

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İNSAN SAÇI ÖRNEKLERİNDE ESER ELEMENTLERİN KATI
ÖRNEKLEMELİ ATOMİK ABSORPSİYON YÖNTEMİ İLE TAYİNİ**

**DOKTORA TEZİ
Aslı BAYSAL**

Anabilim Dalı : Kimya

Programı : Kimya

KASIM 2011

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İNSAN SAÇI ÖRNEKLERİNDE ESER ELEMENTLERİN KATI
ÖRNEKLEMELİ ATOMİK ABSORPSİYON YÖNTEMİ İLE TAYİNİ**

DOKTORA TEZİ

Ash BAYSAL

(509052201)

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 11 Ekim 2011

Tezin Savunulduğu Tarih : 24 Kasım 2011

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Süleyman AKMAN (İTÜ)

Diğer Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Hüseyin AFŞAR (YTU)

Prof. Dr. Birsen DEMİRATA ÖZTÜRK (İTÜ)

Doç. Dr. Mustafa ÖZCAN (İTÜ)

Doç. Dr. Erol ERÇAĞ (İÜ)

KASIM 2011

ÖNSÖZ

İnsanı hayatta en şanslı kılan olgu sevdiği işi yapmasıdır, dolayısıyla yaptığı işi daha verimli ve başarılı olmasını sağlayan, mutlu eden ve ne kadar zaman geçse de hatta o geçen seneler de olsa nasıl geçtiğini bilemezsiniz. İşte doktora çalışmamda benim için böyleydi. Onca senenin, yoğunluğun, yorgunluğun nasıl başladığını, devam ettiğini ve nasıl sonlandığını anlamak güç oldu. Ancak bu dönemi olabilecek en mükemmel şekilde geçirmemi sağlayan çevremdeki herkese tek tek çok teşekkür ederim.

Bu zaman içerisinde yaptığım çalışmanın iyi olması, mesleğimi iyi yapabilmem için tüm çabalarını, emeğini, bilgi birikimini ve deneyimi, madden ve manen tüm imkanlarını esirgemeyen öğrencisi olmaktan sonsuz övünç duyduğum saygıdeğer **Hocam Prof. Dr. Süleyman AKMAN**'a dünyadaki tüm teşekkürleri ve minnetlerimi sunarım. Doktora çalışmam sırasında Kimya Bölümü'ndeki tüm hocalarıma ve çalışma arkadaşlarıma, bu süre içerisinde hiçbir zaman yardımlarını esirgemeyen sayın Doç. Dr. Mustafa Ozcan'a teşekkürlerimi iletirim.

Yaklaşık olarak tüm eğitim hayatımızı beraber geçirdiğimiz sevgili dostum Aslı Ege Bilen'e çok teşekkürler.

Bu süre içerisinde ortak çalışmalarda bulunduğumuz Prof. Dr. Hilmi Ünlü, Prof. Dr. Mustafa Çulha ve Mehmet Kahraman'a ve Yar. Doç. Dr. Alper Tunga Akarsubaşı'na ve özellikle bu zamanı hem daha eğlenceli kılan hem de her türlü desteklerini esirgmeden yanımda olan Melih Özgür Çelik ve Mert Kumru'ya çok teşekkürler.

Hayatta sevdiğimiz şeyleri yapmamızda, onları mümkün kılmak için kendilerinden çok bizleri düşünen, her koşulda yanımda olan ve destekleyen en değerli varlıklarım sevgili anneme, babama ve diğer yarım ablam ve güzel ailesine abime, dünyadaki tüm teşekkürlerimi sunarım.

