Bu konuda kabul edilebilecek en uygun yöntem ETAAS'dır. ETAAS'ye bazı üstünlükleri olan HGAAS'nın ise, kanda kurşun tayini için uygulamasına literatürde rastlanamamıştır. İlk denemeleri başarısız olan kurşunun HGAAS çalışmaları 1990'ların başından itibaren yeniden hız kazanmıştır. Bu konuda yapılan çalışmalarda daha önceki bölgelerde ayrıntılı olarak değinildiği gibi su, toprak, gıda gibi örneklerde kurşun tayininde başarılı sonuçlar elde edildiği açıkça rapor edilmektedir. Bu çalışma da literatürdeki bu verilere dayanılarak planlanmış, kan ve dokuda kurşun tayini için HGAAS'nın ETAAS'ye alternatif bir yöntem olup olmadığı araştırılmıştır.

HGAAS'ının kurşun tayinlerinde uygulamasının gecikmesinin en olası sebebi PbH_4 'ün zor meydana gelmesi ve çok kolay bozulması, bunun yanısıra PbH_2 'nin hiç meydana gelmemesidir. Pb^{2+} sulu çözeltide kararlı, Pb^{4+} ise kararsızdır ya PbO_2 halinde çökmekte ya da bir indirgeni yükseltgerek Pb^{2+} , ye dönüşmektedir. Pb^{2+} hidrürleyici maddelerle etkileşmediği halde Pb^{4+} çok miktarda NaBH_4 karşısında kısmen hidrürüne dönüşmektedir. Bu yüzden ilk basamakta Pb^{2+} , Pb^{4+} , ya yükseltgenmeli daha sonra hidrüre dönüştürülmelidir. Bu amaçla çalışmada literatürde verilen H_2O_2 , $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$, $(\text{NH}_4)_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ve ek olarak NaBiO_3 yükseltgenleri kullanılmıştır. Bu yükseltgenlerden $(\text{NH}_4)_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ve NaBiO_3 'ün çalışmanın amacı için daha uygun olduğu saptanmıştır. Diğer iki yükseltgenin ise muhtemelen Pb^{2+} , yi Pb^{4+} , ya dönüşürme hızı daha yavaştır.

Ortama katılan organik α -keto veya α -hidroksi asitler de Pb^{4+} yi kelaťlaştırmakta ve sulu ortamda kararlılık süresini uzatmaktadır. Eklelen bol miktardaki sodyum borhidrür Pb^{4+} ile reaksiyona girerek PbH_4 oluştururken ortamdaki yükseltgenleri de indirmektede ve fazlası da H_2 'ye dönüşmektedir. PbH_4 'de, taşıyıcı gaz ve H_2 ile birlikte atomlaştırıcıya gitmektedir. Hidrür sistemini üstün kılan en önemli nedenlerden biri bu şekilde matriksinden ayrılan uçucu hidrürün atomlaştırıcıya ulaşmasıdır.

Yukarıda açıklandığı şekilde hidrürüne dönüştürülen kurşunun kan ve saç örneklerinde HGAAS ile analizi mümkün olmuş ve ETAAS ile yapılan ölçümlerle de son derece uyumlu sonuçlar elde edilmiştir. Çalışmanın sonuçları kısaca şu şekilde özetlenebilir:

- 1- Örneklerin çözünürlendirilmesinde kapalı sistem yüksek basınçlı mikrodalga fırın kullanılması hem HGAAS'de hem de ETAAS'deki çalışmalarında yararlı olmuştur. Parçalanma tam gerçekleşmediği zaman ortamda kalabilecek organik ve inorganik bir çok molekülün girişimi büyük ölçüde ortadan kalkmıştır. Ayrıca kapalı sistem mikrodalga fırında, kolay buharlaşan bir element olan kurşunun kaybı en aza indirgenmiştir.
- 2- HGAAS ve ETAAS ile bulunan sonuçlar birbiri ile uyumludur.

