T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GIDA NUMUNELERİNDEKİ İNORGANİK VE ORGANİK ARSENİK TÜRLERİNİN EŞ ZAMANLI TAYİN EDİLMESİNE YÖNELİK YÖNTEM GELİŞTİRİLMESİ

Büşra AYDOĞAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kimya Anabilim Dalı

Analitik Kimya Programı

Danışman

Prof. Dr. İkbal KOYUNCU

Temmuz, 2024

T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GIDA NUMUNELERİNDEKİ İNORGANİK VE ORGANİK ARSENİK TÜRLERİNİN EŞ ZAMANLI TAYİN EDİLMESİNE YÖNELİK YÖNTEM GELİŞTİRİLMESİ

Büşra AYDOĞAN tarafından hazırlanan tez çalışması 01.07.2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Analitik Kimya Programı **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. İkbal KOYUNCU
Yıldız Teknik Üniversitesi
Danışman

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. İkbal Koyuncu, Danışman
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Prof. Dr. Sevgi Kocaoba, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Doç. Dr. Gülçin Yılmaz, Üye
İstanbul Teknik Üniversitesi _____

Danışmanım Prof. Dr. İkbal KOYUNCU sorumluluğunda tarafımca hazırlanan "Gıda Numunelerindeki İnorganik ve Organik Arsenik Türlerinin Eş Zamanlı Tayin Edilmesine Yönelik Yöntem Geliştirilmesi" başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Büşra AYDOĞAN

İmza

Bu çalışma, “Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü’nün FYL-2022-5573” numaralı projesi ile desteklenmiştir.



Aileme

ve

Kendime

TEŞEKKÜR

Kimya bölümünde yapmış olduğum yüksek lisans eğitimim boyunca bana yol gösteren, bilgi ve tecrübesiyle desteğini asla esirgemeyen değerli danışmanım saygıdeğer hocam Prof. Dr. İkbal KOYUNCU'ya değerli emeklerinden dolayı sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım sırasında ve sonraki süreçlerde tecrübesinden yararlandığım, destek ve yardımlarını asla esirgemeyen sevgili Dr. Sabriye SEL'e ayrıca maddi ve manevi desteklerini üzerimden hiçbir zaman eksik etmeyen sevgili aileme çok teşekkür ederim.

Büşra AYDOĞAN

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR v
SİMGE LİSTESİ ix
KISALTMA LİSTESİ x
ŞEKİL LİSTESİ xi
TABLO LİSTESİ xiii
ÖZET xiv
ABSTRACT xvi
1 GİRİŞ 1
1.1 Literatür Özeti 1
1.2 Tezin Amacı 3
1.3 Hipotez 3
2 METAL VE AĞIR METALLER 5
2.1 Tanımı ve Genel Bilgiler 5
2.2 Bazı Önemli Ağır Metaller 5
2.2.1 Kadmiyum 5
2.2.2 Kurşun (Pb) 6
2.2.3 Civa (Hg) 7
2.2.4 Krom (Cr) 7
2.2.5 Çinko (Zn) 7
2.2.6 Bakır (Cu) 8
2.3 Ağır Metallerin Kaynakları 8
2.3.1 Doğal Kaynaklar 9
2.3.2 Antropojenik Kaynaklar 10
2.4 Toprakta Ağır Metaller 10
2.5 Suda Ağır Metaller 11
2.6 Gıdalarda Ağır Metaller 12
2.7 Ağır Metallerin İnsan Sağlığı Üzerindeki Etkileri 13
3 ARSENİK 16
3.1 Tanımı ve Genel Bilgiler 16
3.2 Tarihi ve Kullanım Alanları 16
3.3 Kimyasal Formları 18
3.4 Metabolizması 20

3.5 Oluşumu 21
3.5.1 Atmosferde Arsenik 21
3.5.2 Toprakta Arsenik 21
3.5.3 Suda Arsenik 22
3.5.4 Gıdalarda Arsenik 23
3.6 İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri 25
4 ARSENİK TAYİN YÖNTEMLERİ **27**
4.1 Spektroskopik Yöntemler 27
4.1.1 Atomik Absorbsiyon Spektrometresi (AAS) 27
4.1.2 Atomik Floresans Spektrometresi (AFS) 28
4.1.3 İndüktif Eşleşmiş Plazma Optik Plazma Spektrometresi (ICP-OES) 29
4.1.4 İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi (ICP-MS) 30
4.2 Elektroanalitik Yöntemler 32
4.3 Kromatografik Yöntemler Ve Birleştirilmiş Teknikler (Hyphenated Techniques) 32
5 TÜRLENDİRME **35**
5.1 Türlendirme Ve Önemi 35
5.2 Ekstraksiyon Yöntemleri 35
5.2.1 Sıvı Sıvı Ekstraksiyonu 36
5.2.2 Enzimatik Hidroliz Ekstraksiyonu 36
5.2.3 Katı Faz Ekstraksiyonu 36
5.2.4 Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon 37
5.2.5 Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon 38
5.3 HPLC–ICP–MS Donanımı 39
5.3.1 HPLC Sistemi 40
5.3.2 ICP – MS Sistemi 42
6 DENEYSEL KISIM **44**
6.1 Kullanılan Ekipmanlar 44
6.1.1 HPLC/ICP–MS Sistemi 44
6.1.2 Kolon 44
6.1.3 Kullanılan Kimyasallar 44
6.1.4 Diğer Ekipmanlar 45
6.2 HPLC-ICP-MS Sistemi Optimizasyon Çalışmaları 45
6.2.1 pH Etkisi 48
6.2.2 EDTA Etkisi 50

6.2.3 MeOH Etkisi 53
6.2.4 ICP-MS Spektral Girişim Etkisi 55
6.3 As (III), As (V), MMA Ve AsB analitlerinin HPLC/ICP-MS ile Sistem Analitik Performans Değerlerinin Belirlenmesi 55
6.4 Gıda Numunelerinde As (III), As (V), MMA ve AsB'in Eş Zamanlı Tayini 60
6.4.1 Örnek Toplama Ve Saklama 60
6.4.2 Ön Hazırlık İşlemi İçin Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon Yöntemi Geliştirilmesi 61
6.4.3 Örneklerin Eş Zamanlı Tayini ve Geri Kazanım Çalışmaları 64
6.5 Kolon Geri Kazanım Çalışması 75
7 SONUÇLAR **76**
KAYNAKÇA **78**
TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR **89**

SİMGE LİSTESİ

cm	Santimetre
g	Gram
L	Litre
mg	Miligram
mL	Militre
mmol	Milimol
ng	Nanogram
ppb	Milyarda Bir Birimi
ppm	Milyonda Bir Birimi
µg	Mikrogram

KISALTMA LİSTESİ

AAS	Atomik Absorbsiyon Spektrometresi
AFS	Atomik Floresans Spektrometrisi
As	Arsenik
AsB	Arsenobetain
As (V)	Arsenat
As (III)	Arsenit
ATP	Adenozin Trifosfat
Cd	Kadmiyum
Cr	Krom
Cu	Bakır
EDTA	Etilen diamin tetraasetik asit
HG-AAS	Hidrit Üretimi-Atomik Absorpsiyon Spektrometrisi
HG-AFS	Hidrit Üretimi-Atomik Floresans Spektrometrisi
HPLC	Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi
ICP-MS	Endüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi
ICP-OES	Optik Emisyon Kütle Spektrometresi
LLE	Sıvı-Sıvı Ekstraksiyonu
LOD	Tayin Limiti
LOQ	Tespit Limiti
MeOH	Methanol
MMA	Monometil arsenik
Ni	Nikel
Pb	Kurşun
UV-VIS	Ultraviyole-Görünür Bölge
Zn	Çinko

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 4.1 AAS cihazının şematik diyagramı **28**

Şekil 4.2 ICP-OES cihaz şeması **30**

Şekil 4.3 ICP-MS cihaz şeması **30**

Şekil 4.4 Tirelenme tekniklerinin şematik gösterimi **33**

Şekil 5.1 Katı faz ekstraksiyonu **37**

Şekil 5.2 Ultrasonik banyonun şematik gösterimi **38**

Şekil 5.3 Mikrodalga destekli ekstraksiyon kapalı sistem diyagramı **39**

Şekil 5.4 Mikrodalga destekli ekstraksiyon açık sistem diyagramı **39**

Şekil 5.5 HPLC-ICP-MS sisteminin şematik diyagramı **40**

Şekil 6.1 50 ng/mL derişimdeki mix standart çözeltinin 50 mM Na_2CO_3, pH 10.00 mobil fazı kullanılarak elde edilen kromatogramı **46**

Şekil 6.2 50 ng/mL derişimdeki mix standart çözeltinin 50 mM Na_2CO_3, pH 11.00 mobil fazı kullanılarak elde edilen kromatogramı **47**

Şekil 6.3 50 ng/mL derişimdeki mix standart çözeltinin 50 mM $(NH_4)_2CO_3$, 0.20 mM EDTA,%1.0 MeOH, pH 8.50 mobil fazı kullanılarak elde edilen kromatogramı **48**

Şekil 6.4 50 ng/mL derişimdeki mix standart çözeltinin 50 mM $(NH4)_2CO_3$, 0.20 mM EDTA,%1.0 MeOH, pH 9.50 mobil fazı kullanılarak elde edilen kromatogramı **49**

Şekil 6.5 50 ng/mL derişimdeki mix standart çözeltinin 50 mM $(NH4)_2CO_3$, 0.20 mM EDTA,%1.0 MeOH, pH 10.00 mobil fazı kullanılarak elde edilen kromatogramı **50**

Şekil 6.6 50 ng/mL derişimdeki mix standart çözeltinin 50 mM (NH4)2CO3, 0.05 mM EDTA,%1.0 MeOH, pH 9.50 mobil fazı kullanılarak elde edilen kromatogramı **51**

Şekil 6.7 50 ng/mL derişimdeki mix standart çözeltinin 50 mM (NH4)2CO3, 0.20 mM EDTA,%1.0 MeOH, pH 9.50 mobil fazı kullanılarak elde edilen kromatogramı **51**

Şekil 6.8 50 ng/mL derişimdeki mix standart çözeltinin 50 mM $(NH_4)_2CO_3$, 0.50 mM EDTA,%1.0 MeOH, pH 9.50 mobil fazı kullanılarak elde edilen kromatogramı **52**

Şekil 6.9 10 ng/mL derişimdeki mix standart çözeltinin 50 mM $(NH_4)_2CO_3$, 0.50 mM EDTA, % 0.50 MeOH içeren, pH 9.50 mobil fazı kullanılarak elde edilen kromatogramı **53**

Şekil 6.10 10 ng/mL derişimdeki mix standart çözeltinin, 50 mM $(NH_4)_2CO_3$, 0.50 mM EDTA, %1.0 MeOH içeren, pH 9.50 mobil fazı kullanılarak elde edilen kromatogramı **53**

Şekil 6.11 10 ng/mL derişimdeki mix standart çözeltinin, 50 mM $(NH_4)_2CO_3$, 0.50 mM EDTA, %3.0 MeOH, pH 9.50 mobil fazı kullanılarak elde edilen kromatogramı **54**

Şekil 6.12 0.50 ng/mL derişimdeki mix standart çözeltinin, ICP-MS'de m/z 75 (1) ve m/z 77 (2) sinyallerinde elde edilen kromatogramı **55**

Şekil 6.13 HPLC-ICP-MS cihazında optimum koşullar altında elde edilen AsB'e ait kalibrasyon grafiği **57**

Şekil 6.14 HPLC-ICP-MS cihazında optimum koşullar altında elde edilen As (III)'e ait kalibrasyon grafiği **57**

Şekil 6.15 HPLC-ICP-MS cihazında optimum koşullar altında elde edilen MMA'e ait kalibrasyon grafiği **58**

Şekil 6.16 HPLC-ICP-MS cihazında optimum koşullar altında elde edilen As (V)'e ait kalibrasyon grafiği **58**

Şekil 6.17 0.50 µg/L derişimdeki As (III), As (V), MMA ve AsB analitlerini içeren mix standart çözeltisinin tekrarlı olarak sisteme gönderilmesi sonucu elde edilen kromatogram **59**

Şekil 6.18 0.50-150 µg/L aralığında As (III), As (V), MMA ve AsB analitlerine ait mix standart çözeltisinin sisteme gönderilmesi sonucu elde edilen kromatogram **59**

Şekil 6.19 (v:v) (3:1) MeOH:H_2O çözücü karışımı ile ekstrakte edilen mezgit örneği ve mezgit örneğine 2500 µg/L derişimde spike edilmiş AsB ve As(V) 'e ait kromatogram **61**

Şekil 6.20 (v:v) (1:1) MeOH: H_2O çözücüsü ile ekstraksiyon yapılmış olan mezgit örneği ve mezgit örneğine 2500 µg/L spike edilmiş AsB, As(III), MMA ve As(V)'e ait kromatogram **63**

Şekil 6.21 Mezgit örneğinin 3 tekrarlı sonucuna ait kromatogram **64**

Şekil 6.22 Midye örneğinin 3 tekrarlı sonucuna ait kromatogram **65**

Şekil 6.23 Hamsi örneğinin 3 tekrarlı sonucuna ait kromatogram **66**

Şekil 6.24 Karides örneğinin 3 tekrarlı sonucuna ait kromatogram **67**

Şekil 6.25 Mezgit örneğinin 3 tekrarlı blank (kör), 200 ng/g ve 1500 ng/g spike numunelerine ait sonuçları gösteren kromatogramı **69**

Şekil 6.26 Midye örneğinin 3 tekrarlı blank(kör), 200 ng/g ve 1500 ng/g spike numunelerine ait sonuçları gösteren kromatogram **70**

Şekil 6.27 Hamsi örneğinin 3 tekrarlı blank(kör), 200 ng/g ve 1500 ng/g spike numunelerine ait sonuçları gösteren kromatogram **71**

Şekil 6.28 Karides örneğinin 3 tekrarlı blank(kör), 200 ng/g ve 1500 ng/g spike numunelerine ait sonuçları gösteren kromatogram **72**

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1 Doğal kaynaklardan Dünyaya ağır metal salınımı **9**

Tablo 2.2 Gıdalardaki bazı esansiyel ve toksik ağır elementler **13**

Tablo 2.3 Bazı ağır metallerin yasal sınırları **15**

Tablo 3.1 Bazı Arsenik Türleri **19**

Tablo 3.2 Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliğine göre bazı gıdalarda As (III) ve As (V) toplam yasal limitleri **24**

Tablo 6.1 Denemesi yapılan mobil fazlar **45**

Tablo 6.2 50 ng/mL derişimdeki mix standart çözelti kullanılarak 0.05 mM, 0.20 mM ve 0.50 mM EDTA içeren tampon çözeltiye ait pik alanları **52**

Tablo 6.3 10 ng/mL derişimdeki mix standart çözelti kullanılarak, 0.05 mM, 0.20 mM ve 0.50 mM derişimlerindeki EDTA'nın pik alanlarına etkisi **54**

Tablo 6.4 As (III), As (V), MMA ve AsB için optimum cihaz koşulları **56**

Tablo 6.5 Optimum koşullar altında As (III), As (V), MMA ve AsB analitlerine ait sistem analitik performans değerleri **60**

Tablo 6.6 (v:v) (3:1) MeOH:H_2O çözücü karışımı ile ekstrakte edilen mezgit örneği ve mezgit örneğine 2500 µg/L derişimde spike edilmiş AsB ve As(V) 'e ait sonuçlar **62**

Tablo 6.7 (v:v) (1:1) MeOH: H_2O çözücüsü ile ekstraksiyon yapılmış olan mezgit örneği ve mezgit örneğine 2500 µg/L spike edilmiş AsB, As(III), MMA ve As(V)'e ait sonuçlar **63**

Tablo 6.8 Mezgit örneğine ait 3 tekrarlı hazırlanan analiz sonuçları **65**

Tablo 6.9 Midye örneğine ait 3 tekrarlı hazırlanan analiz sonuçları **66**

Tablo 6.10 Hamsi örneğine ait 3 tekrarlı hazırlanan analiz sonucu **67**

Tablo 6.11 Karides örneğine ait 3 tekrarlı hazırlanan analiz sonucu **68**

Tablo 6.12 Mezgit örneğine ait 3 tekrarlı hazırlanan 200 ng/g ve 1500 ng/g derşimindeki spike edilmiş numunelere ait analiz sonucu **69**

Tablo 6.13 Midye örneğine ait 3 tekrarlı hazırlanan 200 ng/g ve 1500 ng/g derşimindeki spike edilmiş numunelere ait analiz sonucu **70**

Tablo 6.14 Hamsi örneğine ait 3 tekrarlı hazırlanan 200 ng/g ve 1500 ng/g derşimindeki spike edilmiş numunelere ait analiz sonucu **71**

Tablo 6.15 Karides örneğine ait 3 tekrarlı hazırlanan 200 ng/g ve 1500 ng/g derşimindeki spike edilmiş numunelere ait analiz sonucu **72**

Tablo 6.16 Mezgit, midye, hamsi, karides örneklerinin 3 tekrarlı geri kazanım sonuçları **74**

Tablo 6.17 Kolon geri kazanım değeri **75**

ÖZET

Gıda Numunelerindeki İnorganik ve Organik Arsenik Türlerinin Eş Zamanlı Tayin Edilmesine Yönelik Yöntem Geliştirilmesi

Büşra AYDOĞAN

Kimya Anabilim Dalı

Analitik Kimya Programı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. İkbal KOYUNCU

Bu tez çalışmasında gıda numunelerinde bulunan arseniğin inorganik ve organik formları olan arsenit (As (III)), arsenat (As (V)), metilarsonik asit (MMA) ve arsenobetain (AsB)'in kalitatif ve kantitatif olarak eş zamanlı tayini için yüksek hassasiyet ve seçiciliğe sahip HPLC/ICP-MS sistemi kullanılarak tespit limitleri düşük bir yöntem geliştirilmiştir. Sistemdeki tüm değişken parametreler optimize edildikten sonra arsenik türlerinin ayrılması için anyon değiştirici kolon kullanılarak ve 0.5 mM EDTA, %1.0 MeOH içeren 50 mM $NH_4(CO_3)_2$ çözeltisi mobil faz olarak belirlenmiştir. Optimum koşullarda sistem analitik performans değerleri AsB, As (III), MMA ve As (V) için sırasıyla, LOD/LOQ değerleri sırasıyla 0.07/0.22 ng/mL, 0.12/0.41 ng/mL, 0.06/0.22 ng/mL, 0.03/0.11 ng/mL olarak bulunmuştur.

Hamsi, mezgit, midye ve karides gibi en çok tüketilen gıda ürünleri deneysel çalışmalarda kullanılmak üzere İstanbul'un çeşitli pazarlarından toplanmıştır. Bu örneklerdeki arsenik türlerinin belirlenmesi için HPLC/ICP-MS sistemine

gönderilmeden önce ön işleminde ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır. Ekstraksiyon için farklı oranlarda MeOH-H_2O solvent karışımı ile denemeler yapılmış ve denemeler sonucunda 1:1 (v/v) orandaki MeOH:H_2O karışımı için daha yüksek ekstraksiyon verimi elde edilmiş ve bundan sonraki çalışmalar için optimum oran olarak belirlenmiştir. Çalışma sonucunda geliştirilen metod gerçek örneklere başarıyla uygulanmış uygulanmış olup yüksek geri kazanım değerleri elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: HPLC/ICP-MS, arsenik, ekstraksiyon.

ABSTRACT

Development of an Analytical Method For The Simultaneous Determination of Inorganic and Organic Arsenic Species in Food Samples

Büşra AYDOĞAN

Department of Chemistry

Master of Science Thesis

Supervisor: Prof. Dr. İkbal KOYUNCU

In this thesis, a method with low detection limits was developed for the simultaneous qualitative and quantitative determination of arsenite (As (III)), arsenate (As (V)), methylarsonic acid (MMA) and arsenobetaine (AsB), which are the inorganic and organic forms of arsenic in food samples, using a HPLC/ICP-MS system with high sensitivity and selectivity. A solution consisting of 0.5 mM EDTA, 1.0% MeOH, and 50 mM $NH_4(CO_3)_2$ was used as the mobile phase with an anion exchange column for species separations. Under the optimum conditions, the system analytical performance values were calculated. The LOD/LOQ values were found 0.12/0.41 ng/mL, 0.03/0.11 ng/mL, 0.06/0.22 ng/mL, 0.07/0.22 ng/mL for As (III), As (V), methylarsonic acid (MMA) and arsenobetaine (AsB), respectively.

The most commonly consumed food products such as anchovies, haddock, mussels and prawn were collected from various markets of Istanbul for experimental studies. Ultrasonic assisted extraction method was used as pretreatment for the determination of arsenic species before the food samples were analysed with the HPLC/ICP-MS system. Experiments were carried out with different ratios of MeOH-H_2O solvent for extraction. As a result of the experiments, higher extraction

yields were obtained for the MeOH:H_2O mixture at a ratio of 1:1 (v/v) and it was determined as the optimum ratio for further studies. As a result of the study, the developed method has been successfully applied to food samples and high recovery values were obtained.

Keywords: HPLC/ICP-MS, arsenic, extraction.

1
GİRİŞ

1.1 Literatür Özeti

Arsenik (As), çevrede her yerde ve çoğunlukla kayalarda, topraklarda ve doğal sularda düşük konsantrasyonlarda bulunan bir metaloiddir [1]. Ayrıca atmosferde, pedosferde, hidrosferde ve biyosferde de bulunabilir. Günlük hayatta, ilaçlarda kullanıldığı gibi, tarım da, hayvancılıkta, metalürjide, sanayi alanında, tarım ilaçlarında ve gübrelerde olmak üzere çeşitli alanlarda da kullanılmaktadır. Literatürde bilinen 245'ten fazla mineral, arsenik içermektedir. Arsenik içeren en önemli mineraller ise orpiment (As_2S_3), realgar (AsS), mispickel (FeAsS), loelling-ite ($FeAs_2$), nikolit (NiAs), kobaltit (CoAsS), tennantit ($Cu_{12}As_4S_{13}$) ve enargit(Cu_3AsS_4)'tir [2].

Çevrede ve besin zincirinde As, farklı toksikolojik özelliklere sahip çeşitli kimyasal formlarda (türlerde) bulunur [3]. Arsenik doğal olarak 3, 0, +3 ve +5 olmak üzere dört farklı oksidasyon basamağında oluşabilmektedir. Hâkim redoks ve pH koşullarına bağlı olarak bu toksik element, inorganik (iAs) ve/veya organik bileşikler formunda bulunabilmektedir. As'in fizikokimyasal formu onun toksisitesini ve biyoyararlanımını belirlemektedir [4]. İnorganik arsenik türleri (iAs) olan As (III) ve As (V), genellikle metillenmiş hali ve organik arsenik olan monometil arsenik (MMA) ve dimetil arsenik (DMA) ile arsenobetain (AsB) ve arsenokolin (AsC) gibi diğer arsenik türlerinden daha toksiktir [5]. Arsenobetain (AsB), deniz ürünlerinde en bol bulunan As türüdür. Arsenobetain, diğer As türleri ile karşılaştırıldığında toksik olmadığı kabul edilebilir ve deniz ürünlerinde bulunması insan sağlığı açısından neredeyse hiçbir risk oluşturmaz [6].

Gıda ürünlerinde arseniğin birikmesi, mevcut arsenik türlerinin miktarına ve türüne bağlı olarak insan sağlığı açısından risk oluşturabilir. Epidemiyolojik çalışmalar inorganik arseniğin (iAs) kanserojen olduğunu, cilt, mesane ve akciğer tümörlerine neden olduğunu göstermiştir. Ayrıca, inorganik arsenik türlerinin hücresel enerji metabolizmasına müdahale ederek fosforilasyon yoluyla oksidasyona neden olduğu ve Adenozin Trifosfat (ATP) sentezini inhibe ettiği belirlenmiştir. İAs'lerin tip 2

diyabet gelişimine sebep olduğu ve kanserojen potansiyele sahip olduğu düşünülmektedir [3][5].

As türlerinin farklı toksisiteleri olması kimyasal özelliklerinin önemini güçlendirir; ancak toplam As miktarı, analiz edilen numunenin toksisitesi hakkında yeterli bilgi sağlamaz. Bu nedenle, çevresel örneklerde arsenik belirlemeye yönelik türlendirme yöntemleri, kirlilik düzeyinin belirlenip değerlendirilmesi açısından çok önemlidir. Arsenik türlerinin analizi genellikle ekstraksiyon, ayırma ve tespit dahil olmak üzere birçok adımı içerir. As türlendirme analizlerini gerçekleştirmek için çeşitli yöntemler kullanılmıştır. Bunlardan bazıları şöyledir; yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ve indüktif olarak eşleşmiş plazma-optik emisyon spektrometresi (ICPOES), endüktif olarak eşleşmiş plazma-kütle spektrometresi (ICP-MS), hidrit üretimi-atomik absorpsiyon spektrometrisi (HG-AAS) ve hidrit üretimi-atomik floresans spektrometrisi (HG-AFS) ile tespittir. Arseniğin tespit edilmesi için bir türlendirme yöntemi geliştirmek amacıyla bir ayırma sistemi olan HPLC ile atomik spektrometrenin birleşimi ile oluşturulan kombine sistemler yaygın olarak kullanılır. Ancak yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile eşleşmiş plazma kütle spektrometresinin kombine edilmesi ile oluşturulan HPLC-ICP-MS gibi sistemler, yüksek hassasiyet, doğruluk ve geniş doğrusal aralık gibi avantajlar sunarak, farklı elementler ve bileşikleri için türlendirme analizlerinde geniş bir uygulanım alanı bulmuştur. Ayrıca bu teknik, arseno-şekerler, arsenolipidler ve fenilarsenikler gibi arsenik türlerinin ayrılması ve belirlenmesi için de hâlihazırda kullanılmaktadır [7][8].

Numunelerin ön hazırlık işlemleri, hedef analitlerin bozunmadan ve yüksek verimde tespit edilebilir seviyelerde elde edilmesi gibi nedenlerden dolayı önem arzetmektedir. Özellikle biyolojik ve gıda numuneleri, tespitlere müdahale edebilecek yüksek konsantrasyonda organik madde ve tuz içeren çok karmaşık matrislerdir. Çok seyreltilmiş As türlerini içerirler ve bu nedenle numune hazırlama işlemi arsenik türlerinin denatürasyon, kayıp veya kontaminasyon olmadan ekstraksiyonunu ve konsantrasyonunu sağlamalıdır. Numuneler ya sıvı (su, serum, idrar, vb.) ya da katı (hayvansal ya da bitkisel dokular, gıdalar vb.) olabilir. Bu matrislerin ortadan kaldırılması için çeşitli ekstraksiyon (saflaştırma) prosedürleri (numunenin sıvı veya katı yapısına bağlı olarak) mevcuttur [9]. Literatürde

karmaşık matrikse sahip gerçek örneklerdeki analitlerin ortaya çıkarılması için santrifüj/vortex destekli ekstraksiyon, mikrodalga destekli ekstraksiyon, hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu ve enzimatik sindirim kombine ekstraksiyonu gibi ekstraksiyon teknikleri kullanılmaktadır [10].

1.2 Tezin Amacı

Arsenik her yerde bulunan çevresel bir element olduğundan ve insan sağlığı üzerinde olumsuz etkileri sebebiyle kalitatif ve kantitatif tayini oldukça önemli olan bir elementtir. Bu çalışmada, gıda numunelerindeki arseniğin kimyasal formu olan inorganik arsenik As (III) ve As (V) ile organik arsenik olan monometil arsenik (MMA) ve deniz ürünlerinde en çok bulunan arsenik türü arsenobetain (AsB)'in yüksek hassasiyet ve duyarlılıkta tayin edilebilmesi için HPLC/ICP-MS sistemi kullanılmıştır. Bu tezin amacı, yüksek hassasiyet ve duyarlılıkta, düşük dedeksiyon limitlerine sahip bir ICP-MS sistemi ile yüksek ayırma gücüne sahip HPLC sisteminin kombine edilmesi sonucu oluşturulan HPLC/ICP-MS sistemi kullanılarak arsenik türlerinin tayin edilmesi için analitik metot geliştirilmesidir. Bu amaç doğrultusunda geliştirilen yöntemle canlılıların besin kaynağı olan gıda numunelerine bulaşan arsenik türlerinin miktarı belirlenmek istenmiştir. Gıda numunelerinin HPLC/ICP-MS sistemine gönderilmeden önce arsenik türlerinin en iyi izolasyonu için uygun ekstraksiyon solventi ile ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır. HPLC sistemi ile kromatografik olarak arseniğin türleri olan As (III), As (V), monometil arsenik (MMA), arsenobetain (AsB)'in ayrımı yapıldıktan sonra ICP-MS ile optimum koşullar altında kalitatif ve kantitatif tayini gerçekleştirilmiştir. Geliştirilen metodun doğruluğunun tespiti ve gerçek örnekler üzerindeki uygulanabilirliğinin kanıtlanması için, geri kazanım çalışması yapılmış ve %100'e yakın sonuçlar elde edilmiştir.

1.3 Hipotez

İnsanlar, her alanda var olan toksik element arseniğe su, hava, gıda yoluyla maruz kalmaktadır. Arsenik, canlıların hücrelerinde birikerek ciddi sağlık sorunlarına sebep olmaktadır. İnsan vücudu için ciddi zararları olan bu elementin farklı türlerinin farklı toksisitesi olması nedeniyle gıda ürünlerinde türlendirilme

çalışması yapılarak yüksek doğruluk ve duyarlılıkta tekrarlanabilir bir şekilde tayin edilmesi oldukça önemlidir. Bu tez çalışması kapsamında hyphaneted (birleştirilmiş) yöntem olan HPLC/ICP-MS sistemi kullanılarak hassasiyeti yüksek, eser seviyelerde miktar tespit etmeye olanak sağlayan metot geliştirilecektir. Geliştirilmiş olan bu metot gıda numunelerine uygulanarak bu numunelerde bulunan ve arsenik türleri olan As (III), As (V), monometil arsenik (MMA) ve arsenobetain (AsB)'in doğru ve duyarlılığı yüksek bir şekilde tayin edilmesini sağlayacaktır. Bu amaç doğrultusunda yapılan çalışmalarla HPLC/ICP-MS sisteminde yeni oluşturulan bu metot literatüre kazandırılacaktır.

2
METAL VE AĞIR METALLER

2.1 Tanımı ve Genel Bilgiler

Metaller, kimyasal olarak elektriği ileten, metalik parlaklığa sahip, dövülebilir olup uzayabilen, katyon oluşturabilen ve bazik oksitlere sahip elementler olarak tanımlanmaktadır. Ağır metaller ise civa (Hg), bakır (Cu), nikel (Ni), kadmiyum (Cd), krom (Cr), arsenik (As), çinko (Zn) ve kurşun (Pb) gibi yoğunluğu 5,0 $g.cm^{-3}$'ten ve atom kütlesi 20 g/mol den büyük olan elementler olarak tanımlanmaktadır [11],[12]. Bu elementler doğal olarak oluşur ve genellikle çevrede eser seviyelerde bulunurlar ve yüksek seviyelerde bulunmaları tehlikeli olabilmektedir. İnsanlar bu metallere içme, yeme veya soluma yoluyla maruz kalmaktadır. Bu metalleri ve bu metallerin oluşturduğu bileşikleri kullanan bir endüstriyel alanda çalışmak veya yakınında yaşamak ya da bu metallerin uygunsuz şekilde imha edildiği bir çevrenin yakınında yaşamak kişinin maruz kalma riskini artırır [13].

Ağır metaller, canlılar üzerindeki etkinliklerine göre temel olan ve temel olmayan elementler olarak sınıflandırılabilir. Örneğin; demir (Fe), mangan (Mn) ve çinko (Zn) gibi bazı elementler, çeşitli biyokimyasal ve fizyolojik işlevler için gerekli olan temel elementler iken temel olmayan elementler olarak tanımlanan kurşun (Pb), civa (Hg) ve kadmiyum (Cd) dahil olmak üzere diğer bazı ağır metaller dışsal kaynaklı element olarak kabul edilir ve düşük maruziyet durumunda toksisiteye neden olabilirler [14].

2.2 Bazı Önemli Ağır Metaller

2.2.1 Kadmiyum

Kadmiyum (Cd), fizyolojik bir işlevi olmayan ve genellikle toksik madde olarak kabul edilen elementtir. Atom numarası 48, atom ağırlığı ise 112.41 g/mol ve yoğunluğu 8.65 g/cm^3'dür. Yumuşak, dövülebilir ve esnek yapıya sahip kadmiyum, bileşiklerinin çoğunda +2 oksidasyon durumunu tercih eder [15].

Cd, endüstriyel alanda Ni-Cd pillerinin üretimi, Cu, Pb ve Zn cevherlerinin rafine edilmesinde, korozyonu önlemek amacıyla elektrokaplama ve galvanizleme uygulamalarında, metal alaşımlarının hazırlanması sırasında koruyucu olarak bileşime katılmasında, plastik üretiminde stabilizatör olarak kullanılmasında, cam sanayi de, seramik yapımında ve boya üretiminde kullanılmaktadır. Ayrıca endüstriyel alanların dışında, ev eşyaları, otomobil ve kamyon lastikleri, fotoğrafçılık, tarım aletleri, uçak parçaları, bazı endüstriyel ve el aletleri, cıvata, vida, vida somunu ve çivi üretiminde de yaygın olarak kullanılmakta olup birçok endüstride, Cu, Pb ve Zn ekstraksiyonunun bir yan ürünü olarak da açığa çıkmaktadır [16].

