

**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**VİTAMİN KOMPLEKSLERİNDEKİ
METALLERİN ICP-OES CİHAZI KULLANILARAK
TAYİNİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Merve ZURNACI

Enstitü Anabilim Dalı : KİMYA
Enstitü Bilim Dalı : ANALİTİK KİMYA
Tez Danışmanı : Aysel KÜÇÜK TUNCA

Ekim 2015

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

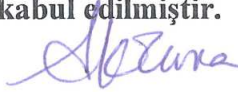
VİTAMİN KOMPLEKSLERİNDEKİ
METALLERİN ICP-OES CİHAZI KULLANILARAK
TAYİNİ

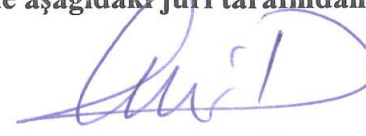
YÜKSEK LİSANS TEZİ

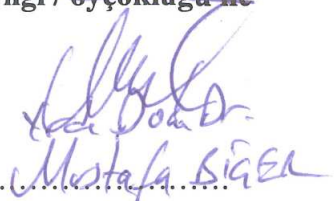
Merve ZURNACI

Enstitü Anabilim Dalı : KİMYA

Bu tez 06 / 10 / 2015 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği / oyçokluğu ile kabul edilmiştir.


Yrd. Doç. Dr. Ayşe Küçükdoğan
Jüri Başkanı


Dr. Dilek ANGIN
Üye


Mustafa SİĞA
Üye

BEYAN

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun şekilde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.

Merve ZURNACI

12.08.2015

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca değerli bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, her konuda bilgi ve desteğini almaktan çekinmediğim, araştırmanın planlanmasından yazılmasına kadar tüm aşamalarında yardımlarını esirgemeyen, teşvik eden, aynı titizlikte beni yönlendiren değerli danışman hocam Sn. Yrd. Doç. Dr. Aysel Küçük Tunca'ya teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuar çalışmalarım sırasında, gösterdikleri destek ve anlayıştan dolayı Sakarya Üniversitesi Kimya Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Mustafa Şahin Dündar'a ve Kimya Bölümü öğretim üyelerine teşekkür ederim.

Deneysel çalışmalarım boyunca yardım ve desteğini esirgemeyen değerli arkadaşım Ayşe Uluköylü'ye teşekkür ederim.

Ayrıca bu çalışmanın maddi açıdan desteklenmesine olanak sağlayan Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Komisyon Başkanlığına (Proje No: FBYLTEZ 2014 50-01-029) teşekkür ederim.

Son olarak, akademik anlamda ilerlemem için beni teşvik eden ve çalışmalarım süresince her türlü fedakârlığı gösteren, büyük bir sabırla bana destek ve moral veren sevgili eşim ve kızıma sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ	v
TABLolar LİSTESİ.....	vi
ÖZET.....	viii
SUMMARY	ix

BÖLÜM 1.

GİRİŞ	1
1.1. Vitaminler.....	1
1.2. Vitaminlerin sınıflandırılması	2
1.2.1. Yağda eriyen vitaminler	2
1.2.2. Suda eriyen vitaminler	3
1.3. Multivitamin İlaçları	6

BÖLÜM 2.

GENEL BİLGİLER	10
2.1. Toksikoloji	10
2.2. İz Elementler	11
2.2.1. Bakır (Cu).....	14
2.2.2. Mangan (Mn).....	15
2.2.3. Demir (Fe).....	16
2.2.4. Çinko (Zn).....	16
2.3. Mikroanaliz Metotları	18
2.3.1. Çözünürleştirme metotları.....	18

2.3.2. Ölçme metotları.....	23
2.4. Spektroskopi.....	24
2.4.1. İndüktif Eşleşmiş Plazma-Optik Emisyon Spektrometrisi (ICP-OES).....	25
2.4.2. İndüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometrisi (ICP-MS)	31
2.5. Literatürde Yapılan Çalışmaların Özeti	33
BÖLÜM 3.	
MATERYAL VE METOT	37
3.1. Tez Çalışmasında Kullanılan Materyaller.....	37
3.1.1. Kullanılan kimyasallar	37
3.1.2. Kullanılan cihazlar ve cam malzemeler	37
3.2. Numunelerin Hazırlanması	38
3.2.1. Kuru yakma ile çözünürleştirerek numune hazırlama.....	38
3.2.2. Yaş yakma ile çözünürleştirerek numune hazırlama.....	38
3.2.3. Mikrodalga ile çözünürleştirerek numune hazırlama.....	39
3.3. Kör Çözeltinin Hazırlanması.....	40
3.4. Kalibrasyon (Standart) Çözeltilerin Hazırlanması	40
BÖLÜM 4.	
BULGULAR VE TARTIŞMA	42
4.1. ICP-OES Cihazında Elde Edilen Analiz Sonuçları.....	42
4.1.1. Elde edilen kalibrasyon grafikleri	43
4.1.2. Elde edilen analitik değerler.....	44
4.2. İstatistiksel Analiz Sonuçları.....	47
BÖLÜM 5.	
SONUÇLAR VE ÖNERİLER	53
KAYNAKLAR	55
ÖZGEÇMİŞ	61

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

AAS	: Atomik Absorpsiyon Spektrometrisi
AES	: Atomik Emisyon Spektrometresi
DCP	: Doğru akım plazma
DNA	: Deoksiribonükleik asit
FAAS	: Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrometresi
FAO	: Gıda ve Tarım Örgütü
GFAAS	: Grafit Fırınlı Atomik Absorpsiyon Spektrometrisi
HDL	: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
ICP-MS	: İndüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometrisi
ICP-OES	: İndüktif Eşleşmiş Plazma-Optik Emisyon Spektrometrisi
IU	: International Unit
LOD	: Limit of detection, Gözlenebilirlik tespit sınırı
LOQ	: Limit of Quantitation, Miktar tayin limiti
MIP	: Mikrodalga-ile-oluşmuş plazma
n	: Deneme sayısı
P	: Anlamlılık değeri
R	: Korelasyon katsayısı
RSD	: Bağlı standart sapması
SD	: Standart sapma
SD _{blank}	: Kör için standart sapma
UV-VIS-IR	: Ultraviyole-Görünür-Kızılötesi
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
X	: Ortalama

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Tipik indüktif eşleşmiş plazma	27
Şekil 2.2. Plazmanın görünüşü	28
Şekil 2.3. ICP-OES cihazı şematik gösterimi	29
Şekil 2.4. ICP-OES cihazında analiz basamakları	30
Şekil 2.5. ICP-MS cihazı şematik gösterimi	31
Şekil 2.6. Temizleme için ms spektrometresinden çıkan bir kuadrupol	32
Şekil 3.1. Mikrodalga çözündürme cihazı	39
Şekil 3.2. Analizde kullanılan ICP-OES cihazı	41
Şekil 4.1. Mangan (a), Demir (b), Bakır (c), Çinko (d) için elde edilen kalibrasyon grafikleri	43
Şekil 4.2. Supradyn multivitaminindeki metallerin konsantrasyonları	45
Şekil 4.3. Pharmaton multivitaminindeki metallerin konsantrasyonları	45

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1.1. Supradyn'in prospektüs bilgileri.....	7
Tablo 1.2. Pharmaton'un prospektüs bilgileri.....	8
Tablo 1.3. Supradyn ve pharmaton içeriklerinin karşılaştırılması.....	9
Tablo 2.1. İnsan vücudunda doğal olarak bulunan elementler.....	13
Tablo 2.2. Atomik spektral yöntemlerin gözlenebilme sınırlarının karşılaştırılması.	26
Tablo 2.3. Mn, Cu, Fe ve Zn için gözlenebilme sınırları (mg/L).....	27
Tablo 4.1. ICP-OES cihazının çalışma parametreleri	42
Tablo 4.2. ICP-OES cihazında çalışılan dalga boyları.....	42
Tablo 4.3. Kalibrasyon grafiklerine ait analitik parametreler	44
Tablo 4.4. Kuru yakma yöntemi ile çözünürleştirme sonuçlarına göre geri kazanım değerleri (n=3)	46
Tablo 4.5. Yaş yakma yöntemi ile çözünürleştirme sonuçlarına göre geri kazanım değerleri (n=3)	46
Tablo 4.6. Mikrodalga yöntemi ile çözünürleştirme sonuçlarına göre geri kazanım değerleri (n=3)	47
Tablo 4.7. Supradyn'in uygulanan yöntemlere göre bağıl standart sapması (rsd).....	47
Tablo 4.8. Pharmaton'un uygulanan yöntemlere göre bağıl standart sapması (rsd) ..	47
Tablo 4.9. Supradyn multivitamin için yapılacak karşılaştırma tablosu	48
Tablo 4.11. Eşleştirilmiş örneklem t testi	48
Tablo 4.12. Eşleştirilmiş örneklem istatistikleri (yaş yakma-mikrodalga)	49
Tablo 4.13. Eşleştirilmiş örneklem t testi	49
Tablo 4.14. Eşleştirilmiş örneklem istatistikleri (yaş yakma-kuru yakma)	50
Tablo 4.15. Eşleştirilmiş örneklem t testi	50
Tablo 4.16. Eşleştirilmiş örneklem istatistikleri (yaş yakma-kuru yakma)	50
Tablo 4.17. Eşleştirilmiş örneklem t testi	51
Tablo 4.18. Eşleştirilmiş örneklem istatistikleri (yaş yakma-mikrodalga)	51

Tablo 4.19. Eşleştirilmiş örneklem t testi	51
Tablo 4.20. Eşleştirilmiş örneklem istatistikleri (kuru yakma-mikrodalga).....	52
Tablo 4.21. Eşleştirilmiş örneklem t testi	52

ÖZET

Anahtar kelimeler: Multivitaminler, kuru yakma, yaş yakma, mikrodalga sistemi, iz elementler, ICP-OES, istatistiksel analiz

Bu çalışmada; günümüzde ticari olarak çok kullanılan Supradyn ve Pharmaton multivitamin ilaçlarının çeşitli deneysel yöntemlerle incelenerek, içeriğindeki metallerin prospektüsteki değerler ile karşılaştırılması ve doğruluğunun ispatlanması amaçlanmıştır. Bu iki ilaçta bulunan ortak metaller tayin edilmiş ve üzerinde çalışılmak üzere Fe, Cu, Mn ve Zn elementleri belirlenmiştir. Bu metallerin analizinde ise çok sayıda örneğin hızlı bir şekilde ölçülebilmesine olanak tanıyan, girişimlerden uzak ve en az düzeyde reaktif kullanımı ile basit bir örnek hazırlama basamağı içeren, analizler için etkin ve tercih edilen bir yöntem olan ICP-OES (İndüktif Eşleşmiş Plazma-Optik Emisyon Spektrometrisi) cihazı tercih edilmiştir. Ön işlem olarak ise kuru yakma, yaş yakma ve mikrodalga yöntemi ile çözünürlüştürülerek üç farklı metot denenmiştir. Üç farklı yöntem kullanılarak yapılan ölçümler arasında anlamlı bir fark olup olmadığını araştırmak amacıyla SPSS istatistiksel analiz yazılımı kullanılmıştır. Sonuçlar incelenmiş ve ölçümler arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farkın olmadığı tespit edilmiştir. Yapılan analizler sonucunda Supradyn ve Pharmaton preparatlarının içeriğinde bulunan metallerin (Fe, Cu, Mn ve Zn) konsantrasyonları ile prospektüsteki değerler karşılaştırılmış ve geri kazanım hesaplanmıştır. Geri kazanımlar %85-%115 arasında bulunmuştur. Sonuç olarak her iki ilaca uygulanan analiz sonucunda elde edilen verilerle gerçek sonuçlar arasında büyük bir farkın olmadığı gözlemlenmiştir. Bu çalışma ile, tüm dünyada insan yaşamının bir parçası haline gelen ve insan sağlığını olumlu yönde etkilemeyi amaçlayan ilaç endüstrisi alanındaki çalışmalara da dolaylı da olsa yardımcı olmaya çalışılmıştır.

DETERMINATION OF METALS IN VITAMIN COMPLEXES USING THE ICP-OES

SUMMARY

Keywords: Multivitamins, dry, wet and microwave digestion methods, trace elements, ICP-OES, statistical analysis

In this study; it is aimed to compare the values of metals in Supradyn and Pharmaton, which are commonly used multivitamin tablets in Turkish market today, with the values on the prospectus and to prove the accuracy of these values by analyzing them with various experimental methods. Common metals in these two drugs have been determined and Fe, Cu, Mn and Zn elements have been determined in order to work on. ICP-OES (Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry) device which enables quick measurement of a great number of samples, which includes a simple sample preparation step with minimal use of reactive and remote from initiatives, has been preferred for the analysis of these metals. In the pre-treatment part three different methods (dry ashing, wet ashing and microwave digestion method) were tested. SPSS software was used for statistical analysis to investigate whether there is a significant difference among the results of three different methods. Results were examined and it was found that there is no statistically significant difference among the results. In addition to that, concentrations of metals (Fe, Cu, Mn and Zn) were compared with the values of the prospectus and recovery rates which were between 85% and 115% were calculated. Consequently, it has been observed that there isn't a big difference between the data obtained from the analyses and the actual results. This study has also tried to contribute to all other studies in the area of the pharmaceutical industry that have become a part of human life all over the world and that aims to positively affect human health.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

1.1. Vitaminler

Vitamin ismi ilk kez Polonyalı biyokimyacı Casimir Funk tarafından 1912'de kullanılmıştır. Vitamin (Vitamine); Latince'de hayat anlamına gelen “Vita” kelimesinden, ‘-amine’ son eki ise ‘azotlu bileşik’ anlamına gelen kelimedenden alır. Zira o dönemde tüm vitaminlerin azotlu bileşik oldukları sanılmaktaydı. Bugün bunun yanlış olduğu görülmektedir [1].

Vitaminler, insan vücudu tarafından üretilmedikleri ya da yeterli miktarda yapılamadıkları için besinlerle dışarıdan alınmaları gerekir. Vücudun sağlıklı gelişimi, sindirim fonksiyonları ve enfeksiyonlara karşı bağışıklık gelişimi açısından gerekli olan bileşiklerdir. Ayrıca organizmanın karbonhidrat, yağ ve proteini kullanmasını da sağlarlar. Vitaminler vücutta yakılmaz, yani vitaminlerden doğrudan enerji (kalori) elde edilemez. Bazı vitaminler besinlerde aktif şekilde, bazıları da pro-vitamin olarak bulunur. Pro-vitaminler vücutta aktif forma dönüşürler. Suda çözünen vitaminlerin fazlası vücut sıvıları ile atılırken, yağda çözünen vitaminlerin fazlası ise yağ dokusunda depolanır [2].

Vitaminler hücrel metabolik reaksiyonlar için çok az miktarları yeterli olan, eksikliklerinde bazı sorunlara neden olan organik bileşiklerdir. İnsan vücudu tarafından ya hiç yapılamamakta ya da yeterli miktarda yapılamadıkları için besinlerle dışarıdan sağlanmaları gerekmektedir. Kendi isimleri olmasına karşın daha kolay anlaşılmaları için alfabenin harfleri ile anılırlar [3].

1.2. Vitaminlerin Sınıflandırılması

Vitaminler yağda eriyen ve suda eriyen vitaminler olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Vitaminler ayrıca koenzim fonksiyonu olan ve koenzim fonksiyonu olmayan vitaminler olarak da sınıflandırılabilir.

1.2.1. Yağda eriyen vitaminler

Yağlarla alınan ve safranın etkisi ile bağırsaklardan emilen vitaminlere yağda eriyen vitaminler denilmektedir. A, D, E, K vitaminleri bu sınıfa girmektedir. Yağ emilimini etkileyen her hastalık veya bozukluk bu vitaminlerin eksikliğine neden olur. Dolaşıma geçtikten sonra karaciğer dokusuna taşınırlar. Bu vitaminler karaciğer ve yağ deposunda depolanırlar. A, D, K vitaminleri karaciğer dokusunda depolanırken; E vitamini vücudun yağ dokularına dağılır.

a) A Vitamini (Retinol)

A Vitamini, enfeksiyonlara karşı direnci artırır normal büyüme, üreme, kemik ve diş gelişimi ve görme için gereklidir. Cildin, tırnakların ve saçların sağlıklı kalmasını sağlar. Diş ve dişetleri için büyük önem taşır. A vitamininin görme fonksiyonu, hücre büyümesi ve farklılaşması, epitelyum bütünlüğü, immünite ve yeniden yapılanma üzerine etkileri olduğu bilinmektedir [4]. Toksikitesinde; bulantı, kusma, şiddetli baş ağrısı, ciltte kuruma, saç dökülmesi, kemik-eklem ağrıları, hiperkarotenemi denilen zararsız bir durum oluşur. Cilt rengi yeşil/oranja döner ve besin kesilirse renk düzelir [5].

b) D Vitamini

Doğal olarak D vitamini içeren az sayıda besin vardır. D vitamini kaynağı hayvansal besinler, karaciğer ve yağlı balıktır. Diğer ana kaynaklar; makarna, tahıllar, meyve suyu, süt gibi besinlerdir. D vitamini sağlıklı yaşam için gerekli bir vitamindir ve hazırlanan diyet listelerinde yeterli miktarda bulunmadığından kolaylıkla eksikliği

gelişir [6]. İnce bağırsaklardan kalsiyumun emilmesine yardımcı olur, kalsiyumun kemiklerde ve dişlerde tutulmasını sağlar [7]. D vitamini eksikliği çocuklarda raşitizme neden olurken, yetişkinlerde deosteomalaziye neden olmaktadır [8]. D vitamininin iki yapısı bulunmaktadır. Ergokalsiferol D2 ve kolekalsiferol D3 yapılarıdır. D2 ve D3 vitaminleri metabolik olarak eşit aktiflikte ve güçte olup D3 yapısı insanda hazır bulunmasından dolayı daha fazla kullanılmaktadır. D vitamininin fazla alınması kemiklerde aşırı kalsifikasyon, böbrek taşları, yumuşak dokuda metastatik kalsifikasyon, baş ağrısı, halsizlik, bulantı, kusma, konstipasyon, poliüri ve polidipsiye sebep olmaktadır [9].

c) E Vitamini

Antioksidan etkilidir. Alzheimer hastalığının ilerlemesini yavaşlatır. Çocukların, yaşlı kişilerde bağışıklık sistemini güçlendirir. Hücrelerin daha uzun yaşamasını ve yenilenmesini sağlar [10]. E vitamini yağda çözünen bir vitamin olduğu için ince bağırsaklar tarafından kolayca emilerek vücudun tüm dokularına taşınarak depolanır. E vitamininin eksikliği birçok organ ve organ sistemlerinin yapısal ve fonksiyonel anormalliklerini içerir. Bu morfolojik değişiklikleri yağ asidi metabolizmasını ve enzim sistemlerini içeren biyokimyasal defektler izler [11].

d) K Vitamini

Karaciğere gelen vitamini burada üretilen bazı pıhtılaşma faktörlerinin yapımında rol alır. K vitamini naftakinondur; oksidatif fosforilasyonda yer alır. Yokluğunda veya ince bağırsakta emilemediğinde hipoprotrombinemi ve prokonvertinin azalmış hepatit sentezi ortaya çıkar [12].