- 3- HGAAS'de kurşun için daha duyarlı bir dalga boyu olan 217.0 nm'de çalışılabilmektedir.
- 4- Kurşunun uçucu PbH₄ halinde matriksinden ayrılarak atomlaştırıcıya ulaşması çok önemli bir avantajdır. Çalışmada kullanılan atomik absorpsiyon spektrofotometresinde hidrür sistemi ile çalışılırken zemin düzeltme için kullanılan magnetin tamamen çıkarılması gerekmektedir. Bu sebeple HGAAS'de zemin düzeltmesi yapılmadan çalışılmıştır. Bu da analiz elementinin uçucu hidrürü halinde atomlaştırıcıya matriksinden ayrılarak ullaştırılmasının ne kadar önemli bir avantaj olduğunu açık olarak göstermektedir.
- 5- Analiz süresinin ETAAS'ye göre daha kısa ve maliyetin daha düşük olması gibi diğer özellikler de göz önüne alınırsa HGAAS, kan, doku ve benzeri örneklerde kurşun tayini için uygun ve aynı zamanda ETAAS'ye alternatif bir yöntemdir.

KAYNAKLAR

- Alt, F. and Massmann, H. 1978. A simple, fast and reliable determination of lead in blood by atomic absorption spectrometry. *Spectrochim Acta*, 33 (B); 337.
- al-Saleh, I.A., De Vol,E. and Taylor, A. 1994. A characterization of the blood lead concentrations in Saudi Arabian Children. *Ann Clin Biochem*, 31(Pt 5); 469-472.
- Ana Britannica. 1994. Ana Yayıncılık A.Ş., Cilt 8, s. 97, İstanbul.
- Aroza, I., Bonilla, M., Madrid, Y. and Cámaras, C. 1989. Combination of hydride generation and graphite furnace atomic absorption spectrometry for the determination of lead in biological samples. *J Anal Atom Spectrom*, 4; 163-166
- Bannon, D.I., Murashchik, C., Zapf, C.R., Farfel, M.R. and Chisolm, Jr.J.J. 1994. Graphite furnace atomic absorption spectroscopic measurement of blood lead in matrix-matched standards. *Clin Chem*, 40(9); 1730-1734.
- Baranowska, I. 1995. Lead and cadmium in human placentas and maternal and neonatal blood (in heavily polluted area) measured by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Occup Environ Med*, 52(4); 229-232.
- Bertini, I., Gray, H.B., Lippard, S.J. and Valentine, J.S. 1994. *Bioinorganic Chemistry*. University Science Books, 48, 430, Mill Valley, California, U.S.A.
- Bonilla, M., Rodriguez, L. and Cámaras, C. 1987. Determination of lead in biological materials by atomic absorption spectrometry sesitised with hydride generation. *J Anal Atom Spectrom*, 2; 157-161.
- Brimhall, W.H. 1969. Measurements of lead isotopes by differential atomic absorption. *Anal Chem*, 41;1349.
- Burguera, J.L., Burguera, M., Rondon, C.E., Rivas C., Burguera, J. and Alarcon, O.M. 1987. Determination of lead in hair of exposed gas station workers and in unexposed adults by microwave aided dissolution of samples and flow injection/atomic absorption spectrometry. *J Trace Elelct H*, 1(1); 21-26.
- Burguera, J.L., Burguera, M. and Rondon, C.E. 1997. Determination of lead in whole blood and urine by electrothermal atomic absorption spectrometry using various chemical modifiers. *Atom Spectrosc*, 18(3); 109-113.