Gıda tüketimi ve sigara içmenin yanı sıra, insanlar metal endüstrisinde çalışmak veya kadmiyumla kirlenmiş sahalarda çalışmak da dahil olmak üzere farklı şekillerde kadmiyuma maruz kalabilirler. Cd maruziyet sonucu insan vücudunda, solunum sistemine, üreme sistemine, nefrolojik sistemine, kan dolaşımı sistemine, iskelet sistemine, toksik etki ederek çeşitli hastalıklara sebep olmaktadır [17].

2.2.2 Kurşun (Pb)

Kurşun, atom numarası 82, atom ağırlığı 207.2 g/mol ve yoğunluğu 11.34 g/cm^3 olan kimyasal bir elementtir. Doğa da kütle numaraları 204, 206, 207 ve 208 olan dört kararlı izotopu halinde bulunmaktadır. +4 ve +2 olmak üzere iki ana oksidasyon durumu vardır ve en yaygın oksidasyon durumu +2'dir. Kurşun yumuşak ve dövülebilir bir yapıya sahip olup nispeten düşük bir erime noktasına sahiptir. Kurşun, herhangi bir kararlı elemente kıyasla en yüksek atom numarasına sahiptir ve daha ağır elementlerin üç ana bozunma zincirini tamamlar [18].

Dünyanın birçok yerinde yaygın kullanımı sona ermiş olsa da, araba tamiri, akü üretimi ve geri dönüşümü, rafine etme, eritme vb. gibi birçok endüstride kullanılmaya devam edilmektedir. Kurşun, vücuttaki hemen hemen her organı etkileyen oldukça zehirli bir ağır metaldir. İnsanların kurşun ve bileşiklerine maruz kalması çoğunlukla kurşunlu benzin, kurşunun eritilmesi ve yanması gibi endüstriyel işlemler, çömlekçilik, tekne yapımı, kurşun bazlı boyama, kurşun içeren borular, pil geri dönüşümü, endüstriyel kullanımı, pigmentler, kitap basımı vb yollar ile olmaktadır [19].

2.2.3 Civa (Hg)

Cıva (Hg), hidrargiyum adıyla da bilinen, oda sıcaklığında sıvı halde bulunan ve ağır gümüşi beyaz renkteki bir metaldir. Standart sıcaklık ve basınç koşulları altında sıvı halde bulunan tek metaldir [20]. Cıva, elementel cıva (Hg^0), cıva (Hg^{+1}) ve cıva (Hg^{+2}) gibi oksidatif durumlarında, inorganik tuzlar halinde ve organik kompleksler halinde bulunur ve bütün formları son derece toksiktir [21].

Cıva yaygın olarak pil, termometre ve barometre aletlerin üretiminde kullanılmaktadır. Cıva içeren bazı tüketici ürünleri arasında ise halojenür röle anahtarlarına sahip otomotiv ekipmanları, floresan ve yüksek yoğunluklu deşarj lambaları bulunmaktadır. Cıvanın tıbbi alanda kullanımı arasında idrar söktürücü, antiseptik, cilt merhemi, müshil olarak ve frengi tedavisi yer almaktadır. Civanın tıbbi ve endüstriyel kullanımlarının yanı sıra dünyanın birçok ülkesinde büyü-dini ritüelleri ve manevi uygulamalarında önemli roller oynamıştır [21], [22].

2.2.4 Krom (Cr)

Krom, periyodik tabloda VIB grubunda yer alan bir geçiş metalidir. -4'ten +6'ya kadar çeşitli oksidasyon durumları olmasına rağmen, en kararlı ve en yaygın formları oldukça farklı kimyasal özellikler sergileyebilen üç değerlikli Cr (III) ve altı değerlikli Cr (VI) türleri krom bileşiklerinde görülmektedir [25] [26].

Krom; boya ve pigment üretimi, tabaklama, elektrokaplama, ahşap koruma, krom kimyasalları üretimi, metalurji, kağıt hamuru ve kağıt üretimi dahil olmak üzere birçok farklı endüstride büyük ölçekte kullanılmaktadır. Krom, oda sıcaklığında sıradan aşındırıcı maddelere karşı dayanıklı olduğu için elektrolizle kaplanmış koruyucu bir kaplama olarak da kullanılmaktadır [27].

2.2.5 Çinko (Zn)

Doğal çevrede +2 oksidasyon durumunda olan bir geçiş elementidir. İki cevher minerali olan sfalerit (ZnS) ve smithsonit ($ZnCO_3$) jeosferdeki ana kaynaklarıdır. Zn'nin ^{64}Zn, ^{66}Zn, ^{67}Zn, ^{68}Zn ve ^{70}Zn olmak üzere beş kararlı izotopu vardır. Ortalama doğal bolluk açısından en çok %48.63'lük oran ile ^{64}Zn izotopu bulunurken %0.62'lik oran ile doğada en az ^{70}Zn izotopu bulunmaktadır [28].

Çinko insanlar için ve çeşitli yaşamsal hareketler için gerekli olan bir eser elementtir. Metabolizmayla yakından ilişkili 300'den fazla enzimde bulunup burada kataliz, yapı oluşumu ve aktivite düzenlemesinde rol oynarken vücudun büyümesini ve gelişmesini kontrol eden nükleik asit bağlayıcı proteinlerde de bol miktarda bulunmaktadır [29].

Çinkonun en yaygın uygulama alanı inşaat, ulaşım ve tüketici ürünlerinin dayanıklılığını ve ömrünü artırarak çeliği korumak için galvanizleme işlemindedir. Buna ek olarak çinkonun kullanım alanları arasında bakır (pirinç) veya alüminyum (çinko basınçlı döküm) ile alaşımlama, haddelenmiş çinko içeren levha ve kauçuk da, gübre ve kişisel bakım ürünlerinde kimyasal olarak kullanılması yer alır [30].

2.2.6 Bakır (Cu)

Atom numarası 29, atom ağırlığı 63.546 g/mol ve yoğunluğu 8.94 g/cm^3 olan katı ve iletken özelliğe sahip olan geçiş elementidir. Doğal çevrede +1, +2 ,+3, +4 oksidasyon durumunda bulunmaktadır. Günümüzde teknolojinin birçok alanında özellikle mimari alanda ve elektronik alanda kullanılmakta olup güneş enerjisiyle ısıtmada, suyun tuzdan arındırılmasında, tarımda çevreye duyarlı tarım uygulamalarında ve lineer motor üretiminde de kullanılmaktadır [31].

Bakır, antik çağlardan beri birçok ülkede kullanılan madeni paranın bir bileşeni olarak da kullanılmaktadır. Ayrıca bakırın en yeni uygulamalarından biri de, bakırın antimikrobiyal özelliklerinin mikrop ve hastalık geçirgenliğini azalttığı sık sık temas edilen yüzeylerde (pirinç kapı kolları gibi) kullanımıdır. Yarı iletken üretimi yapan kurumlarda mikroişlemcilerin daha hızlı çalışmasını ve daha az enerji harcamasını sağlayan silikon çiplerdeki devrelerde bakır kullanmaya başlamışlardır [32].

2.3 Ağır Metallerin Kaynakları

Çevredeki ağır metal kaynakları, doğal kaynaklar ve antropojenik kaynaklar olmak üzere iki gruptan oluşmaktadır [33].

2.3.1 Doğal Kaynaklar

Doğal kaynaklar arasında volkanlar, minerallerin bozulması ve orman yangınları sebebiyle ağır metallerin duman aracılığıyla atmosfere yayılması ile toprak ve su yüzeylerinden ağır metallerin buharlaşması yer almaktadır [33]. Ağır metallerin en önemli doğal kaynağı jeolojik ana materyal ve kaya çıkıntılarında meydana gelmektedir [34].

Jeolojik bitkiler genellikle yüksek konsantrasyonlarda Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Cd, Sn, Hg ve Pb içermektedir. Olivin, ojit ve hornblend gibi birçok magmatik kayalar ise, topraklara önemli miktarda Mn, Co, Ni, Cu ve Zn katmaktadır. Tortul kayaçlar sınıfında olan killi yapraktaşı, en yüksek miktarda Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Cd, Sn, Hg ve Pb içeriğine sahip olup bunu kireçtaşı ve kum taşı takip etmektedir. Diğer bir doğal ağır metal kaynağı olan volkanlar ise yüksek miktarda toksik element olan Al, Zn, Mn, Pb, Ni, Cu ve Hg'yı çevreye yaymaktadır [34].

Tablo 2.1 Doğal kaynaklardan Dünyaya ağır metal salınımı [34]

Ağır Metal Kaynakları	**Dünya Çapında Üretim**	**Yıllık Salınım(kg *10^6)**								
		Cd	**Co**	**Cu**	**Cr**	**Hg**	**Mn**	**Ni**	**Pb**	**Zn**
Rüzgar ile sürüklenen toz	6–1,100	0,25	4	12	5	0,03	425	20	10	25
Volkanik partiküller	6.5–150	0,5	1,4	4	3,9	0,03	82	3,8	6,4	10
Orman Yangınları	2–200	0,01	-	0,3	-	0,1	-	0,6	0,5	0,5

Tablo 2.1 Doğal kaynaklardan Dünyaya ağır metal salınımı [34](devam)

Bitkiler	75–1,000	0,2	-	2,5	-	-	5	1,6	1,6	10
Deniz tuzları	300–2,000	0,002	-	0,1	-	0,003	4	0,04	0,1	0,02
Toplam		0,96	5,4	18,9	8,9	0,16	516	26	18,6	45,52

2.3.2 Antropojenik Kaynaklar

Antropojenik kaynakların, doğal kaynaklarla karşılaştırıldığında, çevrede artan ağır metal kirliliğinin başlıca nedenleri olduğu düşünülmektedir. Kömür yakıtlı enerji ve ısı üretimi, madencilik faaliyetlerinden kaynaklanan salınımlar, ağır metal madenciliği, deri üretimi, elektro kaplama üretimi ve ağır metal içeren ürünlerin imalatı gibi faaliyetlerden kaynaklanan salınımlar, endüstriyel atıkların imhasından veya depolanmasından kaynaklı salınımlar antropojenik kaynaklardır [33].

Doğal kaynakların salınımında olduğu gibi antropojenik faaliyetler de metallerin su ortamı, gıda ve yemler de dahil olmak üzere çevrede taşınmasında ve yayılmasında önemli bir rol oynamaktadır [35].

2.4 Toprakta Ağır Metaller

Gelişmekte olan sanayileşme ve madencilik faaliyetleri ekosistemde çeşitli kirleticilerin ortaya çıkmasına ve yayılmasına sebep olmaktadır. Çeşitli kirleticiler arasında olan ağır metaller, kalıcı yapıları ve yüksek toksisiteleri nedeniyle antropojenik çevresel kirleticilerin en tehlikelisi olarak kategorize edilmiştir [36]. Kentsel ve endüstriyel atıkların boş arazilere dikkatsizce atılımı, otomobil emisyonları, madencilik faaliyetleri ve tarımda kullanılan gübre ve pestisit uygulamaları toprakta sürekli ağır metal birikimine sebep olmaktadır. Ağır metallerin topraktaki miktarı toprağın jeolojik özelliklerine de bağlıdır [37]. Ağır metallerin doğal kaynaklarından olan kayaların, aşınarak toprağa karışması, topraktaki ağır metal seviyesini önemli ölçüde etkilemektedir. Toprakların ağır

metallerle kirlenmesi önemli bir sorundur. Bu durum toprak özellikleri üzerinde olumsuz etkiye, üretim ve çevresel işlevlerin kısıtlanmasına neden olmaktadır [38].

Toprakta, toprak kirliliğinin ana kaynaklarından biri olarak kabul edilen ağır metallerden Cu, Ni, Cd, Zn, Cr ve Pb başta olmak üzere çeşitli metaller bulunmaktadır. Toprakta bulunan Fe, Zn, Ca ve Mg gibi metallerin insan için biyolojik öneme sahip olduğu bilinirken As, Cd, Pb ve Hg gibi ağır metaller insan biyokimyasında ve fizyolojisinde bilinen bir biyolojik önemi olmadığı gibi çok düşük konsantrasyonlarda bile tüketimi toksik etkiye neden olmaktadır [39].

Topraklardaki ağır metal kirliliğinin, toprak mikroorganizmaları ve enzimatik aktivitesine, bitkilere ve insanlar üzerinde büyük etkileri bulunmaktadır. Toprağın mikrobiyal aktivitesi ve enzimatik aktivitesi toprağın kalitesini yansıtmaktadır. Ağır metaller, enzimleri sentezleyen mikroorganizmaları değiştirerek toprağın enzimatik aktivitesini dolaylı olarak etkilemektedir. Temel mikrobiyal süreçleri de etkileyerek toprak biyotasına karşı toksik etkiler göstermekte ve toprak mikroorganizmalarının sayısını ve aktivitesini azaltmaktadır [39], [40].

Toprakta eser miktarda ağır metal varlığının bitkiler üzerinde de olumsuz etkileri fazla değildir. Ancak ağır metallerin topraktaki yüksek konsantrasyonları bitkilerin hücresel ve fizyolojik süreçleri üzerinde zararlı etkilere neden olmaktadır. Toprakta en çok bulunan ağır metaller arasında olan temel elementlerden biri olan Fe bitki beslenmesinde önemli rol oynar. Mo ve Mn da bitkiler için önemli mikro besinlerken, Zn, Ni, Cu, V, Co, W ve Cr eser elementler arasındadır ve As, Hg, Ag, Sb, Cd, Pb'nin bitkilerde besinsel veya fizyolojik işlevi yoktur [41].

2.5 Suda Ağır Metaller

Su, canlıların yaşamını destekleyen temel unsurlardan biri olup genellikle iki ana doğal kaynak olan tatlı su gölleri, nehirler, akarsular vb. gibi yüzey sularından ve sondaj suyu ve kuyu suyu gibi yer altı sularından elde edilir[42]. Günümüzde artan insan nüfusu, teknolojik gelişmeler, artan sanayileşme, doğal kaynakların sömürülmesi, tarımsal ve evsel atıkların su ortamına akması nedeniyle çok çeşitli kirletici maddeler suya karışmaktadır. Bu kirleticiler arasında toprakta da olduğu gibi ağır metaller, kalıcı yapıları, toksisiteleri, organizmalarda birikme eğilimleri ve

besin zincirinde çoğalma eğilimi göstermeleri gibi nedenlerle en tehlikeli kirleticilerdir [43]. Ağır metallerin su ekosisteminde var olması canlıları dolaylı ve doğrudan etkilemesi nedeniyle sağlık açısından çok tehlikelidir.

Suda ağır metallerin bulunması doğal ve antropojenik kaynaklı olmaktadır. Doğal kaynaklar arasında; çökeltilerdeki ve kayaçlardaki aşınmış mineraller, cevher yataklarının süzülmesi ve volkanizmayla üretilen ürünler bulunmaktayken antropojenik kaynaklar arasında; madencilik, metal kaplama tesisleri, yüzey kaplama, pil imalatı, elektroliz, tabakhane, metalurji, fosil yakıt, kağıt ve farklı plastiklerin üretimi gibi kimya endüstrilerini içeren modern endüstriyel kaynaklardan gelen atık sular, katı atıkların ve evsel atıkların denizlere bırakılması yer almaktadır [44], [45].

2.6 Gıdalarda Ağır Metaller

Ağır metaller hem gaz halinde hem de sert parçacıklar tarafından adsorbe edilerek toprağa veya suya taşınmaktadır. Ancak toprağa ve suya taşınmadan önce farklı kimyasal ve biyolojik süreçlerde, hidroliz, şelasyon, kompleksleşme, biyometilasyon, çökelme ve adsorpsiyon reaksiyonları sonucu kimyasal formlarını, dağılımlarını ve biyoyararlanımlarını değiştirirler. Bu şekilde gıdalar aracılığıyla besin zincirine katılarak insana ulaşırlar. Gıdaların ağır metallerle kontaminasyonunun kaynakları arasında gıdanın yetiştirildiği toprak veya ortam, gübreler ve tarım için kullanılan diğer kimyasallar, gıda işleme veya pişirme için kullanılan su gıda işleme için kullanılan donanım ve gıda depolama ve gıda nakliyesi için koşullar yer almaktadır [46].

Ağır metaller, toksik elementlerde dahil olmak üzere çevrede doğal olarak bulunan elementlerdir ve bunların eser miktarları genellikle gıda ürünlerinde bulunmaktadır; ancak kontamine bölgelerden gelen gıdalar daha yüksek miktarlar içerebilirler [47]. Ağır metallerden en çok etkilen bitkiler topraktan yüksek konsantrasyonlarda ağır metal alarak dokusunda biriktirirler. Bu ağır metallerle kontamine olmuş topraklarda yetişen sebzeler, besin zinciri yoluyla insan vücuduna girmektedir ve bu kontamine sebzelerin kullanımı, insanın ağır metallere maruz kalmasının tek yoludur [48]. Ağır metaller, tahıl veya meyve bitkilerine kıyasla yapraklı sebzelerin yenilebilir kısımlarında kolaylıkla birikmektedir [49].

Doğal su kaynakları olan nehirlerin, göllerin ve akarsuların ağır metallerle kirlenmesi, su organizmalarında toksik elementlerin birikmesine neden olmaktadır. İnsanların en çok tükettiği gıdalardan biri olan deniz ürünlerinden balıklarda bu ağır metal kirleticilerle kontamine olarak besin zincirine katılarak insan sağlığı açısından tehlike arzetmektedir. İnsan sağlığı açısında en tehlikeli toksik element olan civa, balık ve midyede bulunmaktadır [50].

Tablo 2.2 Gıdalardaki bazı esansiyel ve toksik ağır elementler [51]

Esansiyel Elementler			**Toksik Elementler**	
Talyum (Ti)	Kobalt (Co)	Sodyum (Na)	Arsenik (As)	Aliminyum (Al)
Selenyum (Se)	Magnezyum (Mg)	Sitronyum (Sr)	Civa (Hg)	Kadmiyum (Cd)
Potasyum (K)	Mangan (Mn)	Selenyum (Se)	Kurşun (Pb)	Bakır (Cu)
Baryum (Ba)	Demir (Fe)	Çinko (Zn)	Krom (Cr)	Nikel (Ni)

Gıdalarda bulunan ağır metallerden bazılarının optimum tüketim miktarları canlılar için gerekli olup, yüksek miktarlarda tüketildiğinde insan sağlığına zararlı hale gelirken, bazıları da Tablo 2.2 'de belirtilen toksik element kategorisindeki elementler düşük miktarlarda tüketildiğinde bile sağlık için tehlikeli olmaktadır [51].

2.7 Ağır Metallerin İnsan Sağlığı Üzerindeki Etkileri

İnsan vücudunun ağır metallerle kontaminasyonu gıda, su, deri ve soluma gibi çeşitli yollarla olmaktadır. Suda çözünen ağır metaller, bağırsaklar tarafından emilerek dolaşım sistemi yoluyla birçok organa iletilirler. Yüksek seviyelerde ağır metallere maruz kalmanın insan üzerinde olumsuz etkileri vardır [52]. Düşük seviyelerde maruz kalmanın ise neden olduğu sağlık problemlerinin ortaya çıkması uzun zaman almaktadır. Ağır metallerin insan sağlığı üzerinde, kanser, felç, kalp krizi gibi ölümcül hastalıklara neden olduğu gibi ölüme yol açmayan ancak yaşam

kalitesini etkileyebilecek iktidarsızlık, Alzheimer hastalığı, diyabet, yorgunluk, hafıza kaybı gibi hastalıklara da sebep olmaktadır [53].

İnsanların uzun süreli kadmiyuma (Cd) maruz kalması böbrek fonksiyon bozukluğuna, kemik bozukluklarına, zatürreye, genel halsizliğe, ateşe, göğüs ağrısına neden olmaktadır. Ayrıca DNA, RNA ve proteinlerin biyosentezini engelleyerek normal epitel hücrelerini kötü huylu hücrelere dönüştürerek kanserojen hale getirir ve akciğer kanserine neden olur [52], [54].

Vücuda alınan yüksek düzeyde kurşun insanlarda toksik biyokimyasal etkilere müdahale ederek ölüme veya merkezi sinir sisteminde kalıcı hasara sebep olmaktadır. Bu hasarlar arasında yüksek tansiyon, işitme sorunları, baş ağrıları, büyümede yavaşlama, hafıza ve konsantrasyon sorunları, davranış ve öğrenme sorunları (hiperaktivite gibi), beyinde ve böbreklerde kalıcı hasarlar, sindirim sorunları, kas ve eklem ağrıları bulunmaktadır [43],[54].

En toksik ağır element olan civa maruziyeti ise sinir sisteminin bozulmasına, beyin fonksiyonlarında hasara, DNA hasarı ve kromozom hasarına, deri döküntülerine, yorgunluk ve baş ağrılarıyla sonuçlanan alerjik reaksiyonlara ve olumsuz üreme etkilerine neden olmaktadır [55].

Çinkonun ise ağızdan maruz kalındığında daha az toksik olmadığı kabul edilir. Ancak yüksek seviyelerde maruziyet büyüme ve üremenin bozulmasına yol açan sistem bozukluklarına, kusmaya, ishala, sarılığa, karaciğer yetmezliğine, böbrek yetmezliğine ve anemiye yol açmaktadır [39].

Nikel, akciğer kanserine, kronik bronşite sebep olmaktadır. Nikelin, nikel oksit formunun dumanı solunduğunda solunum kanserine, astıma, sinüs sorunlarına yol açarken nikel maruziyetinden en çok etkilenen organ böbrektir [52].

Krom, insan vücudunda, kan şekerini düzenleyen metabolik süreçlerin önemli bir parçasıdır ve insülinin, glikozu enerji olarak kullanılabileceği hücrelere taşımasına yardımcı olur. Yağların, proteinlerin, karbonhidratların ve diğer besin maddelerinin metabolizmasında yer alarak, kardiyovasküler hastalıkların önlenmesinde de rol oynar. Krom, yağların, proteinlerin, karbonhidratların ve diğer besin maddelerinin metabolizmasında yer alması nedeniyle, kardiyovasküler hastalıkların önlenmesinde de rol oynar. Altı değerlikli (+6) krom, üç değerlikli (+3) kromdan

daha toksiktir ve bu formun fazla alımı ciltte tahrişe, sindirim sorunlarına ve akciğer kanserine neden olmaktadır [56]. Bazı ağır metallerin, insanlar için yasal sınırları Tablo 2.3'de gösterilmiştir.

Tablo 2.3 Bazı ağır metallerin yasal sınırları [56]

Ağır Metal	**Birleşik Devletler Çevre Koruma Ajansı** **İçme suyu limiti (ppm)**	**ABD Mesleki Güvenlik Ve Sağlık İdaresi** **İşyeri havasındaki limit (mg/m^3)**	**ABD Gıda Ve İlaç Dairesi** **Şişelenmiş su ve yiyecekler (ppm)**
As	0.01	10	-
Cd	0.0005	5	0.0005
Cr	0.1	1	1
Pb	0.015	0.15	-
Hg	0.002	0.1	1
Zn	5	5	-

3
ARSENİK

3.1 Tanımı ve Genel Bilgiler

Arsenik hem ekolojik hem de bireysel olarak insan sağlığı açısından zararlı olan en önemli ağır metallerden biridir. Yarı metalik bir özelliğe sahip olup daha çok oksitler veya sülfitler formunda yada demir, sodyum, kalsiyum, bakır gibi tuzları halinde bulunur. Arsenik, ayrıca yeryüzünde en bol bulunan yirminci elementtir [43]. Periyodik tabloda 5A grubunun, 4. periyodunda bulunan, kütle numarası 74. 91 g/mol , atom numarası 33 olup ve kimya da As sembolü ile gösterilmektedir. Erime noktası 614 °C ve kaynama noktası 820 °C 'dir [57]. Realgar (AsS), orpiment (As_2S_3) veya arsenopirit (FeAsS) gibi kükürt içerikli minerallerle birlikte oluşmaktadır [58]. Gri ve sarı kristaller formu olmak üzere iki halde bulunabilir. Doğada en çok bulunan gri veya metalsi arsenik olarak adlandırılan formu kolay kırılır, havada kararır ve yüksek sıcaklaklara kadar ısıtıldığında süblimleşir ve yumuşak ve sarı olan arsenikten daha kararlı yapıdadır [59]. Ayrıca Arsenik (As), doğada her yerde bulunabilen ve insanlar için kanserojen (Grup I) olarak sınıflandırılan toksik bir ağır metaldir [60].

3.2 Tarihi ve Kullanım Alanları

Arsenik, eski çağlardan beri sülfit formunda bilinmektedir. Yunan filozofu Theophrastus tarafından iki arsenik minerali olan parlak sarı orpiment (As_2S_3) ve kırmızı renkli realgar'ı (As_4S_4) bilmekteydi. Yunan tarihçi Thebes'li Olympiodorus (MS 5. yüzyıl) ise arsenik sülfürü ısıtarak beyaz arsenik (As_2O_3) elde eden ilk kişi olarak bilinmektedir. Arsenik elementini keşfedip ve arseniğin metalik davranışını ilk bildiren kişi olarak 1200'lü yıllarda yaşamış olan Alman filozof Albertus Magnus bilinmektdir [61].

Yüzyıllar boyunca arsenik ve arseniğin bileşikleri üretilmekte ve ticari olarak kullanılmaktadır. Arseniğin geçmişte ve günümüzdeki kullanım alanları arasında ilaç yapımı, ahşap koruyucular, tarım da kullanılan kimyasallar ve madencilik, metalurji, cam yapımı ve yarı iletken endüstrilerindeki uygulamalar yer almaktadır.

1970'li yıllara kadar tıptaki bazı uygulamalarda da kullanılmıştır. İnorganik arsenik; lösemi, sedef hastalığı ve kronik bronşiyal astımın tedavisinde kullanılırken, organik arsenik ise spiroşetal ve protozoal hastalıkların tedavisinde antibiyotiklerde kullanılmıştır [62].

Tarım endüstrisinde pestisitler, herbisitler, böcek öldürücüler, pamuk kurutucuları, yaprak dökücüler ve toprak sterilizatörleri dahil olmak üzere çeşitli uygulamalarda kullanılmaktadır. Arsenik ve arsenik bileşikleri pigmentlerin üretimi, koyun yağının üretimi, deri koruyucularının ve zehirli yemlerin üretiminde de kullanılmaktadır [62]. Antiseptik gücü ve çürümeye ve bozulmaya karşı direnci olması sebebiyle böcek ilacı, herbisit veya ahşap için koruyucu olarak da kullanılmaktadır [63]. Katalizörlerde, piroteknikte, boyalardaki çürüme önleyici maddelerde, farmasötik maddelerde, boyalarda ve sabunlarda, seramiklerde, alaşımlarda (otomotiv lehimi ve radyatörler) ve elektrofotografide de kullanılırlar [62].

Bazı hayvanlar için önemli bir eser element olan arsenik, hayvan yemlerinde de kullanılan bir katkı maddesidir. Galyum arsenit veya alüminyum galyum arsenit kristalleri, yarı iletkenlerin, ışık yayan diyotların, lazerlerin ve çeşitli transistörlerin bileşenleridir [64].

Arsenik popüler bir cinayet silahı olarakta bilinmektedir. Pek çok arsenik bileşiğinin beyaz şekere benzemesi, tatsız ve kokusuz olması zararsız görülür. Bu sebeple dikkat çekmeyen bir zehir olarak kullanılır [64]. İnsanlar için zehir olma konusunda uzun bir geçmişe sahiptir. İntihar vakalarında arsenik trioksitin yüksek oranda kullanılması, 18. yüzyılda sıklıkla "miras tozu" olarak anılmasına neden olmuştur [65].

Bu elementin tıpta ilk kullanımı ise yaklaşık 2500 yıl öncesine dayanmaktadır ve esas olarak solunum problemlerinin iyileştirilmesiyle birlikte kadınlara tazelik, güzellik ve dolgunluk kazandırmak amacıyla kullanılmaktaydı. Ayrıca, 1908 yılında frengi ve uyku hastalığı gibi bulaşıcı hastalıkların tedavisinde kullanılan ilk antimikrobiyal ajandır [65].

3.3 Kimyasal Formları

Doğal çevrede arsenik farklı oksidasyon durumlarında ve inorganik ve organik formlarda bulunmaktadır. -3, 0, +3 ve +5 olmak üzere dört oksidasyon durumunda mevcut olup çevre açısından önem taşıyan +3 ve +5 değerlikli durumlarıdır. Elementel arsenik (0) değerlik durumudur. Normal çevre koşulları altında +5 oksidasyon durumu en kararlı olanıdır ve organizmalardaki ve gıdalardaki arsenik türlerinin çoğunluğu +5 oksidasyon durumunda arsenik içermektedir [66], [67].

Arsenik, çevrede genellikle saf haliyle bulunmamaktadır. Oksijen, klor ve kükürt gibi elementlerle birleşerek inorganik bileşikleri, karbon ve hidrojenle birleşerek de organik arsenik bileşikleri oluşturmaktadır [68]. Sulu ortamda inorganik arsenik yaygın olarak +V ve +III oksidasyon durumlarında arsenous asit (arsenit), (As(III)), arsenik asit (arsenat), (As(V)) ve bunların tuzları olarak bulunmaktadır. İnorganik arsenik bileşiklerinin bakteriler, mantarlar ve mayalar tarafından metillenmesiyle monometilarsonik asit (MMA), dimetilarsinik asit (DMA) ve arsinin gazlı türevleri gibi organik arsenik bileşikleri oluşmaktadır [69].

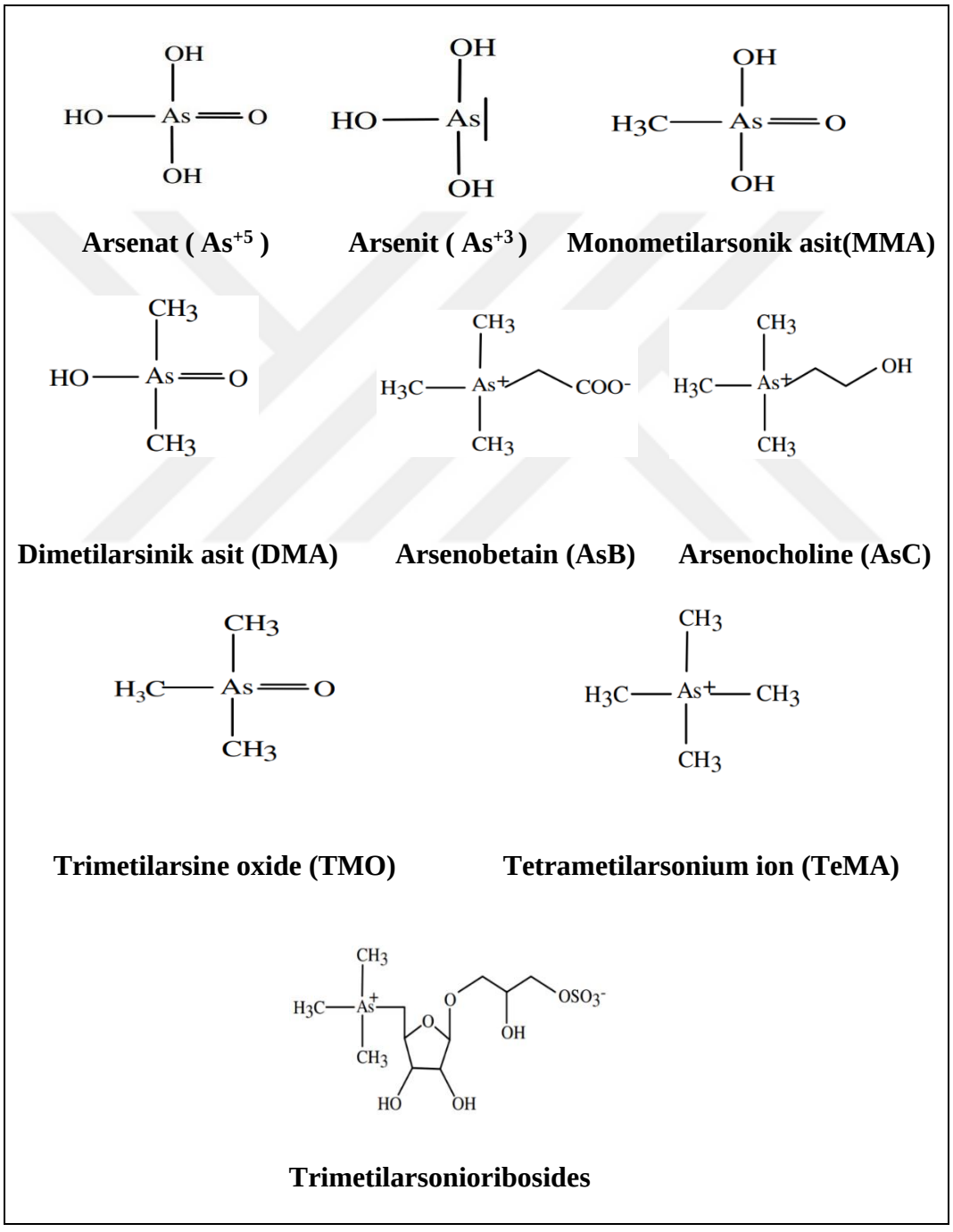
İnorganik arseniklerin ve organik arseniklerin yanı sıra deniz ürünlerinde en çok bulunan arsenobetain (AsB), arsenoşekerler (AsSugar) olarak bilinen arsenik içeren ribofuranosidler gibi hidrofilik arsenikler ve arsenolipidler (AsLipidler) gibi lipofilik arsenik bileşikleride bulunmaktadır [70].