Ekim 2011

Aslı BAYSAL
Y. Kimyager

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	iii
İÇİNDEKİLER	v
KISALTMALAR	vii
ÇİZELGE LİSTESİ.....	ix
ŞEKİL LİSTESİ.....	xi
ÖZET.....	xiii
SUMMARY	xv
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. İNSAN SAÇI VE ÖZELLİKLERİ [18-21]	5
3. ATOMİK ABSORPSİYON SPEKTROSKOPİSİ.....	9
3.1. Tarihçe.....	9
3.2. Absorpsiyonun Temel Kuralları.....	9
3.3. Atomik Spektrum ve Hat Genişlemesi.....	10
3.3.1. Doğal hat genişlemesi	11
3.3.2. Doppler genişlemesi.....	11
3.3.3. Basınç genişlemesi	12
3.3.4. İnce yapı genişlemesi	12
3.4. Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi (AAS).....	13
3.4.1. Işın kaynakları.....	14
3.4.1.1. Oyuk katot lambaları.....	14
3.4.1.2. Elektrotsuz boşalım lambaları.....	15
3.4.1.3. Yüksek ışımalı lambalar.....	16
3.4.1.4. Sürekli ışın kaynakları.....	16
3.5. Atomlaştırıcı Sistemler.....	16
3.5.1. Alev kullanılarak atomlaştırma	17
3.5.2. Elektrotermal atomlaştırma.....	17
3.6. Monokromatörler	20
3.7. Dedektörler.....	21
3.8. Girişimler	21
3.8.1.1. Spektral girişimler ve düzeltilmeleri.....	21
3.8.1.1. Çift hat yöntemi.....	23
3.8.1.2. Self absorpsiyonla zemin düzeltme yöntemi.....	23
3.8.1.3. Sürekli ışın kaynaklı zemin düzeltme yöntemi.....	23
3.8.1.4. Zeeman etkili zemin düzeltme yöntemi.....	25
3.8.2. Spektral olmayan girişimler	28
4. KATILARIN DOĞRUDAN ANALİZİ	29
4.1. Katıların Doğrudan Analizi.....	29
4.2. Katıların Doğrudan Analizinde Kalibrasyon.....	30
4.2.1. Referans çözeltilerin kullanımı ile kalibrasyon	30
4.2.2. Standart referans madde (CRM) kullanımı ile kalibrasyon	31

4.2.3. Sentetik referans madde oluşturarak kalibrasyon.....	31
4.2.4. Standart ekleme metodu	32
4.3. AAS ile Katı Analizin Gelişimi.....	32
4.4. Doğrudan Katı Analizin Avantajları	34
5. DENEYSEL KOŞULLAR.....	37
5.1. Kullanılan cihazlar.....	37
5.2. Kullanılan kimyasallar.....	38
5.3. Örnek hazırlama	38
6. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	41
6.1. Kurşun Tayini:.....	41
6.1.1. Piroliz ve Atomlaşma Sıcaklığı Optimizasyonu ve Yardımcı Reaktiflerin ve Modifiyerin Etkisi.....	41
6.1.2. Madde Miktarı Etkisi	45
6.1.3. Analitik Özellikler ve Metodun Uygulaması	46
6.1.4. Segmentel Analiz	49
6.2. Bakır Analizi	51
6.2.1. Piroliz ve Atomlaşma Sıcaklığı Optimizasyonu ve Yardımcı Reaktiflerin ve Modifiyerin Etkisi.....	51
6.2.2. Madde Miktarı Etkisi	52
6.2.3. Analitik Özellikler ve Metodun Uygulaması	54
6.2.4. Segmentel Analiz	56
6.3. Nikel Analizi	57
6.3.1. Piroliz ve Atomlaşma Sıcaklığı Optimizasyonu ve Yardımcı Reaktiflerin ve Modifiyerin Etkisi.....	57
6.3.2. Madde Miktarının Etkisi	58
6.3.3. Analitik Özellikler ve Metodun Uygulaması	60
6.3.4. Segmentel Analiz	62
6.4. Doğrudan Katı Örnekleme Tekniğinin Çözelti Ve Bulamaç Tekniğine Göre Üstünlükleri	63
7. SONUÇLAR.....	65
KAYNAKLAR.....	67
ÖZGEÇMİŞ.....	71