1.2.2. Suda eriyen vitaminler

Suda çözünen vitaminler bağırsakta emildikten sonra kullanılacakları dokuya kan dolaşımı ile taşınır. Her birinin suda çözünürlük derecesi farklıdır. Bu çözünürlük

farkı vücuttaki dağılımlarını da etkiler. Bu vitaminlerin fazlası vücuttan dışarı atılmaktadır. B ve C vitamini bu sınıfa girmektedir.

e) B1 Vitamini (Tiamin)

Tiamin ticari olarak hidroklorid ve mononitrat tuzları şeklinde bulunmaktadır. Bu formları gıdaların zenginleştirilmesinde ve besin desteklerinde yaygın olarak kullanılmaktadır [13]. Tiamin yetersizliği, sinir ve sindirim sistemi bozuklukları şeklinde ortaya çıkmaktadır. Uzun süre düşük tiamin alımı sonucunda ortaya çıkan beriberi hastalığı, şiddetli tiamin eksikliği olarak tanımlanan Wernicke-Korsakoff's sendromu ise halüsinasyon, karıştırma, akıl hastalığını içeren zihinsel bozukluklar ve koma ile karakterize edilmektedir [14].

f) B2 Vitamini (Riboflavin)

Günlük gereksinimi küçük çocuklarda 0,6 mg/gün, erişkinlerde 1-2 mg/gün dür. Riboflavin eksikliğinde deride, özellikle dudak, burun ve göz kenarlarında yaralar görülmektedir. Bunların yanı sıra görme zorluğu, göz damarlarında genişleme, yanma ve sinir sistemi bozuklukları da yetersizlik belirtilerindedir [14].

g) B3 Vitamini

Midede sindirimin temel taşları olan asitlerin üretimini sağlar. Yetersiz beslenme sonucu deriyi sinir sistemini tutan pellegra adlı hastalık ortaya çıkar. Ülkemizde halk çoğunluğunun diyetinde kuru baklagiller ve bulgur çok yer tuttuğundan pellegra hastalığı ender görülmektedir [15].

h) B6 Vitamini

Sinir sisteminin ve derinin sağlıklı olmasında, yağ ve kolesterol miktarını kontrol etmede önemli rol oynar. Hormonal denge ve nörolojik yapıya olan katkısı önemlidir. Eksikliğinde; nörit (sinir iltihabı), koordinasyon bozuklukları, ruhsal

dengesizlik ve bozukluklar, dermatit, anemi, kan şekerinde düşme, ellerde titreme, kalp çarpıntısına neden olur [16]. Günlük gereksinimi çocuklar için 0,3-0,5 mg, erişkinler için 0,5-1,5 mg' dır [5].

i) B11 Vitamini

Hücre bölünmesi için gereklidir. Bu etkisi ile büyümeyi de sağlar. Eksikliğinde iştahsızlık, kilo kaybı, bulantı, kusma, ishal, baş ağrısı, unutkanlık, çarpıntı gibi bazı kalp sorunları oluşabilir [15].

j) B12 Vitamini

B12 vitamininin en önemli fonksiyonu hücrelerin bölünmesi için gerekli olan DNA (Deoksiribonükleik asit) yapımını sağlamaktır. İnsan ince bağırsağında bakteriler tarafından bir miktar B12 vitamini sentez edilir ve emilebilir ancak insanda kalın bağırsakta bakteriler tarafından sentezlenen B12 vitamini emilimi çok az ve yetersizdir. İnsanlar için B12 vitamininin en önemli kaynakları karaciğer, kırmızı et, yumurta, peynir ve süt gibi hayvansal gıdalardır. Eksikliğinde dilde hassasiyet, şişme, kızarma, hayal görme, depresyon, adalelerde kasılmalar, sinir iltihaplarına bağlı olarak el ve ayaklarda uyuşma, karıncalanma, yanma şikâyetleri oluşur [17].

k) C Vitamini (Askorbik Asit)

C vitamini, kan damarlarının büyük bir kısmı, kemikler, eklemler, dişler ve diş etlerinin oluşumunda rol oynar ve başlıca rolü doku bağlarını tutan ana protein maddesi olan kollajeni üretmek ve bağışıklık sistemi, sinir sistemi, hormonlar ve besinlerin emilimi fonksiyonlarına destek olmaktır. Yaraların ve kırık kemiklerin iyileşmesinde çok önemlidir. Kemik iliğinde hemoglobin ve kırmızı kan hücrelerinin üretiminde de rol oynar. Sinir iletiminin önemli bir kısmında rol oynadığı için beyinde de çok miktarda bulunur. C vitamininin fazla dozları her gün alındığında astım belirtilerini azaltabilir. Kalp krizlerini ve çarpıntılarını önleyici etkiye de sahiptir [18]. Günlük gereksinimi 30 mg/gün'dür [5].

1.3. Multivitamin İlaçları

Vitaminler sadece fizyolojik gereksinimin giderilmesi için değil, aynı zamanda psikolojik ve sosyolojik gereksinimleri gidermesinde de önemli rol oynamaktadır. İnsan vücudu tarafından ya hiç yapılamamakta ya da yeterli miktarda yapılamadıkları için besinlerle dışarıdan sağlanmaları gerekir [19]. Bu besinlerin bir kısmı çığ olarak, bir kısmı da belirli pişirme süreçlerinden geçerek soframıza gelir. Bu hazırlama ve pişirme süreçleri esnasında oluşabilecek vitamin kayıpları insan sağlığını yakından ilgilendirmektedir. Bu yüzden insanlar, dışarıdan sağlanan besinlerde yeteri kadar vitamin alınmaması durumunda multivitamin takviyelerine yönelmiştir.

Multivitaminler, içeriğinde fizyolojik fonksiyonların sağlıklı işlemesi için gerekli olan en az üç ya da daha fazla mikro besin (vitamin ve mineral) bulunan destek ürünleri olarak tanımlanır. Vücudumuz bu mikro besinlerin günde ortalama 100 mg'ına ya da daha azına ihtiyaç duyar [20]. Multivitamin ilaçları içerik olarak genelde vitaminler, mineraller (demir, fosfor, kalsiyum magnezyum, mangan, bakır, çinko, molibden vb.), otlar ya da diğer bitkiler, aminoasitler ve bu maddelerin herhangi bir kombinasyonunu içerir. Bunlar, eczacılığa ve tedaviye ait amaçlar için kullanılanlar yüksek oranda aktif maddeler içermemelidir. Çünkü doğal ve yapay nedenlerle, metallerin birikimi ve bunların nedenleri insan sağlığı açısından önemli konular arasında yer almaktadır [21].

Multivitamin ilaçlarının faydalarının yanı sıra zararlarını da göz önünde bulundurmak gerekir. Yüksek dozda multivitamin alımı insan vücudunda çeşitli komplikasyonlara sebep olmaktadır. Örneğin;

- D vitamini fazla alınırsa kanda kalsiyum aşırı yükselir ve zararlı olur,
- Gebeliğin ilk üç ayında fazla A vitamini alınırsa, çocukta sakatlık yapabilir,
- Yüksek dozda E vitamini almak, K vitamininin etkisini bozduğundan Coumadin isimli kanı sulandıran ilaç kullanan kalp hastalarında zararlı olabilir,

- Çinkonun fazla alınması vücut direncini (bağışıklık sistemini) bozar ve iyi kolesterol olarak bilinen HDL (High Density Lipoprotein) kolesterolü azaltır.
- Yüksek dozda multivitamin alan erkeklerde prostat kanser riskinin arttığı saptanmıştır [22].

Vitamin eksikliği pek çok durumda karşımıza çıkabilir. Büyüme, gebelik, emzirme, yaşlılık, fiziksel güç harcama, sigara, alkol ve benzeri maddelerin tüketimi, duman veya diğer çevre kirletici maddelere maruz kalmaya bağlı gereksinim artışı veya yetersiz alım gibi sebepler vitamin eksikliğine neden olabilir. Milyonlarca insan bu sebeplerden dolayı multivitamin alımına yönelmiştir. Türkiye’de en yaygın olarak kullanılan vitamin ilaçlarının başında Supradyn ve Pharmaton gelmektedir. Bunları takiben Mucovit, Decavit, Benavit, Calciday, Zinco, Urocit-K vs. gelir.

Bu çalışmada Supradyn ve Pharmaton multivitamin ilaçları incelenmiştir. Supradyn, 12 mineral ve oligo-element ile kombine edilmiş 14 vitamin içeren bir multivitamin preparatıdır. Supradyn, ek olarak koenzim Q10 içerir. Aynı zamanda, genel vitamin eksikliğinin önlenmesi ve tedavisine yönelik olarak hazırlanmış bir multivitamin ve mineral kombinasyonudur. Bir drajede içerik olarak vitaminler, mineraller, oligo-element, şeker, laktoz, demir oksit siyah, demir oksit kırmızı, demir oksit sarı, titanyum dioksit, renklendiriciler içerir (Tablo 1.1). Uzman tarafından farklı bir doz önerilmediği takdirde genel kullanımı her gün bir bardak su ile bir tablet alınmasıdır [23].

Tablo 1.1. Supradyn’in prospektüs bilgileri [23].

İçerik	Değer	İçerik	Değer	İçerik	Değer
B ₉ vitamini	200 µg	C vitamini	60 mg	Klorür	21,5 mg
B ₅ vitamini	6 mg	D vitamini	4 µg	Demir	14 mg
B ₆ vitamini	2 mg	Biyotin (B ₇)	30 µg	Çinko	8 mg
B ₂ vitamini	1,6 mg	İyot	75 µg	Mangan	1,8 mg
B ₁ vitamini	1,4 mg	Kalsiyum	120 mg	Bakır	0,9 mg
B ₁₂ vitamini	1 µg	Magnezyum	80 mg	Selenyum	50 µg
E vitamini	10 mg	Potasyum	23,2 mg	Molibden	45 µg
A vitamini	0,72 mg	Krom	25 µg	Koenzim Q10	3 mg

Pharmaton da Supradyn gibi bir gıda takviyesidir. İçeriğinde Supradyn gibi vitamin, mineralleri ve benzeri bileşenleri içerir (Tablo 1.2). Günlük beslenmeye ilave olarak kullanılan bir vitamin-mineral kompleksidir. Fiziksel ve zihinsel yeteneklerini geliştirmek ve vücudun stres ile neden olduğu bitkinlik ve yorgunluğa yardımcı olabilmek için tasarlanmış bir üründür. İçerdiği vitaminler, mineraller ve Ginseng G115 vücudun enerji kullanımını etkiler. Ayrıca Ginseng G115 ile bağışıklık sistemine yardımcı olabilir [24].

Tablo 1.2. Pharmaton'un prospektüs bilgileri [24].

İçerik	Değer	İçerik	Değer	İçerik	Değer
Kalsiyum	**	A Vitamini	800 µg	Ginseng G115	40 mg
Hidrojen Fosfat		C vitamini	60 mg	Demir	10.50 mg
Gliserol	**	E vitamini	10 mg	Selenyum	55 µg
Soya Lesitin	100 mg	D vitamini	5 µg	Mangan	2 mg
B ₆ vitamini	1,4 mg	B ₉ vitamini	200 µg	Bakır	1 mg
B ₃ vitamini	16,13 mg	B ₇ vitamini	50 µg	Çinko	1.50 mg
B ₂ vitamini	1,4 mg	B ₁ vitamini	1,1 mg	Renklendirici	**
B ₁₂ vitamini	2,5 µg				

** Değerler saptanamamıştır.

Supradyn ve Pharmaton tabletlerinde ortak olan vitaminlerin ve minerallerin miktarları Tablo 1.3.'de verilmiştir. Bu çalışmada tayin edilecek olan metaller Demir, Bakır, Çinko ve Mangan olarak belirlenmiş ve aşağıdaki tabloda kalın olarak işaretlenmiştir.

Ortak olan metaller arasında bulunan Kalsiyum miktarı diğerlerinden çok yüksek, Selenyum miktarı ise çok düşük olduğundan ICP-OES cihazında güvenli bir okuma gerçekleştirilebilmesi için tayin edilecek metaller arasına alınmamıştır.

Tablo 1.3. Supradyn ve Pharmaton içeriklerinin karşılaştırılması

	Supradyn	Pharmaton		Supradyn	Pharmaton
A vitamini	0,72 mg	800 µg	B ₇ vitamini	30 µg	50 µg
C vitamini	60 mg	60 mg	B ₉ vitamini	200 µg	200 µg
D vitamini	4 µg	5 µg	B ₆ vitamini	2 mg	1,4 mg
E vitamini	10 mg	10 mg	B ₁₂ vitamini	1 µg	2,5 µg
B ₁ vitamini	1,4 mg	1,1 mg	Demir	14 mg	10.50 mg
B ₂ vitamini	1,6 mg	1,4 mg	Kalsiyum	51.3 mg	120 mg
B ₆ vitamini	2 mg	1,4 mg	Mangan	1,80 mg	2 mg
B ₁₂ vitamini	1 µg	2,5 µg	Bakır	0,9 mg	1 mg
C vitamini	60 mg	60 mg	Çinko	8 mg	1.50 mg
E vitamini	10 I.U	17.88 mg	Selenyum	50 µg	55 µg

BÖLÜM 2. GENEL BİLGİLER

2.1. Toksikoloji

Sözcük anlamı ile toksikoloji "zehir bilimi" demektir. Zehir ise "canlı organizmada zararlı etki gösteren herhangi bir madde" olarak tanımlanabilir. İnsan ve hayvan organizmaları yabancı birçok kimyasal maddelere maruz kalmaktadırlar. İşte toksikoloji başlıca, organizmanın normal metabolizması için gerekli olmayan bu "yabancı kimyasal maddeler: ksenobiyotikler" ile ilgilendir. Ancak canlı organizma için endojen olan maddeler (hormonlar, bazı aminoasitler gibi) veya vücut için gerekli ekzojen kaynaklı maddeler de (vitaminler, yemek tuzu gibi) yüksek dozlarda toksik etki gösterirler ve bu nedenle toksikolojinin araştırma alanına girerler [25].

Paracelsus, doğada bulunan her şey zehir olabilir, zehir olanla olmayanı ayıranın dozu olduğunu söylemiştir. Paracelsus maddelerin toksik özelliği ile tedavi edici özelliği arasındaki farkı insan vücudundaki miktarının belirlediğini belirtmiştir ve böylelikle toksisitenin göreceli olduğunu fark eden ilk kişi olmuştur [26]. Bu durum metallerde de aynıdır. Metallerin normal olarak vücutta bulunma oranı çok düşüktür. Milyonlarca insan sağlıklı yaşamak, hastalıklardan çabuk kurtulmak veya yaşlanma bulgularını geciktirmek ve beslenme desteği için birçok mineral ve vitaminler kullanırken bir yandan da birçok metalleri de vücuduna almaktadır. Bazı metaller insan yaşamının sürdürülebilmesi için vazgeçilmez iken bazıları da ileri derecede toksiktirler. Ancak vazgeçilmez görünen metallerin de belirli miktarlardan sonra toksik etkili oldukları bilinmektedir [27].

Gereksiz vitamin tüketimi ile metaller vücutta birikerek toksik etkiye neden olduğu için böbrek ve karaciğerler için zararlı olabilmektedir. Örneğin; yağda eriyen vitaminlerin (A ve D vitaminleri gibi) aşırı düzeyde alındığında vücutta depolandığı ve çeşitli toksik etkiler gösterdiği bilinmektedir. Suda eriyen vitaminlerin fazla alındığı durumlarda ise organ sistemlerine aşırı yük getirdiği bunun yanında bazı vitaminlerin-minerallerin, besinlerin ve kullanılmakta olan bazı ilaçların birbiriyle olumsuz etkileşime girdiğinin de bilinmesi gerekmektedir [28]. Bakır saç, deri, kemik gibi bazı organların temel bilişimi arasında bulunmaktadır. Bakır eksikliği çocukluktan itibaren önemli sağlık sorunlarına yol açmaktadır. Bununla birlikte kurşunun düşük oranda alınması bile insanlar için toksik etki yaratma potansiyeline sahiptir. Kalsiyumun D vitamini ile beraber yüksek dozda alınması özellikle çocuklarda hiperkalsemiye neden olmaktadır. Kemiklerde ve yumuşak dokuda aşırı kalsifikasyona yol açmaktadır. Fazla alınımı demir ve çinko emilimini bozmaktadır [9].

30 civarında metalin insanlarda toksisite oluşturduğu bilinmektedir. Metallerin toksik etkileri her metalin özelliğine göre değişmektedir. Ancak genel olarak metallerin hepsi birden fazla organı ve sistemi etkilemektedir. Örneğin kadmiyuma en duyarlı organ böbrekler olmakla beraber karaciğer ve akciğerlerde de toksik etki görülür [28]. Metal toksisitesini etkileyen faktörler esansiyel elementlerle etkileşim, yaş ve gelişim durumu, yaşam tarzı ile ilgili faktörler, metallerin kimyasal formu olarak birkaç grupta incelenebilir [28].

2.2. İz Elementler

Doğada 92 element ve bunların insan sağlığı üzerine olumlu ya da olumsuz birçok etkiye sebep olan yüzlerce izotopu bulunmaktadır. Vücudumuzda biyolojik fonksiyonlarda görev alan bu elementleri makro ve mikro (iz) elementler şeklinde iki grup altında toplamak mümkündür [29].

Eğer bir elementin vücut içindeki miktarı 100 mg/kg'dan fazla ise makro, az ise iz element olarak kabul edilmektedir. Kalsiyum, fosfor, sodyum, potasyum, klor,

magnezyum ve kükürt makroelementler olarak adlandırılırlar ve vücutta yaklaşık %4 oranında bulunur. Demir, iyot, bakır, mangan, çinko, kobalt, molibden, selenyum, alüminyum, arsenik, civa, nikel, kadmiyum, kurşun, sülfür ise mikroelementler (ya da iz elementler) olarak sınıflandırılır. Son yıllarda bunlara F, B, Cr, Si, Sn, V eklenmiştir. İnsan vücudunun %0,01'den daha azını oluştururlar. Organizmada görevleri pek fazla anlaşılmamış, biyolojik bileşiklerin yapısında yer alan elementlere de ultra-iz-element olarak rastlanılmaktadır. Genellikle mikrogram (μg) ve nanogram (ng) düzeyinde bulunurlar. Bunların başlıcaları: Ag, As, Au, Ba, Ce, Li, Sr ve Ti'dir. Bütün bunların ışığında iz elementler canlı dokularda çok az miktarlarda fakat mutlaka bulunması gereken elementler şeklinde tanımlanabilir.

İnsan ve hayvan organizmasında varlığı tespit edilebilen çok sayıda kimyasal elementten yaklaşık 26'sının hayat için önemli olduğu kabul edilmekte ve henüz fizyolojik fonksiyonları tam olarak bilinmese de her geçen gün bunlara yenileri eklenmektedir. Bunlardan dördü (C, H, O ve N) temel elementler olup canlı organizmaların kuruluşuna iştirak eder ve mineral madde olarak dikkate alınmazlar ve bunlar yaklaşık insan vücudunun %96'sını oluştururlar [30]. Tablo 2.1'de makro ve mikro elementlerin vücutta bulunma miktarları verilmiştir.

Tablo 2.1. İnsan vücudunda doğal olarak bulunan elementler [31].