Deniz ürünlerinde bol miktarda bulunan arsenobetain, aminoasit türevi olan trimetilglisinin (glisin betain) bir arsenik benzeridir ve parçalanmaya ya da metabolizmaya karşı oldukça stabildir. Arsenobetain 1977 yılında keşfedilmiştir ve deniz biyotasında yaygın olmasına rağmen kaynağı ve biyosentezi tam olarak bilinmemektedir. Ayrıca arsenoşekerlerin parçalanması yoluyla oluştuğu düşünülmektedir [71], [72].

Arsenoşekerler de arsenobetain gibi deniz biyotasında yaygın olarak bulunmaktadır. Denizde bulunan arseniğin dönüşümünde ve döngüsünde önemli bir rol oynadıkları düşünülen alglerde yüksek konsantrasyonlarda oluşmaktadır. Deniz suyundaki arsenatın, alglerdeki alkilasyon süreciyle arsenoşekerlerin oluştuğu tahmin edilmektedir [73].

Deniz ürünlerindeki diğer bir As bileşiği grubu olan asLipidler, yağ asitlerini (AsFA), hidrokarbonları (AsHC) ve glikofosfolipidleri (AsPL) içermektedir. Deniz ürünlerindeki AsLipidler hakkında fazla bilgi bulunmamaktadır [71]. Arsenolipitler, nötral lipit olan monogliserit, glikolipit, fosfolipit ve fosfonolipitlerin benzeridir [74].

Tablo 3.1 Bazı Arsenik Türleri [75]



3.4 Metabolizması

İnorganik arsenik, IARC tarafından da tanımlanan kanserojen bir element olması nedeniyle metabolizmasını ve detoksifikasyonunu karakterize eden birçok çalışma literatürde yer almakta olup, 19. yüzyıldan günümüze kadar inorganik arsenik metabolizmasını araştıran çalışmalar da devam etmektedir. 1947 yılında inorganik arseniklerin idrarla kolayca atılan metillenmiş türlere detoksifikasyonu için Frederick Challenger indirgeyici bir oksidatif metilasyon yolu öneren ilk kişi olmuştur [76]. İnorganik arsenikler, biyosistemin içinde metilasyon yoluyla daha karmaşık organik arseniklere biyotransformasyona uğramaktadırlar. İAs metabolizmasıyla oluşan ana metillenmiş ürünler belirlenmiştir; ancak kesin reaksiyon dizisi ve ilgili enzimler hala araştırılmaya devam etmektedir. Analitik teknikler geliştikçe daha fazla ara ürün belirlenmekte ve yeni yollar önerilmektedir [77].

Arseniğin toksik etkilerinde metabolizmasının önemli bir etkisi vardır. Memeli türlerinin hepsi olmasa da çoğu inorganik arseniği metillemektedir. Arsenik metabolizması, inorganik arsenik olan beş değerlikli arseniğin (As^{+5}) üç değerlikli arseniğe (As^{+3}) iki elektronlu indirgenmesi ve ardından beş değerlikli organik arseniğe oksidatif metilasyonu ile devam eden sıralı bir işlemler ile gerçekleşmektedir [78]. As^{+5} vücutta enzimler yoluyla As^{+3} formuna dönüştürülmesi ve S-adenosilmetiyoninden bir metil grubunun eklenmesiyle DMA (V)'e kadar metabolize edilmektedir. Monometilarsonöz asit (MMA (III)) ve dimetilarsinöz asit (DMA (III))'in ise arsenik metabolizmasında ara ürünler olarak oluştuğu düşünülmektedir [78], [79].

As (V) → As (III) → MMA (V) → MMA (III) → DMA (V) → DMA (III)

Biyometilasyon, arseniğin en toksik olan inorganik formunun daha az toksik olan organik forma dönüştürülerek vücuttan daha kolay atıldığı bir metabolik süreçtir. Metilasyon sürecinin son ürünleri MMA (V) ve DMA (V) gibi metillenmiş inorganik arsenik formları, idrar yoluyla vücuttan atılmaktadır [56].

3.5 Oluşumu

Atmosferde, hidrosferde ve biyosferde yaygın olarak bulunan ve doğal kökenli bir element olan arsenik, doğal ve antropojenik oluşum ile karasal ve su ortamlarına girmektedir. Arseniğin doğal oluşumu arasında kayaların ve çökeltilerin aşınması, sülfit minerallerinin çözünmesi, hava koşulları, biyolojik aktivite, volkanik emisyonlar, orman yangını ve rüzgârla savrulan toz gibi çeşitli süreçler yer alırken antropojenik oluşumlar arasında ise madencilik, endüstriyel işlemler, metallerin eritilmesi, pestisit ve ahşap koruyucuların üretimi, fosil yakıt kullanımı kömür ve petrol ürünlerinin üretimi ve bunların işlenmesi ayrıca çöplük veya atıkların bilinçsizce çevreye salınımı gibi insan faaliyetleri yer almaktadır [61],[80].

3.5.1 Atmosferde Arsenik

Arsenik, atmosferde ağırlıklı olarak parçacık halinde bulunan maddeler tarafından absorbe edilmiş halde olup genellikle arsenit ve arsenatın bir karışımı olarak bulunmaktadır [81]. Atmosferde bulunan en yaygın inorganik arsenik türü Arsenik trioksit (As_2O_3) olup en yaygın bulunan organik türü ise Monometilarsonik asit (MMA) ve Dimetilarsenik asit (DMA)'tir. Ancak atmosferdeki organik arsenik konsantrasyonu çok düşük seviyededir. Arsenik atmosfere ağırlıklı olarak volkanik gazlardan, aşınmış topraktan, rüzgârdan ve biyojenik emisyonlar gibi doğal kaynaklardan salınmaktadır. Tarımsal faaliyetler, artan sanayileşme ve orman yangınları gibi antropojenik kaynaklar ise atmosferdeki arsenik konsantrasyonunu artırmaktadır [82], [83]. 2013 yılından beri Avrupa Birliği tarafından belirlenen ortamdaki havada bulunan arsenik konsantrasyonu limiti 6 ng/m^3 'tür. Arseniğin atmosferik konsantrasyonu antropojenik faaliyetler sebebiyle mekânsal olarak farklılık göstermektedir. Yapılan bazı çalışmalar sonucunda kentsel ve endüstriyel alanlarda daha yüksek konsantrasyonda arsenik tespit edilirken bu alanlardan uzak bölgelerde daha düşük konsantrasyonlarda arsenik bulunduğu tespit edilmiştir [84].

3.5.2 Toprakta Arsenik

Arsenik çoğunlukla toprakta demir, alüminyum ve manganez hidroksitler, kil ve mineral oksianyonlar (sülfatlar, fosfatlar ve karbonatlar) ve organik madde ile birlikte bulunmaktadır. Toprakta bulunan arseniğin doğal ve ana kaynağı kayalardır. Sülfit cevherlerinin eritilmesi, tarımsal pestisitlerin, herbisitlerin ve

böcek öldürücülerin uygulanması, madencilik, endüstriyel atıkların bertaraf edilmesi gibi antropojenik faaliyetler ise arseniğin topraktaki konsantrasyonunu daha fazla artırmaktadır [85].Topraktaki As konsantrasyonu, doğal jeokimyasal döngülere ve toprak tipine bağlı olarak değişmektedir. Toprak ortamındaki hareketliliğin düşük olması sebebiyle arsenik bulunduğu ortamda birikebilmektedir. Organik bileşiklerin çözünürlüğünün düşük olması nedeniyle de sıklıkla arsenik toprakta inorganik türler halinde bulunmaktadır [86]. Toprakta doğal olarak bulunan organik arsenik konsantrasyonu her ne kadar düşük seviyelerde olsa da arsenik içeren pestisitlerin ve diğer organik gübrelerin kullanımı topraktaki organik arsenik konsantrasyonunu artırmaktadır [87].

İyi drenaj edilmiş topraklarda arsenik, toprak asidik ise $H_2AsO_4^-$ olarak bulunmakta, toprak alkali ise de $HAsO_4^{-2}$ olarak bulunmaktadır. Oksitleyici ve havalandırılmış koşullarda arseniğin topraktaki baskın formu arsenattır. Arseniğin topraktaki dönüşümü toprağın fiziksel, kimyasal ve biyolojik faktörlerine ve pH'ına bağlı olarak değişmektedir [88].

Arsenik ile kontamine olmuş topraklar, çevreye yayılarak bitki ve hayvanların büyümesine etki etmekte ve sonuç olarak insan sağlığını olumsuz yönde etkilemektedir. Bu sebeble As ile kontamine olmuş toprağı bu toksik elementten temizlemek amacıyla birçok kimyasal, fiziksel, biyolojik ve kombine edilmiş iyileştirme teknolojileri literatürde bulunmaktadır. İyileştirme teknolojileri temel olarak As'i ortamdan uzaklaştırmayı ve biyotoksisitesini azaltmayı amaçlamaktadır [89].

3.5.3 Suda Arsenik

Su, canlıların yaşamlarını sürdürebilmeleri için gerekli olan ve çok sınırlı bulunan bir doğal kaynaktır. Sulara karışan pek çok kirleticinin toksik olduğu, çevreye ve insan sağlığına zararlı olduğu yapılan çalışmalar sonucu tespit edilmiştir. Bu kirleticiler arasında en yüksek önceliğe sahip olan olan inorganik kirletici arseniktir [90]. Arsenik, minerallerin, cevherlerin, toprağın, çökeltilerin ve yüksek konsantrasyonda arsenik içeren kayaların çözünmesi gibi yollarla suya girmektedir. Oksido-indirgenme koşullarına ve mikrobiyolojik ortama bağlı olarak arsenik türleri suda çözelti halinde veya çökelmiş formda bulunabilmekte ve mevcut

çökeltilerden adsorbe veya desorbe edilebilmektedir. Suda genel olarak arsenit, arsenat, monometil arsonik asit ve dimetil arsinik asit olmak üzere dört tip As bileşiği bulunmaktadır. Hem tatlı hem de tuzlu suda bulunan arsenat, metillenmiş bileşiklere metabolize edilebilmektedir. Arseniğin doğal sudaki türleşmesi suyun redoks potansiyeli (Eh) ve pH'ına bağlı olarak değişmektedir. Örneğin As(V), pH'a bağlı olarak sulu çözeltide H_3AsO_4, $H_2AsO_4^-$, $HAsO_4^{2-}$ ve AsO_4^{3-} olmak üzere dört formda bulunurken As(III) ise H_4AsO^{3+}, H_3AsO_3, H_2AsO^{3-}, $HAsO_3^{2-}$ ve AsO_3^{3-} olmak üzere beş formda bulunur. As (V)'in pH >3'te iyonik formları hakimdir ve As(III) pH <9'da nötr ve pH>9'da iyonik haldedir. As (III)'ün türleri hafif indirgenmiş sulu koşullar altında stabil iken As (V)'in türleri oksijenli sularda stabildir [91], [92], [93].

Yüzey suyu (nehirler, göller, rezervuarlar ve göletler), yeraltı suyu (akiferler) ve yağmur suyu gibi çeşitli kaynaklardan elde edilen içme suları insan sağlığına en büyük tehditi oluşturmaktadır. Bu kaynaklar arsenik riski açısından oldukça değişken olmakla beraber en yüksek arsenik konsantrasyonuna sahip yeraltı sularıdır. As'in içme suyundaki kronik toksikolojik etkilerine dair yapılan birçok çalışmanın ardından, bazı kuruluşlar içme suyunda kabul edilen arsenik limitleri belirlemiştir. Bu kuruluşlardan Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Birleşik Devletler Çevre Koruma Ajansı (US-EPA) içme sularındaki arsenik miktarı limitini 10 µg/L olarak belirlemiştir [94].

3.5.4 Gıdalarda Arsenik

Arseniğin toprakta, suda, havada, bitkilerde ve tüm canlı organizmalarda doğal ve antropojenik oluşumlar sonucu bulunması gıdaların bu toksik olan ağır metal ile kontamine olmasına sebep olmaktadır [95]. Doğada fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikleri bakımından farklılık gösteren ve çok farklı toksisitelere sahip birçok kimyasal formda bulunan bir element olması sebebiyle arsenik, insan sağlığı açısından gıdadaki formu önemlidir. Kadmiyum, kurşun, cıva gibi elementlerin aksine, arseniğin toksisitesini belirleyen gıdadaki toplam konsantrasyonu (AsT) değil, kimyasal formu ve konsantrasyonudur. Gıdalarda bulunan en toksik arsenik formu, inorganik formları olan As (III) ve As(V) olup bunu metillenmiş halleri olan ve daha az toksik olan TMA (tetrametilarsonyum iyonu), MMA (monometilarsonik asit) ve DMA (dimetilarsinik asit) takip etmektedir. Arseniğin diğer formları olan

ve daha çok deniz ürünlerinde bulunan AsC (arsenokolin), AsB (arsenobetain), TMAO (trimetilarsin oksit) ve arsenoşekerlerin ise zararsız olduğu kabul edilmektedir. Gıdalardaki arseniğin toplam konsantrasyonu veya kimyasal formu, gıdaların matriksine ve çevrede bulunma koşullarına (toprak türü, su, pestisit kullanımı, yetiştirme uygulamaları vb) göre değişmektedir [96], [97].

Son yıllarda literatürde birçok, özellikle gıda ürünlerinden olan meyve suları deniz ürünleri ve pirincin arsenik içeriğine odaklanan çalışmalar bulunmaktadır. Küresel çapta arsenik biriktirme potansiyeli yüksek olan pirinç, hem inorganik arsenic (İAs) hem de organik tür olan monometilarsenat (MMA), dimetilarsenat (DMA) dahil olmak üzere toplam 100-400 ng/g'ye kadar konsantrasyonlarda As içermektedir. Bunun nedeni ise yetiştirilmesi sırasında pirincin genellikle yüksek As konsantrasyonları içeren yeraltı suyuyla sulanması olarak gösterilmesidir [98], [99].

Yaygın olarak tüketilen deniz ürünleri de dahil olmak üzere suda yaşayan organizmalarda, biyolojik ve toksikolojik açıdan çeşitli önem seviyelerine sahip 50'den fazla arsenik bileşiği araştırmalar sonucu bulunmuştur. Arsenobetain (AsB), arsenolipitler ve arsenoşekerler gibi organik arsenik formları, balık ve deniz ürünlerinde en bol bulunan As formlarını oluşturmaktadır. Bu nedenle deniz ürünleri tüketimi yoluyla farklı arsenik formlarının insan sağlığı göz önüne alındığında, bu tür gıdalardaki arsenik türlerinin doğru tanımlanması ve miktarının belirlenmesi çok önemlidir [4]. Bu sebeble ülkemizde 31 Aralık 2024 tarihinden itibaren yürürlükte olacak inorganik arseniklerin toplam yasal limiti Tablo 3.2 ‘de belirtilmiştir.

Tablo 3.2 Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliğine göre bazı gıdalarda As (III) ve As (V) toplam yasal limitleri [100]

Numune Adı	**Max. Limit (mg/kg)**
Pirinç	0.15
Yarı haşlanmış pirinç ve kavuzsuz pirinç	0.25

Tablo 3.2 Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliğine göre bazı gıdalarda As (III) ve As (V) toplam yasal limitleri [100] (devam)

Pirinç Unu	0.25
Pirinç waffle (gofre)leri, pirinç gofretleri, pirinç krakerleri ve pirinç kekleri, pirinç gevreği ve patlamış kahvaltılık pirinç	0.30
Pirinç: Bebek ve küçük çocuklara yönelik gıda üretimi için kullanılanlar	0.10
Pirinç bazlı alkolsüz içecekler	0.030
Toz olarak piyasaya arz edilen bebek mamaları	0.020
Sıvı olarak piyasaya arz edilen bebek mamaları	0.010
Tahıl bazlı olmayan ek gıda	0.020
Meyve suları, konsantreden üretilen meyve suyu ve meyve nektarları	0.020

3.6 İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri

Gıda, su, hava ve mesleki maruziyet yoluyla, inorganik arseniğe maruz kalmak insan sağlığı üzerinde ciddi etkilere yol açmaktadır. Arsenik maruziyeti doğal veya antropojenik kaynakların bir sonucu olup insan vücuduna girişi yutma, soluma ve cilt emilimi gibi yollarla olmaktadır [101]. Arsenik toksisitesi akut veya kronik olabilmekte ve kronik arsenik toksisitesi arsenikozis olarak adlandırılmaktadır. İnsanlardaki kronik arsenik toksisitesine ilişkin araştırmaların çoğu ciltte meydana gelen belirtilere odaklanmaktadır. Ellerde ve ayaklarda pigmentasyon değişikliği ve keratoz kronik arsenik toksisitesini gösteren spesifik cilt lezyonlarıdır [102], [103]. Akut toksisitesinin ise mide ağrısı, ishal, kusma, kanlı idrar, anüri, şok, kasılmalar, koma ve ölüme kadar varan birçok metabolik etkisi bulunmaktadır [104].

Arsenik zararlı bir çevresel kanserojen olarak da bilinmektedir ve deri, akciğer, mesane, karaciğer ve böbrek kanserine yol açmaktadır. Akciğer ve mesane kanseri en büyük hastalık yükünü oluşturmaktadır ve genellikle cilt kanserinde ortaya çıkan cilt lezyonları bu kanser türlerinde ortaya çıkmamaktadır [105].

Yüksek dozlarda arseniğe maruz kalmanın hipertansiyon, sinir, üreme ve kardiyovasküler sistem üzerinde ciddi etkileri bulunduğu ve hatta karaciğer hasarına ve diyabet (tip II)'e sebep olduğu da düşünülmektedir [106].

4
ARSENİK TAYİN YÖNTEMLERİ

4.1 Spektroskopik Yöntemler

Spektroskopi, bir örnekteki atom, molekül veya iyonların bir üst enerji düzeyine geçtiği sırada absorpladığı veya yaydığı elektromanyetik ışımanın ölçülmesi ve yorumlanması olarak tanımlanmaktadır. Spektroskopik teknikler ise maddeyle etkileşime girmek için ışığın kullanıldığı ve maddenin yapısı hakkında bilgi edinmek için bir numunenin belirli özelliklerini araştıran yöntemlerdir. Ultraviyole-görünür bölge absorpsiyon spektroskopisi, Floresans ve fosforesans spektroskopisi, Atomik absorpsiyon spektroskopisi, Atomik emisyon ve atomik floresans spektroskopisi, İnfrared (IR)spektroskopisi, Nükleer manyetik rezonans (NMR) spektroskopisi, Kütle spektrometrisi gibi spektroskopik yöntemler vardır [107], [108].

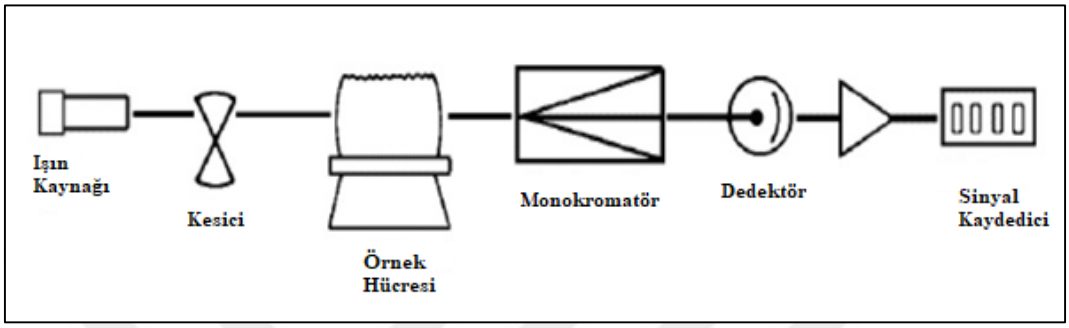
Literatürde arseniğin tayinin de yüksek seçicilik sağlayan atomik absorpsiyon spektroskopisi (AAS), atomik floresans spektroskopisi (AFS), indüktif eşleşmiş plazma kütle spektroskopisi (ICP-MS) ve indüktif eşleşmiş plazma optik emisyon spektroskopisi (ICP-OES) gibi spektroskopik yöntemler bulunmaktadır [109].

4.1.1 Atomik Absorbsiyon Spektrometresi (AAS)

Atomik absorpsiyon spektrometresi (AAS), gaz halindeki serbest atomların uygun dalga boylarında ışığın absorbsiyonunu esas alarak elementlerin konsantrasyonunu ölçen analitik tekniktir. Bu teknikle örneklerde bulunan elementlerin mg/kg seviyelerindeki tayinleri yapılabilmektedir. Atomik absorpsiyon spektrometresi nin bir ışık kaynağı, gaz halindeki atomları üretmek için bir örnek hücre ve absorblanan spesifik ışığı ölçmek için bir dedektör olmak üzere temelde üç bileşeni bulunmaktadır [110].

Sıvı örnek numunesi, belli bir sıcaklıkta atomize edilir ve her elemente özgü oyuk katot lambası veya döteryum lambası olan bir ışık kaynağının önüne yerleştirilir. Örnek atomlar ultraviyole veya görünür ışığı absorblayarak daha yüksek elektronik

enerji seviyelerine geçiş yapar. Yayılan ışık monokromatörden geçerek istenen ışık dalga boyunu seçer ve yalnızca elementin karakteristik soğurma dalga boyundaki ışığın kullanılmasını sağlar. Monokromatörden geçen ışığın yoğunluğu bir dedektör tarafından ölçülerek örnek numunenin analit konsantrasyonu belirlenir (Şekil 4.1) [111].



Şekil 4.1 AAS cihazının şematik diyagramı [112]

4.1.2 Atomik Floresans Spektrometresi (AFS)

Atomik Floresans Spektrometresi (AFS), temel olarak uyarılmış enerji düzeyine çıkan atomların temel enerji seviyelerine dönerken yaydığı ışımanın ölçülmesi prensibine dayanmaktadır. AAS'ye benzer şekilde örnek numune önce ilgili elementin serbest atomlarının oluşturulması için atomize edilir. Atomizasyon işlemi; alev, grafit fırın veya elektrotermal buharlaştırma gibi yöntemlerle yapılır. Atomize edilen atomlar, uygun bir ışık kaynağı (İçi boş katot lambaları, Lazer kaynakları, Ark lambaları) tarafından daha yüksek enerji seviyelerine uyarılırlar. Uyarılmış atomlar temel enerji durumlarına geri döndüğü zaman, analiz edilen elementin UV görünür aralığında olduğu belirli dalga boylarında floresans radyasyonu yayarlar. Elemente özgü spesifik dalga boyu, bir monokromatör aracılığıyla seçilir ve dedektör tarafından yayılan floresans radyasyonunun yoğunluğu ölçülür [113].

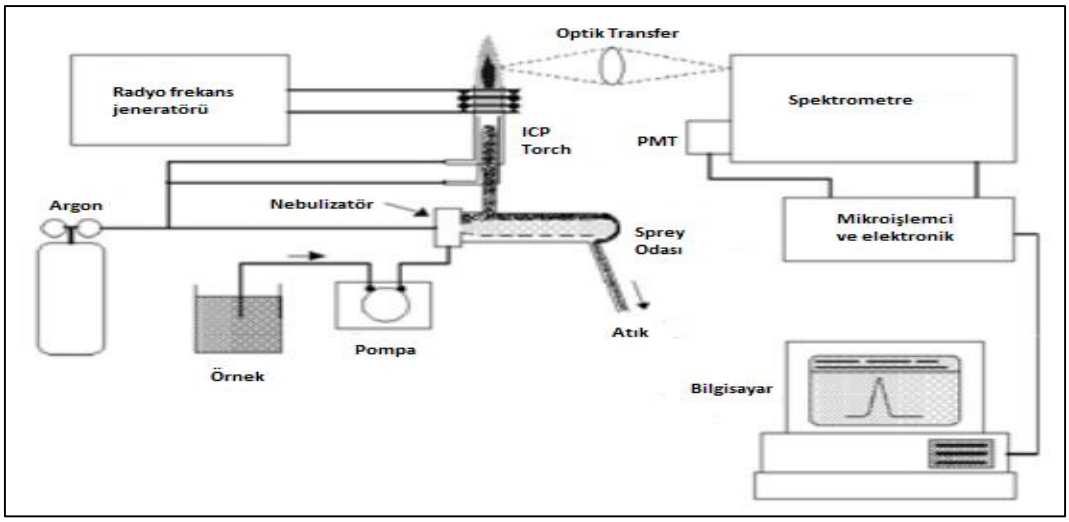
Atomik Floresans Spektrometresi (AFS), Atomik Absorpsiyon Spektrometresi (AAS)'ye göre daha hassastır ancak tüm elementler ve bileşikler floresans özellik sergileyemediği için uygulanabilirliği sınırlıdır. Numune girişi sürekli olarak

gerçekleştirildiği için akış enjeksiyonu ve kromatografi sistemleriyle kolay bağlantıya, otomatik ön konsantrasyona ve element türleşmesine olanak tanır [114].

Faouzia El-Hadri ve ark. , kola, çay ve meyve suları gibi serinletici içecek numunelerinde arseniğin belirlenmesi için sürekli hidrür üretimi ve atomik floresans spektrometresi (HGAFS)'ni kullanarak oldukça hassas ve basit bir yöntem geliştirilmişlerdir. Örneklerin gerekli ön hazırlık işlemleri doğrudan ve kuru külleme referans metoduyla yapılmış ve elde edilen sonuçları birbiriyle kıyaslanarak doğrudan hazırlığın çok hızlı olduğu ve numune hazırlamada basitleştirme sağladığı ayrıca daha yüksek geri kazanım sonuçlarıyla birlikte analizlerin daha doğru sonuçlarla tayin edildiği sonucuna varmışlardır [115].

4.1.3 İndüktif Eşleşmiş Plazma Optik Plazma Spektrometresi (ICP-OES)

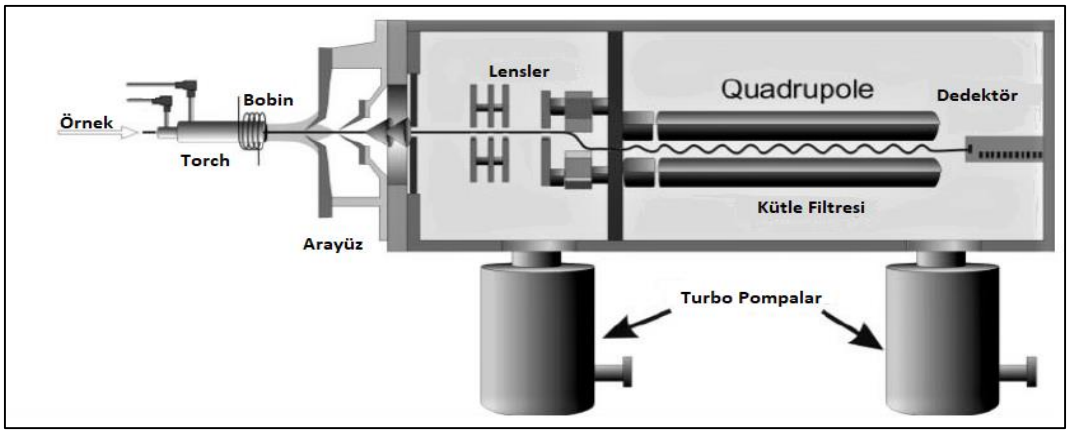
İndüktif Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektrometresi (ICP-OES), farklı numune matrikslerindeki eser elementlerin belirlenmesi için yaygın olarak kullanılan, mg/kg seviyelerinde çok daha yüksek hassasiyette, hızlı ve çoklu element için analiz imkanı sağlayan güçlü bir analitik tekniktir. İndüktif olarak eşleşmiş plazma, argon gazının iyonlaşması sonucu, RF jenaratörü tarafından üretilen 27Mhz'lik bir radyofrekans enerjisi vasıtasıyla oluşturulur. Kararlı halde yaklaşık 10.000 K olan plazma enerjisi örnek numuneyi atomize ederek serbest atomlara ve iyonlara dönüştürür. Plazmada bulunan atomlar ile elektronlar ve fotonlar arasındaki çarpışmalar sonucu element atomları uyarılır. Uyarılan atomlar düşük enerji konumuna geri döndüğünde emisyon (spektrum) ışınları açığa çıkar ve fotonun dalga boyuna karşılık gelen emisyon ışınları ölçülmesi yapılarak analit konsantrasyonu belirlenir (Şekil 4.2) [116].



Şekil 4.2 ICP-OES cihaz şeması[116]

4.1.4 İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi (ICP-MS)

Çoğunlukla çoklu elementlerin tayininde kullanılan İndüktif eşleşmiş plazma kütle spektrometresi (ICP-MS), geniş doğrusal aralık sağlaması, düşük dedeksiyon limitlerine inebilmesi, yüksek numune verimi sağlaması, analiz için düşük hacimde numune kullanılması ve kütle spektrometresinin çok yüksek düzeyde girişim kontrolü sağlayabilmesi gibi birçok avantaja sahip oldukça hassas bir analitik tekniktir. ICP-OES'deki gibi çoklu element analizi olanağı sağlar. Plazma oluşumunda kullanılan argon gazının yüksek maliyetli olması ise tekniğin en büyük dezavantajıdır [117].



Şekil 4.3 ICP-MS cihaz şeması[117]

ICP-OES'e benzer şekilde indüktif eşleşmiş bir plazma kütle spektrometresi (ICP-MS)'nin yüksek sıcaklık ve enerji seviyelerine sahip olması, numunede bulunan

atomların ve moleküllerin daha fazla iyonlaşmasını sağlar. Plazmada üretilen iyonlar daha sonra örnekleyici ve sıyırıcı konlardan geçerek odaklanırlar. Hızlanan iyonlar elektrik alanı tarafından hızlandırılır ve yüksek vakum ortamına gönderilir. İyonlar birbirine paralel dört çubuktan oluşan kuadrupol tarafından uygulanan elemente özgü voltaj değerlerinde seçimli olarak kütle/yük (m/z) oranlarına ayrılır. Ayrılan iyonlar daha sonra bir kütle analizörü tarafından tespit edilir. Dedektör ise her kütle-yük oranında tespit edilen iyonların sayısına göre kütle spektrumu oluşturur ve numunenin elementel konsantrasyonu verir (Şekil 4.3) [118].

C. Voica ve ark. , pirinç, ekmek, şeker, peynir, süt, tereyağı, buğday, kahve, çikolata, bisküvili makarna gibi farklı türdeki gıda numunelerinde bulunan As, Pb, Cu, Cd, Zn, Sn, Hg gibi eser elementlerin içeriğini kuru külleme ve doğrudan hazırlık olan iki farklı numune ön işlem prosedürü kullanarak indüktif eşleşmiş plazma kütle spektrometresinde (ICP-MS) belirlemişlerdir. ICP-MS'de elementlerin tespit limitleri Pb için 0.0005 mg/kg, Cd için 0.003 mg/kg, As için 0.0005 mg/kg, Cu için 0.006 mg/kg, Zn ve Sn için 0.003 mg/kg ve Hg için 0.02 mg/kg olarak bulunmuştur.Ardından gıdaların ICP-MS'de analiz ölçüm sonuçları, insan gıdalarında izin verilen maksimum toksik metal seviyeleri ile karşılaştırılmıştır. Gıda ürünlerinde toksik elementler olan As, Pb ve Sn'ın konsantrasyonlarının izin verilen sınır değerlerinin altında olduğu gözlemlenirken Kakao, peynir, kahve ve biber numunelerinde Cd, Cu ve Hg konsantrasyonları bu metallerin gıda numunelerinde izin verilen limitlerin üzerinde bulunmuştur. Kakao ve peynir numuneleri için Cd elementinin ICP-MS'de konsantrasyonu sırasıyla 0.110 mg/kg ve 0.09 mg/kg bulunurken aynı numuneler için izin verilen limit sınırları Cd için kakao numunesinde 0.01 mg/kg ve peynir numunesinde 0.05 mg/kg'dır. Biber numunesinde Hg için izin verilen limit 0.05 mg/kg olup ICP-MS'de konsantrasyonu 0.229 mg/kg bulunmuştur. Kahve numunesinde ise Cu elementi için izin verilen limit 10.00 mg/kg olup ICP-MS'de konsantrasyonu 14.306 mg/kg bulunarak izin verilen limit sınırının üzerinde kalmıştır [119].

4.2 Elektroanalitik Yöntemler

Bir elektrot yüzeyinde meydana gelen kimyasal reaksiyonlar tarafından üretilen akım, voltaj veya direnç gibi elektriksel özelliklerin ölçülmesiyle örnekteki kimyasal türlerin konsantrasyonunu veya özelliklerini kalitatif ve kantitatif belirlemeye yardımcı olan yöntemlerdir. Elektroanalitik yöntemler, voltametrik, kulometrik, potansiyometrik, amperometrik ve polarografik yöntemler olarak sınıflandırılır. Elektroanalitik yöntemler diğer analitik teknikler ile karşılaştırıldığında kullanımının basit olması, reaktif içermemesi ve düşük maliyetli olması sebebiyle tercih edilen yöntemlerdir [120], [121].