KISALTMALAR

AAS	: Atomik Absorpsiyon Spektrofotometre
XRF	: X Işımları Floresansı
GFAAS	: Grafit Fırınlı Atomik Absorpsiyon Spektrometresi
CRM	: Sertifikalı Referansı Madde
CCD	: Charge Coupled Device
ETAAS	: Elektrotermal Atomik Absorpsiyon Spektrometresi
ICP	: İndüktif Eşleşmiş Plazma
ICP-AES	: İndüktif Eşleşmiş Plazma Atomik Emisyon Spektrometresi
LA-ICP-MS	: Lazer Aşındırma İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi
ETV-ICP-MS	: Elektrotermal Buharlaştırılmalı İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi
STPF	: Stabilized Temperature Platform Furnace
LOD	: Tayin Sınırı
LOQ	: En Düşük Gözlenebilme Sınırı

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 4.1 : Bir katı örneğin farklı tekniklerle GFAAS de analiz basamakları.	30
Çizelge 5.1 : Pb, Cu, Ni için enstrümental parametreler.	37
Çizelge 5.2 : Katı örnekleme ile Pb, Cu, Ni tayini için grafit fırın programı.	38
Çizelge 6.1 : Sertifikalı insan saçı referans maddeleri için doğrudan katı örnekleme Atomik Absorpsiyon Spektrometresi ile kurşun analizi için bulunan analitik sonuçlar (N=5).	47
Çizelge 6.2 : Farklı insan saçı örneklerinde ETAAS ile kurşun analizi* (N=5).	48
Çizelge 6.3 : Sertifikalı insan saçı referans maddeleri için doğrudan katı örnekleme Atomik Absorpsiyon Spektrometresi ile bakır analizi için bulunan analitik sonuçlar (N=5).	54
Çizelge 6.4 : Farklı insan saçı örneklerinde GFAAS ile bakır tayini* (N=5).	55
Çizelge 6.5 : Sertifikalı insan saçı referans maddeleri için doğrudan katı örnekleme Atomik Absorpsiyon Spektrometresi ile nikel analizi için bulunan analitik sonuçlar (N=5).	60
Çizelge 6.6 : Farklı insan saçı örneklerinde GFAAS ile nikel tayini* (N=5).	61

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : Saç folikülü:1.Saç 2.Cilt 3.Kas 4.Kök kılıfı 5.Sebaköz bez.....	5
Şekil 3.1 : Tek ışın yollu (a) ve çift ışın yollu (b) AAS cihazlarının şematik gösterimi.....	13
Şekil 3.2 : Oyuk katot lambasının yapısı.....	14
Şekil 3.3 : Elektrotsuz boşalım lambasının yapısı.....	15
Şekil 3.4 : Grafit tüplü bir fırının basit şeması.....	18
Şekil 3.5 : Sürekli ışın kaynaklı zemin düzeltici bir atomik spektrofotometresinin şematik gösterimi.....	24
Şekil 3.6 : Döteryum lambası (D2) ile zemin engellemelerinin düzeltilmesi.....	24
Şekil 3.7 : Manyetik alanda spektral bir hattın normal Zeeman etkisi yarılması.....	25
Şekil 3.8 : Işın kaynağına manyetik alanın uygulandığı Zeeman AAS tekniği.....	26
Şekil 3.9 : Zeeman etkili cihazların genel şematik gösterimi (a) Işın kaynağına manyetik alanın uygulanışı (b) Atomlaştırıcıya manyetik alanın uygulanışı.....	27
Şekil 6.1 : Doğrudan katı örnekleme ile 0,025 ng standart Pb çözeltisi, çözülmüş saç referans maddesi (NCS ZC 81002b) ve katı saç referans standart maddesi (NCS ZC 81002b) için Pd/Mg modifier kullanılarak ve kullanılmadan piroliz eğrileri (N=5).....	42
Şekil 6.2 : Doğrudan katı örnekleme ile 0,025 ng standart Pb çözeltisi, çözülmüş saç referans maddesi (NCS ZC 81002b) ve toz saç referans standart maddesi (NCS ZC 81002b) için Pd/Mg modifier ve yardımcı reaktif kullanılarak ve kullanılmadan atomlaşma eğrileri (N=5).....	44
Şekil 6.3 : Sıvı standart (◆) ile ve toz saç standardı (İnsan saçı, NCS ZC 81002b) (■) ile kurşun için kalibrasyon eğrisi.....	45
Şekil 6.4 : İnsan saçı standart referans maddesi (NCS ZC 81002b) kullanarak örnek kütlelerinin kurşunun lineerliğine etkisi.....	46
Şekil 6.5: Farklı kişilerden alınan saç örneklerinde kısa (a) ve uzun (b) saç boyunca kurşun konsantrasyonu dağılımı (N=5).....	50
Şekil 6.6 : Doğrudan katı örnekleme ile 2,0 ng standart Cu çözeltisi, çözülmüş saç referans maddesi (NCS ZC 81002b) ve katı saç referans standart maddesi (NCS ZC 81002b) için Pd/Mg modifier kullanılarak ve kullanılmadan piroliz eğrileri (N=5).....	51
Şekil 6.7 : Doğrudan katı örnekleme ile 2,0 ng standart Cu çözeltisi, çözülmüş saç referans maddesi (NCS ZC 81002b) ve toz saç referans standart maddesi (NCS ZC 81002b) için Pd/Mg modifier ve yardımcı reaktif kullanılarak ve kullanılmadan atomlaşma eğrileri (N=5).....	52
Şekil 6.8 : Sıvı standart (◆) ile ve toz saç standardı (İnsan saçı, NCS ZC 81002b) (■) ile bakır için kalibrasyon eğrisi.....	53
Şekil 6.9 : İnsan saçı standart referans maddesi (NCS ZC 81002b) kullanarak örnek kütlelerinin bakır lineerliğine etkisi.....	53
Şekil 6.10 : Farklı kişilerden alınan saç örneklerinde kısa (a) ve uzun (b) saç boyunca bakır konsantrasyonu dağılımı (N=5).....	56