Sembol	Element	Atom numarası	Vücuttaki % ağırlığı
İnsan vücudunun %96'sını oluşturan elementler			
O	Oksijen	8	65,0
C	Karbon	6	18,5
H	Hidrojen	1	9,5
N	Nitrojen	7	3,3
İnsan vücudunun %4'ünü oluşturan elementler			
Ca	Kalsiyum	20	1,5
P	Fosfor	15	1,0
K	Potasyum	19	0,4
S	Sülfür	16	0,3
Na	Sodyum	11	0,2
Cl	Klor	17	0,2
Mg	Magnezyum	12	0,1
İnsan vücudunun %0,01' den daha azını oluşturan elementler (iz elementler)			
Bor (B), krom (Cr), kobalt (Co), bakır (Cu), flor (F), iyot (I), demir (Fe), mangan (Mn), molibden (Mo), selenyum (Se), silisyum (Si), kalay (Sn), vanadyum (V), çinko (Zn)			

İnsan vücuduna iz elementlerin alınımı başlıca besin ve hava yoluyla olmaktadır. Örneğin birçok toksik iz element (Cd, Hg ve Pb gibi) kirlenmiş şehir havasından, termik santrallerden, belirli endüstri kuruluşlarından kaynaklanan kirli havanın solunması yoluyla vücuda alınırken, diğer birçok iz element ise beslenme yoluyla vücuda alınmaktadır [29].

İz elementler vücutta denge halinde buldukları zaman birçok yaşamsal olayda görev almaktadırlar. Mikro mineraller olarak bilinen iz elementler vücutta kan yapımına, hormonların fonksiyonlarına yardımcı olmaları (örneğin tiroit hormonundaki iyot gibi), vitamin sentezine, enzimlerin oluşumuna katılırlar [32]. Bunlara ek olarak antioksidant olarak görev yapmaları, membranlar için dengeleyici görev yapmaları, asimilasyon işlemine katılmaları, metalloenzim ve metalloproteinlerin yapısal bileşeni olmaları, insan sağlığı için toksik olan minerallere karşı koruyucu görev yapmaları örnek verilebilir. Ayrıca çeşitli maddelerin dolaşım sisteminde taşınmasına yardımcı olmaları, yaraların tamiri ve

azaltılması işlemine katılmaları ile çalışma ve öğrenme kabiliyetlerini hızlandırmaları verilebilir. Ayrıca vücudumuzda her gün küçük elektriksel uyarıların üretilmesinde ve ilgili dokulara iletilmesinde bu iyonik ve iz elementler rol oynamaktadır. Bu uyarılar olmadan kalbimizdeki tek bir kas bile görevini yerine getiremediği gibi, beyin fonksiyonlarını gerçekleştirememekte, hücreler su basıncını dengelemek için osmozü başaramamakta ve besinleri alamamaktadır [33].

Bir element yetersiz alındığında herhangi bir olumsuzluğa sebep oluyorsa o elementin vücut için gerekli olduğuna inanılır. Gerekli iz elementlerin günlük 15–80 µg arasında mutlaka alınmaları gerekmektedir. Gerekli iz elementlerin günlük alınmaları gereken miktarın altında, toksik iz elementlerin ise üzerinde alınmaları durumunda çeşitli olumsuzluklar görülmektedir. Örneğin, krom (Cr) ve vanadyumun (V) yetersiz alınması durumunda şeker hastalığının ortaya çıktığı rapor edilmiştir [34].

Çeşitli örneklerdeki iz element miktarları çok düşük olduğundan, örneğin; gıda, ilaç, tekstil, toprak ve biyolojik örneklerdeki iz element düzeylerinin belirlenmesinde hassas ve seçici teknikler gereklidir. Eser element analizinde kullanılacak tekniğin duyarlılığı yüksek olmalıdır. Girişimlerden uzak ve en az düzeyde reaktif kullanımı ile basit bir örnek hazırlama basamağı içermeli, hızlı element tayinine de imkân vermelidir [35]. ICP-MS (İndüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometrisi) ve ICP-OES yüksek duyarlılığı ile bir ön deriştirme basamağına gerek kalmadan tayine imkân verir [36].

2.2.1. Bakır (Cu)

İnsan metabolizmasında bakır esas elementlerden birisidir. Yetişkinlerde ortalama 50-120 mg civarında bulunur. Erişkin insanların ortalama günde 2,0 mg bakıra ihtiyaç duyduğu tahmin edilmektedir. İnsan kanında ise litrede 0,8 mg Cu²⁺ iyonu vardır. En fazla tolere edilebilir günlük alınımı vücut ağırlığı bazında 0,5 mg/kg dır [37]. İnsanlar için vücut fonksiyonları açısından önemli olan bakır özellikle saç, derinin esnek kısımları, kemik ve bazı iç organların temel bileşeni konumundadır.

Bakır birçok enzim ve proteinin yapısında da bulunur. Bütün bunların yanında demirin fonksiyonlarını yerine getirmesinde aktivatör görevi de üstlenir [38].

Bakır çok yaygın kullanılan bir metal olmakla birlikte alınan bakır vücuttan atılmadığında Wilson hastalığına neden olmaktadır. Bakırın neden olduğu bu hastalık, birçok organda ve dokuda özellikle de karaciğerde, beyinde ve gözde toksik seviyelerde bakır depolanması ile karakterize edilir. Bakırın karaciğerde birikimi hızla artarak, toksik karaciğer hasarına yol açar. Bakır, çinko, demir ve molibden gibi metallerin kombinasyonu şeklinde maruziyeti durumunda, bu metallerin karşılıklı etkileşimlerinin bir sonucu olarak böbrek dokusunda demir düzeyinin olumsuz yönde etkilendiği ve aynı zamanda karaciğer dokusundaki bakır ile de bir ilişkisinin olduğu görülmüştür. Yüksek oranlarda bakır birikmesi halinde, karaciğer dokusunda molibden oranının düştüğü açıklanmıştır [39].

2.2.2. Mangan (Mn)

Protein, karbonhidrat ve yağ metabolizması, sinir ve bağışıklık sistemleri, kan şekeri düzenlenmesi için gerekli olan mangan kofaktör olarak metabolik işlemlerde gerekli birçok enzimi aktive eder [40]. Genellikle yetişkin organizmasında toksik olmamakla birlikte; nispeten yüksek dozda veya kronik olarak aşırı doza maruz kalma durumunda manganizm olarak adlandırılan ve belirtileri Parkinson hastalığına benzeyen nörolojik bozukluğa neden olabilmektedir. Bu nörolojik rahatsızlık; titreme, hareket bozukluğu, kas sertliği, durumu ile kendini gösterir, uzun maruz kalma durumu ise bilişsel eksiklik, sanrı, uyku hali ve depresyona yol açabilir [41].

Genel bir çevre şartında atmosferik derişimleri $0,1 - 10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ arasında değişirken solunum ile alınması toksisitenin temel nedenidir. Manganın yaklaşık yarısı kemiklerde depolanırken; fazlası karaciğerden atılır. İnsan karaciğeri ortalama $1,5 \text{ mg}/\text{kg}$ mangan içerir. Manganın fazlası karaciğerden diğer organlara; özellikle de beyine iletilebilmektedir [41]. Tipik olarak günlük alımı $5,4 - 12,4 \text{ mg}$ arasındadır. Bu nedenle miktarı yeterli olup takviye gerektirmez. Toksik ve toksik olmayan derişim

aralıkları arasındaki sınır çok düşüktür bu nedenle de kesinliği ve doğruluğu yüksek analitik teknikler ile belirlenmesi gerekli görülmektedir [42].

2.2.3. Demir (Fe)

Demir yaşamsal reaksiyonlar için kritik bir elementtir ancak fazla bulunması halinde de organizmaya zarar verebilen bir elementtir ve toksik etkilere yol açmaktadır. Bu nedenle demir dengesi diyetdeki demir alımı ve kayıplar arasında hassas bir denge ile düzenlenmekte ve korunmaktadır. Anormal ölçüde yüksek düzeylerdeki demir, karaciğerde siroza, pankreasta fibrosise yol açabilmekte, şeker hastalığına ve kalp rahatsızlıklarına neden olabilmektedir. Demirin büyük miktarının sindirilmesi sonucu haemochromatosis olarak bilinen (normal düzenleyici mekanizmasının etkisiz işlemi) demir birikiminden dolayı dokuya zararlı durum ortaya çıkar [43].

Vücuttaki demirin en önemli kısmı hemogloblin (Hb) sentezi için harcanmaktaysa da, kalan ufak miktarlar da oldukça önemli işler görmektedir. Örneğin; DNA yapımında anahtar enzimlerden biri olan ribonükleotid redüktazın stabilizasyonu demir içeren bir merkezle sağlanmakta, krebs döngüsündeki enzimlerin hemen hemen yarısı ya demir içermekte ya da fonksiyonlarını sağlayabilmek için ortamda demire ihtiyaç duymaktadırlar [44]. Erişkinde vücutta ortalama 4-5 g kadar demir bulunmaktadır ve bu miktar günlük demir alımı ve kayıplar arasında hassas bir denge ile sağlanmaktadır. Her gün 0,5-1 mg kadar demir, deri ve mukozal epitelin dökülmesi sonucu kaybedilmektedir [45]. Günlük demir gereksinimi aslında oldukça küçüktür. Bu çocuklar için 10–15 mg arasında değişir, büyüklerin demir gereksinimi de kadın, erkek, genç veya yaşlı oluşuna göre farklılık gösterir. Genç kadınlarda ve emziren annelerde 18 mg kadardır [46].

2.2.4. Çinko (Zn)

Dünya'daki yıllık tüketim oranları göz önüne alındığında çinko; demir, alüminyum ve bakırdan sonra dördüncü sırada yer almaktadır. Özellikle otomobil endüstrisinde demir ve çelik yüzeylerin koruyucu olarak kaplanmasında kullanılan çinko, kozmetik

ürünlerinde, merhem içerisinde, makyaj malzemelerinde, vernik, kauçuk ve muşamba üretiminde kullanılmaktadır [47]. Çinko; bakteriden, bitkilere, hayvanlardan insanlara kadar olan tüm yaşayan sistemlerde önemli bir eser elementtir. Tüm organ, doku ve vücut sıvılarında bulunan çinko çok önemli fonksiyonlara sahiptir [48].

Çinko, bazı enzim çeşitleri ve enzimatik reaksiyonlarla, protein sentezi ve karbonhidrat metabolizması için canlı yapıda bulunması gerekli olan bir elementtir [48]. Enzimlerin aktif bölgelerine bağlanır, katalitik bölgelerinde aktif rol oynar, proteinlerin yapısına dâhil olur, nükleik asit veya diğer gen düzenleyici proteinlerde yapısal element olarak rol oynar. Redoks aktivitesinin olmaması nedeniyle bağlandığı proteini dayanıklı hale getirir. Karbonhidrat, protein, lipid, nükleik asit, hem sentezi, gen ekspresyonu, üreme ve embriyogenezde görevleri vardır [49].

Vücut gelişimi için son derece önem taşıyan çinko, özellikle cenin aşamasındaki gelişimde ve küçük çocukların beslenmesinde oynadığı rol ile göze çarpar. Hücredeki genetik madde olan DNA'nın oluşumunda gerekli olduğu için bağışıklık sistemi için de esansiyel bir iz elementtir. Bu sebeple cenindeki çinko eksikliği büyüme gecikmesine, vücutta bozuk oluşumlara ve kromozomlarda anormalliklere yol açar. Doğumdan sonraki çinko eksikliği ise cüceliğe, saç dökülmesine ve deri problemlerine neden olur. Çinko zehirlenmesi ise insanlarda çok nadir görülmektedir. Ayrıca yüksek çinko alımını kolesterol metabolizması üzerine etki edebilir [47].

Güvenlik aralığı geniş olmasına rağmen aşırı çinko alımı toksisiteye neden olmaktadır. Bulantı, kusma ve ishal, huzursuzluk, terleme ve titreme gibi sorunlara ve kolesterol dengesizliğine neden olabilir. Ayrıca, bağışıklık sisteminin zayıflamasına ve aşırı kullanımlarda tümör oluşumuna neden olur [50]. Ergin bir insanda çinko ihtiyacı günlük 8-20 mg kadardır, normal bir insan gıdalarla ortalama günde 12 mg çinko almaktadır. İnsan vücudu 2 grama kadar çinko içerir.

2.3. Mikroanaliz Metotları

İlaç endüstrisinde, bir elementin ve ya bir bileşiğin analiz edilmesi iki aşamadan oluşmaktadır.

- Çözünürleştirme Metotları
- Ölçme Metotları

2.3.1. Çözünürleştirme metotları

Numunenin çözünürleştirilmesi analitiksel metodun önemli bir kısmıdır. Bir örneğin içerdiği iz bileşenlerin saptanmasında; ölçümlerdeki yapılan işlemlerin yanı sıra analitik örnek içinde homojen dağılmamasına sebep olabilecek örnek alma ve hazırlama aşamaları da büyük önem taşımaktadır. İz elementlerin tayininde doğru sonuçlara ulaşabilmek sadece ölçüm yönteminin amaca uygun olmasıyla değil uygulanan örnek hazırlama yönteminin de etkisi çok büyüktür. Örnek hazırlama tüm analiz süresinin % 61–80'ini oluştururken toplam analiz hatasının yaklaşık % 30'unun da nedenidir [51].

Çözünürleştirme basamağı element analizinden önceki basamak olup, kritik bir bölümdür. Numunenin organik veya anorganik yapıda olması çözünürleştirme tekniği açısından önemlidir. Bazı analitiksel metotlar direkt katı örneklerle uygulanabilir (elektrotermal atomizasyon gibi) ve ölçümden önce örneklerin çözünürleştirilmesi gerekmez. Fakat çoğu analitiksel metot örneğin çözelti formunu gerektirir.

Günümüzde kullanılan çoğu analitik ölçüm; analiz öncesi, örneğin parçalanmasına dayalıdır. Bu amaçla da kuru kül etme, yaş yakma veya mikrodalga parçalama basamaklarına gerek duyulmaktadır. Bu basamaklarda tek başına bir çözgen kullanılabildiği gibi; $\text{HNO}_3\text{--H}_2\text{O}_2$, $\text{HNO}_3\text{--HCl}$, $\text{HNO}_3\text{--H}_2\text{SO}_4$ gibi reaktif karışımları da kullanılabilir [52].

a) Kuru yakma yöntemi

En eski çözünürleştirme tekniğidir. Tayin edilecek katyonu içeren numune bir kapsül ya da kroze içine konularak bir alev üzerinde yakılır. Bu metotta kullanılan krozelere oldukça önemlidir. Kuartz krozelere özellikle asit ve halojenlere dayanıklı olup bazlara karşı dayanıklı değildir. Porselen krozelere ise kuartza benzer özellik gösterirler. Ancak bazı elementler bu krozelere yapışabilir. Bu nedenle kullanılmadan önce asitlerle yıkanmalıdır. Paslanmaz çelik krozelere asit ve bazlara dirençli olmalarına karşı elementlerin analizinde kullanılamaz. Platin kroze inert olmasından dolayı analizlerde tercih edilmelidir. Ancak platin krozelere diğer krozelere göre çok pahalıdır [53].

Kuru yakma yöntemi; organik materyallere, biyolojik dokulara, bitki ve gıda örneklerine, atıklara uygulanabilir. Kuru yakmada, örneğin organik kısmı olabildiğince yavaş ve düşük sıcaklıkta yakılır. Eser element analizi için kül etme sıcaklığı 450-550 °C arasında değişir. 550 °C'nin üstündeki sıcaklıklarda çeşitli element kayıpları meydana geldiğinden, çok yüksek sıcaklıklara çıkmak uygun değildir. Kül etme işlemi birkaç saat sürer ve en uygun şartlar altında yapılırsa, beyaz veya açık gri renkte kül elde edilir. Soğutulduktan sonra, tayini amaçlanan elemente göre, nitrik asit veya hidroklorik asit gibi uygun çözücülerde çözülür. Bazen yakma işlemi tam gerçekleşmemesi sonucunda koyu gri veya siyah renkte kül oluşur. Bu durumda, 1 mL nitrik asit ile nemlendirilir ve 1 saat daha kül etme sıcaklığında bekletilir [54].

Kuru yakma yöntemi, basit fakat hassas değildir. Uçucu madde kaybı, seyreltmeden kaynaklı analiz esnasında düşük sonuçlar elde etme, küllenme sırasında bazı metallerin çeşitli bileşikler halinde buharlaşması gibi bazı dezavantajlara sahiptir [55]. Kayıpların en önemli sebeplerinden biri tayin elementlerinin örnek çözeltilerinin kullanılan kapların çeperlerine adsorpsiyonudur [56]. Adsorpsiyon, adsorbe eden yüzey alanı ile orantılı olduğundan, bu yüzeyin mümkün olduğunca küçük tutulması gerekir. Süzgeç kâğıtları, çok büyük bir yüzey alanına sahip olmaları nedeniyle, eser elementlerin adsorpsiyon kayıplarına ilaveten kontaminasyona da

neden olabilir [57]. Kuru yakmanın tam olabilmesi için gereken sıcaklık değerlerine ulaşıldığında sodyum ve potasyumda kayıplar da meydana gelebilmektedir. Bu yöntemin diğer bir zayıf yönü ise zaman alıcı ve yavaş olmasıdır [55].

b) Yaş yakma yöntemi

Eski ve hala çok sık kullanılan tekniktir. Bu metoda yaş yakma metodu denmesinin nedeni sıvı reaktiflerin kullanılmasıdır. Yaş parçalama yöntemlerinde yükseltgen asitler (HNO_3 , HClO_4 , der. H_2SO_4) kullanılarak organik yapı parçalanır. Genellikle derişik nitrik asit ve ısı uygulanır. Asidin gücü, oksitleyici veya kompleksleştirici etkisi, kaynama noktası, oluşan tuzların çözünürlüğü, kullanım güvenirligi ve saflığı önemlidir. Yaş yöntemlerde termal, ultrasonik veya radyasyon enerjisi (infrared, ultraviyole ve mikrodalga) kullanılabilir [51].

Bu yöntemde organik kısımların parçalanması ve yakılması, sıvı ortamda uygun kap içerisinde ve sıcaklık etkisiyle yapılmaktadır. Sıvı ortamı; asit karışımlar ve yükseltgen reaktifler oluşturur. Kullanılacak kimyasalların seçimi numunenin içeriğine, boyutuna, organik ya da inorganik olmasına, uygulanacak analitik tekniğe uygunluğa göre değişmektedir.

- H_2SO_4 ile çözünürleştirme: Uçuculuğu diğer asitlere göre daha düşük olduğundan yüksek sıcaklığın istendiği durumlarda kullanılmaktadır.
- HCl ile çözünürleştirme: Oksitler, karbonatlar, fosfatlar ve sülfürlerin çözünürleştirilmesinde etkilidir. İnorganik maddeler için ideal bir çözücüdür. Bazı iyonları indirgemek için de kullanılır.
- HNO_3 ile çözünürleştirme: Arsenik, antimon ve civa sülfürleri çözebildiğinden tercih edilmektedir. Nitrik asit ile parçalama organik numunelerin eser metal içeriklerini tayininden önce sıklıkla yapılır. Bu asit tek başına kullanılarak ya da diğer asitlerle bir karışımı oluşturularak etkin bir çözme işlemi yapılır.

- HF ile çözünürleştirme: Silikatlar, tantalatlar ve niyobatlar için etkin bir uygulamadır. Hidroflorik asit toksik özelliindedir. Numunenin çözülmesi ve aşırı hidroflorik asitin uzaklaştırılması gibi işlemler çeker ocakta yapılmalıdır.
- H₂O₂ ile çözünürleştirme: Çok etkin bir yükseltgen maddedir. Derişik perklorik asitin sıcak çözeltisi özel olarak yapılmış çeker ocakta hazırlanmalıdır. Çünkü bu asitin sıcak derişik çözeltisinin organik asitlerle veya kolay yükseltgenen inorganik maddelerle teması halinde patlayıcı özelliğı vardır.