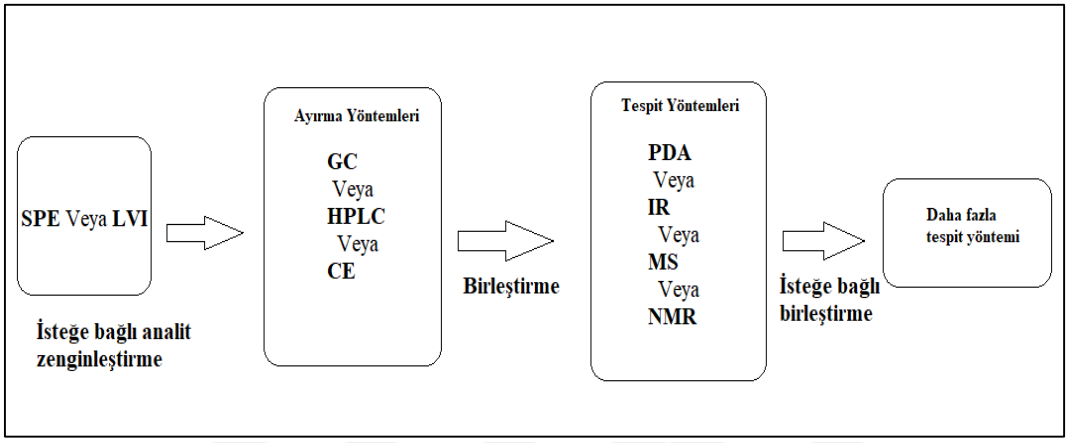
Polarografik teknikler, katodik sıyırma voltametrisi (CSV) ve anodik sıyırma voltametrisi (ASV) gibi yöntemler literatürde inorganik arsenik türlerinin tayini için en çok kullanılan elektoanalitik yöntemlerdir [122]. Sıyırma voltametrisi As (III)'ün tayini için hassas seçiciliği, minimum numune hazırlığı ve çok düşük tespit limitlerine inmesi sebebiyle kullanışlı bir elekroanalitik yöntemdir. Ayrıca arseniğin tayininde çoğu tekniğin aksine elektrokimyada, solunması tehlikeli olan AsH_3 (g) hidrit oluşumu olmaz. Sıyırma voltametrisinin arsenik tayininde, saha uygulaması ve yöntem geliştirme açısından büyük avantajıdır [123]. Örneğin Anamarija Stanković ve arkadaşları nano altın-kristal mor film ile modifiye edilmiş camsı karbon elektrot kullanarak yeraltı sularındaki As (III) miktarını diferansiyel pulse voltametrisi ve anodik sıyırma voltametrisini kullanarak tayin etmişlerdir. As (III)'ü tespit etmek için camsı bir karbon elektrot, altın nanopartiküller ve kristal menekşe ile başarılı bir şekilde modifiye etmişler ve diferansiyel pulse voltametresi ve anodik sıyırma voltametresi arasında yüksek korelasyon gözlemişlerdir [124].

4.3 Kromatografik Yöntemler Ve Birleştirilmiş Teknikler (Hyphenated Techniques)

Kromatografik yöntemler, bir karışım içindeki karmaşık analitleri ayırmak ve analiz etmek için kullanılan analitik tekniklerdir. Bu yöntemlerin prensibi, analitlerin sabit bir faz ile hareketli bir faz arasında dağılımlı olarak ayrılmasına dayanmaktadır. Kromatografik yöntemler gaz kromatografisi (GC) , yüksek

performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), iyon kromatografisi (IC), İnce tabaka kromatografisi (TLC) ve afinite kromatografisi olarak sınıflandırılır [125], [126].

Birleştirilmiş teknikler ise farklı iki veya daha fazla analitik yöntemin kombinasyonudur. Genel olarak tireli teknikler bir kromatografik yöntem ile spektroskopik yöntemin birleşiminden oluşur. Bu teknikler, duyarlılığı ve seçiciliği geliştirmek ve karmaşık numunelerin kapsamlı karakterizasyonunu sağlamak için her bir yöntemin güçlü yanlarından yararlanır (Şekil 4.4) [127].



Şekil 4.4 Tirelenme tekniklerinin şematik gösterimi [127]

Tirelenmiş teknikler, element türleşmesi için karmaşık matrislerdeki elementlerin farklı kimyasal formlarını doğru bir şekilde karakterize etmek ve ölçmek için önemli rol oynar. Örneğin, kromatografi yöntemler ile elementlere özgü spektroskopik yöntemlerin birleşiminden oluşan tirelenmiş teknikler kullanılarak arseniğin kimyasal formlarının tayini yüksek hassasiyet ve seçicilikle gerçekleştirilir. Yüksek hassasiyet ve seçiciliğe sahip ICP-MS ile birleştirilen HPLC arsenik türleşmesi için en güçlü tekniktir [128].

R. F Milani ve arkadaşları, Brezilya'nın çeşitli bölgelerinden topladıkları 18 bitkisel çay yaprağında ve infüzyonlarında, arseniğin kimyasal formları olan As (III), As (V), monometilarsonik asit (MMA) ve dimetilarsonik asit (DMA)'in tayini için HPLC-ICP-MS yöntemini kullanarak basit bir yöntem geliştirmişlerdir. Bitkisel çay yapraklarının toplam arsenik ve arsenik türlerinin ekstrakte edilmesi için kapalı sistem olan mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemini ve arsenik türlerinin ekstraktesi için ise v/v %0.05 ve % 0,10 olan iki farklı derişimde nitrik asit solventi kullanmışlardır. Methodun kesinliğini ve doğruluğunu belirmek amacıyla örneklere

her türden 1 µg/L olacak şekilde spike yapmışlar ve yüzde geri kazanımları organik türler için %100'e yakın bulurlarken inorganik türleri için iki farklı derişimdeki asit oranı türleri etkilemiş olup düşük konsantrasyondaki asit için %100'e yakın geri kazanım elde etmişlerdir. Ayrıca düşük tespit limitlerine inerek yöntemi bitkisel çay yapraklarında başarıyla uygulamışlardır [129].

5
TÜRLENDİRME

5.1 Türlendirme Ve Önemi

Kimyasal türler, bir elementin moleküler yapısına ve oksidasyon durumuna bağlı olarak doğal çevrede bulunan kimyasal formları olarak tanımlanmaktadır. Belirli bir ortamda veya sistemde bir elementin ya da bileşiğin bulunabileceği farklı kimyasal formların tanımlanması ve karakterize edilmesi sürecine türlendirme ve bir numunedeki bir elementin veya bileşiğin farklı kimyasal formlarının veya türlerinin tanımlanmasına ve tayin edilmesine ise türleşme analizi denmektedir [130].

Türlendirme, çevrede çeşitli kimyasal formlarda bulunan elementlerin biyoyararlanımını, toksisitesini ve metabolik yollarını değerlendirmek ve canlı organizmalar üzerindeki etkilerini belirlemek insan sağlığı açısından çok önemlidir. Örneğin arsenik toplam olarak bakıldığında deniz ürünlerinde yüksek oranda bulunmaktadır. Ancak kimyasal form olarak deniz ürünlerinde inorganik formlarının aksine insanlar için toksik olmayan arsenobetain veya arsenoşekerler halinde bulunmaktadır. Çeşitli arsenik formlarının farklı toksisitesi ve kimyasal davranışı olması nedeniyle toplam arsenik içeriğine dayalı bir tespit yanlış bir değerlendirme olabilir[131].

5.2 Ekstraksiyon Yöntemleri

Analiz öncesi numune ekstraksiyonu, bir elementin veya bileşiğin farklı kimyasal formlarının korunması ve yüksek geri kazanım ile numune matrisinden çıkarılması ve ayrılması bakımından türleşme analizi için büyük önem taşımaktadır. Türlendirme için literatürde en çok kullanılan ekstaksiyon yöntemleri sıvı sıvı ekstraksiyon, enzimatik hidroliz ekstraksiyonu, katı faz ekstraksiyonu, ultrasonik destekli ekstraksiyon ve mikrodalga destekli ekstraksiyondur [132].

5.2.1 Sıvı Sıvı Ekstraksiyonu

Çözücü ekstraksiyonu olarak da bilinen sıvı-sıvı ekstraksiyonu katı veya sıvı numuneden kimyasal bir çözücü kullanarak istenen analiti seçici olarak ayıran ve türleşme analizinde numune hazırlama için yaygın olarak kullanılan bir tekniktir. Yöntemin prensibi, analitlerin birbiriyle karışmayan iki sıvı fazdaki çözünürlüğüne dayanmaktadır. Basitlik, esneklik ve çok çeşitli analitlerle ve numune matrisleriyle uyumlu olması gibi avantajları vardır [133].

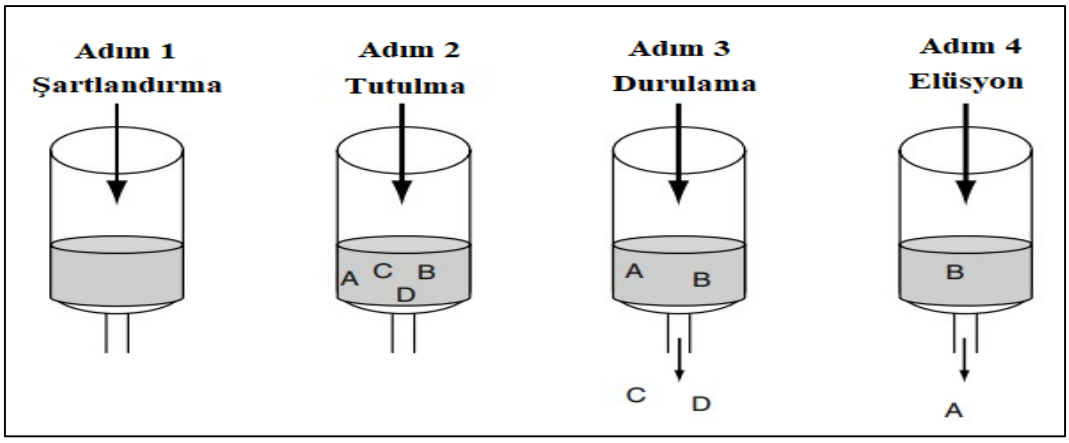
Sıvı-sıvı ekstraksiyonu (LLE), arseniğin (As) türleşme analizi için özellikle de biyolojik örneklerde organik arsenik bileşiklerinin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan bir ekstraksiyon yöntemdir [134].

5.2.2 Enzimatik Hidroliz Ekstraksiyonu

Başta gıda, ilaç ve biyoyakıt sektörleri olmak üzere çeşitli endüstrilerde bitkiler, algler veya mikroorganizmalar gibi doğal kaynaklardan değerli bileşiklerin ekstraksiyonunu geliştirmek için kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemde temel prensip numunenin hücre duvarlarını ve diğer yapısal bileşenlerini parçalamak için enzimler kullanılarak hedef analitlerin salınımı kolaylaştırmaktır. Türlendirme analizlerinde enzim destekli ekstraksiyon, çevresel ve biyolojik gibi karmaşık matrislerden belirli kimyasal türlerin seçici olarak çıkarılması için kullanılan bir yöntemdir. Ekstraksiyonda kullanılan enzimler kimyasal türlerle ilişkili kimyasal bağları veya yapıları seçici olarak hedeflemelerine göre seçilirler ve ardından numune ile kontrolü şartlar altına inkübe edilir. Enzim işleminin ardından analiti izole etmek için daha fazla ekstraksiyon veya ayırma teknikleri uygulanır [135], [136].

5.2.3 Katı Faz Ekstraksiyonu

Hedef analitleri karmaşık numune matrislerinden izole ve konsantre etmek için kullanılan bir yöntemdir. Katı faz ekstraksiyonu, genellikle bir kartuş veya disk gibi katı sorbent olan ekstraksiyon fazın, sıvı faz olan numune matrisinden istenen analitleri seçici olarak tutması prensibine dayanmaktadır (Şekil 5.1). Yöntemin seçici olması, eser miktardaki analitleri konsantre edebilmesi, interferaz etkileri minimuma indirmesi, otomatikleştirilebilir olması gibi avantajlarının olması yöntemin tercih edilmesi nedenleridir [137], [138].

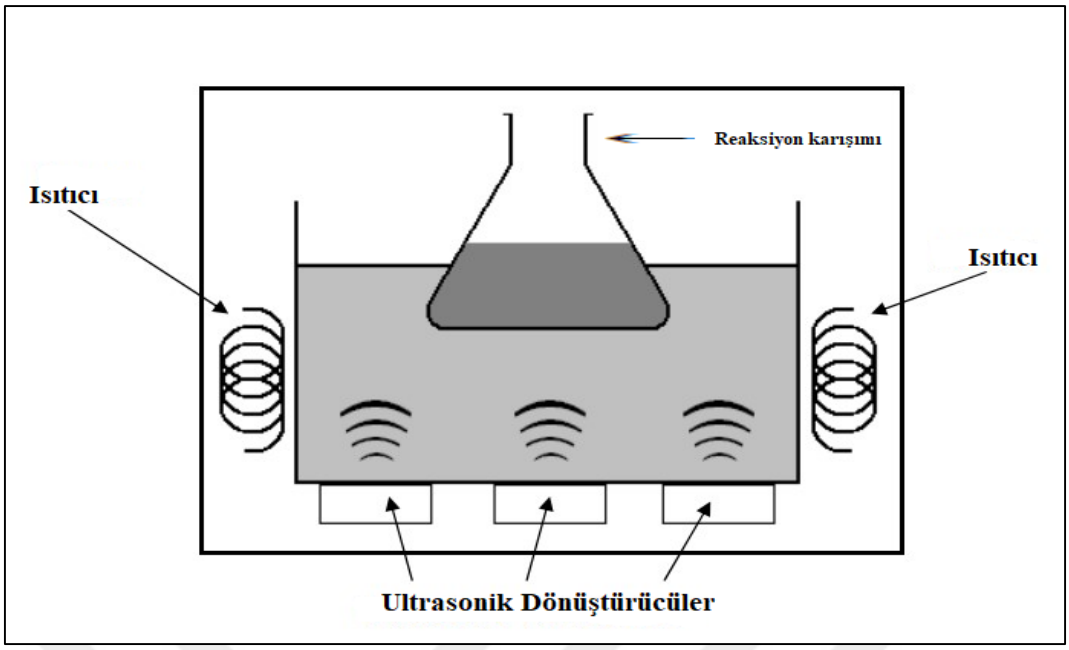


Şekil 5.1 Katı faz ekstraksiyonu [138]

5.2.4 Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon

Ekstraksiyon solventine ve numune karışımına yüksek frekanslı ses dalgalarının (ultrason) uygulanmasını içerir; bu, hücre duvarlarını bozmaya, kütle aktarım hızlarını artırmaya ve ekstraksiyon verimliliğini artırmaya yardımcı olan ektraksiyon yöntemidir. Ultrasonik destekli ekstraksiyonda yaygın kullanılan solventler arasında su, etanol, metanol ve bunların karışımları bulunmaktadır. Ekstraksiyon solventiyle karıştırılan numune bir ultrason jeneratörü tarafından üretilen ultrasonik dalgalara maruz bırakılır. Ultrason dalgaları, çözücü ve numune boyunca yayılarak, ultrason tarafından üretilen alternatif basınç dalgaları nedeniyle solventte mikro kabarcıkların oluşması ve çökmesi anlamına gelen kavitasyona, mikro akışa ve mekanik çalkalanmaya neden olur. Mikro akış, çözücüde mikro akışların ve türbülansın oluşmasıdır ve bu durumda kütle transferini artırır ve ekstraksiyon kinetiğini hızlandırır (Şekil 5.2) . Ultrason destekli ekstraksiyon işlemi hassas bileşiklerin bozulmasını en aza indirirken ekstraksiyon verimliliğini en üst düzeye çıkarmak için optimize edilebilen frekans, güç ve ekstraksiyon süresi gibi kontrollü parametrelerle gerçekleştirilir [139], [140].

Ekstraksiyon kinetiğini hızlandırarak ekstraksiyon süresini azaltması, kütle aktarım hızlarını artırıp hücre içi bileşiklere erişimi iyileştirerek daha yüksek ekstraksiyon verimi sağlaması, belirli bileşiklerin seçici olarak ekstraksiyonu için optimize edilebilir olması, daha düşük sıcaklık ve basınçta çalışarak enerji tüketimini ve çevresel etkiyi azaltması yöntemin en çok tercih edilmesinin sebepleridir [141], [142].

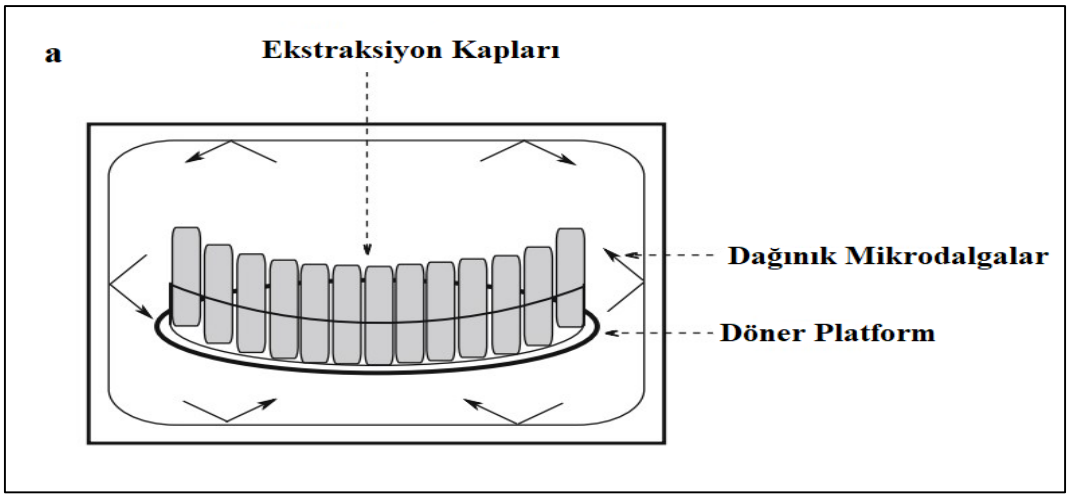


Şekil 5.2 Ultrasonik banyonun şematik gösterimi [143]

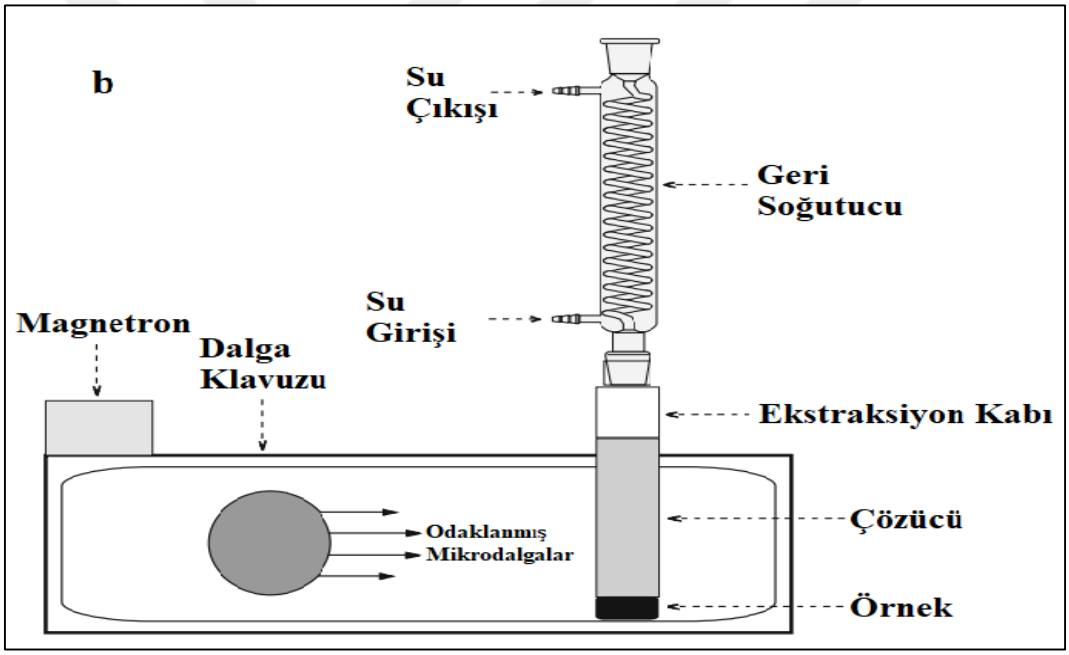
5.2.5 Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon

Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi, diğer ekstraksiyon yöntemlerine benzer şekilde, çeşitli örneklerden istenen analitlerin ekstrakte edilmesi için kullanılan bir tekniktir. Bu teknikte ekstraksiyonun gerçekleşmesi için mikrodalga radyasyonu kullanılır. Mikrodalga radyasyonu, numune matrisi ve çözücü içindeki su, yağlar ve şekerler gibi polar moleküllerle etkileşime girerek dielektrik ısıtma adı verilen bir işlemle hızla döner ve ısı üretir. Üretilen ısı, ekstraksiyon kabı içinde sıcaklığın ve basıncın artmasına yol açarak ekstraksiyon işleminin gerçekleşmesini sağlar [144]. Numune matrisindeki farklı analitler, değişen dielektrik özelliklere sahip olabilir ve bu da mikrodalga ışınımı altında ekstraksiyon verimliliğini ve seçiciliğini etkileyerek istenmeyen analitlerin birlikte ekstraksiyonunu en aza indirir. Ayrıca ekstraksiyon verimliliğini ve seçiciliğini etkileyen mikrodalga gücü, ışınlama süresi, ekstraksiyon sıcaklığı, solvent bileşimi ve numune-solvent oranı dahil olmak üzere optimize edilenilen çeşitli parametreleri bulunmaktadır [145].

İki tür mikrodalga destekli ekstraksiyon sistemi vardır. Bunlar sıcaklığın ve basıncın kontrol edildiği kapalı sistem (Şekil 5.3) ve numunenin bir solvent ekstraktörüne bağlanmasıyla gerçekleşen açık sistemlerdir (Şekil 5.4) [146].



Şekil 5.3 Mikrodalga destekli ekstraksiyon kapalı sistem diyagramı [147]

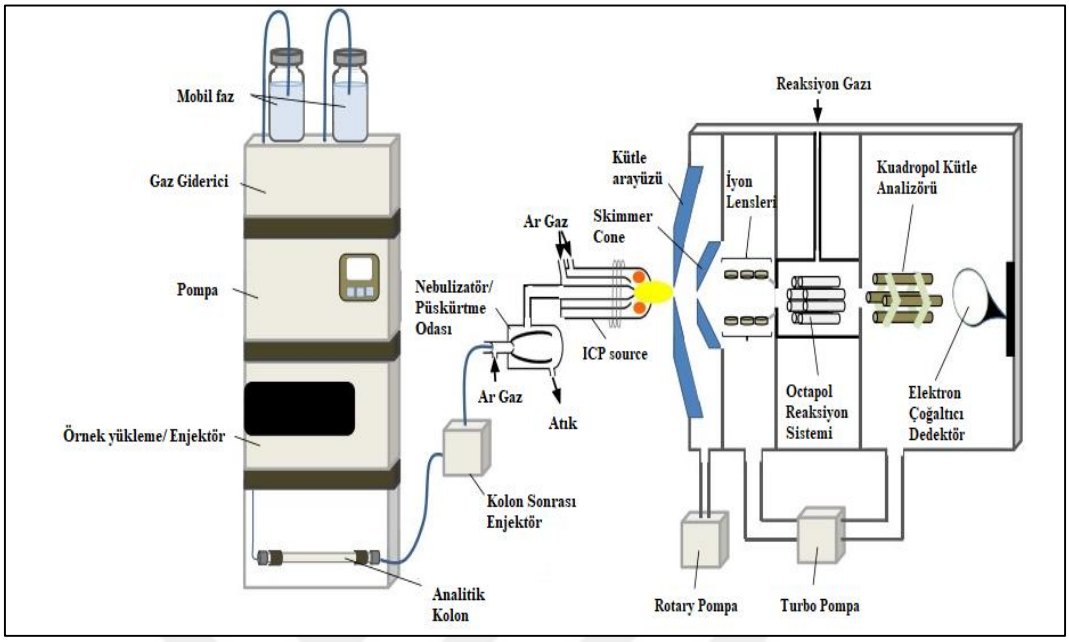


Şekil 5.4 Mikrodalga destekli ekstraksiyon açık sistem diyagramı [147]

5.3 HPLC–ICP–MS Donanımı

Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) - İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometrisi (ICPMS) , karmaşık numunelerdeki element türlerinin ve diğer inorganik bileşiklerin önce kromatografik olarak ayrılması ardından bir dedektör ile tanımlanması ve miktarının belirlenmesi için kullanılan güçlü bir analitik tekniktir. Bu tireli teknik, HPLC'nin kromatografik ayırma yeteneklerini,

ICP-MS'nin hassasiyeti, seçiciliği ve elementel analiz yetenekleriyle birleştirir [148].



Şekil 5.5 HPLC-ICP-MS sisteminin şematik diyagramı [148]

Hplc-Icp-Ms sistemi diyagramı Şekil 5.4' te gösterilmiştir. Ön hazırlık işlemi yapılan numune HPLC sisteminde kromatografik bir kolona enjekte edilir. Kolonda ayrılan analitler ICP-MS cihazına taşınırlar. ICP kaynağında, analit molekülleri yüksek sıcaklıktaki bir plazmada atomize ve iyonize edilir. İyonlar daha sonra kütle analiz cihazına aktarılır ve burada kütle-yük oranlarına (m/z) göre ayrılırlar. Dedektör, belirli kütle-yük oranlarındaki iyonların yoğunluğunu kaydederek numunedeki analitlerin tanımlanmasına ve miktarının belirlenmesine olanak tanır [149].

HPLC'yi ICP-MS cihazına bağlarken, nebülizörün tıkanmasını ve örnekleyici ile skimmerın erozyonunu önlemek için mobil fazdaki tuz içeriği ve organik çözücü miktarı minimumda tutulmalıdır. Fazla tuz, iyon giriş açıklığında bir değişikliğe neden olup iyon ışınını ve dolayısıyla duyarlılığı etkilerken organik çözücü ise plazma kararsızlığına neden olabilir ve sonuç olarak plazmayı söndürebilir [149].

5.3.1 HPLC Sistemi

HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi) sistemi, bir karışımın bileşenlerini ayırmak, tanımlamak ve ölçmek için kullanılan gelişmiş bir analitik

araçtır. Bir sıvı karışım içindeki bileşenlerin, kromatografik bir kolondan geçerken sabit bir faz ve hareketli bir faz ile etkileşimine dayanarak ayrılması prensibine dayanmaktadır [150]. HPLC sistemi, her biri kromatografik süreçte önemli bir rol oynayan pompa, degasser, otomatik örnekleyici, dedektör ve veri toplama sistemi olmak üzere birkaç temel bileşenden oluşur [151].

5.3.1.1 Pompa

Pompa, mobil fazın analitik kolon boyunca belli bir akış hızında iletilmesinden sorumludur. HPLC pompaları genellikle 0,1 ile 10 mL/dak veya daha yüksek arasında değişen hassas ve tutarlı akış hızları sağlama kapasitesine sahip yüksek basınçlı pompalardır [151].

5.3.1.2 Otomatik Örnekleyici

HPLC'nin otomatik örnekleyici bölümü numunelerin kromatografik sistem olan analitik kolona transferini sağlayan bölümdür ve hassasiyet, tekrarlanabilirlik ve numune verimi dahil olmak üzere, manuel enjeksiyona göre çeşitli avantajlar sunar [152].

5.3.1.3 Kolon

Kolonlar ise analitlerin ayrılmasını sağlayan bir sabit fazın bulunduğu ve analitlerin bu sabit fazla etkileşimlerine dayalı olarak ayrımlarının gerçekleştiği kritik bir bileşendir. HPLC analizinde verimli ve tekrarlanabilir ayırmalar elde etmek için kolon seçimi çok önemlidir. Bir kolon seçerken sabit fazı özelliklerine, partikül büyüklüklerine, kolon uzunluğuna ve çapına dikkat edilmelidir. HPLC' de analizlerde güvenilir ve tekrarlanabilir kromatografik sonuçlara ulaşmak için kolonun uygun seçimi ve bakımı esastır [153].

5.3.1.4 Dedektör

HPLC'nin dedektör bileşeni ise kolondan çıkan elüenti algılayarak analitlerin konsantrasyonuyla orantılı bir sinyal üretir. HPLC sistemlerinde UV-Görünür (UV-Vis) dedektörler, floresans dedektörler, kırılma indisi dedektörleri ve kütle spektrometreleri dahil olmak üzere farklı tipte dedektörler kullanılabilir. Dedektör seçimi analiz edilen analite ve gerekli hassasiyete bağlı olarak değişmektedir. Veri

toplama sistemi ise dedektör sinyallerini kaydeder ve analitlerin zaman içindeki ayrılmasını temsil eden kromatogramları bilgisayar ortamına yansıtır [154].

5.3.2 ICP – MS Sistemi

ICP-MS, çeşitli numune türlerinde bulunan eser elementlerin ve izotopların tespiti ve miktarının belirlenmesi için kullanılan analitik bir tekniktir. İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi (ICP-MS) ekipmanı, her biri çeşitli numune türlerindeki eser elementlerin ve izotopların analizinde önemli bir rol oynayan örnek giriş kısmı, ICP kısmı, ara yüz oluşturma, kütle analizörü ve dedektör olmak üzere beş ana bölümü vardır [154], [155].

5.3.2.1 Örnek Girişi

İndüktif eşleşmiş plazma kütle spektrometresinde (ICP-MS), örnek girişi atomizasyon, iyonizasyon için plazmaya gönderildiği en kritik ilk kısımdır. Örnek girişinde sıvı numuneler önce bir nebülizör tarafından aerosole dönüştürülür ve ardından püskürtme odasına (spray chamber) gönderilerek plazmaya girmeden önce aerosolden daha büyük damlacıkları uzaklaştırılarak plazma stabilitesini artırtırılması sağlanır [157].

5.3.2.2 ICP Kısmı

ICP kısmı ise örnek girişinde aerosole dönüştürülen numune plazma tarafından atomize edildiği yerdir. ICP tourch'unda RF jeneratörü tarafından üretilen elektromanyetik alan ile argon gazı, sıcaklığı 6.000–10.000 K'ye ulaşan plazma üretir. Plazma yüksek sıcaklıta aerosole halindeki numuneyi buharlaştırarak tek tek atomlara ayırır ve atomlar, plazmada bulunan serbest elektronlar ve iyonlarla çarpışmalarla daha da iyonize olur [156], [158].

5.3.2.3 Ara Yüz

Plazmada üretilen iyonlar, bir örnekleyici koni tarafında sıyırıcı koniden oluşan bir ara yüze taşınır. Ara yüzey, basıncın, atmosferik basınçtan 10^{-5} ile 10^{-7} Torr arasındaki nihai basınca kadar diferansiyel olarak azaltılmasını sağlayarak plazmadan çıkan iyonları kütle analizörüne aktarılmasını sağlar [159].

5.3.2.4 Kütle Analizörü

Ara yüzden geçen iyonlar, iyon optikten geçerek kütle analizörüne iletilir. İyon optikler, nötr türleri ve ışığı ortadan kaldırmak için iyon yollarını optimize ederek iyon ışınını daha da odaklar ve kütle analizörüne yönlendirilmesine yardımcı olur. Kütle analizörü, iyonların kütle-yük oranlarına (m/z) göre ayrılmasından sorumludur. ICP-MS cihazlarında kullanılan, her birinin kendi avantajları ve sınırlamaları olan çeşitli tiplerde kütle analizörleri bulunmaktadır. ICP-MS'de kullanılan en yaygın kütle analizörü basitliği, çok yönlülüğü ve maliyeti nedeniyle kuadropol kütle analizörüdür. İyonlar kuadropol kütle analizöründen geçerken kütle-yük oranlarına göre filtrelenir ve eşleşen belirli m/z değerlerine sahip iyonlar dedektöre iletilir [117], [160].

5.3.2.5 Dedektör

Kütle analizöründen kütle-yük oranına göre ayrılan iyonların sinyalini ölçerek iyon yoğunluğuyla orantılı bir elektrik sinyali üreten kısımdır. ICP-MS cihazlarında en yaygın kullanılan dedektör tipi yüksek hassasiyet, hızlı tepki süreleri ve düşük tespit limitleri sunan elektron çoğaltıcı dedektördür. İyonlar ilk dinota çarptıktan sonra dinot dizisinden geçerken hızlanan ve güçlendirilen ikincil elektronları serbest bırakırlar. Güçlendirilmiş elektron sinyali toplanır ve iyonların bolluğuyla orantılı olan bir elektrik akımına dönüştürülür. Ayrıca elektron çoğaltıcı dedektörler eş zamanlı çok elementli analiz için uygun tipte dedektördür [117].

6
DENEYSEL KISIM

6.1 Kullanılan Ekipmanlar

Bu tez çalışmasında, gıda numunelerinde bulunan/bulunma olasılığı olan arsenit (As (III)), arsenat (As (V)), metilarsonik asit (MMA) ve arsenobetain (AsB) gibi arsenik türlerinin eş zamanlı olarak birbirinden ayrılması ve türlerin kantitatif tayini için düşük dedeksiyon limitlerinde, yüksek hassasiyet ve tekrarlanabilirliğe sahip analitik yöntem bir yöntem geliştirilmiştir. Bu amaç için kromatografik bir sistem olan HPLC ile çok güçlü bir ayırım gücüne sahip ICP-MS cihazı kombine edilmiştir.

6.1.1 HPLC/ICP–MS Sistemi

HPLC-ICP-MS sistemi, Agilent Technologies 1260 Infinity HPLC ve Agilent Technologies 7700x serisi ICP-MS sistemlerinden oluşmaktadır.

6.1.2 Kolon

Arsenik türlerinin birbirinden ayrılması için biri koruyucu (guard) kolon diğeri analitik kolon olmak üzere 2 adet kolon kullanılmıştır.