Şekil 6.11: Doğrudan katı örnekleme ile 2,5 ng standart Ni çözeltisi, çözülmüş saç referans maddesi (NCS ZC 81002b) ve katı saç referans standart maddesi (NCS ZC 81002b) için Pd/Mg modifier kullanılarak ve kullanılmadan piroliz eğrileri (N=5).....	57
Şekil 6.12 : Doğrudan katı örnekleme ile 2,5 ng standart Ni çözeltisi, çözülmüş saç referans maddesi (NCS ZC 81002b) ve toz saç referans standart maddesi (NCS ZC 81002b) için Pd/Mg modifier ve yardımcı reaktif kullanılarak ve kullanılmadan atomlaşma eğrileri (N=5).....	58
Şekil 6.13 : Sıvı standart (◆) ile ve toz saç standardı (İnsan saçı, NCS ZC 81002b) (■) ile nikel için kalibrasyon eğrisi.	59
Şekil 6.14 : İnsan saçı standart referans maddesi (NCS ZC 81002b) kullanarak örnek kütlelerinin nikel lineerliğine etkisi.	59
Şekil 6.15: Farklı kişilerden alınan saç örneklerinde kısa (a) ve uzun (b) saç boyunca nikel konsantrasyonu dağılımı (N=5).	62

İNSAN SAÇI ÖRNEKLERİNDE ESER ELEMENTLERİN KATI ÖRNEKLEMELİ ATOMİK ABSORPSİYON YÖNTEMİ İLE TAYİNİ

ÖZET

İnsan saçı, çevresel, beslenme ve çalışma ortamlarından insan bünyesine giren elementlerin ve bileşiklerin etkilerinin incelenmesinde, zehirlenme olaylarının araştırılmasında, vücut sıvılarının (kan, idrar vb.) temin edilemediği veya yeterli olmadığı durumlarda bilgi verebilen önemli ve hatta bazen tek materyaldir. İnsan saçı resmi kurumlar tarafından seçilen toksik metal maruziyetinin tayininde kullanılacak dokulardan biridir.