Örnek parçalama için bu asitlerin genellikle çeşitli kombinasyonları da kullanılmaktadır. Örneğın H₂O₂-HNO₃ karışımı organik örneklerin parçalanmasında en fazla kullanılan oksidasyon karışımıdır. Ayrıca, hidrojen peroksit yüksek saflığa sahip olduğundan eser element analizleri için oldukça uygundur. H₂SO₄-HNO₃ karışımı ise parçalama işlemleri için kullanılan bir diğerkombinasyondur. Fakat bu karışımın bazı dezavantajları vardır. Bunlardan en önemlisi parçalama işlemi sırasında baryum sülfat gibi çözünmeyen maddelerin oluşması ve bu maddelerin spektroskopik tayin sırasında girişim yapmasıdır. En etkili kombinasyon ise HNO₃-HClO₄ karışımıdır. Tehlikeli olmasına karşın en fazla kullanılan yükseltgeyici reaktif HClO₄'tür.

Yaş yakma tekniğında en önemli noktalardan biri de uygun bir ısıtma işleminin uygulanmasıdır. Özellikle nitrik asit kullanıldığında bu daha da önem kazanır. Çünkü nitrik asitin uçuculuğı sülfürik asit ve perklorik asitin uçuculuğundan daha fazladır. Isıtma yüksek sıcaklıklarda yapılırsa numune tamamen okside olmadan asit uçacaktır ve etkin bir yakma işlemi yapılamayacaktır.

Nitrik asit bazen % 10 (v/v) derişimden fazlasında ve örnek-kalibrasyon çözeltilerinin derişiminde benzerlik olması kaydı ile analitik bir probleme yol açmadan kullanılabilirken; hidroklorik asit ICP-OES için problem yaratmasa da GFAAS'de (Grafit Fırınlı Atomik Absorpsiyon Spektrometrisi) analit klorürleri oluşabilmesi nedeni ile kullanımı sakıncalıdır. Sisleştiriciye dayanan ICP-OES, AAS (Atomik Absorpsiyon Spektrometrisi) veya ICP-MS'te ise sülfürik asit problem

oluşturmaktadır. Kuru yakmaya oranla daha fazla çözücü gerektiğinden reaktiflerden gelen kirlenmeler, örnek sınırlaması, büyük dikkat gerektirmesi dezavantajlarıdır. Kuru yakmaya nazaran hızlı, daha az zahmetli ve tekrarlanabilirliğinin yüksek olmasından dolayı daha çok kullanılır [58].

c) Mikrodalga yöntemi

Mikrodalga tekniği ile örnek çözünürleştirme, analitik kimyada ilk defa 1975'te Abu Samra ve arkadaşları tarafından biyolojik örneklerin asitlerle hızlı bir şekilde çözünürleştirilmesi amacıyla kullanılmıştır. Ticari amaçlı olarak 1989'da basınç kontrollü, 1992'de sıcaklık kontrollü mikrodalga fırınlara örnek hazırlamada kullanım izni verilmiştir. Modern analiz laboratuvarlarında mikrodalga çözünürleştirme yöntemleri eser ve ultra eser elementlerin analizinde örneğin çözünürleştirilmesinde gittikçe yaygınlaşarak kullanılmaktadır. Özellikle un, buğday, yenilen deniz ürünleri, şarap gibi farklı gıda maddelerinde ve referans maddelerde eser element analizlerinde farklı çözünürleştirme yöntemleri kullanılmış ve en iyi sonucun mikrodalga çözünürleştirmenin verdiği görülmüştür [59].

Mikrodalga metotlarında elektromanyetik radyasyon ile parçalama gerçekleşir. Mikrodalgaların polar molekül ile etkileşmesi ile başlayan süreç sonunda; moleküllerdeki dönme hareketleri ve moleküller arası çarpışma ısı üretir. Üretilen bu ısıdaki sıcaklık dağılımları daha homojen olmakta, yüzeyin aşırı ısınması önlenebilmekte ve ürün kalitesi üründe oluşabilecek yüzey sertleşmesi gibi bazı olayların engellenmesi ile gelişebilmektedir. Bunların yanı sıra mikrodalgaların bu dalgaları daha iyi absorbe eden materyaller tarafından seçici olarak emilmesi sayesinde gıdaların özellikle kurutma işlemi sırasında seçici ısıtması gerçekleşmektedir [60].

Mikrodalga ile parçalama metoduyla hem organik hem de inorganik maddeler parçalanabilir. Yüksek basınç ve sıcaklık elde edilmesi bakımından kapalı kaplar tercih edilir. Kapalı kapların yüksek basınç ve sıcaklık sağlaması dışındaki bir avantajı da buharlaşma kayıplarının önüne geçilebilmesidir. Burada az miktarda

kullanılan reaktif parçalama için yeterli olacaktır. Böylece reaktiften gelen kirlenmelerinde önüne geçilebilecektir. Mikrodalga parçalama yöntemlerinde genellikle HNO_3 , $\text{HNO}_3 + \text{HCl}$, $\text{HNO}_3 + \text{HCl} + \text{HF}$, $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$, $\text{HNO}_3 + \text{HF}$, $\text{HF} + \text{HCl}$, $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$, ve kral suyu (aqua regia) gibi asit karışımları kullanılır [60].

Mikrodalga çözünürleştirme ile bileşenlerin çözünürleştirilmesi çok hızlı olmaktadır. Çözünmesi güç olan bileşenlerin bile çözünmesi için sadece 5 ile 10 dakikaya ihtiyaç duyulur. Çözünürleştirme işlemi hem kapalı hem de açık kaplarla yapılabilir. Fakat kapalı kaplar daha çok tercih edilmektedir. Çünkü kapalı kaplar ile yüksek sıcaklık ve yüksek basınç kullanılarak işlem gerçekleştirilir. Böylelikle, numunenin uçuculuğunu yitirmiş kısımlarının bile neredeyse tamamen ortadan kaldırır. Genellikle kolay otomatikleştirildiğinden dolayı, analiz için numune hazırlanması basamağında gerekli olan süre azaltılmış olur [62].

Mikrodalga kapalı sistem kapları için ilk olarak teflondan ve 7 atm gibi düşük basınçlara dayanan kaplar üretildi. Bu basınç sınırı kapların kullanılma miktarı ile azalabiliyordu. Mikrodalga fırında sonraki gelişme ceketli kaplardı. Teflondan yapılan bu kaplar polietermit kaplıydı ve 60-110 atm basınca kadar dayanabiliyorlardı [63].

2.3.2. Ölçme metotları

Analitik kimyada analiz teknikleri klasik ve aletli metotlar olarak iki grupta incelenir. Eser elementlerin analizinde kalitatif analiz için klasik, kantitatif analiz için ise aletli metotlar önem kazanmaktadır. Aletli metotlarla element analizi elementlerin çeşitli ayırt edici özelliklerinin ölçülmesi esasına dayanır. Eser elementlerin analizinde uygulanan metotlar çok çeşitlidir. Bunlar genel olarak şu şekilde sınıflandırılabilir:

- Spektroskopik metotlar
- Elektrokimyasal metotlar
- Termokimyasal metotlar
- Kromotografik metotlar

– Diğer metotlar

2.4. Spektroskopi

Spektroskopi, ışının madde ile etkileşimini inceleyen bilim dalıdır. Bir örnekteki atom, molekül veya iyonların, bir enerji düzeyinden diğerine geçişleri sırasında absorplanan veya yayılan elektromanyetik ışımının ölçülmesi ve yorumlanmasıdır. Spektrometri terimi ise özellikle elektromanyetik ışın şiddetinin çeşitli detektörler yardımıyla ölçülmesini ifade eder. Elektromanyetik ışınma δ - ışınlarından radyo dalgalarına kadar çok geniş bir aralığı içerse de optik spektrometrik yöntemler denildiğinde UV-VIS-IR bölgeleri anlaşılır.

Spektrometrik yöntemler ışının absorpsiyon, emisyon, lüminesans (floresans-fosforesans), saçılma şiddetinin ölçülmesine dayanır. Spektroskopik yöntemler numune ve içerdiği analitler hakkında hem kalitatif hem kantitatif bilgi verdiği için bir çok alanda çok yaygın olarak kullanılırlar. Bu yöntemler atomik ve moleküler spektroskopi başlıkları altında incelenebilir. Atomik spektroskopi ise kendi arasında Atomik Absorpsiyon Spektrometresi (AAS) ve Atomik Emisyon Spektrometresi (AES) olarak ikiye ayrılır.

Atomik emisyon spektrometri ile atomik absorpsiyon spektrometri arasındaki en önemli fark, absorpsiyon analizlerindeki atomlaştırıcının görevi sadece atomlaştırma iken, emisyon analizlerindeki atomlaştırıcının hem atomlaştırma hem uyarma işlevi görmesidir. Yüksek sıcaklığı ve inert atmosferi, plazmayı aleve veya grafit fırına göre daha etkin bir kaynak yapar. Bu sayede, AAS ile duyarlı sonuç elde edilemeyen refrakter bileşiklerin analizi de kolaylıkla gerçekleştirilebilir.

Spektroskopik metotlar içerisinde Atomik Absorpsiyon Spektrometresi (AAS) özellikle element analizleri için uygundur. Ancak bir defada ancak bir elementin analizine olanak sağlaması ve dolayısı ile çok sayıda elementin analizinin uzun zaman alması, bazı elementlerin (Sn, As, Sb, Hg) özel teknikler gerektirmesi gibi dezavantajlara sahip olduğundan bu tip durumlarda ICP tekniklerinden yararlanılır.

Aleve püskürtülen elementlerin yaydığı ışıktan kalitatif analiz yapılmasına dayanan alev testleriyle başlamış, metallerin ark ve kıvılcım atomlaştırma teknikleri kullanılarak analiz edilmesiyle devam etmiştir. Son günlerde ise en çok başvuru alan atomlaştırma teknikleri plazma kaynaklıdır. Doğru akım plazma (DCP) ve mikrodalga-ile-oluşmuş plazma (MIP) kaynakları çeşitli analizlerde kullanılmaktadır [64]. Plazma kaynaklarının en önemlisi indüktif eşleşmiş plazma (ICP)'dir. indüktif eşleşmiş plazma, optik emisyon spektrometrisi ve kütle spektrometrisi olarak ikiye ayrılır.

2.4.1. İndüktif Eşleşmiş Plazma-Optik Emisyon Spektrometrisi (ICP-OES)

İndüktif eşleşmiş plazma optik emisyon spektrometri (ICP-OES), AAS'ye göre daha geniş çalışma aralığı, multielement tayin yapabilme özelliği, termal bozunmaya karşı dirençli (refrakter) elementlerin tayininde daha duyarlı sonuç vermesi gibi özellikleriyle, metal tayinlerinde AAS ile birlikte en sık başvuru alan tekniktir.

ICP hem kalitatif hem de kantitatif elementel analizde yarar sağlayan karakteristik emisyon çizgileri yönünden zengindir. Bir emisyon spektrometresinde olması gereken özellikler aşağıda verilmiştir:

- Yüksek ayırma gücü (0,01nm)
- Hızlı sinyal elde edilmesi ve geri kazanım
- Düşük kaçak ışık
- Geniş dinamik aralık ($>10^6$)
- Doğru ve kesin dalgaboyu belirlenmesi ve seçimi
- Kesin şiddet okumaları
- Çevresel değişkenlere karşı yüksek kararlılık
- Kolay zemin düzeltmeleri
- Bilgisayar kontrollü işletim; çıktı, veri toplama, işleme, vb.

ICP-OES cihazlarında; numune çözeltisinin ve gazın plazmaya akışındaki düzensizlikler, optik kısımda kaymalar ve elektronik kısımlardaki düzensizlikler

veya sistemin kilitlemesi gibi problemlerle karşılaşılabilir. Ayrıca kullanılan argon gazının kalitesi de çok önemlidir. Düşük kalitedeki argon gazının kullanımında plazma oluşumu zor olur veya hiç oluşmaz [55].

İndüktif eşleşmiş plazma emisyon spektroskopi daha çok suda veya organik çözücülerde çözülebilen numunelerin kalitatif ve kantitatif analizlerinde kullanılır. Prensip olarak, bütün metalik elementler, ICP yöntemi ile tayin edilebilir. Bir vakum spektrometre fosfor, azot, kükürt ve karbon tayini için gereklidir, çünkü bu elementlerin emisyon çizgileri, atmosfer bileşenlerinin absorpsiyon yaptığı, 180 nm'nin altındaki dalga boylarına kadar uzanır. Dalga boylarının belirlenmesiyle aynı anda 60 veya daha fazla element analiz edilebilir. ICP yönteminin dezavantajı yüksek bakım maliyeti ve cihaz enstrümanlarının pahalı olması nedeniyle rutin analizlerin yapılamamasıdır. ICP-OES çok düşük gözlenebilme sınırına sahiptir. Fakat yüksek metanol ya da asetonitril (>%10) içeriği kolaylıkla tolere edilemez. ICP-OES'nin avantajı metallerle birlikte sülfürlerinde takip edilebilmesidir [64].

ICP kaynaklarıyla elde edilen gözlenebilme sınırları, diğer atomik spektral işlemlerden elde edilenlerden daha iyidir. Birçok elementin 10 ppb düzeyinde veya daha az düzeyde tayini yapılabilmektedir. Tablo 2.2'de birkaç spektral yöntemin gözlenebilme sınırları karşılaştırılmıştır. Tablo 2.3'te ise bu çalışmada tayin edilecek olan dört metal için gözlenebilme sınırları verilmiştir.

Tablo 2.2. Atomik spektral yöntemlerin gözlenebilme sınırlarının karşılaştırılması [65].

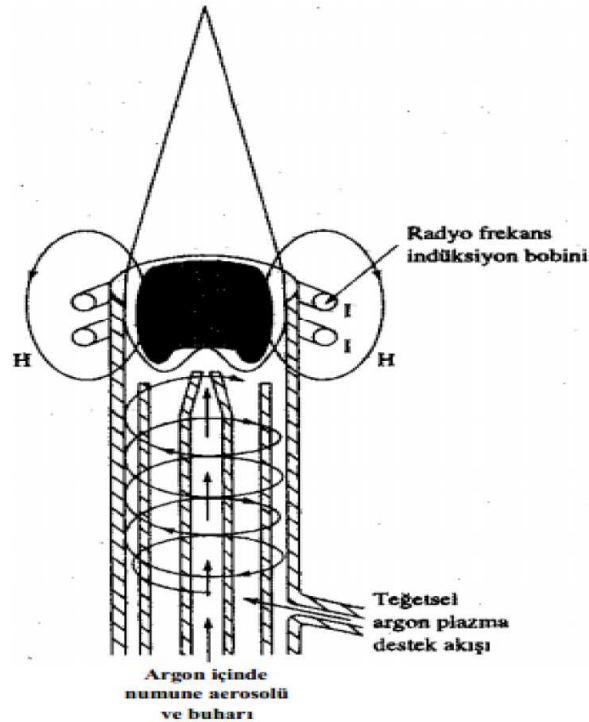
Yöntem	Verilen derişimlerde tayin edilen element sayıları				
	<1 ppb	1-10 ppb	11-100 ppb	100-500 ppb	>500 ppb
ICP	9	32	14	6	0
AES	4	12	19	6	19
AFS	4	14	16	4	6
FAAS	1	14	25	3	14

Tablo 2.3. Mn, Cu, Fe ve Zn için gözlenebilir sınırları (mg/L) [65].

Element	Alevli AES	ICP-OES	GF-AAS	Alevli AAS
Mangan (Mn)	-	0,02	0,01	1
Bakır (Cu)	10	3,00	0,02	1
Demir (Fe)	-	0,09	0,02	5
Çinko (Zn)	-	0,01	0,001	1

a) İndüktif Eşleşmiş Plazma Kaynağı

Plazma, nötr gaz, katyon ve elektron içeren iletken bir gaz karışımı olarak tanımlanabilir. Plazma gazı olarak argon (Ar) kullanıldığından, indüktif eşleşmiş plazmada Ar, iyonlaşmış Ar ve elektron bulunduğunu söyleyebiliriz. İndüktif eşleşmiş plazma iç içe üç kuvars borudan oluşan hamlac (torch) ile oluşturulur. Argon, en dış ve ara borudan helezonik bir şekilde geçerek borunun ucuna, indüksiyon bobininin sardığı bölüme ulaşır. Genellikle bakırdan yapılmış, su soğutmalı indüksiyon bobini, hamlaca, 27 veya 40 MHz frekansında ve 0,5-1,5 kW arasında güç sağlar Tesla bobini adı verilen sistemle kıvılcım oluşturularak argonun iyonlaşması sağlanır. Plazma artık hazırdır.



Şekil 2.1. Tipik indüktif eşleşmiş plazma [66]

Oluşan iyon ve elektronlar indüksiyon bobini tarafından oluşturulan (Şekil 2.1'de H ile işaretli) manyetik alan salınımlarıyla etkileşir. Bu etkileşim, Şekil 2.1'de gösterilen kapalı, düzenli bir yol içinde bobin içindeki iyon ve elektronların akmasına neden olur; iyon ve elektronların bu harekete karşı direnci sonucunda, bir ohm'luk ısı oluşur. Bu yolla oluşan plazma sıcaklığı, dıştaki kuvars silindirin termal izolasyonunu gerektirecek kadar yüksektir. Bu izolasyon, Şekil 2.1'de oklarla belirtildiği gibi borunun duvarlarına teğet olacak şekilde argon akışıyla sağlanır. Teğet akış, radyal olarak plazma merkezini ve içteki tüpün iç duvarlarını soğutur. ICP-OES ve ICP-MS tekniklerinin her ikisinde de örnek, plazma alevinde 6000-10000 K'de atomize edilir ve uyarılır (Şekil 2.2). Önce ICP-OES ile emisyon spektrumu görüntülenir.

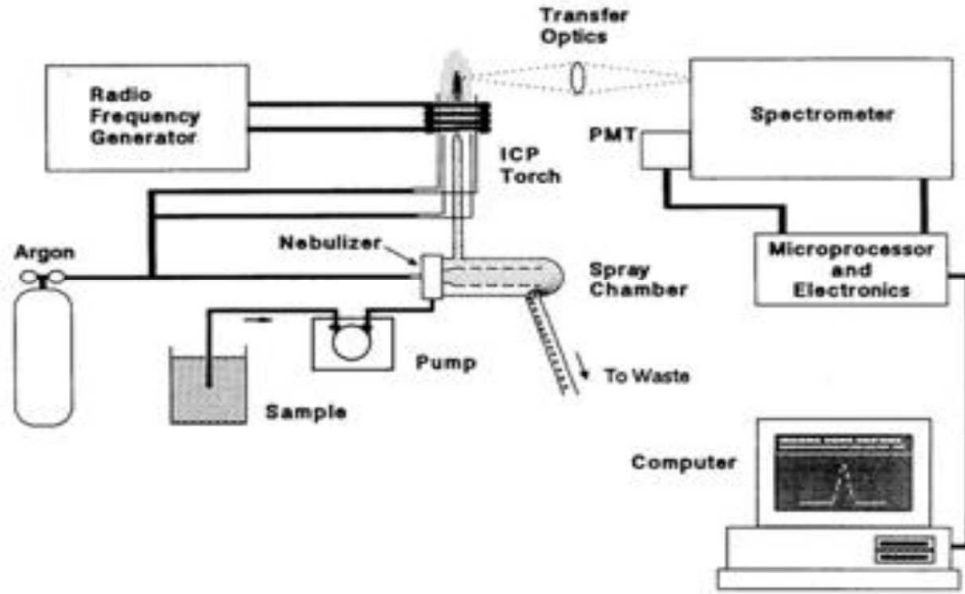


Şekil 2.2. Plazmanın görünüşü [66].

b) Numune verme

Numune çözeltisi bir peristaltik pompa yardımıyla sisleştiriciye gönderilir ve argon ile çarpıştırılarak aerosol üretilir. Küçük çaplı damlacıklar taşıyıcı argon ile en içteki ince borudan hamlaça ulaşır; atomlaşma/iyonlaşma gerçekleşir. Plazmaya sıvı ve katı numuneleri vermek için diğer bir yöntem, elektrotermal buharlaştırmadır. Sonra buhar plazma hamlacına bir argon akışıyla taşınır. Gözlenen sinyal, elektrotermal

atomik absorpsiyonda elde edilen piklere benzer geçişli bir pikdir. Bir plazma hamaç ile, eşleşmiş elektrotermal buharlaştırmada çok az miktarda numunelerle çalışılabilir ve geniş, doğrusal bir çalışma aralığında düşük gözlenebilme sınırlarına ulaşılabilir, girişimler önlenebilir ve ICP ile çoklu element tayini mümkün olabilir (Şekil 2.3).