Kullanılan koruyucu (guard) ve analitik kolonlar;

- Hamilton, PRP X-100 anion Exchange guard column (3 × 8 mm, 10 µm, PEEK)
- Hamilton, PRP X-100 anion Exchange column (4.1x250 mm, 10 µm)

6.1.3 Kullanılan Kimyasallar

- Amonyum Karbonat ($(NH_4)_2CO_3$) (Merck)
- Sodyum Karbonat (Na_2CO_3) (Merck)
- Methanol (Merck)
- Amonyak (%25 Emsure Merck)
- Etilen Diamin Tetra Asetik Asit (EDTA) (J.K Baker)

6.1.4 Diğer Ekipmanlar

- 100-1000 µL'lik, 20-200 µL'lik ve 1000-5000 µL'lik Otomatik pipet (Eppendorf Research Plus)
- 15 mL'lik Santrifüj tüpü (Falkon) (Isolab)
- 50 mL'lik Santrifüj tüpü (Falkon) (Isolab)
- Hassas tartı (Ohaus)
- pH metre (Hanna)
- Ultrasonik banyo (Bandelin sonorex digiplus)
- Ultra saf su cihazı (Millipore Milli Q Reference)
- Cam malzeme olarak balon joje, mezür, erlen, beher
- Santrifüj (Hermle)
- Vorteks (Benchmark)

6.2 HPLC-ICP-MS Sistemi Optimizasyon Çalışmaları

HPLC-ICP-MS sisteminde As (III), As (V), MMA ve AsB analitlerinin optimum koşullar altında kromatografik olarak birbirinden ayrılması için kullanılan HPLC sistemi ve ayrılan türlerin kantitatif olarak eser seviyelerde kütle spektrometresinde tayinleri için kullanılan ICP-MS sisteminde değişken tüm parametreler optimize edilmiştir. Herbir parametre optimize edilirken bir parametre dışındaki tüm parametreler sabit tutulmuştur. HPLC kısmında izokratik sistemde çalışılması ve akışın analitlerin alıkonma zamanlarına çok büyük bir etkisi olmaması sebebiyle akış hızı olarak 1.0 mL/ dk olarak sabit tutularak çalışmalar yapılmıştır (Tablo 6.1).

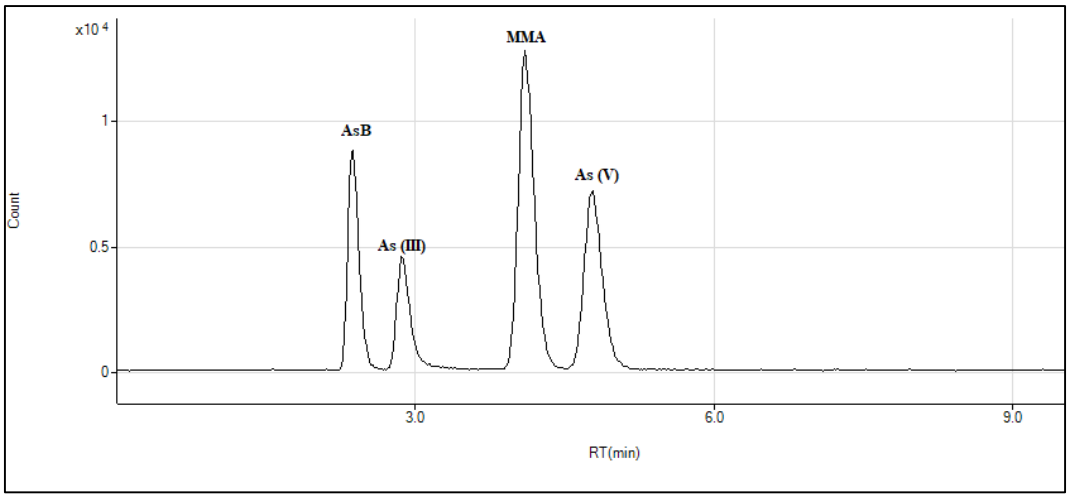
Tablo 6.1 Denemesi yapılan mobil fazlar

Çalışma No	Mobil Faz
1	50 mM Na_2CO_3, pH 10.00
2	50 mM Na_2CO_3, pH 11.00
3	50 mM $(NH_4)_2CO_3$, 0.20 mM EDTA,%1.0 MeOH, pH 8.50

Tablo 6.1 Denemesi yapılan mobil fazlar (devamı)

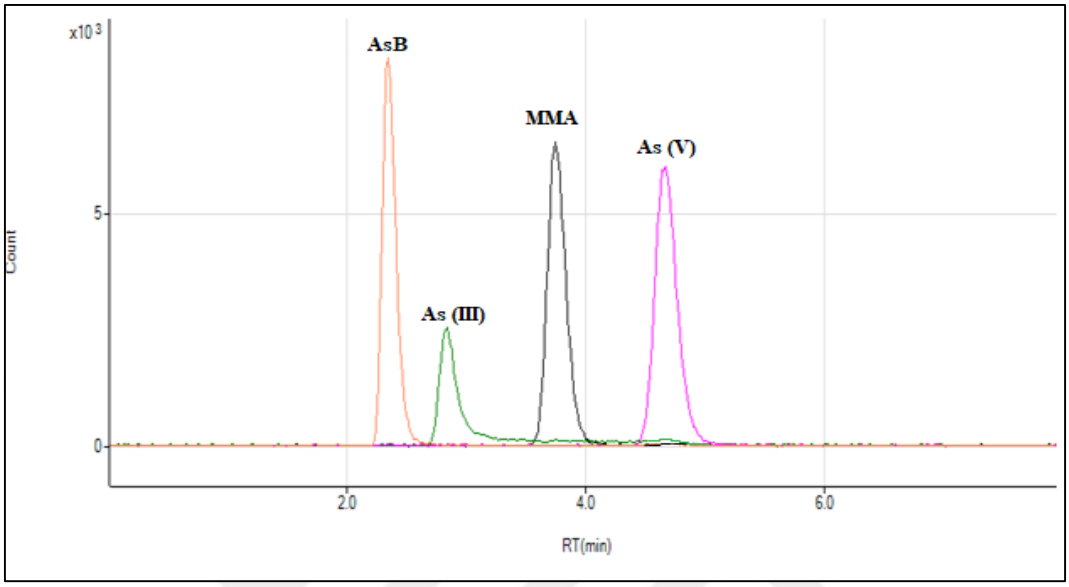
4	50 mM $(NH_4)_2CO_3$, 0.20 mM EDTA,%1.0 MeOH, pH 9.50
5	50 mM $(NH_4)_2CO_3$, 0.20 mM EDTA,%1.0 MeOH, pH 10.00
6	50 mM $(NH_4)_2CO_3$, 0.50 mM EDTA,%1.0 MeOH, pH 9.50
7	50 mM $(NH_4)_2CO_3$, 0.05 mM EDTA,%1.0 MeOH, pH 9.50
8	50 mM $(NH_4)_2CO_3$, 0.50 mM EDTA,%0.5 MeOH, pH 9.50
9	50 mM $(NH_4)_2CO_3$, 0.50 mM EDTA,%3 MeOH, pH 9.50

Çalışmalara ilk olarak 50 mM Na_2CO_3, pH 10.00 mobil fazı ile başlanmıştır. 50 mM Na_2CO_3 çözeltisi hazırlamak için 2.65 g Na_2CO_3 tartıldı ve bir miktar saf su ile çözündükten sonra seyreltik HCl ile pH 10.00'a ayarlandı. İstenilen pH ayarlaması yapıldıktan sonra çözelti 500 mL'ye tamamlandı. As (III), As (V), MMA ve AsB analitlerinin alıkonma zamanları 600 saniyelik analiz süresi boyunca gözlemlenmiştir.



Şekil 6.1 50 ng/mL derişimdeki mix standart çözeltinin 50 mM Na_2CO_3, pH 10.00 mobil fazı kullanılarak elde edilen kromatogramı

Daha iyi ayrım sonuçları elde edebilmek için denemelere devam edilmiştir. Bir sonraki çalışmada pH'ın alıkonma zamanına etkisini gözlemlemek amacıyla 50 mM Na_2CO_3 çözeltisi pH'ı 11'e ayarlanmış ve yine 600 sn'lik analiz süresi boyunca gözlemlenmiştir.



Şekil 6.2 50 ng/mL derişimdeki mix standart çözeltinin 50 mM Na_2CO_3, pH 11.00 mobil fazı kullanılarak elde edilen kromatogramı

50 mM Na_2CO_3 çözeltisinin 10.00 ve 11.00 pH'ında elde edilen kromatogramları Şekil 6.1 ve Şekil 6.2' de gösterilmiştir.

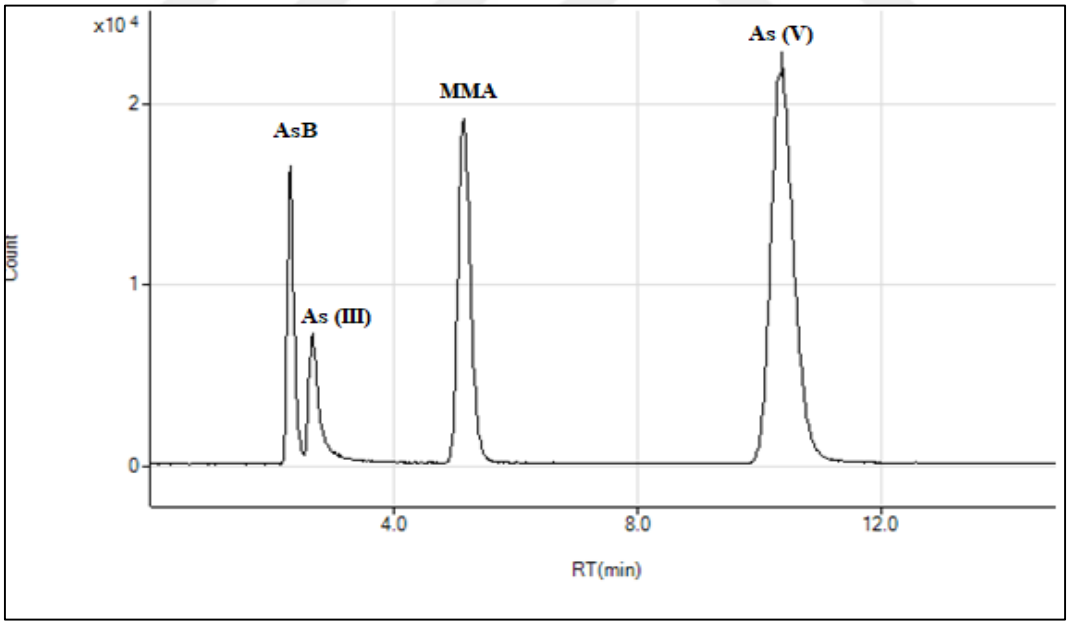
Na_2CO_3 ile başlanan çalışmalara, Na_2CO_3'ün ICP-MS sistemindeki vakum pompası sistemindeki kirlilikleri artırması sebebiyle bundan sonraki çalışmalara $(NH_4)_2CO_3$ ile devam edilmiştir. Bir sonraki mobil faz denemesinde $(NH_4)_2CO_3$ çözeltisi için 50 mM derişimi sabit tutularak farklı değişken içeriklerden olan pH, EDTA ve MeOH 'den her defasında biri değiştirilip diğerleri sabit tutularak denemelere devam edilmiştir. İlk olarak 50 mM $(NH_4)_2CO_3$, 0.20 mM EDTA, %1.0 MeOH, pH 8.5 çözeltisi hazırlanmıştır. Bunun için 2.40 g $(NH_4)_2CO_3$ tartıldı ve bir miktar su ile çözündükten sonra içerisine 29.2 mg EDTA eklendi. Ardından 5 mL MeOH eklenerek karıştırıldı ve pH'ı seyreltik amonyak ile 8.50'ye ayarlanarak son hacim 500 mL'ye tamamlandı. Çalışma no 4 ve 5 olan çözeltiler içinde aynı işlemler uygulanıp pH'ları amonyak ile 9.50 ve 10.00'a ayarlanmıştır. EDTA'nın farklı derişimlerinin denemesi için diğer bileşenler sabit tutulmak koşuluyla, 0.05 mM EDTA için 7.3 mg EDTA, 0.50 mM EDTA için 73 mg EDTA tartılmış pH 9.50'a

ayarlanarak son hacimleri 500 mL'ye tamamlanmıştır. Bu seferde diğer bileşenler sabit tutulmak koşuluyla farklı yüzdelerdeki MeOH içeren tampon çözeltileri hazırlamak amacıyla, % 0.5'lik MeOH için 2.50 mL ve % 3.0'lük MeOH için ise 15 mL MeOH eklenmiş ve pH 9.50'ye ayarlanıp son hacim olan 500 mL'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan mobil fazlar ile sırayla denemeler yapılarak 600 sn'lik analiz süreleri boyunca analitlerin alıkonma zamanları, pik alanları ve sinyal seviyeleri gözlenmiştir.

Çalışmalar sırasında As (III), As (V), MMA ve AsB analitlerinin standartları saf su ile hazırlanmıştır.

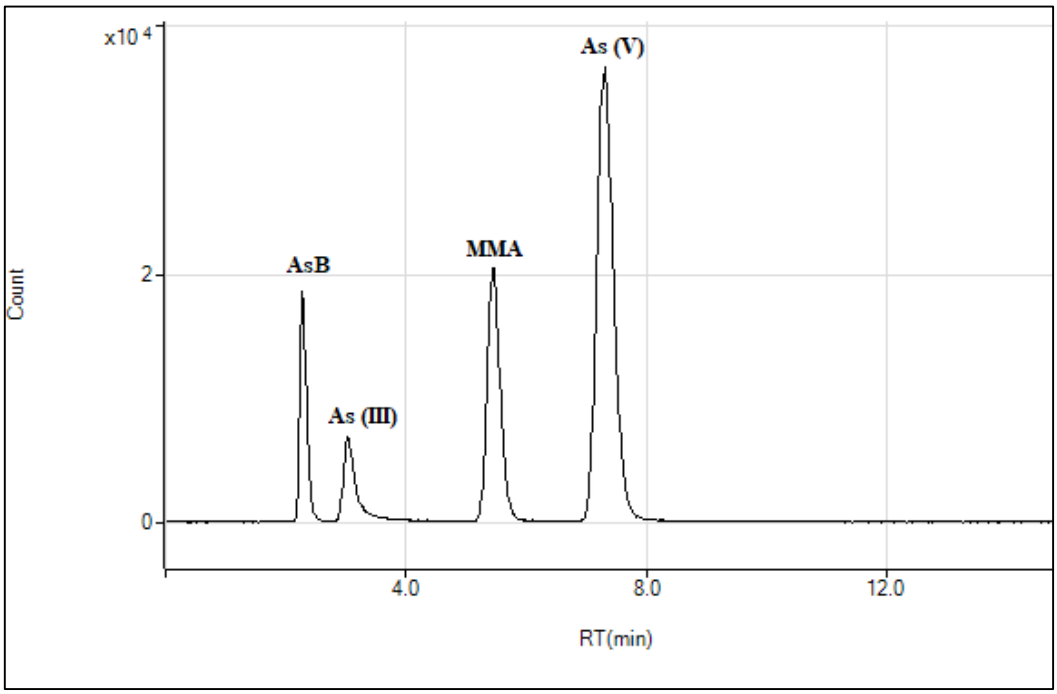
6.2.1 pH Etkisi

50 mM $(NH_4)_2CO_3$, 0.20 mM EDTA,%1.0 MeOH içeriği sabit tutulup pH 8.50, 9.50 ve 10.00 'da hazırlanan mobil fazlarda alıkonma zamanları 600 sn'lik analiz süresi boyunca gözlemlenmiştir. Elde edilen kromatogramları Şekil 6.3, Şekil 6.4 ve Şekil 6.5'te gösterilmiştir.

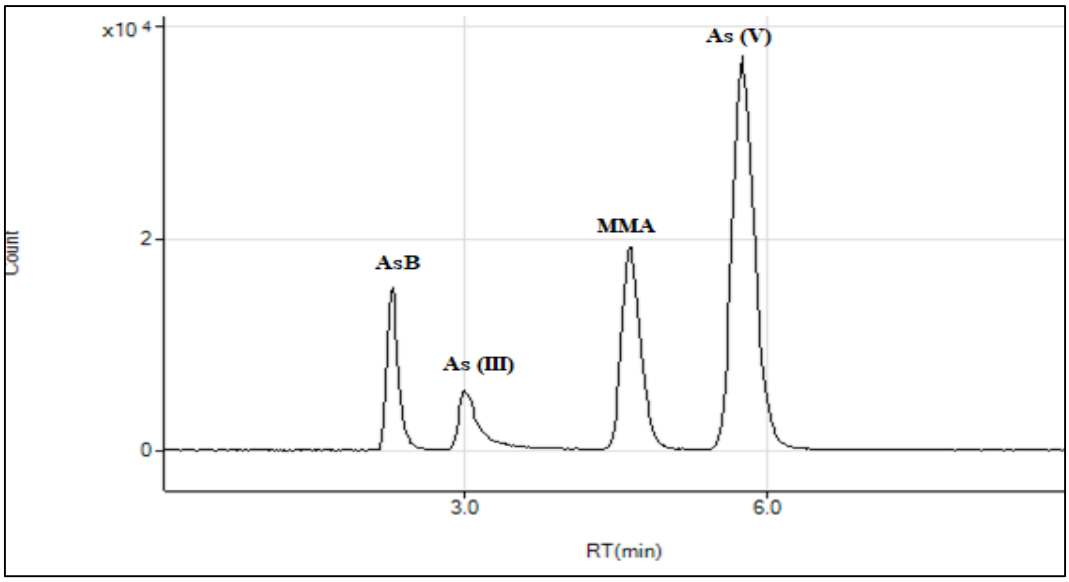


Şekil 6.3 50 ng/mL derişimdeki mix standart çözeltinin 50 mM $(NH_4)_2CO_3$, 0.20 mM EDTA,%1.0 MeOH, pH 8.50 mobil fazı kullanılarak elde edilen kromatogramı

pH 8.50 ‘da As (V) ve MMA için ideal bir ayrım gözlemlenirken AsB ve As (III)’ te iki analitin kolonda alıkonma zamanlarının birbirine çok yakın olduğu gözlenememiştir.



Şekil 6.4 50 ng/mL derişimdeki mix standart çözeltinin 50 mM $(NH4)_2CO_3$, 0.20 mM EDTA,%1.0 MeOH, pH 9.50 mobil fazı kullanılarak elde edilen kromatogramı

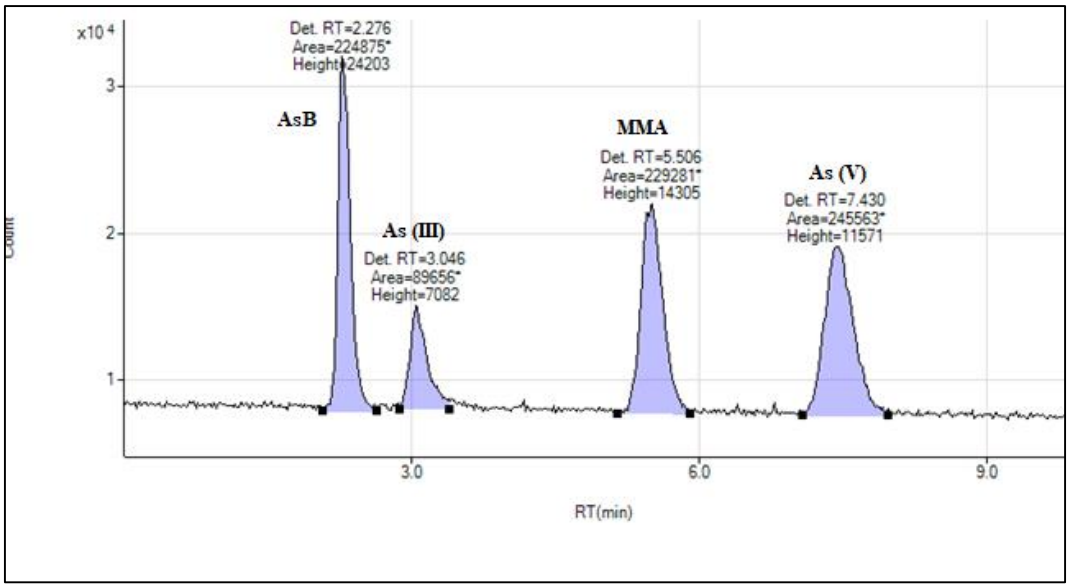


Şekil 6.5 50 ng/mL derişimdeki mix standart çözeltinin 50 mM $(NH4)_2CO_3$, 0.20 mM EDTA,%1.0 MeOH, pH 10.00 mobil fazı kullanılarak elde edilen kromatogramı

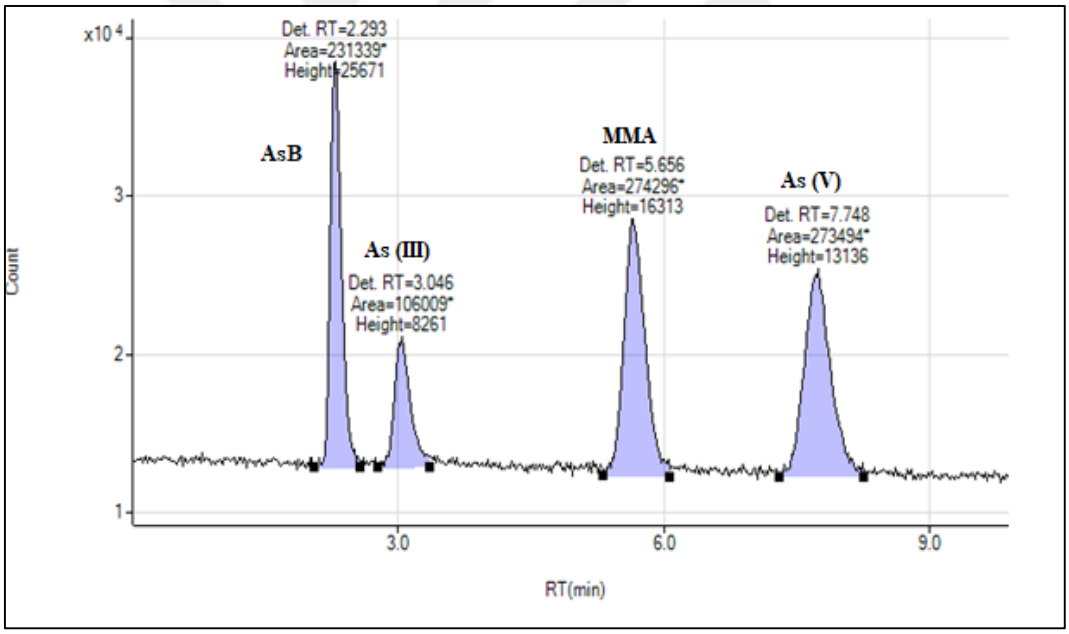
pH 9.50 'ta As (V) ve MMA'nın alıkonma zamanları pH 8.50 'a göre daha yakın iken ve AsB ve As (III)'te daha iyi bir ayrım gözlenmiştir. pH 10.00 'da ise AsB ve As (III) alıkonma zamanları değişmemiş olup As (V) ve MMA analitlerinin alıkonma zamanları birbirine daha yakın olmuştur.

6.2.2 EDTA Etkisi

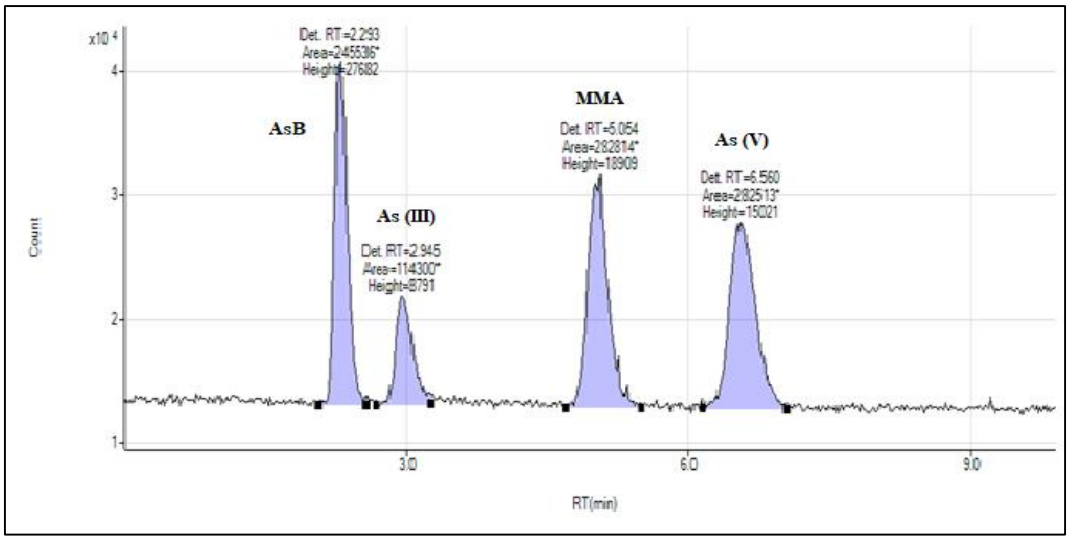
EDTA'nın etkisini belirmek amacıyla 50 mM $(NH_4)_2CO_3$,%1.0 MeOH ve pH 9.50 sabit tutularak 0.05 mM, 0.2 mM ve 0.5 mM EDTA derişimleriyle hazırlanan mobil fazlar sırayla sisteme verilmiş olup alıkonma zamanları ve pik alanları 600 sn'lik analiz süresi boyunca gözlemlenmiştir. Elde edilen kromatogramlar Şekil 6.6, Şekil 6.7 ve Şekil 6.8'te gösterilmiştir.



Şekil 6.6 50 ng/mL derişimdeki mix standart çözeltinin 50 mM (NH4)2CO3, 0.05 mM EDTA,%1.0 MeOH, pH 9.50 mobil fazı kullanılarak elde edilen kromatogramı



Şekil 6.7 50 ng/mL derişimdeki mix standart çözeltinin 50 mM (NH4)2CO3, 0.20 mM EDTA,%1.0 MeOH, pH 9.50 mobil fazı kullanılarak elde edilen kromatogramı



Şekil 6.8 50 ng/mL derişimdeki mix standart çözeltinin 50 mM $(NH_4)_2CO_3$, 0.50 mM EDTA,%1.0 MeOH, pH 9.50 mobil fazı kullanılarak elde edilen kromatogramı

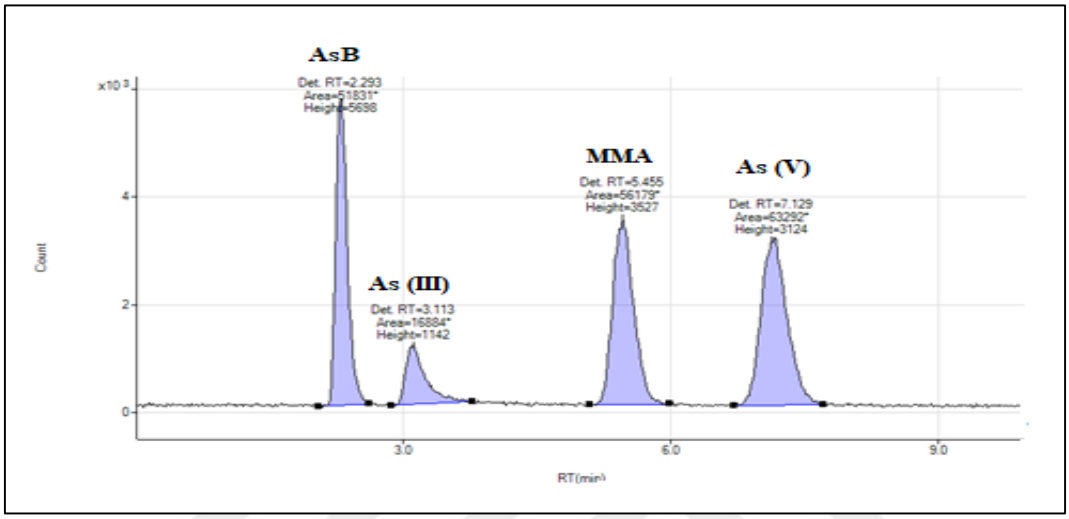
Tablo 6.2 50 ng/mL derişimdeki mix standart çözelti kullanılarak 0.05 mM, 0.20 mM ve 0.50 mM EDTA içeren tampon çözeltiye ait pik alanları

Analit Adı	0.05 mM EDTA	0.20 mM EDTA	0.50 mM EDTA
AsB, Pik Alanı	224875	231339	245536
As (III), Pik Alanı	89656	106009	114300
MMA, Pik Alanı	229281	274296	282814
As (V), Pik Alanı	245563	273494	282513

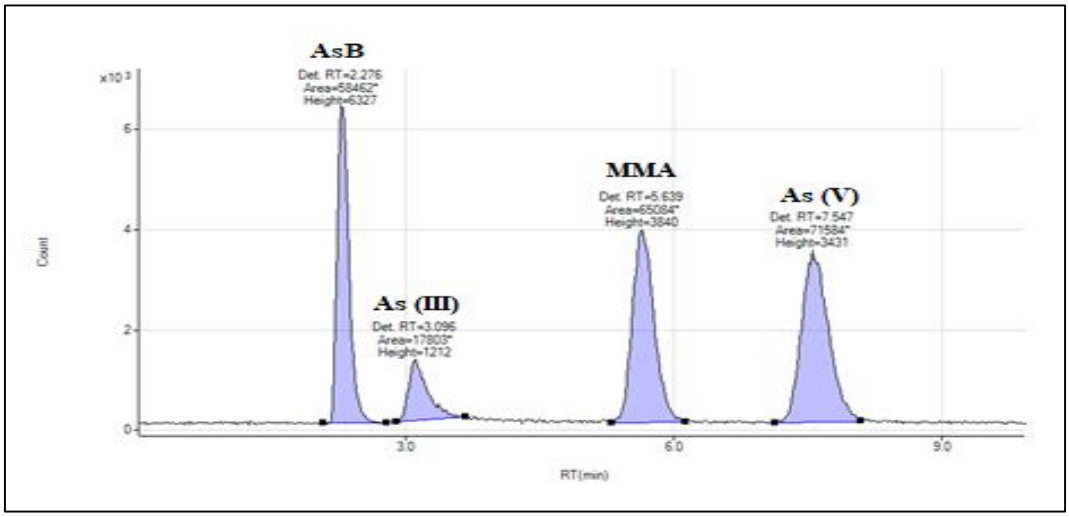
Çalışma sonucu EDTA derişimlerinin alıkonma zamanlarına bir etkisi olmadığı ancak derişim arttıkça pik alanlarında ve sinyalde bir artışa sebep olduğu gözlemlenmiştir. Bu optimizasyonların sonucunda 0.50 mM EDTA derişiminde en yüksek pik alanı elde edilmiştir (Tablo 6.2).

6.2.3 MeOH Etkisi

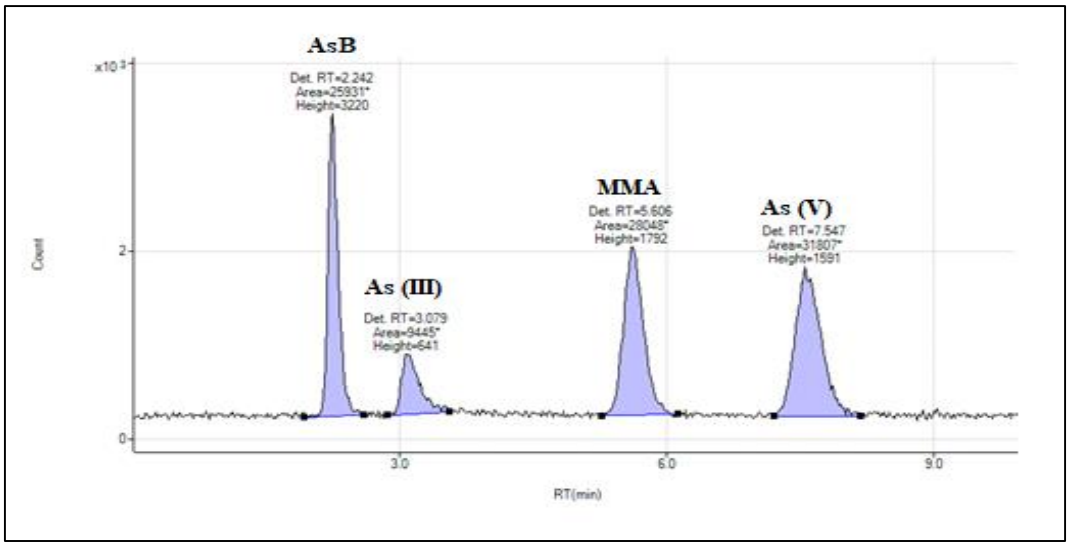
Mobil fazdaki değişken parametrelerden biri olan MeOH'ün optimum miktarının belirlenmesi için, 50 mM $(NH_4)_2CO_3$, 0.50 mM EDTA, pH 9.50 sabit tutularak % 0.50, % 1.0 ve % 3.0 MeOH içeren çözeltiler ile deneme yapılmıştır. Mobil fazlar sisteme verilerek yine 600 sn'lik analiz süresi boyunca MeOH'ün etkisi gözlemlenmiştir (Şekil 6.9, Şekil 6.10, Şekil 6.11).