Biyolojik örneklerde özellikle insan saçı örneklerinde eser elementlerin analizi için nötron aktivasyon, X-Işınları floresansı ve spektroskopik teknikler gibi farklı yöntemlerden yararlanılmaktadır. Genelde Elektrotermal Atomik Absorpsiyon Spektrometresi (ETAAS) ile insan saçında eser elementlerin tayini için örnekler çözülmektedir. Atomik Absorpsiyon Spektrometresi (AAS) ve İndüktif Eşleşmiş Plazma (ICP) teknikleri ile saçta rutin eser element analizi için genellikle örnekler asitlerle ya da bazlarla çözülmektedir. Normal çözme yönteminde ölçülecek her bir örnek çözeltisi için en az 50 mg saç örneğine ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca daha fazla tekrar için doğal olarak daha çok saç örneğine ihtiyaç vardır. Ancak özellikle adli araştırmalarda daha fazla örnek temin etmek her zaman mümkün olamayabilir. Analitlerin doğrudan katı örnekleme AAS ile tayini örnek çözme yöntemleri ile karşılaştırıldığında bazı avantajları bulunmaktadır: (i) örnek çözeltilerle seyreltilmediği için daha az örnek miktarlarında çalışılabilir (çoğunlukla 0,05-1,0 mg arasında) ki bu özellikle saç gibi sınırlı örnek miktarları olduğu zaman çok önemlidir. Bu yüzden ekstra zenginleştirme yöntemleri gerekli değildir; (ii) örnekleri çözmek için zaman harcanmaz; (iii) çözme sırasında kullanılan toksik ve korozif kimyasallardan kaynaklanan çevresel kirlilik riski bulunmaz; (iv) reaktiflerden, laboratuvar malzemelerinden ve diğer ekipmanlardan kaynaklanan kontaminasyonlar olmaz; (v) analit kaybı gözlenmez. Ancak diğer yandan çözme yöntemlerinde kullanılan madde miktarına göre fırına yüklenen her örnek bölümü için çok daha az miktarda örnek ile çalışıldığından (<1 mg), standart referans maddelerde dahil olmak üzere heterojen dağılımdan dolayı ortalama analit dağılımı tüm örneği temsil edememesi gibi bir dezavantajı bulunmaktadır. Dolayısıyla çözme yöntemleri ile kıyaslandığında doğrudan katı örnekleme yönteminde kesinlik daha yüksek olabilir. Ancak bu özellik saç boyunca analizde analit dağılımına imkan verdiğinden kişinin ne zaman zehirlendiğini veya maruz kaldığını belirleyebildiğinden bir avantaj olabilir. Bu özelliklerinden dolayı katı örnekleme AAS çok az miktarda temin edilse bile saçta yapılacak inorganik ve organik türlerin tayininde ve kronolojik olarak analitlerin bünyeye giriş tarihlenmesinde büyük avantaj sağlamaktadır.

Bu çalışmada, kurşun, bakır ve nikelin insan saçında doğrudan katı örnekleme AAS ile tayini tüm yönleriyle araştırması, metodun avantajları ve dezavantajları analitik sonuçlarla tartışılarak ve geleneksel yaş yakma ile karşılaştırılarak yapılmıştır. Bunlara ek olarak saç teli boyunca analit dağılımı incelemek için segmentel analiz gerçekleştirilmiştir.