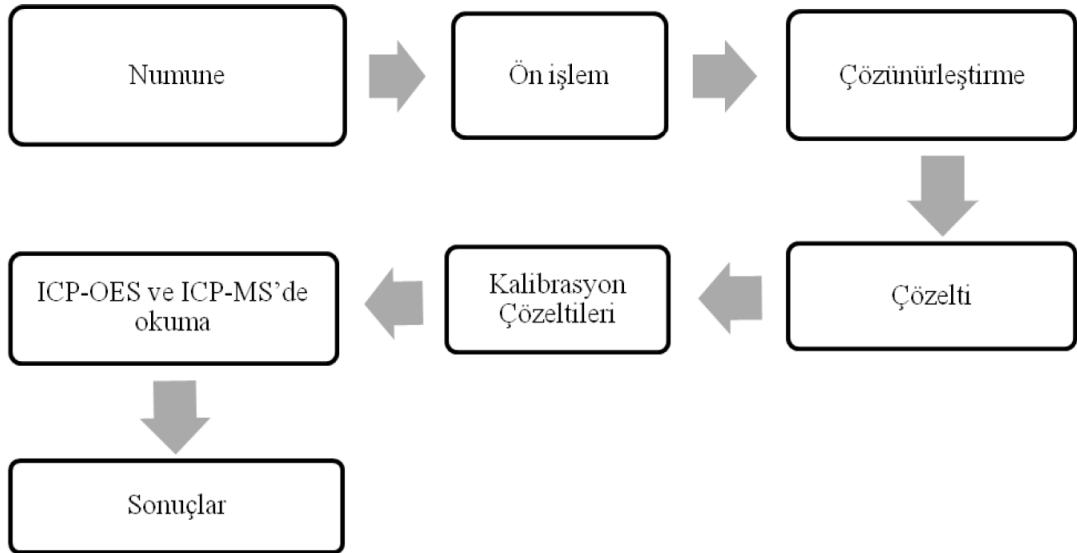
Şekil 2.3. ICP-OES cihazı şematik gösterimi

Plazmada oluşan atom ve iyonların emisyonu değişik şekillerde ölçülebilir. ICP-OES cihazları, sırayla ölçüm yapanlar (sequential) ve aynı anda ölçüm yapanlar (simultaneous) olmak üzere iki bölümde incelenebilir. Sequential cihazlarda monokromatörle birlikte sadece bir detektör (fotoçoğaltıcı tüp) vardır. Seçilen dalgaboyundaki ışık detektöre gönderilir ve ışın şiddeti ölçülür. Bu işlem her bir element veya daha doğru bir deyişle her bir dalgaboyu için tekrarlanır. Simultane cihazlarda ise tüm ışın emisyonları aynı anda ölçülür. Bir tip cihazda çok sayıda fotoçoğaltıcı detektör, önceden belirlenmiş dalgaboylarında ölçüm yapmak için sabit slitlerin arkasına monte edilmiştir. Diğer tip simultane cihazlar ise echelle monokromatör ve iki boyutlu yük-enjeksiyon detektörlü bir tasarıma sahiptir. Tüm ışınlar tek detektör ile ölçülür. Simultane cihazların bir avantajı da analizlerde iç standart kalibrasyonu yapılmasına imkan vermesidir.

ICP-OES cihazlarında ölçüm dikey (vertical) veya yatay (axial) plazma pozisyonlarında yapılabilir. ICP teknolojisinin ilk yıllarında emisyonların plazmanın yan tarafında gözlemlendiği radyal tekniği kullanılmaktaydı. Daha sonraları, plazmanın torch eksenine doğrultusunda izlenebildiği aksiyal sistemler geliştirildi. Yatay plazmanın dikey plazmaya üstünlüğü daha duyarlı sonuçlar vermesi, düşük konsantrasyonlarda (ppb) ölçüm yapılması, dedeksiyon limitleri iyi olmasıdır [66].

c) ICP-OES cihazı ile örneklerin analiz basamağı

ICP-OES cihazıyla metal analizinde gerçekleştirilen işlem basamakları Şekil 2.4'de verilmiştir.



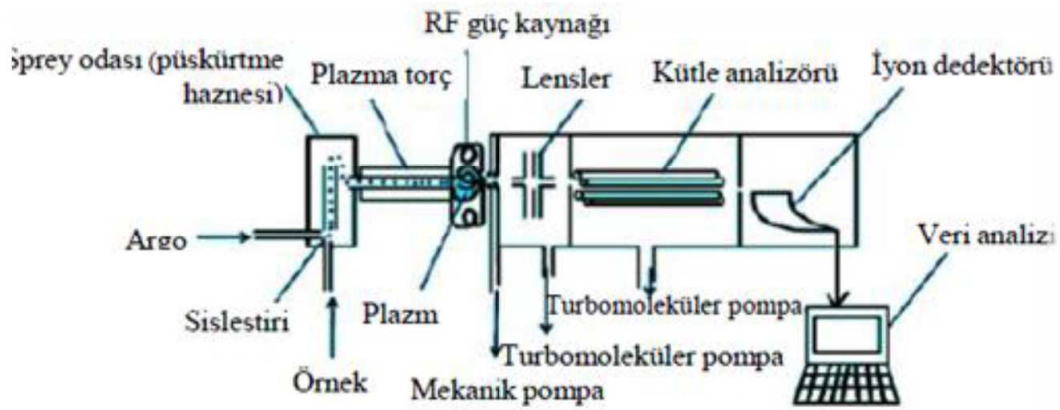
Şekil 2.4. ICP-OES cihazında analiz basamakları

Öncelikle analiz edilecek olan ilaç numuneleri cihaza uygun hale getirilmelidir. Bunun içinse uygun ön işlem metodu seçilerek çözünürleştirme işlemi gerçekleştirilir. Bu çalışmada numunelere üç ayrı ön işlem metotları da uygulanmıştır ve karşılaştırmalar yapılmıştır. Daha sonra elementlerin miktar tayini için öncelikle cihazlarda miktar tanımlaması yapılması gerekmektedir. İstenilen ppm'de ya da ppb'de çözeltiler hazırlanarak cihaz kalibre edilir. Plazmada oluşan atom ve iyonların emisyonu ölçülür. Yani seçilen dalga boyundaki ışık dedektöre gönderilir ve ışın

şiddeti ölçülür. Bu işlem her bir element veya dalgaboyu için tekrarlanır. Böylece örnek içerisindeki element derişimleri ölçülebilir.

2.4.2. İndüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometrisi (ICP-MS)

Metal tayinlerinde, AAS ve ICP-OES'ye son yıllarda çok önemli bir teknik eklenmiştir; indüktif eşleşmiş plazma kütle spektrometrisi (ICP-MS). Bu teknik, AAS ve ICP-OES'nin tayin becerilerinin çoğuna ve daha fazlasına sahiptir; çok daha geniş çalışma aralığı, daha duyarlı ölçümler, periyodik tablodaki elementlerin büyük çoğunluğunun tayin edilebilmesi gibi avantajları vardır. Ayrıca, atomların izotop oranları ölçülebilir ve bunların yorumları kolayca yapabileme üstünlüğü vardır.



Şekil 2.5. ICP-MS Cihazı şematik gösterimi

Bir ICP-MS cihazı başlıca şu bölümlerden oluşur; Sisleştirmesi, ICP, Aktarıcı Koniler, İyon Lensleri, Kütle Analizörü, Detektör (Şekil 2.5). Atomik emisyon spektroskopisinin aksine ICP-MS spektrofotometrelerinde örnekler cihaza katı veya sıvı olarak verilebilmektedir. Sıvı numune peristaltik pompa yardımıyla klasik ya da ultrasonik bir sisleştirmeye gönderilir ve aerosol haline dönüştürülür. Oluşan aerosol taşıyıcı gaz (Ar) ile ICP'ye taşınarak atomlaştırılır/iyonlaştırılır. Periyodik tablodaki bir çok elementin birinci iyonlaşma enerjisi argonun birinci iyonlaşma enerjisinden (15,76 eV) küçük olduğu için elementler plazmada (+1) yüklü iyonlar oluşturur. Cihazın MS kısmında örnekleyici (sampler) ve sıyırıcı (skimmer) olmak üzere su soğutmalı iki aktarıcı koni vardır. İyonlar bu koniler tarafından atmosferik basınçtaki

ICP'den yüksek vakum bölgesine çekilir. İyon lens sistemi ile odaklanan iyonlar kütle analizörüne gönderilir ve burada m/z oranlarına göre ayrılır. Kuadrupol kütle analizörü belirli bir zaman diliminde sadece belirli m/z oranına sahip iyonların geçişine izin verir ve bu iyonların sayısı elektron çoğaltıcı tüp detektörü ile sırayla ölçülür [66].

Burada kullanılan plazma ICP-OES'de kullanılan argon plazma ile aynıdır. Kütle analizörü olarak kuadrupol kütle analizörü kullanılır (Şekil 2.6). Bu tip analizörlerin en büyük avantajı çok hızlı tarama yapma kapasiteleri ve diğer kütle analizörlerine göre nispeten ekonomik olmalarıdır. Tüm spektrum saniyeler içinde elde edilebilir. Öyle ki (kuadrupol)-ICP-MS cihazları, m/z ölçümlerini sırayla yapmalarına karşın aynı anda yap yormuş gibi hızlı sonuç verirler. Bu hızlı tarama özelliği iç standart kalibrasyonuna imkan verdiği için ayrıca önemlidir.



Şekil 2.6. Temizleme için MS spektrometresinden çıkan bir kuadrupol

Günümüzde ICP-MS cihazları, AAS ve ICP-OES kadar olmasa da birçok laboratuarda yerini almıştır. ICP-MS'in yaygınlaşmasının nedenlerini kısaca sıralamak gerekirse şunlar söylenebilir; ilk neden tekniğin yüksek duyarlılığıdır. Bir çok element için tayin sınırı ng/L 'nin altındadır. İzotop oranlarının belirlenmesine olanak tanınması, multielement tayinlerde kullanılabilmesi, kalitatif bilgi vermesi gibi nedenler ICP-MS'in üstünlüklerindedir. Ayrıca çalışma aralığı diğer metotlara oranla çok geniştir. Birçok element için ng/L – mg/L arasında kalibrasyon grafikleri çizilebilmektedir. Diğer atomik spektrometrik tekniklerde de kullanılan numune

verme sistemleri (her çeşit sisleştirciler, hidrür oluşturma, elektrotermal atomlaştırma, lazer aşındırma vb.) ICP-MS ile de kullanılabilir.

ICP-MS silah sanayisi (mermi atıkları, madde karakterizasyonu, zehirler), gıda sanayi, çevre (içme suyu, deniz suyu, atık su, katı atıklar, toprak, çamur), klinik (kan, saç, idrar), jeoloji (toprak, kaya) alanlarında kullanılmaktadır.

2.5. Literatürde Yapılan Çalışmaların Özeti

Marrero ve ark. [67] yaptıkları çalışmada; Arjantin ve USA'den satın alınmış farklı markalardaki diyet takviyelerinde 15 element (As, Bi, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Se, V ve Zn) tayin etmişlerdir. Takviyeler, optimize edilmiş mikrodalga sistemi kullanılarak HNO₃ ve H₂O₂ ile parçalanmıştır. Bu toplam element tayini için ICP-OES cihazı seçilmiş ve multivitamin/mineral förmülünde, vitaminler ve minerallerde, Selenyum takviyesinde, kolesterol kontrolü tabletlerde, erkekler için olan takviyelerde olmak üzere 5 farklı tabletlerde genel yaklaşım test edilmiştir. Arsenik, Cd ve Pb konsantrasyonları tüm analiz örneklerinde saptama sınırlarının altında olmuştur. İncelenen diğer elementlerin konsantrasyonları ise ticari marka analizde büyük bağımlı değişkenlik göstermiştir. Bu çalışma bu metal içeriklerinin diyet takviyelerindeki etiket üreticileri bulunan değerlere katıldığını ispatlamıştır.

Avula ve ark. [68], çocuklar, erkekler, kadınlar, yetişkinler için 35 farklı ticari multivitamin/mineral takviyelerini kapsül, sıvı ve toz formlarında çarpışma/reaksiyon hücresi ICP-MS (CRC/ICP_MS) ile inorganik element kompozisyonlarının (Na, Mg, K, Ca, V, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, As, Se, Cd, Hg, ve Pb) içeriği analiz etmişlerdir. Numuneler, kapalı kap mikrodalga sistemi kullanılarak nitrik asit ve hidroklorik asit (8:2) ile parçalandırılmıştır. Uygulanan metodun geçerliliği, standart referans madde analizi ile değerlendirilmiştir. Özel olarak vurgu, etikette iddia edilen ile her analiz elementini hesaplanan günlük alımının sapma yüzdesine verilmiştir. Buna ek olarak toksik elementler için hesaplanan günlük alım değerleri düzenleyici kılavuz değerleri ile karşılaştırmışlardır.

Krejcova ve ark. [69] çalışmalarında; multivitamin preparatlarında ve diyet takviyelerde majör, minör ve iz elementlerin belirlenmesi için ICP-MS ve ICP-OES metodlarını kullanmışlardır ve sonuçlara göre çok değişkenli istatistiksel yöntemler kullanılarak sınıflandırılmışlardır. Makroelementler (Na, K, Ca, Mg, P), mikroelementler (Cu, Fe, Mn, Zn, Se, Cr) ve toksik elementler (As, Cd, Pb, Ni, V) saptama sınırlarıyla hem de elementel analizin amacı için diğer yöntem parametrelerinin uygunluğu saptanmıştır. Fizyolojik olarak önemli elementler ve içerikleri aşağıdaki gibi bulunmuştur: Ca 560–196,000, Mg 308–70,300, Na 289–74,000, Cu 28–1460, Zn 2.1–25,000, Fe 115–39,400, Mn 28–1860, Cr 0,486–26,6, Mo 0,0418–9,88 ve Se 0,395–161.

Soriano ve ark. [70], multivitamin/multimineral tablet örneklerinde Cu, Fe, Mn and Zn'nin belirlenmesinde metodoloji geliştirmeyi amaçlamışlardır. Bunu da seyreltilmiş hidroklorik asit çözeltisiyle analitin ekstraksiyonundan sonra Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrometesi (FAAS) kullanılmıştır. Bazı parametreler ekstraksiyon sürecini etkilemiştir örneğin, asit ekstraksiyonunun konsantrasyonu ve saflığı, ultrasonik ya da manyetik karıştırma, ekstraksiyon süresi, numune bileşimi. Elde edilen sonuçlar Fe, Mn ve Zn 1 mol/L HCl çözeltisiyle daha sonra ultrasonik ya da manyetik karıştırıcıda 5 dakika bekletilip kolayca ölçüldüğünü göstermiştir. Geliştirilen metodoloji, 7 ticari multivitamin/multimineral tabletlerinde Cu, Fe, Mn ve Zn'nin belirlenmesinde uygulanmıştır.

Deveci [71], yüksek lisans tezinde atık sulardan etkilenen toprak ve bu topraklarda yetişen patlıcan, biber ve domates sebzelerinin yenen kısımlarında ICP-MS cihazını kullanarak Cu, Co, Mn, Zn eser elementleri ve Fe'in konsantrasyonlarını tayin etmek ve potansiyel sağlık risklerini yorumlamayı amaçlamıştır. Toprak örnekleri atık sularla sulanan 13 noktadan toplanmış ve ortalama Cu, Co, Mn, Zn ve Fe seviyeleri sırasıyla, 79,78, 13,57, 40,52, 506,31 mg kg⁻¹ ve % 2.06 olarak tayin edilmiştir. Bir de bu alanlarda atık sularla yetiştirilen sebze örnekleri 17 köy/nokta'dan toplanmış ortalama Cu, Co, Mn, Zn ve Fe konsantrasyonları sırasıyla, 15,98, 0,33, 19,53, 29,84 ve 154,51 mg kg⁻¹ olarak tayin edilmiştir.. Metal konsantrasyonları Türk Gıda

Kodeksi ve WHO/FAO'nun gıda bitkileri için izin verdiği sınır konsantrasyonları ile karşılaştırmıştır.

Pytlakowska ve ark. [72], Polonyo'da tıbbi amaçla kullanılan bitkilerde 12 mineral ve iz elementlerin tayinini ICP-OES cihazı ile gerçekleştirmişlerdir. Sonuçları sertifikalı referans maddelerle karşılaştırmışlardır.

Froes ve ark. [73] yaptıkları çalışmada meyve suyunda bulunan içlerinde Cu, Fe, Mn ve Zn olmak üzere 13 tane mikro elementin, ön çözünürleştirme yapmadan ICP-OES ile doğrudan tayinini geliştirmişlerdir. ICP-OES ile çalışma koşullarını plazma gaz akışını (Ar) 15 L/min, yardımcı gaz akışı (Ar) 0,2 L/min ve sisleştirici gaz akışını (N₂) 0,4-1,1 L/min olarak belirlemişlerdir. Analiz verilerine F ve t testi uygulamışlar ve %95 güven seviyesinde bütün elementler için korelasyon katsayısını 0,99 dan yüksek bulmuşlardır. % geri kazanım değerleri ise 80 ile 120 aralığında bulunmuştur.

Cheng ve ark. [74] yaptıkları çalışmada arpa da Fe, Mg, Ca ve Mn iz elementlerini ve Pb, Cd, Cu ve Zn ağır metallerini ICP-OES ile belirlemişlerdir. Arpa örneklerini HNO₃ ve HClO₄ yaş yakma yöntemiyle hazırlamışlardır. Yöntemden elde edilen % geri kazanım sonuçları %3,3'den daha az standart sapma ile %91,0 ile %106,3 arasında olduğunu göstermiştir. Bu elementler için üçer dalga boyunda çalışılmış ve en iyi r² değerine sahip olan dalga boyları seçmişlerdir. Bunları Fe, Mg, Ca, Mn, Cu ve Zn için sırasıyla 238,204; 279,533; 396,847; 257,610; 324,754; 213,857 olarak belirlemişlerdir. ICP-OES yönteminin arpada eser elementlerin eş zamanlı tayininde duyarlı, hızlı, basit ve doğruluğunun yüksek bir yöntem olduğu sonucuna ulaşmışlardır.