Şekil 6.9 10 ng/mL derişimdeki mix standart çözeltinin 50 mM $(NH_4)_2CO_3$, 0.50 mM EDTA, % 0.50 MeOH içeren, pH 9.50 mobil fazı kullanılarak elde edilen kromatogramı



Şekil 6.10 10 ng/mL derişimdeki mix standart çözeltinin, 50 mM $(NH_4)_2CO_3$, 0.50 mM EDTA, %1.0 MeOH içeren, pH 9.50 mobil fazı kullanılarak elde edilen kromatogramı



Şekil 6.11 10 ng/mL derişimdeki mix standart çözeltinin, 50 mM $(NH_4)_2CO_3$, 0.50 mM EDTA, %3.0 MeOH, pH 9.50 mobil fazı kullanılarak elde edilen kromatogramı

Tablo 6.3 10 ng/mL derişimdeki mix standart çözelti kullanılarak, 0.05 mM, 0.20 mM ve 0.50 mM derişimlerindeki EDTA'nın pik alanlarına etkisi

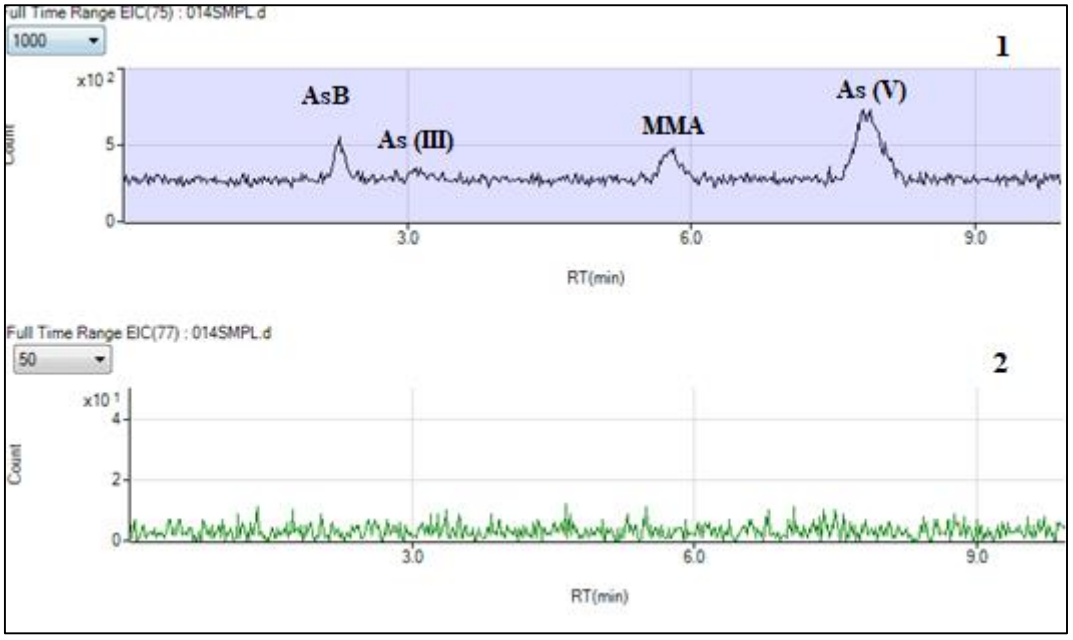
Analit Adı	% 0.50 MeOH	% 1.0 MeOH	% 3.0 MeOH
AsB, Peak area	51831	58462	25931
As (III) Peak area	16884	17803	9445
MMA Peak area	56179	65084	28048
As (V) Peak area	63292	71584	31807

3 farklı MeOH miktarı içeren mobil fazlar ile yapılan çalışma sonucunda analitlerin alıkonma zamanlarına bir etkisi olmadığı ancak pik alanlarına ve analit sinyaline etkileri olduğu gözlemlenmiştir. En yüksek sinyal ve pik alanı % 1.0 MeOH içeren mobil faz ile gözlemlenirken en düşük sinyal ve pik alanı % 3.0 MeOH içeren mobil faz ile gözlemlenmiştir.

Yapılan çalışmalar sonucu en iyi ayrımın, en keskin sinyallerin ve pik alanlarının 50 mM $(NH_4)_2CO_3$, 0.50 mM EDTA,%1.0 MeOH, pH 9.50 mobil fazı ile elde edildiği görülmüş ve bundan sonraki çalışmalara bu mobil faz ile devam edilmiştir.

6.2.4 ICP-MS Spektral Girişim Etkisi

Çalışmalar sırasında arsenik ölçümlerini olumsuz etkileyen argon klorürün ($^{40}Ar\ ^{37}Cl^+$ ve $^{40}Ar\ ^{35}Cl^+$) neden olduğu spektral girişimleri gözlemlemek için ^{77}Se ve ^{75}As sinyalleri izlenmiştir. Ayrıca bu tür girişimi engellemek için optimize edilmiş plazma koşulları ve He modunda ORS[3] kullanılmıştır. ArCl (m/z 77)' de herhangi bir pik gözlenmemiş olup kromatogramı Şekil 6.12 'de verilmiştir.



Şekil 6.12 0.50 ng/mL derişimdeki mix standart çözeltinin, ICP-MS'de m/z 75 (1) ve m/z 77 (2) sinyallerinde elde edilen kromatogramı

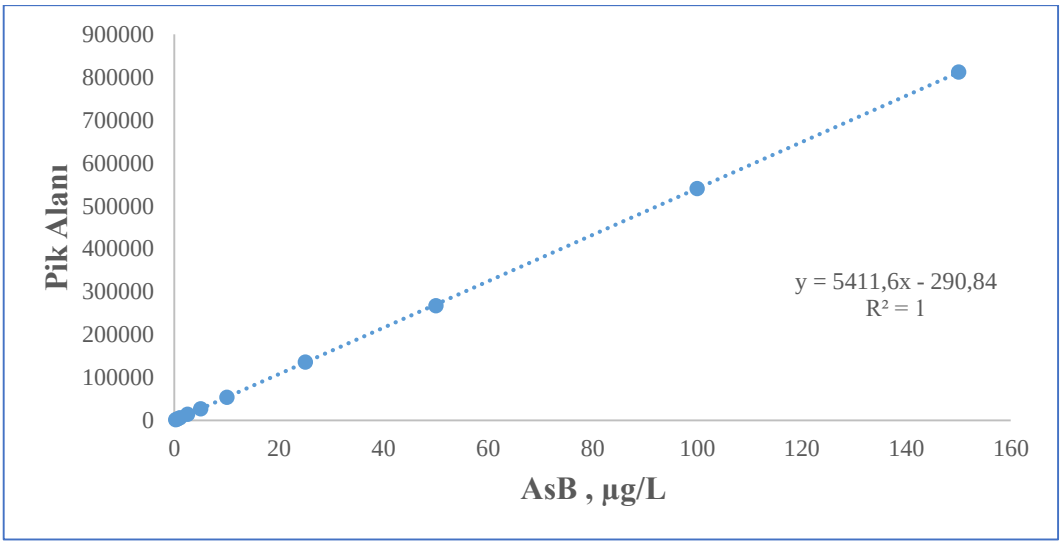
6.3 As (III), As (V), MMA Ve AsB analitlerinin HPLC/ICP-MS ile Sistem Analitik Performans Değerlerinin Belirlenmesi

As (III), As (V), MMA ve AsB analitlerinin sistem analitik performans değerlerinin tespiti amacıyla belirlenen optimum şartlar altında 0.10 – 150 µg/L aralığındaki standart çözeltiler HPLC/ICP-MS sistemine gönderilmiştir. Hazırlanan seri standart çözeltiler ultra saf su ile hazırlanmıştır.

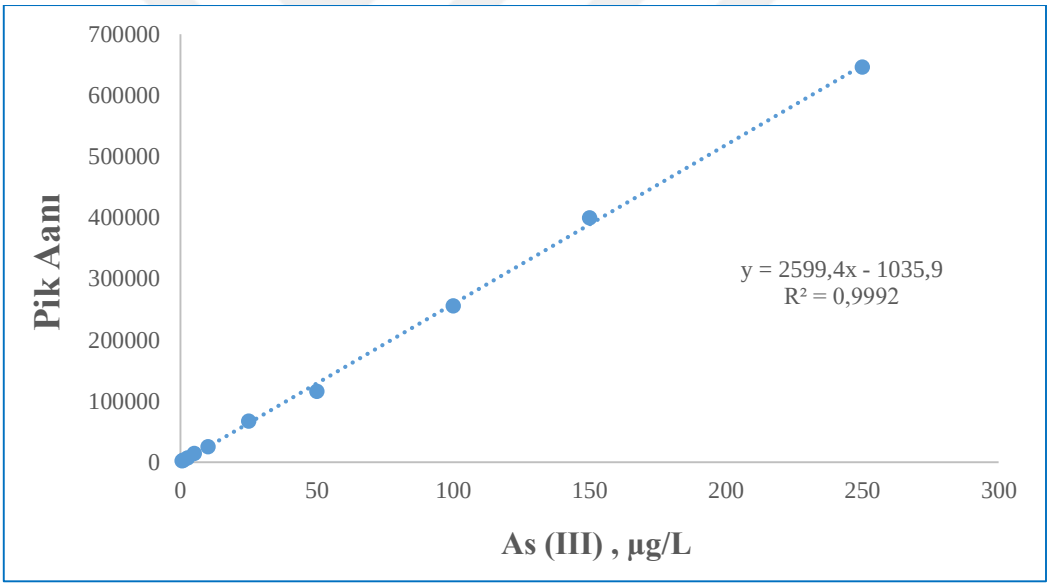
Tablo 6.4 As (III), As (V), MMA ve AsB için optimum cihaz koşulları

ICP-MS	
Plazma Gazı Akış Hızı	15 L/min
Taşıyıcı Gaz Akışı	1.08 mL/min
RF gücü, W	1550
Reaksiyon Hücresi	He
Örnekleyici Cone	Ni, 1mm orifice
Skimmer Cone	Ni, 0.75 mm orifice
İzlenen Sinyaller	m/z 75 (^{75}As), m/z 77 ($^{40}Ar^{37}Cl$)
Bekleme Süresi	550 ms
HPLC/ICP-MS	
Mobil Faz	0.50 mM EDTA,%1.0 MeOH içeren, pH 9.50'ye ayarlanmış 50 mM $(NH_4)_2CO_3$
Akış Hızı	1.0 mL/min
Enjeksiyon Hacmi	20 µL
Koruyucu (Guard) Kolon	Hamilton, PRP X-100 anion Exchange guard column (3 × 8 mm, 10 µm, PEEK)
Analitik Kolon	Hamilton, PRP X-100 anion Exchange column (4.1x250 mm, 10 µm)

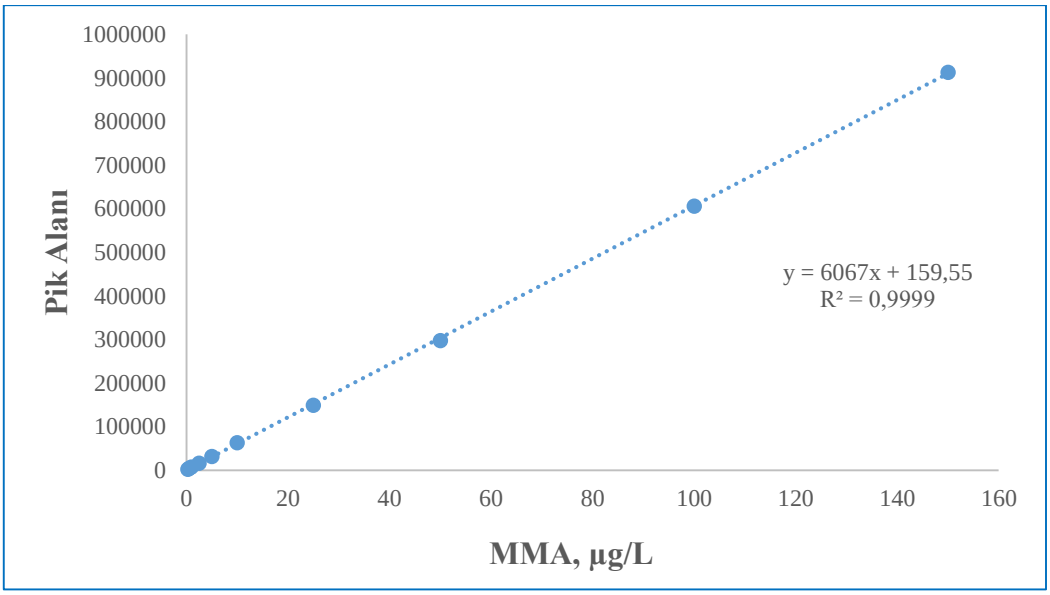
HPLC-ICP-MS cihazının LOD ve LOQ değerlerinin belirlenmesine yönelik bir seri standart çözelti saf su ile hazırlanmış olup, 0.10 – 250 µg/L arasındaki standart çözeltiler kullanılarak her analit için kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur.



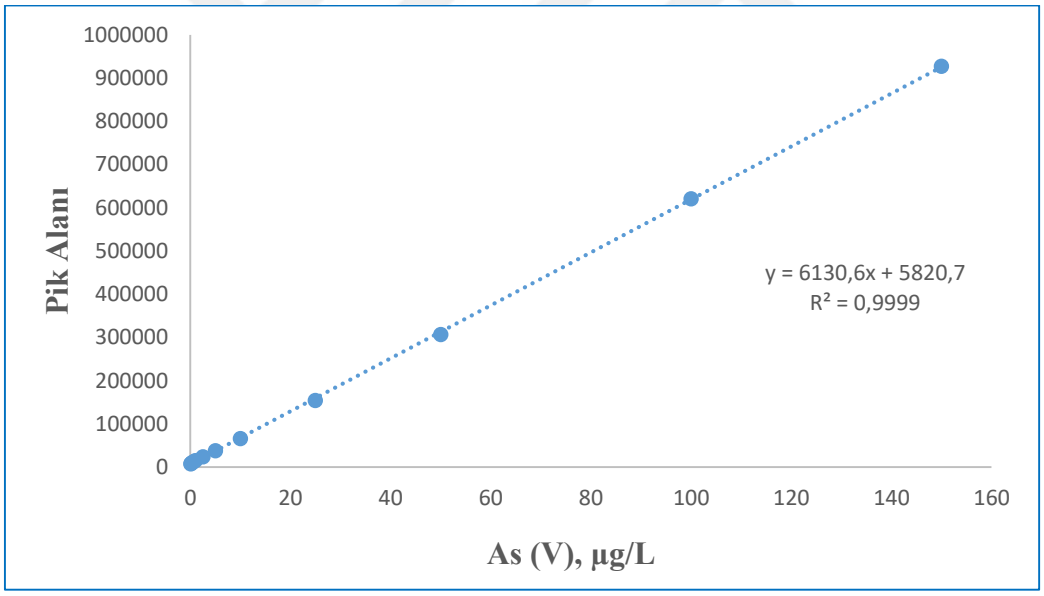
Şekil 6.13 HPLC-ICP-MS cihazında optimum koşullar altında elde edilen AsB'e ait kalibrasyon grafiği



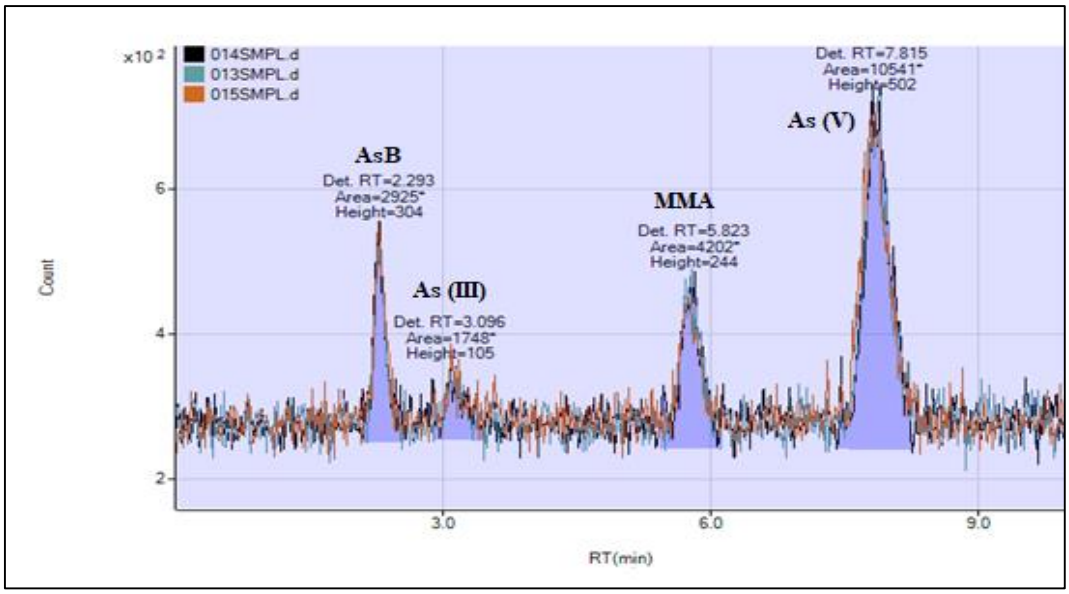
Şekil 6.14 HPLC-ICP-MS cihazında optimum koşullar altında elde edilen As (III)'e ait kalibrasyon grafiği



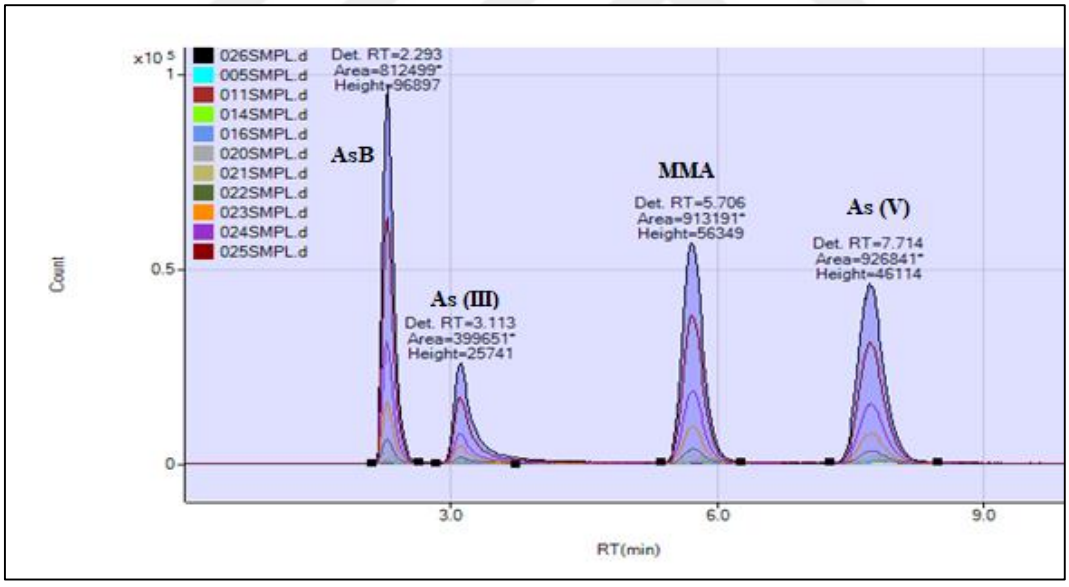
Şekil 6.15 HPLC-ICP-MS cihazında optimum koşullar altında elde edilen MMA'e ait kalibrasyon grafiği



Şekil 6.16 HPLC-ICP-MS cihazında optimum koşullar altında elde edilen As (V)'e ait kalibrasyon grafiği



Şekil 6.17 0.50 µg/L derişimdeki As (III), As (V), MMA ve AsB analitlerini içeren mix standart çözeltisinin tekrarlı olarak sisteme gönderilmesi sonucu elde edilen kromatogram



Şekil 6.18 0.50-150 µg/L aralığında As (III), As (V), MMA ve AsB analitlerine ait mix standart çözeltisinin sisteme gönderilmesi sonucu elde edilen kromatogram

Kalibrasyon grafikleri kullanılarak As (III), As (V), MMA ve AsB analitlerinin sistem analitik performans değerleri hesaplanmış olup bu hesaplar Tablo 6.5'te gösterilmiştir.

Tablo 6.5 Optimum koşullar altında As (III), As (V), MMA ve AsB analitlerine ait sistem analitik performans değerleri

Parametre	AsB, ng/mL	As(III) ng/mL	MMA, ng/mL	As (V), ng/mL
LOD, ng/mL	0.07	0.12	0.06	0.03
LOQ, ng/mL	0.22	0.41	0.22	0.11
%RSD	7.61	7.88	5.16	1.01
Denklem	y = 5411.6x-290.84	y = 2599.4x - 1035.9	y = 6067x +159.55	y = 6130.4x + 5820.7
R^2	1	0.9992	0.9999	0.9999

6.4 Gıda Numunelerinde As (III), As (V), MMA ve AsB'in Eş Zamanlı Tayini

Tezin bu kısmında gıda numuneleri arasında yoğun matrikse sahip hamsi, mezgit, midye ve karideste bulunan As (III), As (V), MMA ve AsB analitlerinin hassasiyeti ve doğruluğu yüksek bir şekilde kantitatif olarak tayini için analiz öncesi örnek hazırlamada basamağında ekstraksiyon verimi yüksek bir metot uygulanarak geri kazanım çalışması gerçekleştirilmiştir. Bu aşamanın amacı uygulanan ekstraksiyon yöntemin doğruluğunu tespit etmektir. Yapılan deneysel çalışmalar sonucunda yüksek geri kazanım sonuçları elde edilmiştir.

6.4.1 Örnek Toplama Ve Saklama

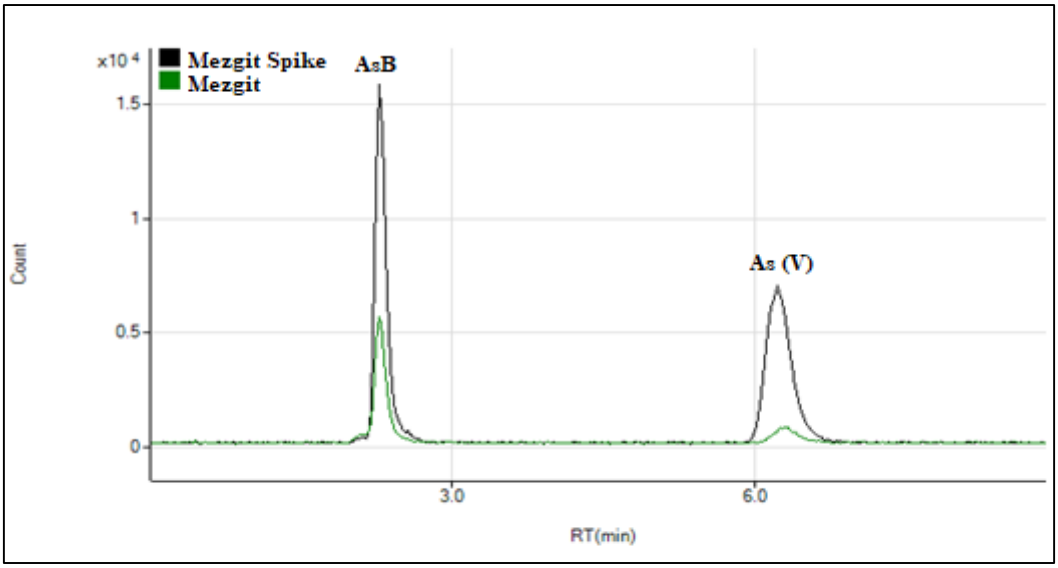
Çalışmada kullanılan gıda numunelerinden hamsi, mezgit, karides ve midye İstanbul'un çeşitli pazarlarından temin edilmiştir. Numuneler homojenize edildikten sonra steril kaplarda -20 °C 'de muhafaza edilmiştir.

6.4.2 Ön Hazırlık İşlemi İçin Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon Yöntemi Geliştirilmesi

Örneklerin ön işleminde ultrasonik destekli ekstraksiyon yönteminde iki ekstraksiyon solventine ait denemeler yapılmıştır.

İlk denemede; mezgit numunesi 0.20 ile 0.30 g arasında olacak şekilde hassas terazi ile bir falkonun içerisine tartılmıştır. Tartımı yapılan mezgit numunesinin üzerine (v:v) 3:1 oranında hazırlanan MeOH: H_2O karışımından 10 mL eklenip 30 dk, 45°C sıcaklıkta ultrasonik banyoda bekletilmiştir ve ardından 2 dk vortekslenmiştir. Vorteks işleminden sonra 3000 rpm'de 3 dk santrifülendikten sonra üst faz başka bir falkona alınmıştır. Son işlem olarak örnekten 1.0 mL alınıp kuru hava ortamında geriye yaklaşık 0.250 mL kadar kalana kadar uçurma işlemine tabi tutulup son hacim tekrar 1.0 mL'ye tamamlanıp viale alınmıştır. Ön hazırlık işlemi tamamlanan mezgit numunesi HPLC-ICP-MS sistemine gönderilip 600 sn'lik analiz süresi boyunca gözlemlenmiştir. Mezgit numunesinde AsB ve As (V) tespit edilmiştir.

Metodun doğruluğunu kontrol etmek amacıyla aynı hazırlık yöntemiyle mezgit numunesine 2500 µg/L AsB ve As (V) spike edilerek HPLC-ICP-MS sistemine verilmiş yine 600 sn'lik analiz süresi boyunca gözlemlenmiştir.



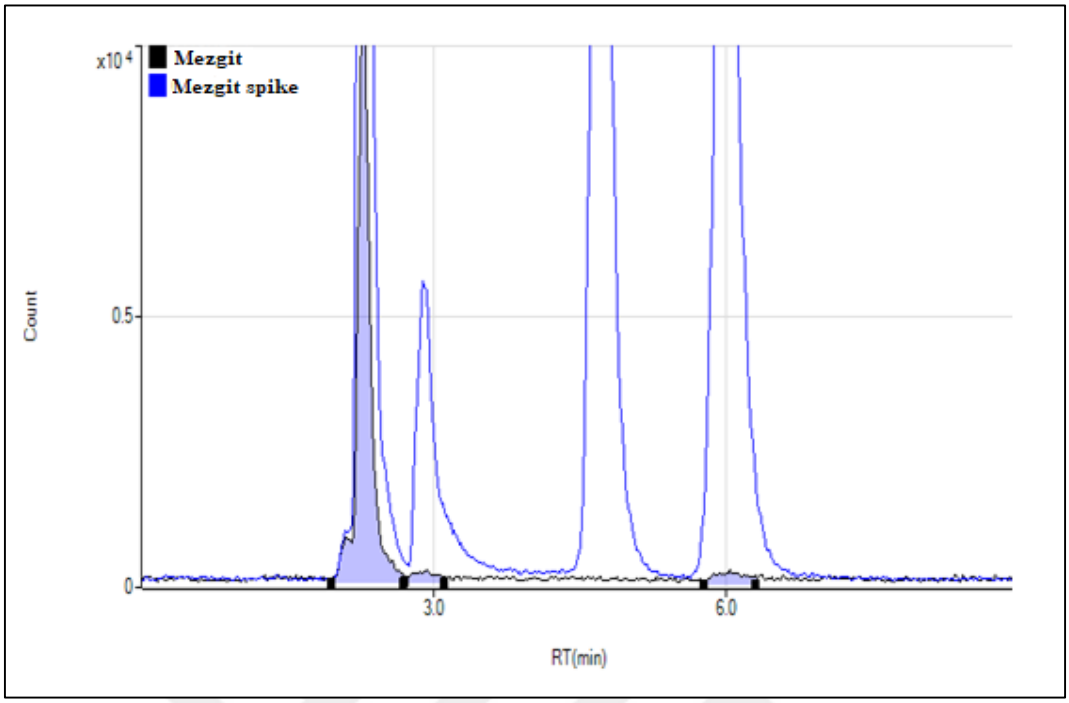
Şekil 6.19 (v:v) (3:1) MeOH:H_2O çözücü karışımı ile ekstrakte edilen mezgit örneği ve mezgit örneğine 2500 µg/L derişimde spike edilmiş AsB ve As(V) 'e ait kromatogram

Tablo 6.6 (v:v) (3:1) MeOH:H_2O çözücü karışımı ile ekstrakte edilen mezgit örneği ve mezgit örneğine 2500 µg/L derişimde spike edilmiş AsB ve As(V) 'e ait sonuçlar

Numune Adı	AsB(ng/g)	As(III)(ng/g)	MMA(ng/g)	As (V) (ng/g)
Mezgit	531.61± 40.46	≤ LOD	≤ LOD	50.94± 0.51
Mezgit 2500 µg/L spike	1389 ± 106	-	-	1031± 10
% geri kazanım	34.31 ± 2.61	-	-	39.22 ± 0.40

(v:v) (3:1) MeOH: H_2O ekstraksiyon solventiyle yapılan örnek ultrasonik destekli ekstraksiyonunda geri kazanımların düşük çıkması sebebiyle solventteki organik çözücü miktarı düşürülerek (v:v) 1:1 oranında MeOH:H_2O kullanılarak çalışma tekrarlanmıştır. Mezgit numunesi 0.20 ile 0.30 g arasında tartılan numune üzerine 2.50 mL çözücü eklenip vortekslendikten sonra ultrasonik banyoda 30dk, 45°C sıcaklıkta ekstrakte edilmiş 3000 rpm'de 3 dk santrifülendikten sonra üst faz alınmıştır. Alt faza 2.50 mL çözücü eklenip vortekslenerek tekrar 30dk, 45°C sıcaklıkta ultrasonik banyoda ekstrakte edilmiştir. İşlem tamamlandıktan sonra fazlar birleştirilip saf su ile son hacim 10 mL olacak şekilde tamamlanıp vorteklenmiştir. 3000 rpm'de 3 dk santrifüj edildikten sonra üst faz ayrı bir falkona alınmıştır. Çözeltiden 1.0 mL alınıp viallendikten sonra sisteme verilmiştir. Bu işlem mezgit numunesine 2500 µg/L spike yapılıp ekstraksiyon işlemi tekrarlanmıştır.

600 sn'lik analiz süresi boyunca elde edilen kromatogram Şekil 6.20'da gösterilmiştir. Analiz sonucunda hesaplanan geri kazanımlar ise Tablo 6.7'de belirtilmiştir.



Şekil 6.20 (v:v) (1:1) MeOH: H_2O çözücüsü ile ekstraksiyon yapılmış olan mezgit örneği ve mezgit örneğine 2500 µg/L spike edilmiş AsB, As(III), MMA ve As(V)'e ait kromatogram

Tablo 6.7 (v:v) (1:1) MeOH: H_2O çözücüsü ile ekstraksiyon yapılmış olan mezgit örneği ve mezgit örneğine 2500 µg/L spike edilmiş AsB, As(III), MMA ve As(V)'e ait sonuçlar

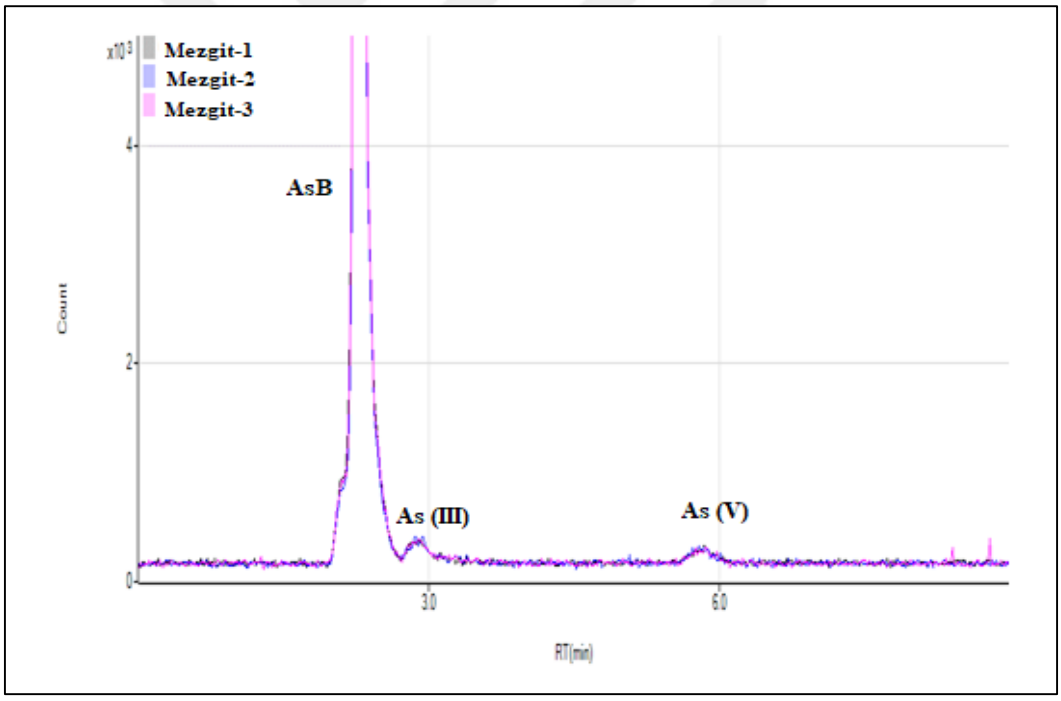
Numune Adı	AsB(ng/g)	As (III)(ng/g)	MMA(ng/g)	As (V) (ng/g)
Mezgit	966.8 ± 73.6	50.34 ± 4.0	< LOD	5.43 ± 0.1
Mezgit 2500 µg/L spike	3479 ± 265	2277 ± 179	2448 ± 126	2458 ± 25
% geri kazanım	100.5 ± 7.7	89.05 ± 7.02	97.94 ± 5.05	98.11 ± 0.99

(v:v) (1:1) MeOH: H_2O ile yapılan ultrasonik destekli ekstraksiyonunda mezgit numunesine yapılan spike ile tüm analitler için geri kazanımlar % 80 ile % 110 arasında çıkmış olup ekstraksiyon işleminin mezgit numunesi için doğruluğu kanıtlanmıştır. Çalışmalara (v:v) (1:1) MeOH: H_2O solventi ile devam edilmiştir.