Kurşun, bakır ve nikel tayini için doğrudan katı örnekleme ile belirlenen yöntemle göre, insan saç örnekleri öncelikle asetonla, daha sonra 3'er kez destile deiyonize su ile en son tekrar aseton ile yıkama işlemi gerçekleştirilmiş ve örnekler 75 °C'de kurutulmuştur. 0,02-1,0 mg arasındaki saç örnekleri katı örnekleme sisteminin oto-örnekleyicisine bağlı platforma doğrudan yüklenmiştir. Piroliz sıcaklığı, atomlaşma sıcaklığı, madde miktarı etkisi modifier (Pd/Mg) ve/veya yardımcı reaktifler (hidrojen peroksit ve nitrik asit) ve/veya yüzey aktif madde (Triton X-100) kullanarak ya da kullanmadan etkisi incelenmiştir. Aletsel ve deneysel parametreler optimize edildikten sonra iki farklı standart referans madde (NCS DC 73347 and NCS ZC 81002b) ile geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. Kurşun için geri kazanım sonuçları % 86,4 ve % 92,2, bakır için % 105,7 ve % 97,6, nikel için ise % 95,2 ve % 96,4 değerleri arasında bulunmuştur. Tayin sınırı (3σ , N=10) kurşun, bakır ve nikel için sırasıyla 0,3 ng/g, 22 ng/g ve 35 ng/g olarak hesaplanmıştır. Analitlere maruz kalan kişilerin ne zaman ve ne kadar maruz kaldıklarını belirlenmesinde önemli olan segmentel analizde analitlerin mikro skaladaki heterojen dağılımları tayin edilmiştir. Bu amaçla aynı saç gruplarından 0,5 cm'lik saç örnekleri alınmış ve optimize edilen yöntem ile doğrudan katı örnekleme ile analiz edilmiştir. Bu prosedür, her seferinde 50 mg örnek gerektiği için yaş yakma yöntemleriyle gerçekleştirilememiştir. Son olarak, tanımlanan yöntem farklı kişilerin saçlarındaki kurşun, bakır ve nikel konsantrasyonlarının belirlenmesi için uygulanmıştır.

DETERMINATION OF TRACE ELEMENTS IN HUMAN HAIR BY SOLID SAMPLING ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETRY

SUMMARY

Hair is an important and sometimes the only material for the determination of elements and compounds especially when body fluids (blood, urine, etc.) are not available to investigate a poisoning event or effects of environmental, nutritional or occupational sources on the body. Hair is used as one of the tissues of choice officials in determining toxic metal exposure.

For the trace elements analysis in biological samples, especially hair, like neutron activation, X-Ray fluorescence and spectroscopic etc different techniques can be used for the trace elements analysis in hair.

Traditionally, hair is digested for the determination of its trace element content by ETAAS. In routine trace element analysis of hair by AAS or ICP, hair is necessarily digested mostly in acids or in bases. For ordinary digestion procedure, at least 50 mg hair is needed for every sample solution to be measured. For a few repetitions, of course, much more hair should be needed which may always be not possible especially for forensic analysis.

Determination of analytes by solid sampling AAS, has some advantages compared to sample digestion techniques: (i) Since sample is not diluted with solvents, much lower amounts of samples (mostly <1 mg down to 0.05 mg) can be used for analysis which is important for limited amounts of samples, e.g. hair. Therefore, extra preconcentration is generally unnecessary; (ii) There is no loss of time for digestion; (iii) There is no risk of environmental pollution from toxic and corrosive chemicals during digestion; (iv) Contamination from reagents, laboratory wares and other apparatus does not occur. (v) Analyte loss is not involved. On the other hand, one of the disadvantages of solid sampling is that since the amount of sample introduced into the furnace is much smaller than that used in digestion methods, for every sample fraction introduced into the furnace (<1 mg), the average analyte distribution of the analyte in whole sample including CRMs may not be represented due to its heterogen distribution in microscale. Therefore, uncertainty is relatively high comparing to digestion method. However this property of solid sampling can be used as an advantage to obtain the distribution of analyte along a hair strand gives the exposure or poisoning time of a person. Because of the above mentioned properties, solid sampling AAS is advantageous for the determination of inorganic and organic species and and their dating entering to the body chronologically.

In this study, all aspects of direct determination of lead, copper and nickel in hair samples by solid sampling AAS were investigated and the advantages and disadvantages of the method together with analytical results were discussed and

compared with conventional wet digestion AAS technique. In addition, the segmental distribution of the analyte along the length of scalp hair strand(s) could be performed.