Bakırcıoğlu ve ark. [75] çalışmalarında, plastik ambalajlı ve teneke kaplardaki peynir örneklerinde bazı metal düzeylerinin kuru ve yaş yakma ve mikrodalga çözünürleştirme sistemleriyle ICP-OES cihazı kullanılarak belirlemişlerdir. En iyi çözünürleştirme yöntemini bulmak için elde edilen iz elementlerin konsantrasyonları arasında ilişki kurmuşlardır. Sonuç olarak peyniri paketlemede kullanılan materyalin metallerin konsantrasyonunu belirlemede önemli rol oynadığını belirtmişlerdir.

Altundađ ve ark. [76] yaptıkları çalışmada bazı kurutulmuş meyvelerde iz elementlerin (Ba, Pb, Cd, Mn, Cr, Co, Ni, Cu, Zn, Sr ve Fe) miktarlarını tayin etmişlerdir. İz elementler, kuru, yaş ve mikrodalga yöntemleri uygulanarak ICP-OES cihazıyla analiz etmişlerdir. Elde edilen sonuçları literatür bilgileriyle karşılaştırmışlardır. alışmalarının sonucunda analitiksel parametreler göstermiştir ki mikrodalga ile çözünürleştirme yöntemi kullanıldığında daha iyi sonuçlar elde edilmiştir.

BÖLÜM 3. MATERYAL VE METOT

3.1. Tez Çalışmasında Kullanılan Materyaller

3.1.1. Kullanılan kimyasallar

Tez çalışmasında kullanılan kimyasallar aşağıda sıralanmıştır.

- Nitrik asit (HNO_3 , MERCK) %65'lik,
- Hidrojenperoksit (H_2O_2 , MERCK) %30'lik,
- Hidroklorik asit (HCl , MERCK) %37'lik,
- Ultra saf su,
- Multielement Standart Solution IV for ICP-OES.

3.1.2. Kullanılan cihazlar ve cam malzemeler

Tez çalışmasında kullanılan cihazlar ve cam malzemeler aşağıda sıralanmıştır.

- ICP-OES Cihazı (SPECTRO ARCOS)
- Hassas terazi (OHAUS)
- Porselen kroze
- Kuru yakma ünitesi
- Desikatör
- Mikrodalga yakma ünitesi (Milestone)
- Vorteks karıştırıcı (MX-S DRAGONLAB)
- Ultra saf su cihazı (MILLIPORE)
- Otomatik mikropipet (EPPENDORF)
- Mavi bant süzgeç kağıdı (MACHEREY NAGEL)

- Farklı hacimlerde balon joje, erlen, beher, analitik huni ve mezürler (ISOTHERM)

3.2. Numunelerin Hazırlanması

Numunelerin çözelti haline getirilmesi için çeşitli parçalama yöntemleri vardır. Bu yöntemlerden element düzeylerinin en doğru ve tekrarlanabilirliği yüksek olan parçalama yöntemini seçmek, bunun yanında kullanılan aletin duyarlılığı yüksek olması gerekir. Bu çalışmada yaş yakma metodu ile çözünürleştirme, kuru yakma metodu ile çözünürleştirme, mikrodalga enerji ile çözünürleştirme yöntemleri kullanılmıştır. İki farklı ilaca da bu üç parçalama tekniği uygulanmıştır.

3.2.1. Kuru yakma ile çözünürleştirerek numune hazırlama

1,3640 g Supradyn porselen krozeye alınmıştır ve 16 saat 450 °C'de fırında bekletilmiştir. Süre sonunda fırından alınan kroze desikatörde soğutulmuştur. Daha sonra içine 5 ml derişik HNO₃ eklenip 6 saat bekletilmiştir. 6 saat sonra ilaç çözeltisi mavi bant süzgeç kâğıdı kullanılarak temiz balon jojelere süzölmüştür. Elde edilen çözelti 100 ml'ye tamamlanmıştır. Daha sonra çözeltiden 10 ml alınıp tekrar 100 ml'ye tamamlanmıştır. Çözelti; nitrik asitte iyice yıkanan kurutulmuş 15 ml'lik örnek tüplerine konularak otosamlere yerleştirilmiştir. Böylece analitik cihazımızda eser element bakılabilecek Supradyn çözeltisi hazır hale getirilmiştir. Daha sonra 1,5761 g Pharmaton porselen krozeye alınıp aynı işlemler Pharmaton' a uygulanmıştır.

3.2.2. Yaş yakma ile çözünürleştirerek numune hazırlama

Yaş yakma için katı haldeki Supradyn'den 1,3403 g ve Pharmaton'dan ise 1,5588 g tartılmıştır. 3 M HNO₃/HCl'den 2/6 oranında eklenmiş ve 120 °C'ye ayarlanmış manyetik karıştırıcı ısıtıcıda yaklaşık 30 dk beklenerek ilacın çözünmesi sağlanmıştır. Daha sonra soğumaya bırakılmıştır. İki ilaç çözeltisi de mavi bant süzgeç kâğıdı kullanılarak temiz balon jojelere süzölmüş ve 100 ml'ye

tamamlanmıştır. Daha sonra çözeltilerden 10 ml alınıp tekrar 100 ml'ye tamamlanmıştır. Numuneler ICP-OES cihazında Mn, Fe, Cu, Zn metallerinin ölçümünü almak için hazır hale getirilmiştir.

3.2.3. Mikrodalga ile çözünürleştirerek numune hazırlama

Bir tablet Supradyn ilacı kırılarak iki ayrı mikrodalga numune kaplarından birincisine 0,7140 g, ikincisine 0,630 g konulmuştur (Şekil 3.1). Her iki kaba ayrı ayrı 5 ml derişik HNO_3 + 1 ml H_2O_2 eklenmiştir. Pharmaton tableti ise bölünerek birinci kaba 0,3950 g ikinci kaba ise 0,6771 g konulmuştur. Her iki kaba ayrı ayrı 5 ml derişik HNO_3 + 1 ml H_2O_2 eklenmiştir. Daha sonra kaplar, kapakları iyice kapatıldıktan sonra mikrodalga ünitesine yerleştirilmiştir. Cihazın sıcaklığı ilk 20 dk 200°C 'ye çıkarılmış sonraki 20 dk ise 200°C 'de sabit tutulmuştur. Süre bitiminde mikrodalga ünitesinden alınan numuneler mavi bant süzgeç kâğıdıyla süzölmüştür ve 100 ml'ye tamamlanmıştır. Daha sonra bu çözeltilerden 10 ml alınıp tekrar 100 ml'ye tamamlanmıştır. Böylece analitik cihazımızda eser element bakılabilecek Supradyn ve Pharmaton çözeltileri hazır hale getirilmiştir.



Şekil 3.1. Mikrodalga çözöndürme cihazı

3.3. Kör Çözeltinin Hazırlanması

Kör, cihazın optik ayarlarının yapılması amacıyla kullanılan çözeltilerdir. Kör çözeltisi olarak distile su veya reaktifin kendisi kullanılır. Bazı ölçümlerde numune körü de kullanılabilir. En sık kullanılan distile su köründür. Yapılan çalışmada da distile su körü kullanılmıştır. Okuma yapılacak olan kaplara distile su konularak hazırlanmıştır. Kör için cihazda üç kez okuma yapılmıştır.

3.4. Kalibrasyon (Standart) Çözeltilerin Hazırlanması

Her bir metal için 1000 ppm'lik multielement standart çözeltisi kullanıldı. Gerekli hesaplamalar yapılarak 1000 ppm'lik standart stok çözeltisinden 8 adet 100 ml'lik balon jöjelere sırasıyla 0,01 ml, 0,025 ml, 0,05 ml, 0,1 ml, 0,2 ml, 0,5 ml, 0,8 ml ve 1 ml konuldu ve %3,6'lık HNO₃ ile çizgisine tamamlandı. Sonuç olarak; 0,1 ppm, 0,25 ppm, 0,5 ppm, 1 ppm, 2 ppm, 5 ppm, 8 ppm ve 10 ppm'lik 8 farklı konsantrasyonda standart çözeltiler elde edilmiştir.

$$0,1 \text{ ppm'lik çözelti için: } M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2 \quad (3.1)$$

$$1000 \text{ ppm. } V_1 = 0,1 \text{ ppm} \cdot 100 \text{ ml}$$

$$V_1 = 0,01 \text{ ml} = 10 \mu\text{l}$$

$$0,25 \text{ ppm'lik çözelti için: } M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$1000 \text{ ppm. } V_1 = 0,25 \text{ ppm} \cdot 100 \text{ ml}$$

$$V_1 = 0,025 \text{ ml} = 25 \mu\text{l}$$

$$0,5 \text{ ppm'lik çözelti için: } M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$1000 \text{ ppm. } V_1 = 0,5 \text{ ppm} \cdot 100 \text{ ml}$$

$$V_1 = 0,05 \text{ ml} = 50 \mu\text{l}$$

$$1 \text{ ppm'lik çözelti için: } M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$1000 \text{ ppm. } V_1 = 1 \text{ ppm} \cdot 100 \text{ ml}$$

$$V_1 = 0,1 \text{ ml} = 100 \mu\text{l}$$

$$2 \text{ ppm'lik çözelti için: } M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$1000 \text{ ppm. } V_1 = 2 \text{ ppm} \cdot 100 \text{ ml}$$

$$V_1 = 0,2 \text{ ml} = 200 \mu\text{l}$$

5 ppm'lik çözelti için: $M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$

1000 ppm. $V_1 = 5 \text{ ppm} \cdot 100 \text{ ml}$

$V_1 = 0,5 \text{ ml} = 500 \mu\text{l}$

8 ppm'lik çözelti için: $M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$

1000 ppm. $V_1 = 8 \text{ ppm} \cdot 100 \text{ ml}$

$V_1 = 0,8 \text{ ml} = 800 \mu\text{l}$

10 ppm'lik çözelti için: $M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$

1000 ppm. $V_1 = 10 \text{ ppm} \cdot 100 \text{ ml}$

$V_1 = 1 \text{ ml} = 1000 \mu\text{l}$

Farklı konsantrasyonlardaki standart çözeltiler nitrik asitte iyice yıkayıp kurutulan 15 ml'lik örnek tüplerine konularak otosamlere yerleştirilmiştir. Cihazda yapılan okuma ile her bir konsantrasyona karşı elde edilen intensity okunarak kalibrasyon eğrisi cihaz tarafından oluşturulmuştur (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Analizde kullanılan ICP-OES cihazı

BÖLÜM 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. ICP-OES Cihazında Elde Edilen Analiz Sonuçları

Yapılan çalışmada kullanılan ICP-OES cihazının çalışma parametreleri Tablo 4.1’de ve çalışılan dalga boyları Tablo 4.2’de verilmiştir.

Tablo 4.1. ICP-OES Cihazının çalışma parametreleri

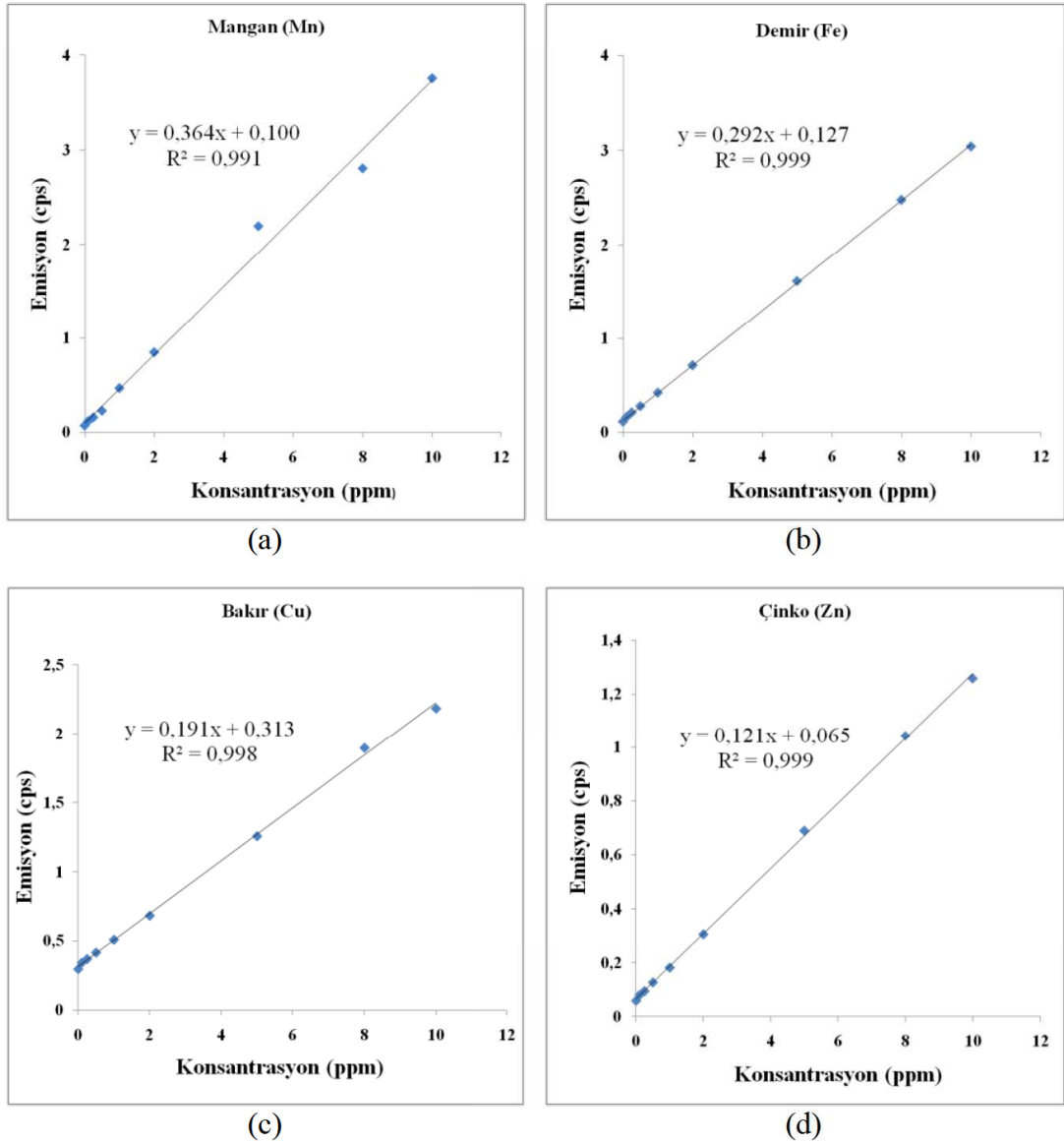
Parametre	Değer
Görüntüleme yüksekliği (mm)	12
Dalgaboyu	nm
RF Güç (W)	1450
Sprey odası	Siklonik
Taşıyıcı	Modifiye edilmiş Lichte
Taşıyıcı gaz akış hızı (L/dk)	0,8
Plazma Tork	Kuartz, sabit 3,0 mm enjektör tüp
Plazma gaz akış hızı (L/dk)	13
Yardımcı gaz akış hızı (mL/dk)	0,7
Örnek alım hızı (mL/dk)	2,0
Numune pompa hızı (rpm)	25

Tablo 4.2. ICP-OES Cihazında çalışılan dalga boyları

Çalışılan dalga boyları	nm
Fe	259,941
Mn	257,611
Zn	213,856
Cu	324,754

4.1.1. Elde edilen kalibrasyon grafikleri

Elementlerin miktar tespiti için öncelikle cihazlarda miktar tanımlaması yapılması gerekmektedir. Geniş derişim aralığı kullanıldığında doğrusallıktan sapma görülür. Cihaza örnekler verilmeden önce hazırlanan standartlarla cihazda tayini yapılacak element için kalibrasyon grafiklerinin oluşturulması gerekmektedir. Tayini yapılacak her element için kalibrasyon aralıkları cihaz hafızasında verilmiştir ayrıca çalışma şartlarına göre operatör tarafından düzenlenebilmektedir. Şekil 4.1' de her element için elde edilen kalibrasyon grafikleri gösterilmiştir.



Şekil 4.1. Mangan (a), Demir (b), Bakır (c), Çinko (d) için elde edilen kalibrasyon grafikleri

4.1.2. Elde edilen analitik değerler

Bir analitik yöntemin performansı genellikle gözlenebilme sınırı ile ölçülür. ICP-OES'in en büyük avantajı çok düşük gözlenebilme sınırlılığıdır. Çeşitli element için katrilyonda 1 ve birçok element için ise trilyonda 1'dir. Gözlenebilme sınırında tekrarlanabilirlik çok düşük olduğundan, gerçek tayinler için sınır LOD değerinin bazen 5, bazen de 10 katı olarak alınır ki, bu değere tayin sınırı adı verilir. Tablo 4.3.'de Mn, Fe, Cu ve Zn için oluşturulan kalibrasyon grafiklerinden elde edilen verilere göre gözlenebilme Sınırları (Limit of Detection, LOD) ve Tayin Sınırı (Limit of Quantitation, LOQ) değerleri verilmiştir. LOD, $X_{k\ddot{o}r} + 3.SD$ (Standart Sapma) ve $3.SD/eğim$ formülleri kullanılarak; LOQ ise $X_{k\ddot{o}r} + 10.SD$ ve $10.SD/eğim$ formülleri kullanılarak hesaplanmıştır.

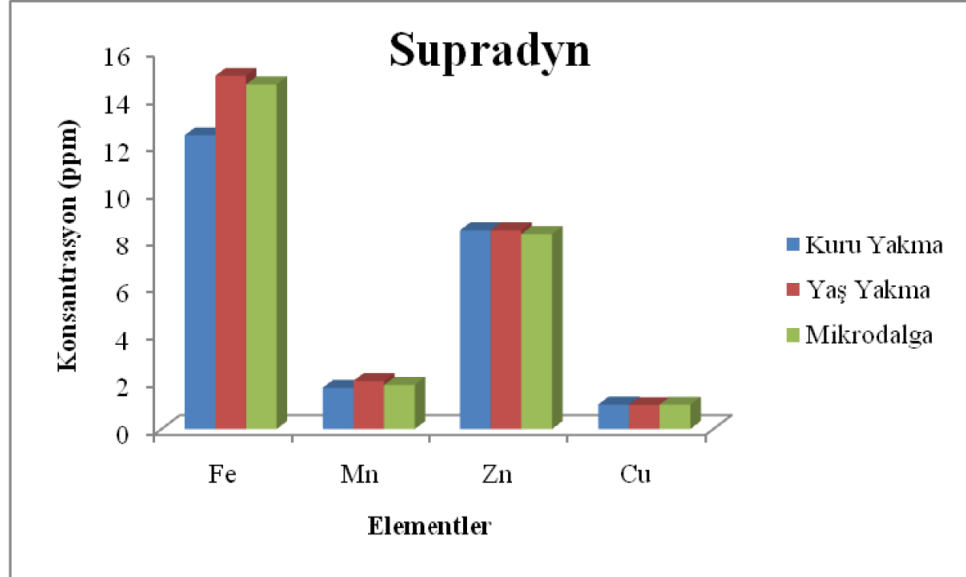
Tablo 4.3.'de ayrıca korelasyon katsayıları ve grafiğin doğru denklemi de verilmiştir. Korelasyon katsayısı, değişkenlerin yönü, etkileşimlerin nasıl olduğu hakkında bilgi verir. İki değişkenin zaman içinde birlikte aynı yönde veya ters yönde değiştiğini ortaya koyan bir katsayıdır. Korelasyon katsayısının 1'e yakın olması istenir. Yapılan çalışmada bütün metaller için elde edilen korelasyon katsayısı 1'e yakın olduğu tespit edilmiştir. Bu da değişkenler arasında pozitif bir ilişki olduğunu göstermektedir. Kalibrasyon grafiklerine ait analitik parametreler Tablo 4.3'de verilmiştir.