6.4.3 Örneklerin Eş Zamanlı Tayini ve Geri Kazanım Çalışmaları

Metodun doğruluğunun tespit edilmesi amacıyla mezgit, hamsi, karides ve midye örneklerine spike çalışması yapılarak örneklerin geri kazanımları hesaplanmıştır. Her örneğin ön hazırlıkları 3'er tekrarlı olacak şekilde hazırlandıktan sonra bir viale alınıp sisteme verilmiştir.

3 tekrarlı hazırlanan mezgit örneğine ait kromatogram Şekil 6.21 'de gösterilmiştir.



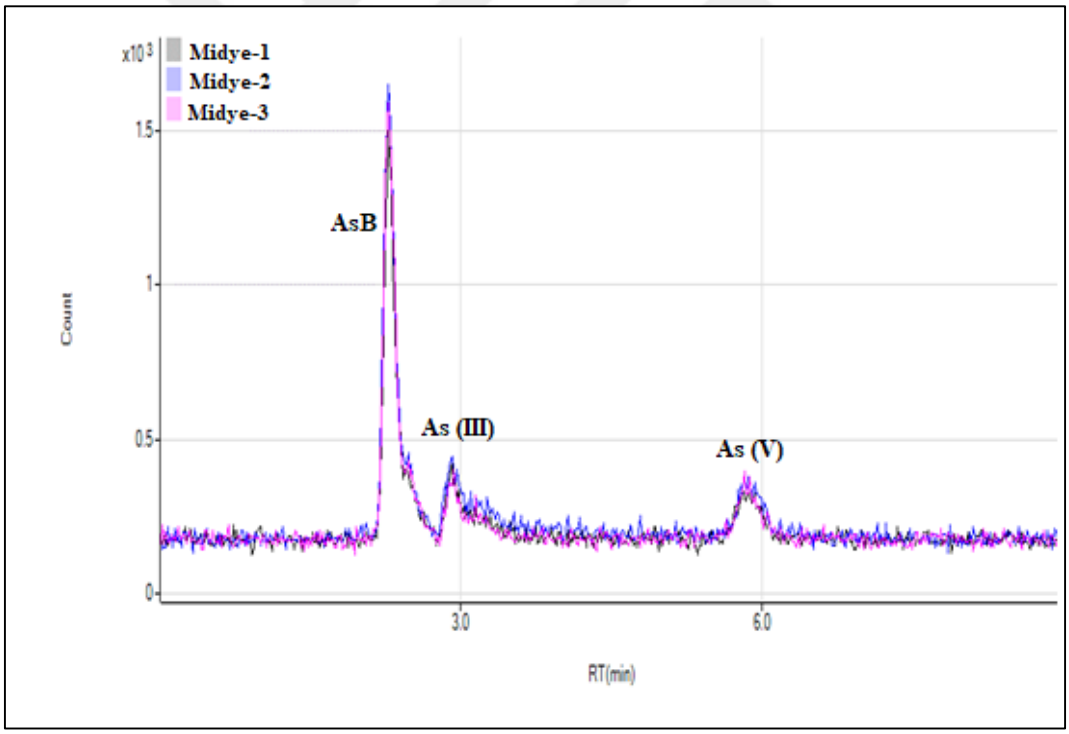
Şekil 6.21 Mezgit örneğinin 3 tekrarlı sonucuna ait kromatogram

Mezgit örneğine ait sonuçlar ise Tablo 6.8'de belirtilmiştir.

Tablo 6.8 Mezgit örneğine ait 3 tekrarlı hazırlanan analiz sonuçları

Numune Adı	AsB(ng/g)	As (III)(ng/g)	MMA(ng/g)	As (V) (ng/g)
Mezgit-1	934.0	61.57	< LOD	5.51
Mezgit-2	1009.6	62.83	< LOD	5.99
Mezgit-3	980.6	65.15	< LOD	6.99
Ortalama Sonuç	**974.7 ± 74.3**	**63.2 ± 1.8**	**< LOD**	**6.16 ± 0.75**

3 tekrarlı hazırlanan midye örneğine ait kromatogram Şekil 6.22 ‘de sonuçlar ise Tablo 6.9’da gösterilmiştir.

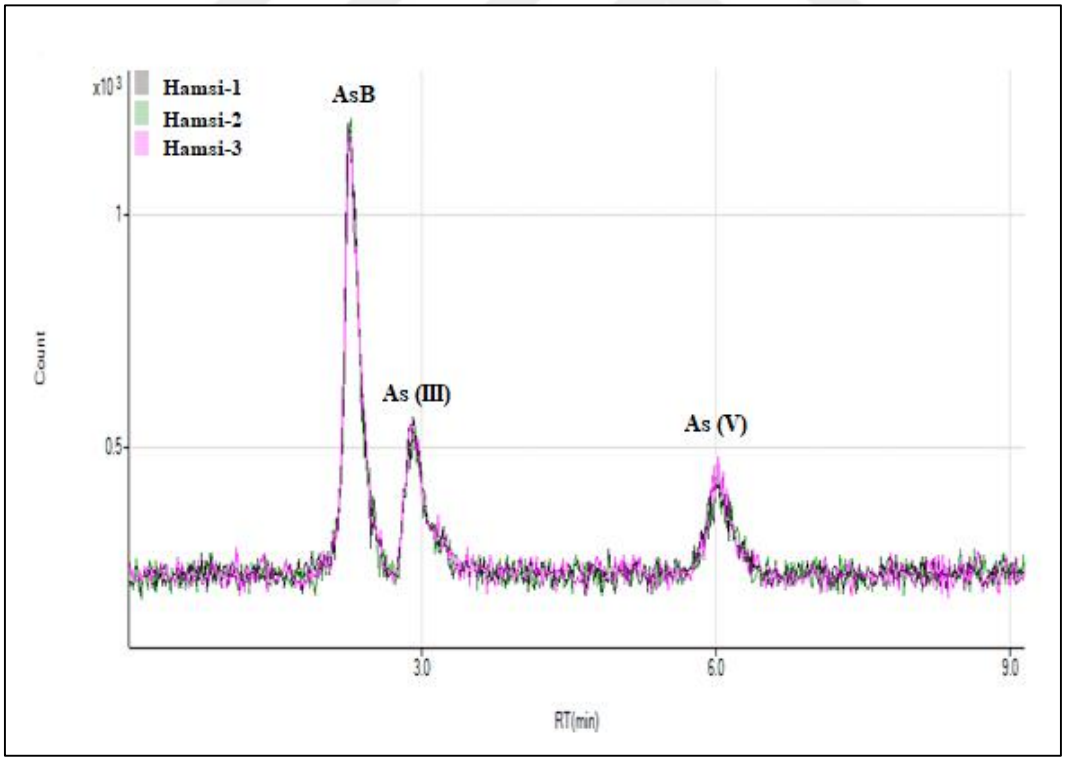


Şekil 6.22 Midye örneğinin 3 tekrarlı sonucuna ait kromatogram

Tablo 6.9 Midye örneğine ait 3 tekrarlı hazırlanan analiz sonuçları

Numune Adı	AsB(ng/g)	As (III)(ng/g)	MMA(ng/g)	As (V) (ng/g)
Midye-1	195.5	158.8	< LOD	19.88
Midye-2	208.6	153.0	< LOD	20.15
Midye-3	203.0	162.9	< LOD	21.50
Ortalama Sonuç	**202.4 ±15.4**	**158.2 ± 4.1**	**< LOD**	**20.51 ± 0.87**

3 tekrarlı hazırlanan hamsi örneğine ait kromatogram Şekil 6.23 ‘de sonuçlar ise Tablo 6.10’da gösterilmiştir.

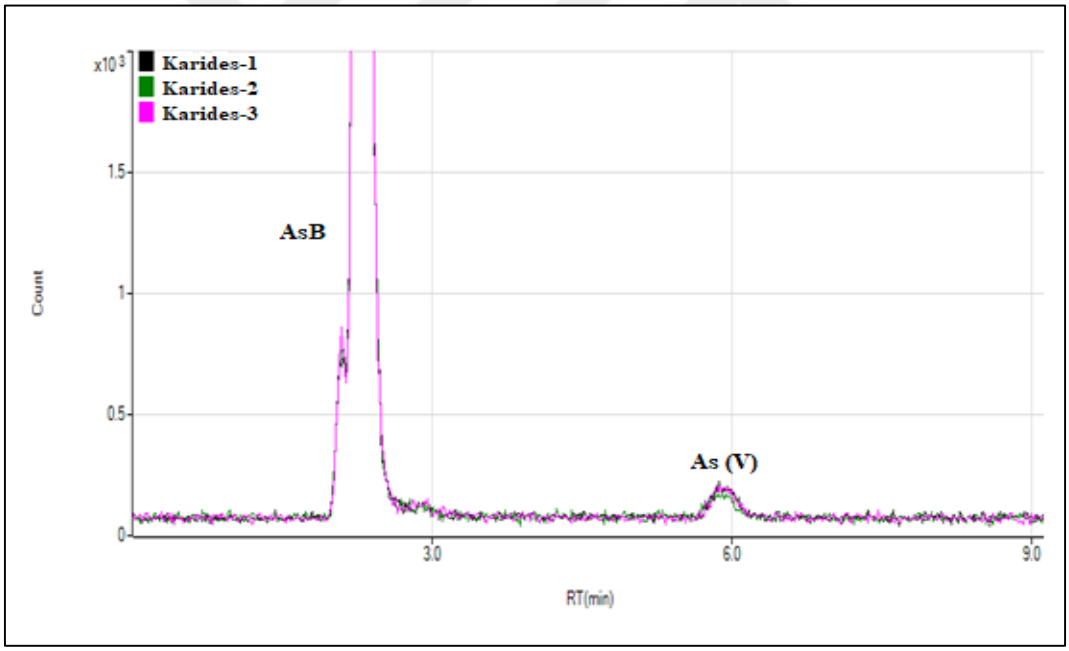


Şekil 6.23 Hamsi örneğinin 3 tekrarlı sonucuna ait kromatogram

Tablo 6.10 Hamsi örneğine ait 3 tekrarlı hazırlanan analiz sonucu

Numune Adı	AsB(ng/g)	As (III)(ng/g)	MMA(ng/g)	As (V) (ng/g)
Hamsi-1	102.0	267.6	< LOD	13.29
Hamsi-2	99.53	262.2	< LOD	12.85
Hamsi-3	103.9	263.9	< LOD	13.09
Ortalama Sonuç	**101.8 ± 7.8**	**264.6 ± 2.7**	**< LOD**	**13.08 ± 0.22**

3 tekrarlı hazırlanan karides örneğine ait kromatogram Şekil 6.24 ‘de sonuçlar ise Tablo 6.11’da gösterilmiştir.



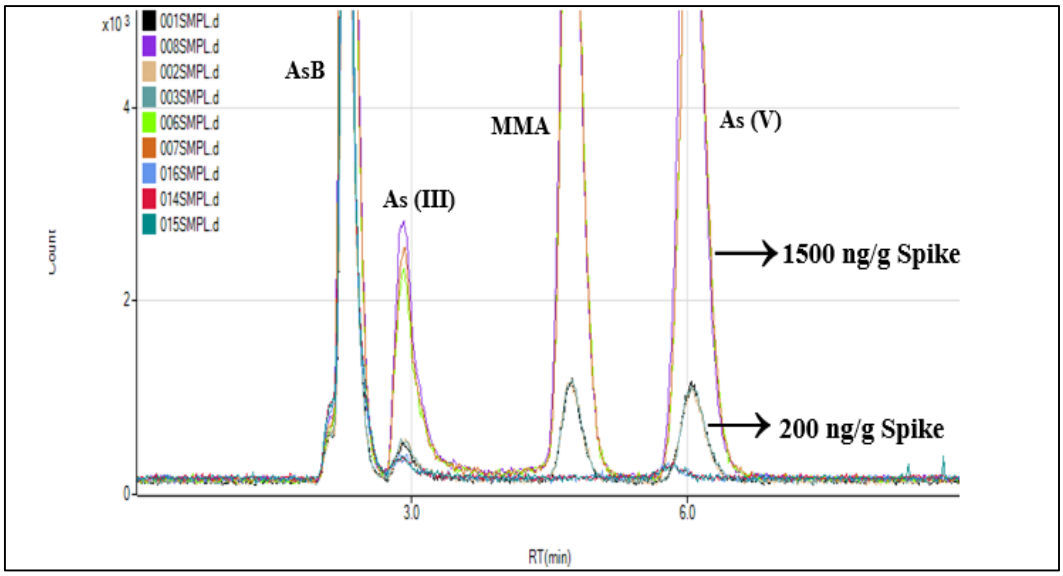
Şekil 6.24 Karides örneğinin 3 tekrarlı sonucuna ait kromatogram

Tablo 6.11 Karides örneğine ait 3 tekrarlı hazırlanan analiz sonucu

Numune Adı	AsB(ng/g)	As (III)(ng/g)	MMA(ng/g)	As (V) (ng/g)
Karides-1	5474	< LOD	< LOD	83.64
Karides-2	5620	< LOD	< LOD	89.38
Karides-3	5625	< LOD	< LOD	90.36
Ortalama Sonuç	**5573 ± 425**	**< LOD**	**< LOD**	**87.79 ± 3.63**

Mezgit, karides, hamsi ve midye örneklerinin analizi sonucunda arsenik türlerinden AsB ve As (V) bütün örneklerde tespit edilirken, As (III) karideste tespit edilememiştir. Ayrıca MMA ise örneklerin hiçbirinde tespit edilememiştir. Bundan sonraki çalışmada örneklere 200 ng/g ve 1500 ng/g olacak şekilde 2 farklı derişimde spike yapılmış ve tüm sonuçlar ve analizler 3 tekrarlı olacak şekilde hazırlanıp sisteme verilmiştir.

Mezgit örneğinin 3 tekrarlı blank (kör), 200 ng/g ve 1500 ng/g spike numunelerine ait kromatogram Şekil 6.25'te hesaplanan sonuçlar ise Tablo 6.12'de belirtilmiştir.

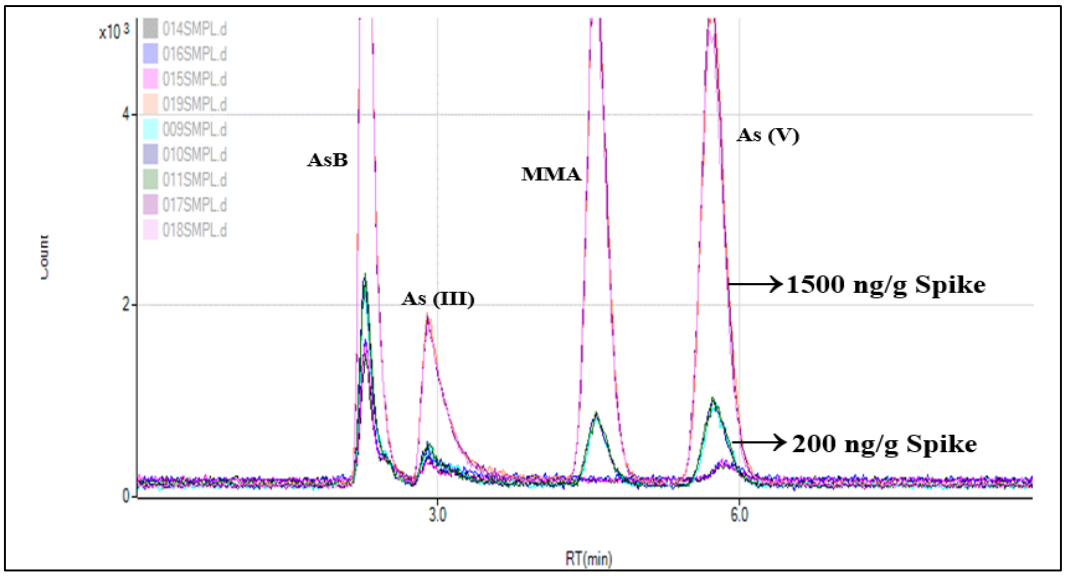


Şekil 6.25 Mezgit örneğinin 3 tekrarlı blank (kör), 200 ng/g ve 1500 ng/g spike numunelerine ait sonuçları gösteren kromatogramı

Tablo 6.12 Mezgit örneğine ait 3 tekrarlı hazırlanan 200 ng/g ve 1500 ng/g derşimindeki spike edilmiş numunelere ait analiz sonucu

Numune Adı	**AsB(ng/g)**		**As (III)(ng/g)**		**MMA(ng/g)**		**As (V) (ng/g)**	
	200 (ng/g)	**1500 (ng/g)**	**200 (ng/g)**	**1500 (ng/g)**	**200 (ng/g)**	**1500 (ng/g)**	**200 (ng/g)**	**1500 (ng/g)**
Mezgit-1	1193	2653	274.4	1368	212.2	1621	209.1	1616
Mezgit-2	1165	2645	282.5	1417	211.6	1523	216.5	1553
Mezgit-3	1159	2621	270.1	1499	194.0	1513	205.7	1546
Ortalama Sonuç	**1172 ± 18**	**2640 ± 17**	**275.9 ± 6.3**	**1393 ± 66**	**205.9 ± 10.3**	**1552 ± 60**	**210.4 ± 5.5**	**1572 ± 39**

Midye örneğinin 3 tekrarlı blank(kör), 200 ng/g ve 1500 ng/g spike numunelerine ait kromatogram Şekil 6.26'te sonuçları ise Tablo 6.13'de belirtilmiştir.

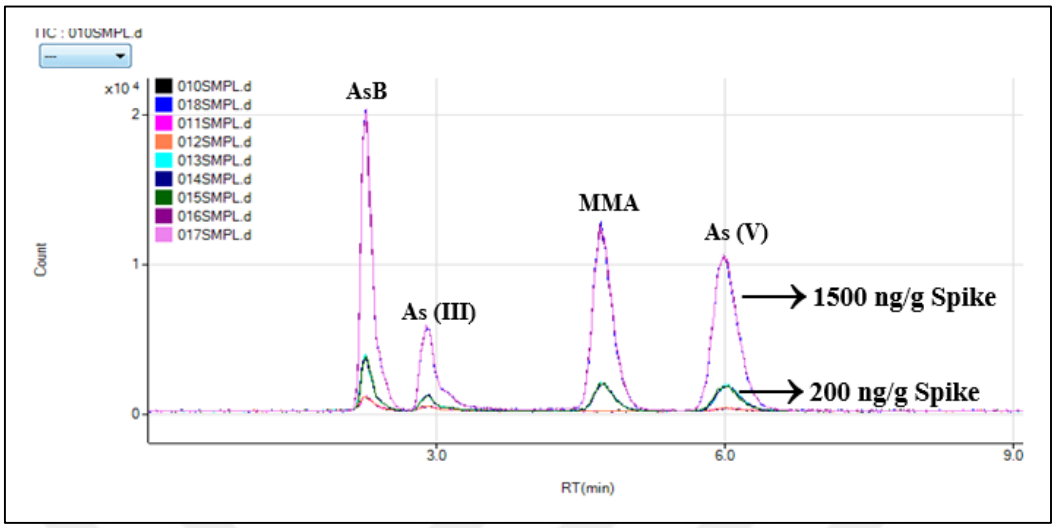


Şekil 6.26 Midye örneğinin 3 tekrarlı blank(kör), 200 ng/g ve 1500 ng/g spike numunelerine ait sonuçları gösteren kromatogram

Tablo 6.13 Midye örneğine ait 3 tekrarlı hazırlanan 200 ng/g ve 1500 ng/g derşimindeki spike edilmiş numunelere ait analiz sonucu

Numune Adı	**AsB(ng/g)**		**As (III)(ng/g)**		**MMA(ng/g)**		**As (V) (ng/g)**	
	200 (ng/g)	**1500 (ng/g)**	**200 (ng/g)**	**1500 (ng/g)**	**200 (ng/g)**	**1500 (ng/g)**	**200 (ng/g)**	**1500 (ng/g)**
Midye-1	398.1	1642	371.6	1747	204.4	1397	237.5	1462
Midye-2	387.2	1632	360.8	1694	205.5	1380	233.8	1401
Midye-3	396.5	1657	400.7	1785	202.8	1383	238.1	1473
Ortalama Sonuç	**394.0 ± 5.9**	**1643 ± 13**	**377.7± 20.6**	**1742 ± 46**	**204.2 ± 1.3**	**1386 ± 9**	**236.5 ± 2.3**	**1445 ± 39**

Hamsi örneğinin 3 tekrarlı blank(kör), 200 ng/g ve 1500 ng/g spike numunelerine ait kromatogram Şekil 6.27'te sonuçları ise Tablo 6.14'de belirtilmiştir.

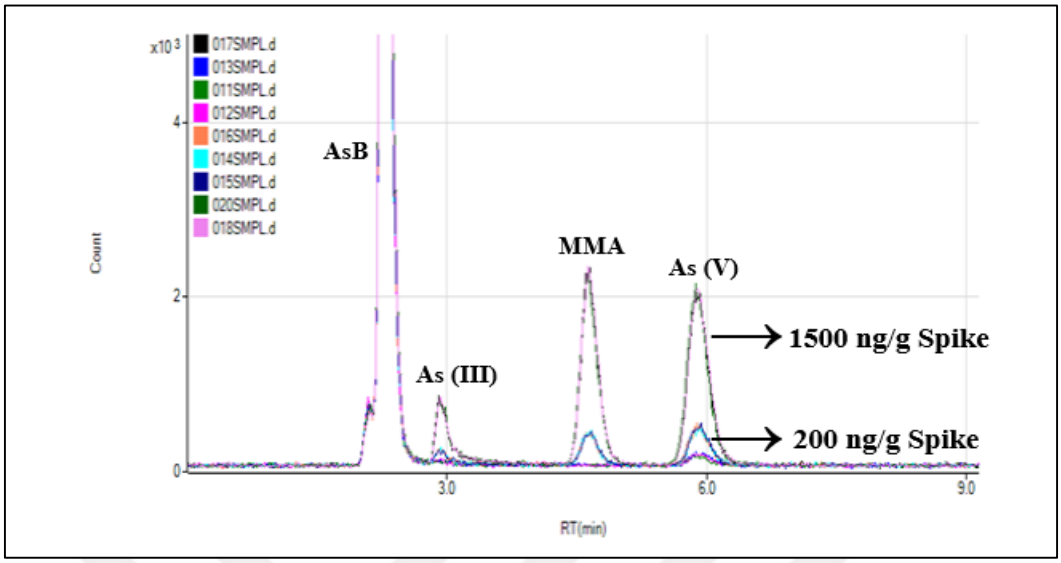


Şekil 6.27 Hamsi örneğinin 3 tekrarlı blank(kör), 200 ng/g ve 1500 ng/g spike numunelerine ait sonuçları gösteren kromatogram

Tablo 6.14 Hamsi örneğine ait 3 tekrarlı hazırlanan 200 ng/g ve 1500 ng/g derşimindeki spike edilmiş numunelere ait analiz sonucu

Numune Adı	**AsB(ng/g)**		**As (III)(ng/g)**		**MMA(ng/g)**		**As (V) (ng/g)**	
	200 (ng/g)	**1500 (ng/g)**	**200 (ng/g)**	**1500 (ng/g)**	**200 (ng/g)**	**1500 (ng/g)**	**200 (ng/g)**	**1500 (ng/g)**
Hamsi-1	298.6	1425	476.4	2006	220.3	1322	189.3	1294
Hamsi-2	297.3	1410	473.5	2006	223.7	1312	190.8	1275
Hamsi-3	305.4	1429	486.6	2012	230.0	1330	190.0	1300
Ortalama Sonuç	**300.4± 4,4**	**1421 ± 10**	**478.8 ± 6.9**	**2008 ± 3.5**	**224.7 ±5.0**	**1321 ± 9**	**190.0 ± 0.8**	**1290 ± 13**

Karides örneğinin 3 tekrarlı blank (kör), 200 ng/g ve 1500 ng/g spike numunelerine ait kromatogram Şekil 6.28'te sonuçları ise Tablo 6.15'de belirtilmiştir.



Şekil 6.28 Karides örneğinin 3 tekrarlı blank(kör), 200 ng/g ve 1500 ng/g spike numunelerine ait sonuçları gösteren kromatogram

Tablo 6.15 Karides örneğine ait 3 tekrarlı hazırlanan 200 ng/g ve 1500 ng/g derşimindeki spike edilmiş numunelere ait analiz sonucu

Numune Adı	**AsB(ng/g)**		**As (III)(ng/g)**		**MMA(ng/g)**		**As (V) (ng/g)**	
	200 (ng/g)	**1500 (ng/g)**	**200 (ng/g)**	**1500 (ng/g)**	**200 (ng/g)**	**1500 (ng/g)**	**200 (ng/g)**	**1500 (ng/g)**
Karides-1	5664	6933	212.7	1407	225.2	1537	266.1	1451
Karides-2	5808	7060	218.0	1350	228.0	1559	272.5	1490
Karides-3	5821	7093	218.7	1460	231.5	1522	277.4	1495
Ortalama Sonuç	**5764 ± 87**	**7029 ± 85**	**216.5 ± 3.3**	**1406 ±55.0**	**228.2 ± 3.2**	**1539 ± 19**	**272.0 ± 5.7**	**1479 ± 24**

Hamsi, mezgit, midye ve karides örneklerinin 3 tekrarlı olarak geri kazanım çalışması amacıyla örneklere düşük ve yüksek konsantrasyonlar olacak şekilde 200 ng/g ve 1500 ng/g iki farklı derişimde spike yapılmış ve % geri kazanım sonuçları 3 tekrarlı olacak şekilde hesaplanmış ve ortalama değer olarak belirtilmiştir. Sonuçlar tablo 6.16'te gösterilmiştir.

Tablo 6.16 Mezgit, midye, hamsi, karides örneklerinin 3 tekrarlı geri kazanım sonuçları

Numune Adı	%Geri kazanım, AsB(ng/g)		%Geri kazanım, As (III)(ng/g)		%Geri kazanım, MMA(ng/g)		%Geri kazanım, As (V) (ng/g)	
	200 (ng/g)	1500 (ng/g)	200 (ng/g)	1500 (ng/g)	200 (ng/g)	1500 (ng/g)	200 (ng/g)	1500 (ng/g)
Mezgit	98.81 ± 9.17	111.0 ± 1.1	106.4 ± 3.0	88.64 ± 2.29	103.0 ± 5.2	103.5 ± 4.0	102.8 ± 2.9	104.5 ± 2.6
Hamsi	99.30 ± 1.30	87.98 ± 0.52	107.1 ± 3.7	116.2 ± 0.3	112.1 ± 2.2	88.1 ± 0.57	88.48 ± 0.49	85.12 ± 0.85
Midye	95.79 ± 2.94	96.07 ± 0.85	104.0 ± 3.8	105.6 ± 3.0	102.1 ± 0.7	92.42 ± 0.60	108.0 ± 1.2	94.99 ± 2.58
Karides	95.55 ± 2.05	97.06 ± 0.93	108.2 ± 1.6	93.69 ± 3.64	114.1 ± 1.6	102.6 ± 1.2	92.11 ± 1.24	92.71 ± 1.37

6.5 Kolon Geri Kazanım Çalışması

Çalışma sırasında kullanılan anyon değiştirici kolonda arsenik türlerinin tutunup tutunmadığını test etmek amacıyla kolon geri kazanım çalışması yapılmıştır. Çalışma, kolon kullanılarak ve kolon kullanılmadan sisteme enjekte edilen 1.0 mg/L mix çözeltinin 600 sn boyunca toplandıktan sonra ICP-MS sisteminde 2 tekrarlı okutulması ile gerçekleştirilmiştir. Elde edilen geri kazanım değeri Tablo 6.17'da gösterilmektedir.

Tablo 6.17 Kolon geri kazanım değeri

% Geri Kazanım	**Standart Sapma**
99.07	0.66

Tablo 6.17'da da görüldüğü üzere kolonlu ve kolonsuz toplanan mix çözeltiler okutulmuş ve çözeltilerin sinyal değerleri birbirine yakın çıkmıştır. Yapılan hesaplamalar sonucu kolon geri kazanım değeri % 99.07 ± 0.66 olarak tespit edilmiştir. Bu çalışma sonucunda arsenik türlerinin Hamilton, PRP X-100 anyon değiştirme (4.1x250 mm, 10 μm) kolonunda herhangi bir analitin tutunmadığı sonucuna varılmıştır.Arsenik türlendirme çalışmalarında bu kolonun güvenilir bir şekilde kullanılabileceği tespit edilmiştir.

7
SONUÇLAR

Bu tez çalışmasında hamsi, mezgit, karides ve midye gibi çok tüketilen gıda örneklerinde AsB, As(III), MMA ve As (V) analitlerinin yüksek doğruluk ve duyarlılıkta kantitatif tayinine yönelik türlendirme çalışmasının yapılabilmesi için HPLC/ICP-MS sisteminde analitik bir yöntem geliştirilmiştir. Çalışmanın ilk adımında HPLC sisteminde AsB, As(III), MMA ve As (V) türlerinin kısa sürede birbirinden ayrılması için sistemin değişken tüm parametreleri optimum koşullar altında optimize edilmiştir. Analitlerin optimum ayrımı için Hamilton, PRP X-100, (4.1 x 250mm, 10 µm, PEEK), analitik kolonu ile Hamilton, PRP X-100, (3 x 8mm, 10 µm, PEEK),guard kolonu kullanılmıştır.

Maksimum ayrılma ve en kısa analiz süresinin elde edilmesi için mobil faz denemeleri yapılmıştır. İlk denemede 50 mM Na_2CO_3 çözeltisi pH 10.00 ve pH 11.00 olacak şekilde mobil faz olarak denenmiş ancak sodyum Na_2CO_3'ın ICP-MS cihazının ara yüzeyinde bulunan konlarda birikmeye neden olduğu için çalışmalara başka mobil faz ile devam edilmiştir. Mobil faz bileşiminde değişiklikler yapılarak optimum ayrımın gerçekleştiği çalışma koşulları belirlendi. Denemeler sırasında mobil fazın pH'ının analitlerin ayrımlarına olan etkisi incelenmiştir. Mobil fazda bulunan EDTA ve metanol derişimlerindeki değişimin ise pik alanlarına etkisi gözlemlenmiştir. Üç farklı pH'ta yapılan denemeler sonucunda pH 8.50'de AsB ve As (III) analitlerinde optimum ayrım sağlanamadığı, pH 9.50 'de bütün analitlerde optimum ayrımın sağlanamadığı gözlemlenmiştir. pH 10.00 da ise AsB ve As (III) analitlerin ayrımında büyük fark gözlenmez iken MMA ve As (V) analitlerin alıkonma zamanları birbirine daha yakın olduğu gözlemlenmiştir. Mobil faz bileşiminde bulunan sadece EDTA'nın derişimi değiştirilip diğer bileşenlerin sabit tutulması koşulu ile 0.05 mM, 0.20 mM ve 0.50 mM olmak üzere üç farklı derişimde EDTA derişim denemesi yapılmıştır. Denemeler sonucunda 0.50 mM EDTA derişiminde en yüksek pik alanları gözlemlenmiştir. Bir sonraki denemede ise mobil faz bileşiminde bulunan metanol miktarı değiştirilip diğer bileşenler sabit tutularak %0.50, %1.0 ve % 3.0 olmak üzere üç farklı oranda metanol denemesi

yapılmış ve en düşük sinyal oranları sadece %0.50 ve % 3.0 metanol oranlarında görülmüştür. Yapılan denemeler sonucu optimum ayrımın, pik alanların ve analiz süresinin elde edidiği mobil faz olarak 50 mM $(NH_4)_2CO_3$, 0.50 mM EDTA,%1.0 MeOH, pH 9.50 olarak belirlenmiştir. Yapılan optimizasyon çalışmalarının sonucunda akış hızı 1.0 mL/dk ve enjeksiyon hacmi 20 µL olarak belirlenmiştir.

Optimum koşullar altında Hamilton PRP X-100, (4.1 x 250mm, 10 µm, PEEK), kolonu ve mobil faz olarak pH 9.50, 50 mM $(NH_4)_2CO_3$, 0.50 mM EDTA,%1.0 MeOH kullanılarak LOD/LOQ değerleri sırasıyla AsB, As (III), MMA ve As (V) için 0.07/ 0.22 ng/mL, 0.12/ 0.41 ng/mL, 0.06/ 0.22 ng/mL, 0.03/0.11 ng/mL olarak bulunmuştur.