A procedure for lead, copper and nickel determination in scalp hair by solid sampling electrothermal atomic absorption spectrometric method was described. Hair samples were washed once with acetone; thrice with distilled-deionized water and again once with acetone and dried at 75 °C. The hair samples (0.02 to 1.0 mg) were inserted directly on the platforms of solid sampling autosampler. The effects of pyrolysis temperature, atomization temperature, the amount of sample as well as addition of a modifier (Pd/Mg) and/or auxiliary digesting agents (hydrogen peroxide and nitric acid) and/or a surfactant (Triton X-100) on the determination of lead, copper and nickel by solid sampling atomic absorption spectrometry were investigated. After optimization of parameters, the average recoveries of lead in two different certified reference hair samples (NCS DC 73347 and NCS ZC 81002b) were 86.4 and 92.2%, for copper were 105.7 and 97.6%. The recoveries of nickel in the both certified reference hair samples were in 95.2 and 96.4%. The limits of detection (3σ , $N=10$) for lead, copper and nickel were 0.3 ng/g, 22 ng/g and 35 ng/g, respectively. Heterogenous distribution of analyte in microscale for segmental analysis could be determined which is important to know analyte quantity and time of poisoning of a person was exposed. For this purpose, 0.5 cm of pieces were cut along the one or a few close strands and analyzed by solid sampling. This procedure could not be performed by wet-digestion method because 50 mg of sample is needed each time. Finally, the method was applied for the determination of lead, copper and nickel concentrations in the hairs of different persons.

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Son elli yılda saç analizi çevresel ve iş koşullarına bağlı maruziyetlerde, beslenme durumunun belirlenmesinde, bazı hastalıkların tanısında ve adli bilimlerde önemi giderek artmaktadır. İnsan vücudunda kan ve idrar analizleri eser elementlerin belirlenmesi için geleneksel yöntemler olsa bile eser elementler için saç boşaltım sistemi gibidir ve toplayıcı doku gibi görev yapar. Bu yüzden saçtaki metal içeriği normal ve anormal metabolizma ile ilgili ve çevreden veya çalışma alanlarından geçen eser elementlerle ilgili daha kalıcı bir kayıt oluşturabilmektedir. Ayrıca kolayca toplanabilmesi, yüksek stabiliteye sahip olabilmesi, depolama özellikleri ve kan ve idrara göre 10 kat fazla oranda metal konsantrasyonunu içerebilmesi ve uzun zaman periyotlarında yüksek metal toplama kapasitesine sahip olma gibi özellikleri bulunmaktadır. Saç bu özelliklerinden dolayı besinsel, toksikolojik veya klinik amaçlarla eser elementlerin tayini için uygun bir meteryal olarak görülmektedir. Çevre Koruma Ajansı (Environmental Protection Agency, E.P.A.)'na göre insan saçı çevresel izleme için en önemli biyolojik materyallerden biridir ve Uluslararası Atom Enerji Ajansı (International Atomic Energy Agency, IAEA)'nda ise saç genel ortam taramasında/izlenmesinde kullanılmaktadır [1,2]. Bunlara ek olarak saç boyunca analit konsantrasyonlarının dağılımının saçın büyümesi süresince farklı sürelerde maruz kalma nedeniyle değişebilmektedir. Bu nedenle segmentel saç analizi özellikle zehirlenmenin, çevresel, besinsel ve çalışma koşullarına bağlı maruziyetin ne zaman ve ne kadar olduğunun belirlenmesinde önemlidir.

Kişilerin saçındaki element içerikleri çok çeşitli iç ve dış kaynaklı etkiler nedeniyle farklıdır [3,4]. Zehirlenmenin veya maruz kalmanın kaynağının belirlenmesinde saçtaki iç ve dış kaynaklı (endojen ve ekzojen) eser elementlerin farklılandırılması için analizden önce saç örnekleri dış kaynaklı türlerin uzaklaştırılması için uygun bir şekilde yıkanmalıdır. Bunun için IAEA etkili bir yıkama yöntemi geliştirmiştir [2,5]. Ancak, saçtaki fonksiyonel gruplara, örneğin, keratinin sistinindeki kükürt atomları veya karbonil gruplarıyla ve/veya diğer amino asitlerin sülfidrül gruplarıyla kimyasal olarak bağlanabilirler. Bu tip bağlanmalarda ne kadar iyi bir yıkama yapılsa da

kimyasal olarak bağılı elementler uzaklaştırılmaz. Bu yüzden yıkama prosedürü sadece kimyasal bağılı elementlerden çok fiziksel olarak bağılı elementlerin uzaklaştırılmasında kullanılır.