- Burrel, D.C. and Wood, G.G. 1969. Direct determination of zinc in sea water by atomic absorption spectrophotometry. *Anal Chim Acta*, 48; 45.
- Cacho, J., Fereira, V. and Nerin, C. 1992. Determination of lead in wines by hydride generation atomic absorption spectrometry. *Analyst*, 117; 31-33.
- Carpenter, R.C. 1981. The determination of cadmium, copper, lead, and thallium in human liver and kidney tissue by flame atomic absorption spectrometry after enzymic digestion. *Anal Chim Acta*, 125; 209.
- Castillo, J.R., Mir, J.M., Val, J., Colón, M. and Martinez C. 1985. Study of interferences in the determination of lead by hydride generation-direct flame atomic absorption spectrometry when oxidizing agents are employed to increase the sensitivity. *Analyst*, 110; 1219-1221.
- Chau, Y.K., Wong, P.T.S. and Goulden P.D. 1976. Determination of tetraalkyl lead compound in the atmosphere. *Anal Chim Acta*, 85; 421.
- Chlopicka, J., Zayrodzki, P., Zachwieja, Z., Krosniak, M. and Folta, M. 1995. Use of pattern recognition methods in the interpretation of heavy metal (lead and cadmium) in children's scalp hair. *Analyst*, 120(3); 943-945.
- Coker, D.T. 1975. Determination of individual and total lead alkyls in gasoline by simple rapid gas chromatography/atomic absorption spectrometry technique. *Anal Chem*, 47; 386.
- Cotton, F.A. and Wilkinson, G. 1967. Anorganische Chemie. Verlag Chemie GmbH, 186-195, Germany.
- Dagnal, R.M. and West, T.S. 1964. Observations on the atomic absorption spectroscopy of lead in aqueous solution, in organic extracts, and in gasoline. *Talanta*, 11; 1553-1557.
- Dalton, E.F. and Malanoski, A.J. 1971. Determination of arsenic by atomic absorption by arsine generation into an argon-hydrogen entrained air flame. *At Absorption Newslett*, 10; 92.
- Delves, H.T. 1970. Microsampling method for the rapid determination of lead in blood by atomic-absorption spectrophotometry. *Analyst*, 95; 431.
- Delves, H.T. 1981. The analysis of biological and clinical materials. *Pro Analyt Atom Spectrom*, 4; 1-48.

- D'Haese, P.C., Lamberts, L.V., Liang, L., Van de Vyver, F.L. and De Broe, M.E. 1991. Interferences in the measurement of lead and cadmium in urine and blood by electrothermal atomic absorption spectrometry with deuterium background correction. *Clin Chem*, 37(9); 1583-1588.
- Dinçer, N. and Akar N. 1995. Maternal hair zinc, copper, and magnesium concentration in neural tube defects in Turkey. *Trace Elem Electroly*, 12(4); 184-185.
- Dittrich, K. and Mandry, R. 1986. Investigations into the improvement of the analytical application of the hydride technique in atomic absorption spectrometry by matrix modification and graphite furnace atomisation. Part II. *Analyst*, 111; 277-280.
- Dökmeci, İ. 1994. Toksikoloji Akut Zehirlenmelerde Tanı ve Tedavi. Nobel Tip Kitabevleri, 347-351, İstanbul.
- Ediger, R.D. and Coleman, R.L. 1972. Modified Delves cup atomic absorption procedure for determination of lead in blood. At *Absorption Newslett*, 11; 33.
- Favretto-Gabrielli, L., Pertoldi-Marletta, G. and Favretto, L. 1980. Determination of lead in mussels by atomic absorption spectrophotometry and solid microsampling. At *Spectrosc*, 1; 35.
- Feldman, B.J., D'Alessandro, A., Osterloh, J.D. and Hata, B.H. 1995. Electrochemical determination of low blood lead concentrations with a disposable carbon microarray electrode. *Clin Chem*, 41(4); 557-563.
- Fernandez, F.J. and Kahn, H.L. 1971. Determination of lead in whole blood by atomic absorption spectrophotometry with the "Delves Sampling Cup" technique. At *Absorption Newslett*, 10; 1.
- Fernandez, F.J. and Manning, D.C. 1971. Determination of arsenic at submicrogram levels by atomic absorption spectrometry. At *Absorption Newslett.*, 10; 86.
- Fleming, H.D. and Ide, E.G. 1976. Determination of volatile hydride-forming metals in steel by atomic absorption spectrometry. *Anal Chim Acta*, 83; 67.
- Forsyth, D.S. and Marshall, W.D. 1985. Performance of an automated gas chromatograph-silica furnace-atomic absorption spectrometer for determination of alkyllead compounds. *Anal Chem*, 57; 1299-1305.