Tablo 4.3. Kalibrasyon grafiklerine ait analitik parametreler

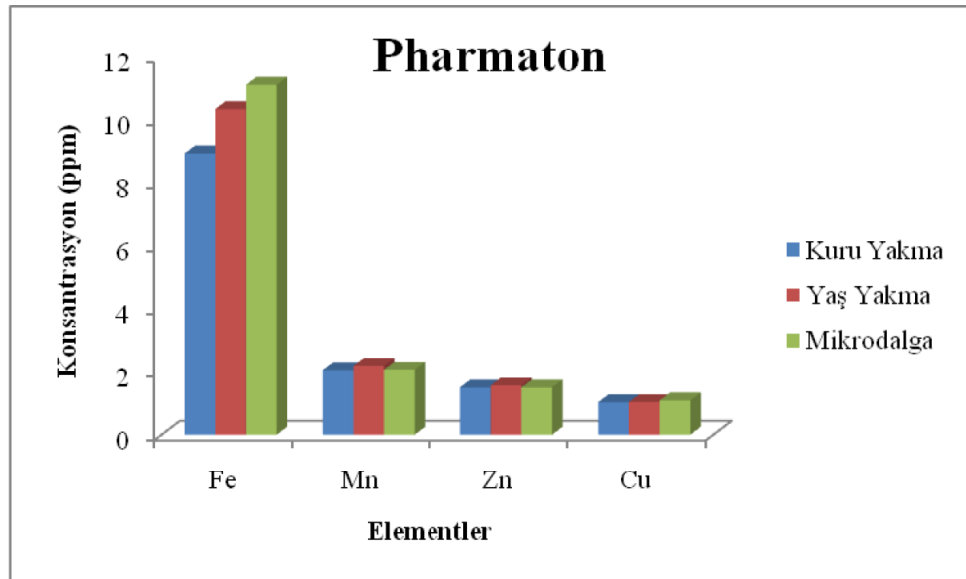
Metaller	SD _{blank} (ppm)	LOD (ppm)	LOQ (ppm)	R ²	Doğru Denklemi
Fe	0,012	0.037	0.121	0.99995	y=0,292x + 0,127
Mn	0,010	0,028	0.093	0.99987	y=1,065x + 0,122
Zn	0,009	0,040	0,103	0.99974	y=0,121x + 0,065
Cu	0,002	0,031	0,104	0.99938	y=0,191x + 0,313

ICP-OES cihazında metallerin konsantrasyonları ölçülürken cihaz kendiliğinden üç ölçüm yapmaktadır (n=3). Daha sonra bu üç ölçümün ortalaması alınır ve standart sapma hesaplanır. Supradyn ve Pharmaton preparatları için uygulanan üç farklı

çözünürleştirme yöntemlerine göre elde edilen konsantrasyonlar sunulmuştur (Şekil 4.2 ve 4.3).



Şekil 4.2. Supradyn multivitaminindeki metallerin konsantrasyonları



Şekil 4.3. Pharmaton multivitaminindeki metallerin konsantrasyonları

İlaçların prospektüsünde yer alan gerçek değerlerle ICP-OES’de yapılan ölçümler sonucu üç farklı yöntemle elde edilen değerler verilmiş ve geri kazanım değerleri hesaplanmıştır. Analiz sonucunda her iki ilaçta da elde edilen verilerle gerçek sonuçlar arasında büyük bir farkın olmadığı gözlemlenmiştir. Tablo 4.4, 4.5 ve

4.6’da sırasıyla kuru yakma, yaş yakma ve mikrodalga çözündürme sisteminde elde edilen geri kazanımlar verilmiştir. Tüm metallerde geri kazanımın %85’in üzerinde olduğu görülmüştür ve en yüksek geri kazanım %115 olarak bulunmuştur. En iyi geri kazanım ise mikrodalga yöntemi kullanılarak %100,2’yle Pharmaton tabletinde bulunan çinkodur. ICP-OES cihazında ölçüm sonucu elde edilen üç değer ortalaması $X \pm SD$ şeklinde verilmiştir.

Tablo 4.4. Kuru yakma yöntemi ile çözünürleştirme sonuçlarına göre geri kazanım değerleri (n=3)

Element	Supradyn			Pharmaton		
	Hesaplanan Sonuç (ppm)	Gerçek Sonuç (ppm)	Geri Kazanım (%)	Hesaplanan Sonuç (ppm)	Gerçek Sonuç (ppm)	Geri Kazanım (%)
Demir (Fe)	12,460±0,243	14,00	89,0	8,930±0,058	10,50	85,0
Mangan (Mn)	1,747±0,066	1,80	97,0	2,045±0,066	2,00	102,3
Çinko (Zn)	8,456±0,658	8,00	105,7	1,504±0,06	1,50	100,2
Bakır (Cu)	1,035±0,057	0,90	115,0	1,034±0,045	1,00	103,4

Tablo 4.5. Yaş yakma yöntemi ile çözünürleştirme sonuçlarına göre geri kazanım değerleri (n=3)

Element	Supradyn			Pharmaton		
	Hesaplanan Sonuç (ppm)	Gerçek Sonuç (ppm)	Geri Kazanım (%)	Hesaplanan Sonuç (ppm)	Gerçek Sonuç (ppm)	Geri Kazanım (%)
Demir (Fe)	14,967±0,314	14,00	107,0	10,345±0,031	10,50	98,5
Mangan(Mn)	2,034±0,061	1,80	113,0	2,181±0,007	2,00	109,0
Çinko (Zn)	8,465±0,263	8,00	106,0	1,567±0,023	1,50	104,5
Bakır (Cu)	1,014±0,010	0,90	112,6	1,037±0,013	1,00	103,7

Mikrodalga yöntemi ile çözünürleştirmede her iki ilacında bir tableti mikrodalga kaplarına bir fazla gelmiştir ve çözünürleştirme sırasında mikrodalga cihazında taşma gerçekleşmiştir. Bu yüzden bir tablet iki ayrı parçaya bölünmüştür ve iki ayrı kapta çözünürleştirilmiştir. İşlem bitiminde iki kap aynı balon jodede birleştirilip ICP-OES cihazında okutulmuştur. İki ilacında bu bölünme aşamasında eser miktarda kayıplar gerçekleşmiştir. Bu kayıplardan gelebilecek hataları önlemek için içerikte bulunan metallerin gerçek değerleri tekrar hesaplanmıştır.

Tablo 4.6. Mikrodalga yöntemi ile çözünürleştirme sonuçlarına göre geri kazanım değerleri (n=3)

Element	Supradyn			Pharmaton		
	Hesaplanan Sonuç (ppm)	Gerçek Sonuç (ppm)	Geri Kazanım (%)	Hesaplanan Sonuç (ppm)	Gerçek Sonuç (ppm)	Geri Kazanım (%)
Demir (Fe)	14,602±0,504	13,92	104,9	11,116±0,521	10,50	105,9
Mangan(Mn)	1,869±0,061	1,79	104,4	2,059±0,093	2,00	103,0
Çinko (Zn)	8,299±0,447	7,96	104,3	1,503±0,128	1,50	100,2
Bakır (Cu)	1,029±0,05	0,90	114,3	1,089±0,047	1,00	109,0

Supradyn preparatında tayin edilen bu dört metallerin üç yönteme göre bağıl standart sapma değerleri Tablo 4.7' de, Pharmaton için ise elde edilen sonuçlar Tablo 4.8'de verilmiştir ve % olarak hesaplanmıştır. Bağıl standart sapmalar %8,5'in altında bulunmuştur.

Tablo 4.7. Supradyn'in uygulanan yöntemlere göre bağıl standart sapması (RSD)

Metaller	Kuru yakma yöntemi	Yaş yakma yöntemi	Mikrodalga yöntemi
Fe	1,950	2,100	3,453
Mn	3,768	3,008	3,286
Zn	7,784	3,104	5,386
Cu	5,507	0,951	4,859

Tablo 4.8. Pharmaton'un uygulanan yöntemlere göre bağıl standart sapması (RSD)

Metaller	Kuru yakma yöntemi	Yaş yakma yöntemi	Mikrodalga yöntemi
Fe	0,649	0,287	4,684
Mn	3,220	0,314	4,531
Zn	3,970	1,486	8,514
Cu	4,373	1,216	4,360

4.2. İstatistiksel Analiz Sonuçları

Eşleştirilmiş İki Grup Arasındaki Farkların Testi (Paired-Samples "t" Testi); iki grubun ortalamalarının karşılaştırılarak, aradaki farkın rastlantısal mı, yoksa istatistiksel olarak anlamlı mı olduğuna karar verilmesinde kullanılan bir test metodudur. Bu testin amacı; farklı iki koşulda elde edilen sonuçların farklı olup olmadığını araştırmaktır. Eşleştirilmiş İki Grup Arasındaki Farkların Testi, bu tez

çalışmasında; multivitamin ilaçlarındaki ortak metallerin saptanmasında uygulanan yaş yakma, kuru yakma ve mikrodalga numune hazırlama yöntemlerinin arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olup olmadığını gösterecektir. Bu kapsamda yöntemler ikili olarak karşılaştırılmıştır. Farklı üç değişkenin ortalamaları karşılaştırılacağı için ikişerli karşılaştırma yapmak gerekmektedir (Tablo 4.9).

Tablo 4.9. Supradyn multivitaminini için yapılacak karşılaştırma tablosu

Yaş Yakma Yöntemi - Kuru Yakma Yöntemi
Yaş Yakma Yöntemi - Mikrodalga Yöntemi
Kuru Yakma Yöntemi - Mikrodalga Yöntemi

Supradyn multivitamin ilacı yaş yakma ve kuru yakma yöntemleri ile hazırlanan numunelerin ICP-OES ölçüm sonuçları için gerçekleştirilen t testi sonuçları aşağıda verilmiştir (Tablo 4.10-4.11).

Tablo 4.10. Eşleştirilmiş örneklem istatistikleri (Yaş yakma-Kuru yakma)

	Ortalama	Örneklem Sayısı	Standart Sapma	Standart Hata
Supradyn Yaş Yakma	6,620	4	6,468	3,234
Supradyn Kuru Yakma	6,460	4	6,374	3,187

Eşleştirilmiş örneklem istatistikleri tablosu; iki ölçüm ortalamaları arasındaki farkı, standart sapma ve hataları göstermektedir.

Tablo 4.11. Eşleştirilmiş örneklem t testi

Eşleştirilmiş Farklar	95% Güven							
	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	Aralığındaki Fark		t	Serbestlik p Derecesi	
				Alt Sınır	Üst Sınır			
Supr. Yaş Yakma & Supr. Kuru Yakma	0,160	0,194	0,097	-0,149	0,469	1,644	3	0,199

Eşleştirilmiş örneklem t testi tablosu incelendiğinde t değerinin 1,644 olduğu bu yüzden iki ölçüm arasında istatistiksel açıdan anlamlı derecede bir sapmanın olmadığı görülmektedir. Ayrıca P (Anlamlılık) değerinin 0,199 çıktığı görülmektedir.

$P=0,199>0,05$ olduğundan dolayı iki ölçüm arasında %95 güven aralığında istatistiksel açıdan anlamlı bir farkın olmadığı tespit edilmiştir.

Supradyn multivitamin ilacı yaş yakma ve mikrodalga yöntemleri ile hazırlanan numunelerin ICP-OES ölçüm sonuçları için gerçekleştirilen t testi sonuçları aşağıda verilmiştir (Tablo 4.12-4.13).

Tablo 4.12. Eşleştirilmiş örneklem istatistikleri (Yaş Yakma-Mikrodalga)

	Ortalama	Örneklem Sayısı	Standart Sapma	Standart Hata
Supradyn Yaş Yakma	6,620	4	6,468	3,234
Supradyn Mikrodalga	6,449	4	6,331	3,165

Eşleştirilmiş örneklem istatistikleri tablosu; iki ölçüm ortalamaları arasındaki farkı, standart sapma ve hataları göstermektedir.

Tablo 4.13. Eşleştirilmiş örneklem t testi

Eşleştirilmiş Farklar	95% Güven					t	Serbestlik Derecesi	p
	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	Aralığındaki Fark				
				Alt Sınır	Üst Sınır			
Supr. Yaş Yakma & Supr. Mikrodalga	0,170	0,155	0,077	-0,076	0,417	2,193	3	0,116

Eşleştirilmiş örneklem t testi tablosu incelendiğinde t değerinin 2,193 olduğu bu yüzden iki ölçüm arasında istatistiksel açıdan anlamlı derecede bir sapmanın olmadığı görülmektedir. Ayrıca P (Anlamlılık) değerinin 0,116 çıktığı görülmektedir. $P=0,116>0,05$ olduğundan dolayı iki ölçüm arasında %95 güven aralığında istatistiksel açıdan anlamlı bir farkın olmadığı tespit edilmiştir.

Supradyn multivitamin ilacı kuru yakma ve mikrodalga yöntemleri ile hazırlanan numunelerin ICP-OES ölçüm sonuçları için gerçekleştirilen t testi sonuçları aşağıda verilmiştir (Tablo 4.14-4.15).

Tablo 4.14. Eşleştirilmiş örneklem istatistikleri (Yaş yakma-Kuru Yakma)

	Ortalama	Örneklem Sayısı	Standart Sapma	Standart Hata
Supradyn Kuru Yakma	6,460	4	6,374	3,187
Supradyn Mikrodalga	6,449	4	6,331	3,165

Eşleştirilmiş örneklem istatistikleri tablosu; iki ölçüm ortalamaları arasındaki farkı, standart sapma ve hataları göstermektedir.

Tablo 4.15. Eşleştirilmiş örneklem t testi

	Eşleştirilmiş Farklar			95% Güven		t	Serbestlik Derecesi	p
	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	Aralığındaki Fark				
				Alt Sınır	Üst Sınır			
Supr. Kuru Yakma & Supr. Mikrodalga	0,010	0,114	0,057	-0,171	0,192	0,179	3	0,869

Eşleştirilmiş örneklem t testi tablosu incelendiğinde t değerinin 0,179 olduğu bu yüzden iki ölçüm arasında istatistiksel açıdan anlamlı derecede bir sapmanın olmadığı görülmektedir. Ayrıca P (Anlamlılık) değerinin 0,869 çıktığı görülmektedir. $P=0,869>0,05$ olduğundan dolayı iki ölçüm arasında %95 güven aralığında istatistiksel açıdan anlamlı bir farkın olmadığı tespit edilmiştir.

Pharmaton multivitamin ilacı yaş yakma ve kuru yakma yöntemleri ile hazırlanan numunelerin ICP-OES ölçüm sonuçları için gerçekleştirilen t testi sonuçları aşağıda verilmiştir (Tablo 4.16-4.17).

Tablo 4.16. Eşleştirilmiş örneklem istatistikleri (Yaş Yakma-Kuru Yakma)

	Ortalama	Örneklem Sayısı	Standart Sapma	Standart Hata
Pharmaton Yaş Yakma	3,782	4	4,399	2,199
Pharmaton Kuru Yakma	3,924	4	4,811	2,405

Eşleştirilmiş örneklem istatistikleri tablosu; iki ölçüm ortalamaları arasındaki farkı, standart sapma ve hataları göstermektedir.

Tablo 4.17. Eşleştirilmiş örneklem t testi

	Eşleştirilmiş Farklar					t	Serbestlik Derecesi	p
	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	95% Güven				
				Alt Sınır	Üst Sınır			
Phar. Yaş Yakma & Phar. Kuru Yakma	0,142	0,422	0,211	-0,814	0,530	0,673	3	0,549

Eşleştirilmiş örneklem t testi tablosu incelendiğinde t değerinin 0,673 olduğu bu yüzden iki ölçüm arasında istatistiksel açıdan anlamlı derecede bir sapmanın olmadığı görülmektedir. Ayrıca P (Anlamlılık) değerinin 0,549 çıktığı görülmektedir. $P=0,549>0,05$ olduğundan dolayı iki ölçüm arasında %95 güven aralığında istatistiksel açıdan anlamlı bir farkın olmadığı tespit edilmiştir.

Pharmaton multivitamin ilacı yaş yakma ve mikrodalga yöntemleri ile hazırlanan numunelerin ICP-OES ölçüm sonuçları için gerçekleştirilen t testi sonuçları aşağıda verilmiştir (Tablo 4.18-4.19).

Tablo 4.18. Eşleştirilmiş örneklem istatistikleri (Yaş Yakma-Mikrodalga)

	Ortalama	Örneklem Sayısı	Standart Sapma	Standart Hata
Pharmaton Yaş Yakma	3,782	4	4,399	2,199
Pharmaton Mikrodalga	3,941	4	4,799	2,399

Eşleştirilmiş örneklem istatistikleri tablosu; iki ölçüm ortalamaları arasındaki farkı, standart sapma ve hataları göstermektedir.

Tablo 4.19. Eşleştirilmiş örneklem t testi

	Eşleştirilmiş Farklar					t	Serbestlik Derecesi	p
	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	95% Güven				
				Alt Sınır	Üst Sınır			
Phar. Yaş Yakma & Phar. Mikrodalga	0,159	0,414	0,207	-0,818	0,499	0,769	3	0,498

Eşleştirilmiş örneklem t testi tablosu incelendiğinde t değerinin 0,769 olduğu bu yüzden iki ölçüm arasında istatistiksel açıdan anlamlı derecede bir sapmanın olmadığı görülmektedir. Ayrıca P (Anlamlılık) değerinin 0,498 çıktığı görülmektedir. $P=0,498>0,05$ olduğundan dolayı iki ölçüm arasında %95 güven aralığında istatistiksel açıdan anlamlı bir farkın olmadığı tespit edilmiştir.

Pharmaton multivitamin ilacı kuru yakma ve mikrodalga yöntemleri ile hazırlanan numunelerin ICP-OES ölçüm sonuçları için gerçekleştirilen t testi sonuçları aşağıda verilmiştir (Tablo 4.20-4.21).

Tablo 4.20. Eşleştirilmiş örneklem istatistikleri (Kuru Yakma-Mikrodalga)

	Ortalama	Örneklem Sayısı	Standart Sapma	Standart Hata
Pharmaton Kuru Yakma	3,924	4	4,811	2,405
Pharmaton Mikrodalga	3,941	4	4,799	2,399

Eşleştirilmiş örneklem istatistikleri tablosu; iki ölçüm ortalamaları arasındaki farkı, standart sapma ve hataları göstermektedir.

Tablo 4.21. Eşleştirilmiş örneklem t testi

Eşleştirilmiş Farklar	95% Güven					t	Serbestlik Derecesi	p
	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	Aralığındaki Fark				
				Alt Sınır	Üst Sınır			
Phar. Kuru Yakma & Pharm. Mikrodalga	0,017	0,026	0,013	-0,058	0,024	1,296	3	0,286

Eşleştirilmiş örneklem t testi tablosu incelendiğinde t değerinin 1,296 olduğu bu yüzden iki ölçüm arasında istatistiksel açıdan anlamlı derecede bir sapmanın olmadığı görülmektedir. Ayrıca P (Anlamlılık) değerinin 0,286 çıktığı görülmektedir. $P=0,286>0,05$ olduğundan dolayı iki ölçüm arasında %95 güven aralığında istatistiksel açıdan anlamlı bir farkın olmadığı tespit edilmiştir.