Literatürde örnek hazırlama basamağında çok farklı teknikler kullanılsa da ultrasonik destekli numune hazırlama basamakları oldukça tercih edilir yöntemler arasında yerini almıştır. Bu nedenle ultrasonik destekli numune hazırlama özellikle karmaşık matrikslerde bulunan analitlerin matriks ortamında çekilmesinde oldukça başarılıdır. Bu tez çalışmasında verimliliği yüksek olması, evrensel olması, düşük maliyeti ve çeşitli gıda numunelerine uygulanabilirliği nedeniyle ultrasonik destekli ekstraksiyon (UAE) yöntemi kullanılarak arsenik türlerini gıda numunelerinden almak için iki farklı oranda MeOH:H_2O (3:1 (v/v) ve 1:1 (v/v)) kullanılmıştır. 3:1 oranıdaki MeOH:H_2O karışımı ile yapılan ekstraksiyon işleminde yüksek orandaki organik çözücü miktarını minimuma indirmek amacıyla kuru hava ile uçurma yapılarak metanol ortamdan uzaklaştırılmıştır. Ancak yöntemin doğruluğunu test etmek için mezgit örneğine yapılan spike çalışmaları sonucunda % 34 - 39 aralığında verim elde edilmiştir. 1:1 oranına sahip MeOH:H_2O karışımı kullanılırken ise organik çözücü miktarının minimum olması sebebiyle organik çözücünün uçurulmasına gerek kalmamıştır. Yapılan geri kazanım çalışmasında ise % 100'e yakın sonuçlar elde edilmiştir. Seçilen ektraksiyon yöntemi mezgit, hamsi, karides ve midye örneklerine başarılı bir şekilde uygulanmıştır.

KAYNAKÇA

[1] Jackson, B. P., Taylor, V. F., Punshon, T., & Cottingham, K. L. (2012). Arsenic concentration and speciation in infant formulas and first foods. Pure and Applied Chemistry, 84(2), 215-223.

[2] Sadee, B., Foulkes, M. E., & Hill, S. J. (2015). Coupled techniques for arsenic speciation in food and drinking water: a review. Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 30(1), 102-118.

[3] Ruttens, A., Blanpain, A. C., De Temmerman, L., & Waegeneers, N. (2012). Arsenic speciation in food in Belgium: Part 1: Fish, molluscs and crustaceans. Journal of Geochemical Exploration, 121, 55-61.

[4] Nawrocka, A., Durkalec, M., Michalski, M., & Posyniak, A. (2022). Simple and reliable determination of total arsenic and its species in seafood by ICP-MS and HPLC-ICP-MS. Food Chemistry, 379, 132045.

[5] Da Silva, F. L., Neto, D. M. A., de Menezes, F. L., Sa, I. P., de Higuera, J. M., Fechine, P. B., ... & Matos, W. O. (2021). Non-chromatographic arsenic speciation analyses in wild shrimp (Farfantepenaeus brasiliensis) using functionalized magnetic iron-nanoparticles. Food Chemistry, 345, 128781.

[6] Schmidt, L., Landero, J. A., Novo, D. L. R., Duarte, F. A., Mesko, M. F., Caruso, J. A., & Flores, E. M. M. (2018). A feasible method for As speciation in several types of seafood by LC-ICP-MS/MS. Food chemistry, 255, 340-347.

[7] Zmozinski, A. V., Llorente-Mirandes, T., López-Sánchez, J. F., & da Silva, M. M. (2015). Establishment of a method for determination of arsenic species in seafood by LC-ICP-MS. Food chemistry, 173, 1073-1082.

[8] Montoro-Leal, P., García-Mesa, J. C., Morales-Benítez, I., de Torres, A. G., & Alonso, E. V. (2021). Semiautomatic method for the ultra-trace arsenic speciation in environmental and biological samples via magnetic solid phase extraction prior to HPLC-ICP-MS determination. Talanta, 235, 122769.

[9] Benramdane, L., Bressolle, F., & Vallon, J. J. (1999). Arsenic speciation in humans and food products: a review. Journal of chromatographic science, 37(9), 330-344.

[10] Lin, H. T., Chen, S. W., Shen, C. J., & Chu, C. (2008). Arsenic speciation in fish on the market. Journal of Food and Drug Analysis, 16(4), 8.

[11] Duffus, J. H. (2002). " Heavy metals" a meaningless term?(IUPAC Technical Report). Pure and applied chemistry, 74(5), 793-807.

[12] Kumar, M., Singh, S., Jain, A., Yadav, S., Dubey, A., & Trivedi, S. P. (2023). A review on heavy metal-induced toxicity in fishes: Bioaccumulation, antioxidant defense system, histopathological manifestations, and transcriptional profiling of genes. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 127377.

[13] Martin, S., & Griswold, W. (2009). Human health effects of heavy metals. Environmental Science and Technology briefs for citizens, 15(5).

[14] Yang, T., Chen, H. J., Zhang, C. Y., He, D., & Yuan, W. (2024). Association of blood heavy metal concentrations with hearing loss: a systematic review and meta-analysis. Public Health, 227, 95-102.

[15] Genchi, G., Sinicropi, M. S., Lauria, G., Carocci, A., & Catalano, A. (2020). The effects of cadmium toxicity. International journal of environmental research and public health, 17(11), 3782.

[16] Hocaoğlu-Özyiğit, A., & Genç, B. N. (2020). Cadmium in plants, humans and the environment. Frontiers in Life Sciences and Related Technologies, 1(1), 12-21.

[17] Charkiewicz, A. E., Omeljaniuk, W. J., Nowak, K., Garley, M., & Nikliński, J. (2023). Cadmium Toxicity and Health Effects—A Brief Summary. Molecules, 28(18), 6620. [18] Boldyrev, M. (2018). Lead: properties, history, and applications. WikiJournal of Science, 1(2), 1-23.

[19] Ara, A., & Usmani, J. A. (2015). Lead toxicity: a review. Interdisciplinary toxicology, 8(2), 55-64.

[20] Rustagi, N., & Singh, R. (2010). Mercury and health care. Indian journal of occupational and environmental medicine, 14(2), 45-48.

[21] Broussard, L. A., Hammett-Stabler, C. A., Winecker, R. E., & Ropero-Miller, J. D. (2002). The toxicology of mercury. Laboratory medicine, 33(8), 614-625.

[22] Masur, L. C. (2011). A review of the use of mercury in historic and current ritualistic and spiritual practices. Alternative Medicine Review, 16(4), 314-320.

[23] Cempel, M., & Nikel, G. J. P. J. S. (2006). Nickel: a review of its sources and environmental toxicology. Polish journal of environmental studies, 15(3).

[24] Bide, T., Hetherington, L., & Gunn, G. (2008). Nickel.

[25] Cervantes, C., Campos-García, J., Devars, S., Gutiérrez-Corona, F., Loza-Tavera, H., Torres-Guzmán, J. C., & Moreno-Sánchez, R. (2001). Interactions of chromium with microorganisms and plants. FEMS microbiology reviews, 25(3), 335-347.

[26] Lunk, H. J. (2015). Discovery, properties and applications of chromium and its compounds. ChemTexts, 1(1), 6.

[27] Shadreck, M., & Mugadza, T. (2013). Chromium, an essential nutrient and pollutant: A review. African Journal of Pure and Applied Chemistry, 7(9), 310-317.

[28] Cloquet, C., Carignan, J., Lehmann, M. F., & Vanhaecke, F. (2008). Variation in the isotopic composition of zinc in the natural environment and the use of zinc isotopes in biogeosciences: a review. Analytical and bioanalytical chemistry, 390, 451-463.

[29] Zou, P., Du, Y., Yang, C., & Cao, Y. (2023). Trace element zinc and skin disorders. Frontiers in Medicine, 9, 1093868.

[30] Van Genderen, E., Wildnauer, M., Santero, N., & Sidi, N. (2016). A global life cycle assessment for primary zinc production. The International Journal of Life Cycle Assessment, 21, 1580-1593.

[31] Rusjan, D. (2012). Copper in horticulture. In Fungicides for plant and animal diseases. IntechOpen.

[32] Doebrich, J. (2009). Copper: a metal for the ages (No. 2009-3031). US Geological Survey.

[33] He, B., Yun, Z., Shi, J., & Jiang, G. (2013). Research progress of heavy metal pollution in China: sources, analytical methods, status, and toxicity. Chinese Science Bulletin, 58, 134-140.

[34] Nagajyoti, P. C., Lee, K. D., & Sreekanth, T. V. M. (2010). Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. Environmental chemistry letters, 8, 199-216.

[35] El-Kady, A. A., & Abdel-Wahhab, M. A. (2018). Occurrence of trace metals in foodstuffs and their health impact. Trends in food science & technology, 75, 36-45.

[36] Soodan, R. K., Pakade, Y. B., Nagpal, A., & Katnoria, J. K. (2014). Analytical techniques for estimation of heavy metals in soil ecosystem: A tabulated review. Talanta, 125, 405-410.

[37] Atafar, Z. ,Mesdaghinia, A., Nouri, J., Homaee, M.,Yunesian, M. , Ahmadimoghaddam, M., Mahvi, A. H. (2010). Effect of fertilizer application on soil heavy metal concentration. Environmental monitoring and assessment, 160, 83-89.

[38] Friedlova, M. (2010). The influence of heavy metals on soil biological and chemical properties.

[39] Singh, J., & Kalamdhad, A. S. (2011). Effects of heavy metals on soil, plants, human health and aquatic life. Int J Res Chem Environ, 1(2), 15-21.

[40] Su, C. (2014). A review on heavy metal contamination in the soil worldwide: Situation, impact and remediation techniques. Environmental Skeptics and Critics, 3(2), 24.

[41] Fryzova, R., Pohanka, M., Martinkova, P., Cihlarova, H., Brtnicky, M., Hladky, J., & Kynicky, J. (2018). Oxidative stress and heavy metals in plants. Reviews of environmental contamination and toxicology volume 245, 129-156.

[42] Momodu, M. A., & Anyakora, C. A. (2010). Heavy metal contamination of ground water: The Surulere case study. Res J Environ Earth Sci, 2(1), 39-43.

[43] Sankhla, M. S., Kumari, M., Nandan, M., Kumar, R., & Agrawal, P. (2016). Heavy metals contamination in water and their hazardous effect on human health-a review. Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci (2016), 5(10), 759-766.

[44] Muharrem, I. N. C. E., & Ince, O. K. (2017). An overview of adsorption technique for heavy metal removal from water/wastewater: a critical review. International Journal of Pure and Applied Sciences, 3(2), 10-19.

[45] Nollet, L. M. (2014). Analysis of Sulfur Compounds in Water. Leo ML Nollet Leen SP De Gelder, 233.

[46] Vitošević, B., Samardžić, S., Antonijević, V., & Jakovljević, V. (2007). Heavy metals in some imported food products and their potential toxic implications. Medicus, 8(2), 62-66.

[47] Hajeb, P., Sloth, J. J., Shakibazadeh, S. H., Mahyudin, N. A., & Afsah-Hejri, L. (2014). Toxic elements in food: occurrence, binding, and reduction approaches. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 13(4), 457-472.

[48] Sandeep, G., Vijayalatha, K. R., & Anitha, T. (2019). Heavy metals and its impact in vegetable crops. Int J Chem Stud, 7(1), 1612-21.

[49] Arora, M., Kiran, B., Rani, S., Rani, A., Kaur, B., & Mittal, N. (2008). Heavy metal accumulation in vegetables irrigated with water from different sources. Food chemistry, 111(4), 811-815.

[50] Nizamlioğlu, H. F., & Teyin, G. Gidalarda Ağir Metal Kontaminasyonlari. Gida Alerjenleri, Bulaşanlari Ve Halk Sağliği Açisindan Önemi, 25.

[51] Machate, D. J. (2023). Anthropogenic hyperactivity for natural resources increases heavy metals concentrations in the environment: Toxicity of healthy food and cancer risks estimated. Journal of Trace Elements and Minerals, 4, 100057.

[52] Bharti,R., Sharma, R. (2022). Effect of heavy metals: An overview. Materials Today: Proceedings, 51, 880-885.

[53] Baby, J., Raj, J. S., Biby, E. T., Sankarganesh, P., Jeevitha, M. V., Ajisha, S. U., & Rajan, S. S. (2010). Toxic effect of heavy metals on aquatic environment. International Journal of Biological and Chemical Sciences, 4(4).

[54] Mansour, S. A. (2014). Heavy metals of special concern to human health and environment. Practical food safety: contemporary issues and future directions, 213-233.

[55] Bathla, S., & Jain, T. (2016). Heavy metals toxicity. International Journal of Health Sciences and Research, 6(5), 361-368.

[56] Lawal, K. K., Ekeleme, I. K., Onuigbo, C. M., Ikpeazu, V. O., & Obiekezie, S. O. (2021). A review on the public health implications of heavy metals. World Journal of Advanced Research and Reviews, 10(3), 255-265.

[57] Özbolat, G., & Abdullah, T. U. L. İ. (2016). Ağır metal toksisitesinin insan sağlığına etkileri. Arşiv Kaynak Tarama Dergisi, 25(4), 502-521.

[58] Magalhães, M. C. F. (2002). Arsenic. An environmental problem limited by solubility. Pure and Applied Chemistry, 74(10), 1843-1850.

[59] Dağ, N., & Arıcı, Ö. K. (2021). Heavy Metals in Soils Pb (Lead), Hg (Mercury), Cd (Cadmium), As (Arsenic) Effects on Human Health. International Journal of Environmental Trends (IJENT), 5(2), 48-59.

[60] Lai, Y. C., Tsai, Y. C., Shin, Y. N., Chou, Y. C., Shen, Y. R., Lin, N. C., ... & Wang, D. Y. (2022). Inorganic arsenic speciation analysis in food using HPLC/ICP-MS: Method development and validation. Journal of Food and Drug Analysis, 30(4), 644.

[61] Flora, S. J. S. (Ed.). (2014). Handbook of arsenic toxicology. Academic Press.

[62] International Agency for Research on Cancer. (2012). Arsenic, metals, fibres, and dusts. Volume 100 C. A review of human carcinogens. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon (FR): International Agency for Research on Cancer, Arsenic and arsenic compounds, 41-94.

[63] Chung, J. Y., Yu, S. D., & Hong, Y. S. (2014). Environmental source of arsenic exposure. Journal of preventive medicine and public health, 47(5), 253.

[64] Ratnaike, R. N. (2003). Acute and chronic arsenic toxicity. Postgraduate medical journal, 79(933), 391-396.

[65] Lim, K. T., Shukor, M. Y., & Wasoh, H. (2014). Physical, chemical, and biological methods for the removal of arsenic compounds. BioMed research international, 2014.

[66] Cressey, P. J. (2020). The New Zealand mycotoxin surveillance programme. Fumonisins in maize-based products and wine/prepared for New Zealand Food Safety by Peter Cressey (ESR), Andrew Chappell (ESR), Ellen Ashmore (ESR), Seamus Watson (ESR), and Andrew Pearson (NZFS). New Zealand Food Safety technical paper; 2020/14.

[67] Hughes, M. F., Beck, B. D., Chen, Y., Lewis, A. S., & Thomas, D. J. (2011). Arsenic exposure and toxicology: a historical perspective. Toxicological sciences, 123(2), 305-332.

[68] https://www.gnb.ca/0051/promos/arsenic/index-e.asp

[69] Bissen, M., & Frimmel, F. H. (2003). Arsenic—a review. Part I: occurrence, toxicity, speciation, mobility. Acta hydrochimica et hydrobiologica, 31(1), 9-18.

[70] Luvonga, C., Rimmer, C. A., Yu, L. L., & Lee, S. B. (2020). Analytical methodologies for the determination of organoarsenicals in edible marine species: a review. Journal of agricultural and food chemistry, 68(7), 1910-1934.

[71] Taylor, V., Goodale, B., Raab, A., Schwerdtle, T., Reimer, K., Conklin, S., ... & Francesconi, K. A. (2017). Human exposure to organic arsenic species from seafood. Science of the Total Environment, 580, 266-282.

[72] Ritchie, A. W., Edmonds, J. S., Goessler, W., & Jenkins, R. O. (2004). An origin for arsenobetaine involving bacterial formation of an arsenic–carbon bond. FEMS Microbiology Letters, 235(1), 95-99.

[73] Madsen, A. D., Goessler, W., Pedersen, S. N., & Francesconi, K. A. (2000). Characterization of an algal extract by HPLC-ICP-MS and LC-electrospray MS for use in arsenosugar speciation studies. Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 15(6), 657-662.

[74] Bakan, M. (2019). Arsenik Metabolizması ve Arsenolipid Biyosentezi. Mediterranean Fisheries and Aquaculture Research, 2(3), 83-88.

[75] Leermakers, M., Baeyens, W., De Gieter, M., Smedts, B., Meert, C., De Bisschop, H. C., ... & Quevauviller, P. (2006). Toxic arsenic compounds in environmental samples: Speciation and validation. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 25(1), 1-10.

[76] Pullella, K., & Kotsopoulos, J. (2020). Arsenic exposure and breast cancer risk: A re-evaluation of the literature. Nutrients, 12(11), 3305.

[77] El-Ghiaty, M. A., & El-Kadi, A. O. (2023). The duality of arsenic metabolism: impact on human health. Annual review of pharmacology and toxicology, 63, 341-358.

[78] Hughes, M. F. (2002). Arsenic toxicity and potential mechanisms of action. Toxicology letters, 133(1), 1-16.

[79] Chowdhury, U. K. (2021). Biotransformation of inorganic arsenic: Influence of gender, arsenic dose level, and creatinine formation. International Journal of Biochemistry and Peptides, 1(1), 17-33.

[80] Alonso, D. L. , Latorre, S., Castillo, E., & Brandão, P. F. (2014). Environmental occurrence of arsenic in Colombia: A review. Environmental pollution, 186, 272-281.

[81] Mandal, B. K., & Suzuki, K. T. (2002). Arsenic round the world: a review. Talanta, 58(1), 201-235.

[82] Jomova, K., Jenisova, Z., Feszterova, M., Baros, S., Liska, J., Hudecova, D., & Valko, M. (2011). Arsenic: toxicity, oxidative stress and human disease. Journal of applied toxicology, 31(2), 95-107.

[83] Vishwakarma, Y. K., Tiwari, S., Mohan, D., & Singh, R. S. (2021). A review on health impacts, monitoring and mitigation strategies of arsenic compounds present in air. Cleaner Engineering and Technology, 3, 100115.

[84] Wai, K. M., Wu, S., Li, X., Jaffe, D. A., & Perry, K. D. (2016). Global atmospheric transport and source-receptor relationships for arsenic. Environmental Science & Technology, 50(7), 3714-3720.

[85] Miretzky, P., & Cirelli, A. F. (2010). Remediation of arsenic-contaminated soils by iron amendments: a review. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 40(2), 93-115.

[86] Romero-Freire, A., Sierra-Aragón, M., Ortiz-Bernad, I., & Martín-Peinado, F. J. (2014). Toxicity of arsenic in relation to soil properties: implications to regulatory purposes. Journal of Soils and Sediments, 14, 968-979.

[87] Chen, J., Garbinski, L. D., Rosen, B., Zhang, J., Xiang, P., & Ma, L. Q. (2020). Organoarsenical compounds: Occurrence, toxicology and

biotransformation. Critical reviews in environmental science and technology, 50(3), 217-243.

[88] Gomez-Caminero, A., Howe, P. D., Hughes, M., Kenyon, E., Lewis, D. R., Moore, M., ... & Ng, J. (2001). Arsenic and arsenic compounds. World health organization.

[89] Wan, X., Lei, M., & Chen, T. (2020). Review on remediation technologies for arsenic-contaminated soil. Frontiers of Environmental Science & Engineering, 14, 1-14.

[90] Vaclavikova, M., Gallios, G. P., Hredzak, S., & Jakabsky, S. (2008). Removal of arsenic from water streams: an overview of available techniques. Clean Technologies and Environmental Policy, 10, 89-95.

[91] Rajakovic ,L. & Rajakovic-Ognjanovic, V. (2018). Arsenic in water: determination and removal. Arsenic: analytical toxicological studies. IntechOpen, 9-24.

[92] Samadzadeh Yazdi, M. R., & Khodadadi Darban, A. (2010). Effect of arsenic speciation on remediation of arsenic-contaminated soils and waters.

[93] Kumari, B., Kumar, V., Sinha, A. K., Ahsan, J., Ghosh, A. K., Wang, H., & DeBoeck, G. (2017). Toxicology of arsenic in fish and aquatic systems. Environmental chemistry letters, 15, 43-64.

[94] Smedley, P. L., & Kinniburgh, D. G. (2001). Source and behaviour of arsenic in natural waters. United Nations Synthesis Report on Arsenic in Drinking Water; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 1-61.

[95] Jones, F. T. (2007). A broad view of arsenic. Poultry science, 86(1), 2-14.

[96] Devesa, V., Vélez, D., & Montoro, R. (2008). Effect of thermal treatments on arsenic species contents in food. Food and Chemical Toxicology, 46(1), 1-8.

[97] Cheyns, K., Waegeneers, N., Van de Wiele, T., & Ruttens, A. (2017). Arsenic release from foodstuffs upon food preparation. Journal of agricultural and food chemistry, 65(11), 2443-2453.

[98] Jackson, B. P., Taylor, V. F., Karagas, M. R., Punshon, T., & Cottingham, K. L. (2012). Arsenic, organic foods, and brown rice syrup. Environmental health perspectives, 120(5), 623-626.

[99] Peralta-Videa, J. R., Lopez, M. L., Narayan, M., Saupe, G., & Gardea-Torresdey, J. (2009). The biochemistry of environmental heavy metal uptake by plants: implications for the food chain. The international journal of biochemistry & cell biology, 41(8-9), 1665-1677.

[100] https://www.mevzuat.gov.tr/

[101] Abdul, K. S. M., Jayasinghe, S. S., Chandana, E. P., Jayasumana, C., & De Silva, P. M. C. (2015). Arsenic and human health effects: A review. Environmental toxicology and pharmacology, 40(3), 828-846.

[102] Jaishankar, M., Tseten, T., Anbalagan, N., Mathew, B. B., & Beeregowda, K. N. (2014). Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. Interdisciplinary toxicology, 7(2), 60-72.

[103] Ng, J. C., Wang, J., & Shraim, A. (2003). A global health problem caused by arsenic from natural sources. Chemosphere, 52(9), 1353-1359.

[104] Rakhunde, R., Jasudkar, D., Deshpande, L., Juneja, H. D., & Labhasetwar, P. (2012). Health effects and significance of arsenic speciation in water. International Journal of Environmental Sciences and Research, 1(4), 92-96.

[105] UNICEF. (2018). Arsenic primer: guidance on the investigation & mitigation of arsenic contamination. New York: UNICEF Water, Sanitation and Hygiene Section and WHO Water, Sanitation and Hygiene and Health Unit, United Nations Children's Fund (UNICEF).

[106] Mudgal, V., Madaan, N., Mudgal, A., Singh, R. B., & Mishra, S. (2010). Effect of toxic metals on human health. The open Nutraceuticals journal, 3(1).

[107] Altinişik, M., & AD, A. B. (2004). Spektroskopik analiz yöntemleri. Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Ders Notları, 25.

[108] Hofmann, A. (2010). 12 Spectroscopic techniques: I Spectrophotometric techniques. Principles and techniques of biochemistry and molecular biology, 477-521.

[109] Sepúlveda, A. C., Gatti, L. M., Kerl, C. F., Chennu, A., & Klatt, J. M. (2022). Arsenic speciation analysis in porewater by a novel colorimetric assay. Science of the Total Environment, 827, 154155.

[110] Welz, B., & Sperling, M. (2008). Atomic absorption spectrometry. John Wiley & Sons.

[111] Popescu, I. V., Stihi, C., Cimpoca, G. V., Dima, G., Vlaicu, G., Gheboianu, A., ... & State, G. (2009). Environmental Samples Analysis by Atomic Absorption Spectrometry (AAS) and Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectroscopy (ICP-AES). Rom J Phys, 54(7-8), 731-741.

[112] Baysal, A. (2005). Slurry tekniği ile eser elementlerin zenginleştirmesi ve atomik absorpsiyon spektrometrisi ile tayini (Doctoral dissertation, Fen Bilimleri Enstitüsü).

[113] Naresh, K. (2014). Applications of fluorescence spectroscopy. J. Chem. Pharm. Sci, 974, 2115.

[114] Butcher, D. J. (2016). Atomic fluorescence spectrometry: A review of advances in instrumentation and novel applications. Applied spectroscopy reviews, 51(5), 397-416.

[115] El-Hadri, F., Morales-Rubio, A., & de la Guardia, M. (2007). Determination of total arsenic in soft drinks by hydride generation atomic fluorescence spectrometry. Food Chemistry, 105(3), 1195-1200.

[116] Ghosh, S., Prasanna, V. L., Sowjanya, B., Srivani, P., Alagaraja, M., & Banji, D. (2013). Inductively coupled plasma–optical emission spectroscopy: a review. Asian Journal of Pharmaceutical Analysis, 3(1), 24-33.

[117] Wilschefski, S. C., & Baxter, M. R. (2019). Inductively coupled plasma mass spectrometry: introduction to analytical aspects. The Clinical Biochemist Reviews, 40(3), 115.

[118] Ammann, A. A. (2007). Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP MS): a versatile tool. Journal of mass spectrometry, 42(4), 419-427.

[119] Voica, C., Dehelean, A., & Kovacs, M. H. (2012, February). The use of inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) for the determination of toxic and essential elements in different types of food samples. In AIP Conference Proceedings (Vol. 1425, No. 1, pp. 110-113). American Institute of Physics.

[120] Zaib, M., Athar, M. M., Saeed, A., & Farooq, U. (2015). Electrochemical determination of inorganic mercury and arsenic—A review. Biosensors and Bioelectronics, 74, 895-908.

[121] Scholz, F. (2010). Electroanalytical methods (Vol. 1). Berlin: Springer.

[122] Luong, J. H. T., Majid, E., & Male, K. B. (2007). Analytical tools for monitoring arsenic in the environment. The Open Analytical Chemistry Journal, 1(1).

[123] Mays, D. E., & Hussam, A. (2009). Voltammetric methods for determination and speciation of inorganic arsenic in the environment—A review. Analytica chimica acta, 646(1-2), 6-16.

[124] Stanković, A., Kajinić, Ž., Turkalj, J. V., Romić, Ž., Sikirić, M. D., Asserghine, A., ... & Medvidović-Kosanović, M. (2020). Voltammetric determination of arsenic with modified glassy carbon electrode. Electroanalysis, 32(5), 1043-1051.

[125] Mastovska, K. (2008). Recent developments in chromatographic techniques. Comprehensive Analytical Chemistry, 51, 175-200.

[126] Coskun, O. (2016). Separation techniques: chromatography. Northern clinics of Istanbul, 3(2), 156.

[127] Nagajyothi, S., Swetha, Y., Neeharika, J., Suresh, P. V., & Ramarao, N. (2017). Hyphenated techniques-a comprehensive review. International Journal for Advance Research and Development, 2(4).

[128] Nan, K., He, M., Chen, B., Chen, Y., & Hu, B. (2018). Arsenic speciation in tree moss by mass spectrometry based hyphenated techniques. Talanta, 183, 48-54.

[129] Milani, R. F., de Paiva, E. L., Peron, L. I., Morgano, M. A., & Cadore, S. (2018). Arsenic species in herbal tea leaves and infusions determination by HPLC-ICP-MS. LWT, 98, 606-612.

[130] Maher, W., Krikowa, F., Ellwood, M., Foster, S., Jagtap, R., & Raber, G. (2012). Overview of hyphenated techniques using an ICP-MS detector with an emphasis on extraction techniques for measurement of metalloids by HPLC–ICPMS. Microchemical Journal, 105, 15-31.

[131] Marcinkowska, M., & Barałkiewicz, D. (2016). Multielemental speciation analysis by advanced hyphenated technique–HPLC/ICP-MS: A review. Talanta, 161, 177-204.

[132] Mir, K. A., Rutter, A., Koch, I., Smith, P., Reimer, K. J., & Poland, J. S. (2007). Extraction and speciation of arsenic in plants grown on arsenic contaminated soils. Talanta, 72(4), 1507-1518.

[133] Geow, C. H., Tan, M. C., Yeap, S. P., & Chin, N. L. (2021). A review on extraction techniques and its future applications in industry. European Journal of Lipid Science and Technology, 123(4), 2000302.

[134] Rajaković, L. V., Todorović, Ž., Rajaković-Ognjanović, V. N., & Onjia, A. E. (2013). Analytical methods for arsenic speciation analysis. Journal of the Serbian Chemical Society, 78(10), 1461-1479.

[135] Atalay, D., Türken, T., & Erge, H. S. (2018). Pektin; Kaynaklari ve Ekstraksiyon Yöntemleri. Gıda, 43(6), 1002-1018.

[136] Nadar, S. S., Rao, P., & Rathod, V. K. (2018). Enzyme assisted extraction of biomolecules as an approach to novel extraction technology: A review. Food Research International, 108, 309-330.

[137] Żwir-Ferenc, A., & Biziuk, M. (2006). Solid Phase Extraction Technique--Trends, Opportunities and Applications. Polish Journal of Environmental Studies, 15(5).

[138] Otles, S. (2016). Handbook of food analysis instruments. CRC Press.

[139] Esclapez, M. D., García-Pérez, J. V., Mulet, A., & Cárcel, J. A. (2011). Ultrasound-assisted extraction of natural products. Food Engineering Reviews, 3, 108-120.

[140] Roselló-Soto, E., Parniakov, O., Deng, Q., Patras, A., Koubaa, M., Grimi, N., ... & Barba, F. J. (2016). Application of non-conventional extraction methods: Toward a sustainable and green production of valuable compounds from mushrooms. Food Engineering Reviews, 8, 214-234.

[141] Chuyen, H. V., Nguyen, M. H., Roach, P. D., Golding, J. B., & Parks, S. E. (2018). Microwave-assisted extraction and ultrasound-assisted extraction for recovering carotenoids from Gac peel and their effects on antioxidant capacity of the extracts. Food Science & Nutrition, 6(1), 189-196.

[142] Rostagno, M. A., & Prado, J. M. (Eds.). (2013). Natural product extraction: principles and applications (Vol. 21). Royal Society of Chemistry.

[143] Kwiatkowska, B., Bennett, J., Akunna, J., Walker, G. M., & Bremner, D. H. (2011). Stimulation of bioprocesses by ultrasound. Biotechnology advances, 29(6), 768-780.

[144] Jain, T., Jain, V., Pandey, R., Vyas, A., & Shukla, S. S. (2009). Microwave assisted extraction for phytoconstituents–an overview. Asian Journal of Research in Chemistry, 2(1), 19-25.

[145] Destandau, E., Michel, T., & Elfakir, C. (2013). Microwave-assisted extraction.

[146] De Castro, M. L., & Priego-Capote, F. (2011). Microwave-assisted extraction (pp. 85-122). CRC Press: Boca Raton, FL.

[147] Delazar, A., Nahar, L., Hamedeyazdan, S., & Sarker, S. D. (2012). Microwave-assisted extraction in natural products isolation. Natural products isolation, 89-115.

[148] Michalke, B. (2003). Element speciation definitions, analytical methodology, and some examples. Ecotoxicology and Environmental Safety, 56(1), 122-139.

[149] Zoorob, G. K., McKiernan, J. W., & Caruso, J. A. (1998). ICP-MS for elemental speciation studies. Microchimica Acta, 128, 145-168.

[150] Bhardwaj, S. K., Dwivedia, K., & Agarwala, D. D. (2015). A review: HPLC method development and validation. International Journal of Analytical and Bioanalytical Chemistry, 5(4), 76-81.

[151] Weston, A., & Brown, P. R. (1997). High performance liquid chromatography & capillary electrophoresis: principles and practices. Elsevier.

[152] Neşetoğlu, N. Parasetamol ve flurbiprofenin yüksek performanslı sıvı kromatografisi yöntemi ile yanyana analizi (Master's thesis, Sağlık Bilimleri Enstitüsü).

[153] Aydin, Z. (2009). Çeşitli örneklerde vanadyumun HPLC-AAS ile türlemesi ve arsenik tayini.

[154] Kizilelma, M. S. (2019). İbuprofen etkin maddesinin farmasötik preparatlarda HPLC ve GC-MS yöntemi ile miktar tayini (Master's thesis, Sağlık Bilimleri Enstitüsü).

[155] Fernández, B., Claverie, F., Pécheyran, C., & Donard, O. F. (2007). Direct analysis of solid samples by fs-LA-ICP-MS. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 26(10), 951-966.

[156] Ha, Y., Tsay, O. G., & Churchill, D. G. (2011). A tutorial and mini-review of the ICP-MS technique for determinations of transition metal ion and main group element concentration in the neurodegenerative and brain sciences. Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly, 142, 385-398.

[157] Khan, S. R., Sharma, B., Chawla, P. A., & Bhatia, R. (2022). Inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES): a powerful analytical technique for elemental analysis. Food Analytical Methods, 1-23.

[158] Güzelsoy, N. A. (2013). ICP-MS ile bazı gıda takviyelerinde element analizleri ve analitik problemler (Doctoral dissertation, Bursa Uludag University (Turkey)).

[159] Tyler, G., & Yvon, J. (1995). ICP-OES, ICP-MS and AAS Techniques Compared. ICP Optical Emission Spectroscopy Technical Note, 5.

[160] Roos, P., Appelblad, P., Skipperud, L., & Sjögren, A. (2006). The NKS-NORCMASS guide to beginners in ICP-MS. Nordic Nuclear Safety Research.

TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

Konferans Bildirileri

1. Büşra Aydoğan, Sabriye Sel, İkbal Koyuncu "Development Of An Analytical Method For The Simultaneous Determination Of Inorganic And Organic Arsenic Species In Food Samples". October 19-22, 2023, 12th Agean Analytical Analytical Chemistry Congress, Yildiz Technical University İstanbul, Türkiye.

Projeler

1. Prof. Dr. İkbal KOYUNCU (Yürütücü), Büşra AYDOĞAN (Araştırmacı) "Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü'nün FYL-2022-5573 numaralı projesi ", Şubat 2023-Ağustos 2024.