- Gayón, J.M.M., Uria, J.E.S. and Sanz-Medel, A. 1993. Determination of lead in human urine using electrothermal atomic absorption spectrometry with probe atomization and deuterium background correction. *J Anal Atom Spectrom*, 8; 731-736.
- Goulden, P.D. and Brooksbank, P. 1974. Automated atomic absorption determinations of arsenic, antimony, and selenium in natural waters. *Anal Chem*, 46; 1431.
- Greenwood, N.N. and Earnshaw, A. 1994. *Chemistry of The Elements*. Pergamon Press, 171, 1422, Cambridge, U.K.
- Griffin, H.R., Hocking, M.B. and Lowery, D.G. 1975. Arsenic determination in tobacco by atomic absorption spectrometry. *Anal Chem*, 47; 229.
- Gündüz, T. 1994. *Çevre Sorunları*, Bilge Yayıncılık, 133, Ankara.
- Hallen, I.P., Jurhem, L., Lagerkvist, B.J., Oskarson, A. 1995. Lead and cadmium levels in human milk and blood. *Sci Total Environ*, 166; 149-155.
- Hengwu, C., Tang, F. and Gu, C. 1993. The influence of Chelating reagents on plumbane generation: Determination of lead in the presence of Pan-S. *Talanta*, 40(8); 1147-1155.
- Hessel, D.W. 1968. Quantitative determination of lead in blood. *Atom Absorpt News*, 7; 55.
- Hinderberger, E.J., Kaiser, M.L. and Koirtyohann, S.R. 1981. Furnace atomic absorption analysis of biological samples using the L'vov platform and matrix modification. *At Spectrosc*, 2; 1.
- Hodges, D.J. and Skelding, D. 1981. Determination of lead in urine by atomic absorption spectroscopy with electrothermal atomization. *Analyst*, 106; 299.
- Holak, W. 1969. Gas-sampling technique for arsenic determination by atomic absorption spectrophotometry. *Anal Chem*, 41; 1712.
- Iblee, D.D. 1994. Air and blood lead levels in battery factory. *Sci Total Environ*, 152(3);269-273.
- Issaq, H.J. and Zielinski, W.L. 1974. Loss of lead from aqueous solutions during storage. *Anal Chem*, 46; 1328.
- Kahn, H.L., Peterson, G.E. and Schallis, J.E. 1968. Improvement of detection limits for arsenic, and other elements with a argon-hydrogen flame. *At Absorption Newslett*, 7; 35.

- Kahn, H.L. and Sebestyen, J.E. 1970. Determination of lead in blood and urine by atomic absorption spectrophotometry, with the sampling boat system. *At Absorption Newslett*, 9; 33.
- Kopito, L., Davis, M.A. and Schwachman, H. 1974. Sources of error in determining lead in blood by atomic absorption spectrophotometry. *Clin Chem*, 20; 205.
- Kubassik, N.P. and Volosin M.T. 1974. Use of carbon rod atomizer for direct analysis of lead in blood. *Clin Chem*, 20; 300.
- Lamm, S., Cole, B., Glynn, K. and Ullmann, W. 1973. Lead content of milks fed to infants. *New England J Med*, 289; 574.
- Langmyhr, F.J. and Kjuus, I. 1978. Direct atomic absorption analysis of solid samples. *Anal Chim Acta*, 100; 139.
- Li, J., Liu, Y. and Lin, T. 1990. Determination of lead by hydride generation atomic absorption spectrometry. Part 1. A new medium for generating hydride. *Anal Chim Acta*, 231; 151-155
- Machata, G. and Binder, R. 1973. Determination of lead, thallium, zinc and cadmium trace elements in biological materials by flameless atomic absorption. *Z Rechtsmed*, 73; 29.
- Madrid, Y., Bonilla, M. and Cámara, C. 1988. Lead hydride generation: Efficiency in persulphate-nitric acid medium and application to the determination of lead in biological samples. *J Anal Atom Spectrom*, 3; 1097-1100.
- Madrid, Y., Bonilla, M. and Cámara, C. 1989. Determination of lead in foodstuffs and biological samples by hydride generation atomic absorption spectrometry using an aqueous slurry technique. *J Anal Atom Spectrom*, 4; 167-169.
- Madrid, Y. and Cámara, C. 1994. Lead hydride generation atomic absorption spectrometry: An alternative to electrothermal atomic absorption spectrometry. *Analyst*, 119; 1547-1558.
- Manahan, S.E. 1984. Environmental Chemistry. Willard Grant Press, 505, 508, 509, Boston, Massachusetts, U.S.A.
- McDaniel, M., Shendrikar, A.D., Reiszner, K.D. and West, P.W. 1976. Concentration and determination of selenium from environmental samples. *Anal Chem*, 48; 2240.