BÖLÜM 5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

İlaçların birçok etkileri olmasına rağmen, öncelikle hastalıkları tedavi edici etkisi dikkatimizi çeker. Dünyanın pek çok ülkesinde olduğu gibi Türkiye’de de multivitaminler tedavi amaçlı tüketilen ilaçlar arasında ilk sırada gelmektedir. Multivitaminler genelde vücudun günlük vitamin ihtiyacını karşılamak amacıyla beslenmeye destek olarak kullanılır. İçerik olarak genelde vitaminler, metaller, otlar ya da diğer bitkiler, aminoasitler, ya da bu maddelerin herhangi bir kombinasyonunu içerir.

Milyonlarca insan sağlıklı yaşamak, hastalıklardan çabuk kurtulmak veya yaşlanma bulgularını geciktirmek ve beslenme desteği için birçok mineral ve vitaminler kullanırken bir yandan da birçok metalleri de vücuduna almaktadır. Vücudumuz için birçok faydalı fonksiyonları olmasına rağmen gereksiz vitamin tüketiminde içeriğindeki metaller vücutta birikerek toksik etkiye neden olmaktadır. Çünkü metallerin normal olarak vücutta bulunma oranı çok düşüktür. Bu oran yükseldiği takdirde, vücutta toksik etki yapmaya başlarlar, orta ve uzun dönemde sağlık risklerine neden olmaktadır. Bu ve benzeri sebeplerden dolayı vücuda dışarıdan alınan multivitamin ilaçlarının çeşitli deneysel yöntemlerle incelenerek, prospektüsteği bilgiler ile karşılaştırılması ve doğruluğunun ispatlanması gerekmektedir.

Yapılan literatür araştırmaları sonucunda [67-76]; ICP-OES ya da spektroskopi cihazlarından biri kullanılarak çeşitli materyallerde iz elementlerin tayini denenmiştir. Örneğin, tekstil malzemeleri, meyve suları, toprak, atık sular, insan saçı gibi. Tüm dünyada insan yaşamının bir parçası haline gelen ve insan sağlığını olumlu yönde etkilemeyi amaçlayan multivitamin ilaçlarının, ICP-OES cihazı kullanılarak

içeriğindeki metallerin tayini hakkındaki çalışmalara literatürde yeteri kadar odaklanılmadığı tespit edilmiştir.

Bu amaçla yapılan çalışmada; piyasada bulunan ve çok tercih edilen Supradyn ve Pharmaton multivitamin ilaçlarındaki ortak metaller belirlenmiş ve üzerinde çalışılmak üzere Fe, Cu, Mn ve Zn elementleri seçilmiştir. Bu metallerin miktar tayini, yüksek duyarlılığı ile bir ön deriştirme basamağına gerek kalmadan eser elementlerin tayinine imkân veren ICP-OES cihazı ile gerçekleştirilmiştir.

İz elementlerin tayininde doğru sonuçlara ulaşabilmek sadece ölçüm yönteminin amaca uygun olmasıyla değil uygulanan örnek hazırlama yönteminin de amaca uygun olması gerekmektedir. Günümüzde kullanılan çoğu analitik ölçüm; analiz öncesi, örneğin parçalanmasına dayalıdır. Bu amaçla da kuru yakma, yaş yakma veya mikrodalga ile parçalama basamaklarından birine gerek duyulmaktadır. Yapılan çalışmada, ön işlem olarak bu üç farklı metot denenmiştir.

Çalışma sonucunda elde edilen değerler ile prospektüsteki değerler karşılaştırılmış ve yüksek geri kazanım değerleri elde edilmiştir. Uygulanan her yöntem için geri kazanım değerlerinin, %85-%115 arasında olduğu görülmüştür. Yapılan çalışmada bağıl standart sapma değerleri % 8,5'ün altında bulunmuştur. Üç farklı yöntem kullanılarak yapılan ölçümler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olup olmadığı araştırılmıştır.

İstatistiksel hesaplamaların yapılmasında SPSS16 paket programı kullanılmıştır. Üç farklı yöntem kullanılarak yapılan ölçümler arasında anlamlı bir fark olup olmadığını araştırmak amacıyla elde edilen sonuçlar Eşleştirilmiş İki Grup Arasındaki Farkların Testi'ne (Paired-Samples "t" Testi) tabi tutulmuştur. P (Anlamlılık) değerlerinin tümü $P > 0,05$ olduğundan dolayı, ölçümler arasında %95 güven aralığında istatistiksel açıdan anlamlı bir farkın olmadığı tespit edilmiştir.

KAYNAKLAR

- [1] Barson, W.G., Jastremski, M.S., Syverud, S.A. Emergency durg therapy, Philadelphia: WB Saunders Company, 1991.
- [2] Öz, Ş.G., Kılıçarslan, A. Vitaminlerin Yaşamımızdaki yeri nedir, ne olmalıdır? İç Hastalıkları Dergisi, 19(1), 139–143, 2012.
- [3] Moll, P.P., Burns, T.L., Lauer, R.M. The genetic and enviromenta sources of body mass index variability: The muscatine ponderosity family study.The American Journal of Human Genetics, 49, 12–43, 1991.
- [4] West, K.P. Howard, G.R., Sommer, A. Vitamin A and infection: public health implications. Annual Review of Nutrition, 9, 63–86, 1989.
- [5] İnan, Y., Gül, M. Biyokimya, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 1-445, 2001.
- [6] Javorsky, B.R, Maybee, N., Padia, S.H, Dalkin, A.C. Vitamin D deficiency in gastrointestinal disease. Practical Gastroenterology, 36, 52–72, 2006.
- [7] <http://ods.od.nih.gov/Health–Information/Information–About>, Erişim Tarihi: 10.07.2015.
- [8] Öngen, B., Kabaroglu, C., Parildar, Z. D vitaminin biyokimyasal ve laboratuvar değerlendirmesi. Türk Klinik Biyokimya Dergisi, 6(1), 23–31, 2008.
- [9] Aksoy, M. Beslenme Biyokimyası. 3. Baskı, Hatiboğlu Yayınevi, Ankara, 1-679, 2000.
- [10] Shils, M.E., Olson J.A, Shike., (Editörler), Modern nutrilin in healıb and diseqse. 9th Ed. Baltimore, Williams and Wilkins, 305–483, 1999.
- [11] Meram, D., Köylüoğlu O., Tarakçıoğlu, M. E Vitamini Klinik Önemi, Derlemeler. İbni Sina Tıp Dergisi, 6, 2001.
- [12] Hosoglu, S., Esen, S., Öztürk, R. The effect of a restriction policy on the antimicrobial consumption in Turkey: A country –wide study. Eur. J. Clin. Pharm., 61(10), 727–31, 1989.

- [13] Damodaran, S., Parkin, K. L., Fenennema, O. R. Fennema's Food Chemistry. 4. Baskı, CRC Press, New York, 1-1160, 2007.
- [14] Eitenmiller, R. R., Landen, W. O. Vitamin Analysis for the Health and Food Sciences. CRC Press, New York. 1-660, 1999.
- [15] Baysal A., Beslenme. 14. Baskı, Hatiboğlu Yayınevi, Ankara. 1-560, 2002.
- [16] Combs, G. F. Jr. The Vitamins: Fundamental Aspects in Nutrition and Health. 3. Baskı. Ithaca, NY: Elsevier Academic Press, 1-346 2008.
- [17] Coskun, T. B12 vitamini. Katkı Pediatri Dergisi, 25, 419-33, 2003.
- [18] Ely, J.T.A. Glycemic modulation of tumor tolerance. Journal of Orthomol Medicine, 11(1), 23-34, 1996.
- [19] T.C Sağlık Bakanlığı Projesi Genel Koordinatörlüğü, Akıllı ilaç kullanımı'nın alfabeti, www. saglik.gov.tr, 2015.
- [20] <http://steadystrength.com/little-known-benefits-and-risks-of-taking-multivitamins/>, Erişim Tarihi: 10.07.2015.
- [21] National Institute of Health, What's in the bottle? An Introduction to Dietary Supplements, NCCAM Publication Number D191, USA, 2003
- [22] <http://www.medikalakademi.com.tr/bagisiklik-sistemi-vitaminler-ilaclari/>, Erişim Tarihi: 10.07.2015.
- [23] <http://www.ilacpedia.com/prospektus/supradyn-draje>, Erişim Tarihi: 10.07.2015.
- [24] <http://www.ilacpedia.com/pharmaton-kapsul>, Erişim Tarihi: 10.07.2015.
- [25] Vural, N. Toksikoloji. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, No:3, 1-636, 2005.
- [26] Selinus, O., Alloway, B., Centeno, J.A., Finkelman, R.B., Fuge, R., Lindh, U., Smedley, P. (Editörler), Essentials of Medical Geology, Impacts of Natural Environment on Public Health, Elsevier Academic Press, 1-832, 2005.
- [27] Dökmeci, İ., Dökmeci, A.H. Toksikoloji Zehirlendirmede Tanı ve Tedavi, 4. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, 1-232, 2005.
- [28] <http://www.dicle.edu.tr/merkez/ducam/images/MetallerinToksikEtkileri.ppt>, Erişim Tarihi: 10.07.2015.

- [29] Peereboom, J.W.C. General aspects of trace elements and health. *The Science of the Total Environment*, 42(2), 1–27, 1985.
- [30] <https://askabiologist.asu.edu/explore/building-blocks-life>, Erişim Tarihi: 10.07.2015.
- [31] Harper, H. A., Rodwell, V. W., P. A. Mayes. *Review of Physiological Chemistry*, 16. Baskı, Lange Medical Publications, Los Altos, California, 1-704, 1977.
- [32] Kùçukaslan, İ. İz Elementler ve İneklerde Reprodùktif Açıdan Önemi. *Dicle Üniversitesi Veterinerlik Fakùltesi Dergisi*, 1(4), 26-35, 2011.
- [33] Reusser, M.E., Mccarron, D.A. Micronutrient effects on blood pressure regulation. *Nutrition Reviews*, 52(11), 367–375, 1994.
- [34] Kargin, F., Seyrek, K., Bildik, A., Aypak, S., Determination of levels of zinc, copper, calcium, phosphorus and magnesium of chios ewes in the Aydın Region. *Turkish Journal of Veterinary Animal Sciences*, 28(3), 609–612, 2004.
- [35] Silvestre, M.D., Lagarda, M.J., Fare, R., Martinez–Costa, C., Brines, J. Copper, iron and zinc determinations in human milk using FAAS with microwave digestion. *Food Chemistry*, 68, 95–99, 2000.
- [36] Ciceri, E., Recchia, S., Dossi, C., Yang, L., Sturgeon, R.E. Validation of an isotope dilution, ICP–MS method based on internal mass bias correction for the determination of trace concentrations of Hg in sediment cores. *Talanta*, 74, 642–647, 2008.
- [37] Abbasi, S., Khani, H., Tabaraki, R. Determination of ultra trace levels of copper in food samples by a highly sensitive adsorptive stripping voltammetric method. *Food Chemistry*, 23, 507–512, 2010.
- [38] Kahveciođlu, Ö., Kartal, G., Güven, A., Timur, S. Metallerin Çevresel Etkileri–II. *Metalurji Dergisi*, 137, 46–51, 2004.
- [39] Grace, N.D, Lee, J. Effect of Co, Cu, Fe, Mn, Mo, Sc and Zn Supplementaion on The Elemental Content of Soft Tissues and Bone in Sheep Grazing Ryegrass White Clover Pasture, *New Zeland J. Agr. Res.*, 33(4), 635–647, 1990.
- [40] Citak, D., Tuzen, M., Soylak, M. Speciation of Mn (II), Mn (VII) and total manganese in water and food samples by coprecipitation–atomic absorption spectrometry combination. *Journal of Hazardous Materials*, 173, 773–777, 2010.

- [41] Pearson, G.F., Greenway, G.M. Recent developments in manganese speciation. *Trends in Analytical Chemistry*, 24(9), 803–809, 2005.
- [42] Ruzik, L. Speciation of challenging elements in food by atomic spectrometry. *Talanta*, 93, 18–31, 2012.
- [43] Parada, R., Gonzalez, S., Bergqvist, E. Industrial Pollution with Copper and Other Heavy Metals in a Beef Cattle Ranch. *Vet. and Hum. Toxicol.*, 29(2), 122–126, 1987.
- [44] Hoffbrand, A.V, Ganeshaguru, K., Hooton, J.W.L., Tattersall, M.H.N. Effect of iron deficiency and desferrioxamine on DNA synthesis in human cells. *Br. J. Haem.*, 33(5), 17–526, 1976.
- [45] Wilson, D.B. Disorders of Iron Metabolism and Sideroblastic Anemia. In: Nathan, D. G, Orkin, S. H, Gingsburg, D, Look T. A., (Editörler). *Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood*. 6. Baskı, W.B Saunders Company, Philadelphia, 522–542, 2009.
- [46] Şanlı, Y., Kaya, S. *Veteriner Klinik Toksikoloji*. 2. Baskı, Medisan Yayınevi, Ankara, 1-816, 1995.
- [47] Bradl, H. B. *Heavy Metals in the Environment*. Birinci Baskı, Elsevier Academic Press, Netherlands, 1-282, 2005.
- [48] World Health Organization, *Principles and Methods for Assessing Direct Immunotoxicity Associated with Exposure to Chemicals Criteria No. 180*, 1995
- [49] Arcasoy, A. Çinko ve çinko eksikliği. 2. Baskı, Ankara Talasemi Derneği Yayınları, Ankara, 1–23, 2002.
- [50] Tunç, M., *Biyolojik Sıvılarda Bazı Eser Elementlerin Tayini ve Metot Geliştirme*, Yıldız Teknik Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 2006.
- [51] Oliveira, E. Sample preparation for atomic spectroscopy: Evolution and Future Trends. *J. Braz. Chem. Soc.*, 14(2), 174–182, 2003.
- [52] Demirel, S., Tuzen, M., Saracoglu, S., Soylak, M. Evaluation of various digestion procedures for trace element contents of some food materials. *Journal of Hazardous Materials*, 152, 1020–1026, 2008.
- [53] Milacic, R., Kralj, B., Determination of Zn, Cu, Cd, Pb, Ni and Cr in Some Slovenian Food Stuffs. *European Food Research and Technology* 217, 211–214, 2003.
- [54] Hoenig, M. Preparation Steps in Environmental Trace Element Analysis—Facts and Traps. *Talanta*, 54, 1021–1038, 2001.

- [55] İnal, A., Kacar, B. Bitki Analizleri, Nobel Akademi Yayıncılık, Ankara, 1-912, 2010.
- [56] Sandel, E. B., Onishi, H. Photometric Determination of Traces-of Metals-General Aspects, Wiley, New York, 1978.
- [57] Robertson, D. E., Contamination Problems in Trace Elements Analysis and Ultrapurification, Dekker Publications, New York, 12-207, 1972.
- [58] Oliva, S. R., Raitio, H., Mingorance, M. D. Comparison of Two Wet Digestion Procedures for Multi-element Analysis of Plant Samples. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 34, 2913-2923, 2003.
- [59] Valiente, L., Piccinna, M., Ale, E.R., Grillo, A., Smichowski, P. Determination of Selenium in Dietary Supplements by ETAAS and HG-AAS: A Comparative Study. Atomic Spectroscopy, 23, 129-134, 2002.
- [60] Schiffmann, R.F. Food Product Development for Microwave Processing. Food Technol, 40(6), 94-98, 1986.
- [61] Srogi, K. Developments in the determination of trace elements by atomic spectroscopic techniques. Analytical Letters, 4, 677-724, 2008.
- [62] Chatwal, G. R. Arora, M. Analytical Chemistry. Himalaya Publication, Mumbai, 44-45, 2008.
- [63] Kingston, H. M. Overview of Microwave Assisted Sample Preparation, 1. Baskı, Duquesne University, Pittsburgh, 88-212, 1998.
- [64] Skoog, D. A., Holler, F. J., Nieman, T. A. Enstrümental Analiz İlkeleri. (Çeviri Editörü): Kılıç, E., Köseoğlu, F., Yılmaz, H., Bilim Yayıncılık, 232-1037, 2013.
- [65] Yılmaz, A., Genç, Ö., Bektaş, A. Enstrümental Analiz Yöntemleri. Hacettepe Üniversitesi Yayınları A-64, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, 1997.
- [66] Montaser, A., Golightly, D.W. (Editörler). Inductively Coupled Plasmas in Analytical Atomic Spectrometry. VCH Publishers, 1-1040,1992
- [67] Marrero, J., Jiménez, R.R., Leiva, E., Londonio, A. ve Smichowski, P. Inductively coupled plasma optical emission spectrometric determination of fifteen elements in dietary supplements: Are the concentrations declared in the labels accurate?. Microchemical Journal, 108, 81-86, 2013.

- [68] Avula, B., Wanga, Y-H., Duzgoren-Aydin, N. Ve Khan, I. Inorganic elemental compositions of commercial multivitamin/mineral dietary supplements: Application of collision/reaction cell inductively coupled-mass spectroscopy. *Food Chemistry*, 127, 54–62, 2011.
- [69] Krejcov, A., Ludvikova, I., Cernohorsky, T. ve Pouzar, M. Elemental analysis of nutritional preparations by inductively coupled plasma mass and optical emission spectrometry. *Food Chemistry*, 132, 588–596, 2012.
- [70] Soriano, S., Netto, A., D. ve Cassella, R., J. Determination of Cu, Fe, Mn and Zn by flame atomic absorption spectrometry in multivitamin/multimineral dosage forms or tablets after an acidic extraction. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 43, 304–310, 2007.
- [71] Deveci., T. Gaziantep’te Atık Sulardan Etkilenen Toprak Ve Bitkilerde Eser Element (Cu, Co, Mn Ve Zn) Ve Fe Konsantrasyonlarının Icp-Ms İle Tayini. Kilis 7 Aralık Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 1-60, Kilis, 2007.
- [72] Pytlakowska, K., Kita, A., Janoska, P., Polowniak, Koznik, V. Multi-element analysis of mineral and trace elements in medicinal herbs and their infusions. *Food Chemistry*, 135, 494-501, 2012.
- [73] Froes, R.E.S., Neto, W.B., Naveira R.L.P., Silva N.C., Nascentes C.C., Silva J.B.B. Multivariate optimization by exploratory analysis applied to the determination of microelements in fruit juice by inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 64 (6), 619-622, 2009.
- [74] Cheng, Q., Yaobin Y., Xuelion, W. Analysis of Trace elements in hullless by ICPOES. *Journal of agricultural science and technology*, 4 (3), 94-100, 2012.
- [75] Bakircioglu, D., Kurtulus, Y. B., Ucar, G. Determination of some traces metal levels in cheese samples packaged in plastic and tin containers by ICP-OES after dry, wet and microwave digestion. *Food and Chemical Toxicology*, 49 (1), 202-207, 2011.
- [76] Altundag, H., Tuzen, M. Comparison of dry, wet and microwave digestion methods for the multi element determination in some dried fruit samples by ICP-OES. *Food and Chemical Toxicology*, 49 (1), 2800-2807, 2011.

ÖZGEÇMİŞ

Merve Zurnacı, 27.12.1990 tarihinde Karabük'te doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Karabük'te tamamladı. 2012 yılında Kocaeli Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü'nden mezun oldu. 2012 yılında Karabük Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Bilim Dalı'nda yüksek lisansa başladı. İlk yarılımı burada tamamlayarak yatay geçişle Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Analitik Kimya Anabilim Dalına geçiş yaptı. Evli, bir çocuk annesidir ve İngilizce bilmektedir.