- Meranger, J.C., Hollebone, B.R. and Blanchette, G.A. 1981. The effects of storage times, temperatures, and container types on the accuracy of atomic absorption determination of cadmium, copper, mercury, lead, and zinc in whole heparinized blood. *J Analyt Toxicol*, 5; 33.
- Mertz, W. 1985. Assesment of trace elements nutritional status. *Nutr Res*, 1;169-177.
- Miller, D.T., Paschal, D.C., Gunter, E.W., Stround, P.E. and D'Angelo, J. 1987. Determination of lead in blood using electrothermal atomisation atomic absorption spectrometry with a L'vov platform and matrix modifier. *Analyst*, 112; 1701-1704.
- Nicholson, J.R.P., Savory, M.G., Savory, J. and Wills, M.R. 1989. Micro-Qantity tissue digestion for metal measurements by use of a microwave acid-digestion bomb. *Clin Chem*. 35(3); 488-490.
- Orheim, R.M. and Bovee, H.H. 1974. Atomic absorption determination of nanogram quantities of arsenic in biological media. *Anal Chem*, 46; 921.
- Paneth, F. and Rabinowitsch, E. 1925. Über die gruppe der flüchtigen hydride. *Chem Ber*, 58; 1138-1163.
- Pollock, E.N. and West, S.J. 1972. Determination of antimony at submicrogram levels by atomic absorption spectrophotometry. At *Absorption Newslett*, 11; 104.
- Pollock, E.N. and West, S.J. 1973. Generation and determination of covalent hydrides by atomic absorption. At *Absorption Newslett*, 12; 6.
- Qiao, H., Parsons, P.J. and Slavin, W. 1995. Transferability of blood lead determinations by furnace atomic absorption spectrometry and continuum background correction. *Clin Chem*, 41(10); 1451-1454.
- Rose, G.A. and Willden, E.G. 1973. Improved method for the determination of whole blood lead by an atomic-absorption technique. *Analyst*, 98; 243.
- Saalfeld, F.E. and Svec, H.J. 1963. The mass spectra of volatile hydrides. I. The monoelemental hydrides of the group IV B and V B elements. *Inorg Chem*, 2; 46-50.
- Sarıkaya, Y. 1997. *Fizikokimya*. Gazi Büro Kitabevi, 928-930, Ankara.
- Schilling, R.J. and Bain, R.P. 1988. Prediction of Children's blood lead levels on the basis of household-specific soil lead levels. *Am J Epidemiol*, 128(1); 197-205.

- Segar, D.A. 1974. Flameless atomic absorption gas chromatography. *Anal Letters*, 7; 89.
- Shuttle, I.L. and Delves, H.T. 1986. Determination of lead in blood by atomic absorption spectrometry with electrothermal atomisation. *Analyst*, 111; 651-656.
- Sirota, G.R. and Uthe J.F., 1977. Determination of tetraalkyl lead compounds in biological materials. *Anal Chem*, 49; 823.
- Skoog, D.A., Holler, F.J. and Nieman, T.A. 1998. *Principles of Instrumental Analysis*. Sounders College Publishing, 445, U.S.A.
- Skoog, D.A., West, M.W. and Holler, F.J. 1996. *Analitik Kimya I.Cilt*. Kılıç E. ve Köseoğlu F. editörlüğünde çeviri. Bilim Yayıncılık, 47-70, Ankara.
- Thompson, K.C. and Godden, R.G. 1976. A simple method for monitoring excessive levels of lead in whole blood using atomic-absorption spectrophotometry and a rapid, direct nebulisation technique. *Analyst*, 101; 174.
- Tinggi, U., Reilly, C., Hahn, S. and Capra, M.J. 1992. Comparison of wet digestion procedures for the determination of cadmium and lead in marine biological tissues by Zeeman graphite furnace atomic absorption spectrophotometry. *Sci Total Environ*, 125; 15-23.
- Tracqui, A., Bosque, M.A., Costa, V., Kintz, P., Siegel, F. and Mangin, P. 1994. Lack of relationship between hair lead levels and some usual markers (blood lead levels, ZPP, urinary ALA-D) in occupationally exposed workers. *Ann Biol Clin*, 52(11); 769-773.
- Tümtürk, N. 1998. Düşük düzeyde kurşun maruziyetinde bazı biyokimyasal parametrelerin araştırılması. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 102.
- Vickrey, T.M., Harrison, G.V. and Ramelow, G.J. 1980. Zirconium surface treatment of graphite furnace tube for the analysis of organolead compounds by atomic absorption spectrometry. *At Spectrosc*, 1; 116.
- Vijan, P.N. and Sadana, R.S. 1980. Determination of lead in drinking waters by hydride generation aid atomic-absorption spectroscopy, and three other methods. *Talanta*, 27; 321.
- Vijan, P.N. and Wood, G.R. 1976. Semi-automated determination of lead hydride generation and atomic absorption spectrometry. *Analyst*, 101; 966-973.

- Vural, N., Kumbur, H. and Güvendik, G. 1990. Blood lead levels of occupationally and nonoccupationally exposed population in Mersin. *J Health Sci*, 2; 71-77
- Vural, N. 1996. Toksikoloji. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayımları, 541-552, Ankara.
- Wang, S.T. and Demshar, H.P. 1992. Determination of blood lead in dried blood-spot specimens by Zeeman-effect background corrected atomic absorption spectrometry. *Analyst*, 117; 959-961.
- Welz, B. and Melcher, M. 1983. Investigations on atomization mechanism of volatile hydride-forming elements in heated quartz cell. *Analyst*, 108; 213-224.
- Welz, B. 1985. Atomic Absorption Spectrometry. Federal Republic of Germany, 43- 44, 69-75, 294- 295, 353-354, Weinheim, Germany.
- Xintaras, C. 1992. Analysis paper: Impact of lead-contaminated soil of public health. ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry), Atlanta, <http://atsdr1.cdc.gov:8080/cxlead.html>.
- Yamamoto, Y. and Kumamaru, T. 1976. Determination of ppb levels of cadmium, lead, and copper in water by carbon-tube flameless atomic absorption spectrophotometry combined with APDC-MIBK (ammonium pyrrolidine dithiocarbamate-methyl isobutyl ketone) extraction. *Z Anal Chem*, 281; 353.
- Yee, H.Y., Nelson, J.D. and Jackson, B. 1994. Measurement of lead in blood by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *J Anal Toxicol*, 18(7); 415-418.
- Yen, C.C., Chen, W.K., Hu, C.C., Wei, B.L. and Kuo, C.C. 1997. Lead determination in whole blood by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Atom Spectrosc*, 18(2); 64-69.
- Yıldız, A. ve Genç, Ö. 1993. Enstrümantal Analiz. Hacettepe Üniversitesi Basımevi, 181-205, Ankara.
- Zhang, B., Tao, K. and Feng, J. 1992. Determination of lead by hydride generation and atomization under low pressure using atomic absorption spectrometry. *J Anal Atom Spectrom*, 7; 171-173.

ÖZGEÇMİŞ

13.12.1960'da Anamur'da doğdu. İlk öğrenimini Hatay, Reyhanlı Oğuzhan İlkokulu'nda, orta ve lise öğrenimini Anamur Lisesi'nde tamamladı. Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Bölümü'nden 1984 yılında Kimyager ünvanıyla mezun oldu. 05.02.1988 tarihinde Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Ana Bilim Dalı'nda Yüksek Lisansını tamamladı.

1986-1988 yılları arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda TÜBİTAK tarafından kurulmuş olan "Çinko Eksikliği ve Tedavisi Araştırma Ünitesi"nde Araştırma Asistanı olarak görev yaptı. Haziran 1988-Şubat 1996 arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Hematoloji-Onkoloji Bilim Dalı'nda "Eser Element Laboratuvarı"nda çalışmalarını sürdürdü. Şubat 1996'da Ankara Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi (BITAUM)'nde görevlendirilen F. Nazlı Dinçer halen BITAUM Atomik Absorpsiyon Ünite Sorumlusu olarak görevini sürdürmektedir. 11 adedi Uluslararası Science Citation Index'ce taranan hakemli dergilerde olmak üzere 16 yayını vardır.