Biyolojik örneklerde özellikle insan saçı örneklerinde eser elementlerin analizi için farklı teknikler kullanılmaktadır. Örneğin; nötron aktivasyon analizi [6], X-Işınları floresansı (XRF) [7], indüktif eşleşmiş plazma atomik emisyon spektrometresi (ICP-AES) [8], lazer aşındırma indüktif eşleşmiş plazma kütle spektrometresi (LA-ICP-MS) [9], elektrotermal buharlaştırmalı indüktif eşleşmiş plazma kütle spektrometresi (ETV-ICP-MS) [10] insan saçında eser element analizi için kullanılabilir.

Genelde Elektrotermal Atomik Absorpsiyon Spektrometresi (ETAAS) ile insan saçında eser elementlerin tayini için örnekler çözülmektedir. Atomik Absorpsiyon Spektrometresi (AAS) ve ICP teknikleri ile saçta rutin eser element analizi için genellikle örnekler asitlerle [11-15] ya da az da olsa bazlarla [5] çözülmektedir. Normal çözme yönteminde ölçülecek her bir örnek çözeltisi için en az 50 mg saç örneğine ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca daha fazla tekrar için doğal olarak daha çok saç örneğine ihtiyaç vardır. Ancak özellikle adli araştırmalarda daha fazla örnek temin etmek her zaman mümkün olmayabilir. Çoğunlukla saçtaki analit konsantrasyonları düşüktür, dolayısıyla çözme sırasında analit kaybı ve kontaminasyonu ciddi problemdir. Bu nedenle ön işlemler sırasında dikkatli olmalı, ultra saf su, reaktifler yada temiz laboratuvar malzemeleri kullanılmalıdır. Analit kaybı ve kontaminasyon problemlerini ortadan kaldırmanın bir yolu da neredeyse hiç ön işlem kullanılmayan doğrudan katı örnekleme tekniğidir.

Analitlerin doğrudan katı örnekleme AAS ile tayini örnek çözme yöntemleri ile karşılaştırıldığında bazı avantajları bulunmaktadır [16,17]: (i) örnek çözelti seyrelmediği için daha az örnek miktarlarında çalışılabilir (çoğunlukla 0,05-1,0 mg arasında) ki bu özellikle saç gibi sınırlı örnek miktarları olduğu zaman çok önemlidir. Bu yüzden ekstra zenginleştirme yöntemleri gerekli değildir; (ii) örnekleri çözmek için zaman harcanmaz; (iii) çözme sırasında kullanılan toksik ve korozif kimyasallardan kaynaklanan çevresel kirlilik riski bulunmaz; (iv) reaktiflerden, laboratuvar malzemelerinden ve diğer ekipmanlardan kaynaklanan kontaminasyonlar olmaz; (v) analit kaybı gözlenmez. Ancak diğer yandan çözme yöntemlerinde kullanılan madde miktarına göre fırına yüklenen her örnek bölümü için çok daha az miktarda örnek ile çalışıldığından (<1 mg), standart referans maddelerde dahil olmak

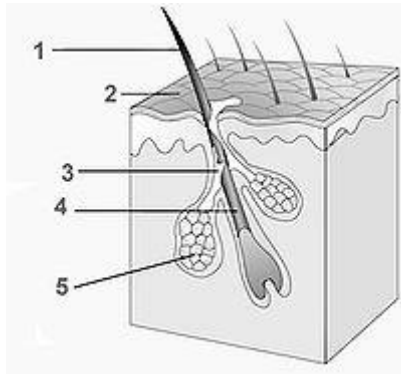
üzere heterojen dağılımdan dolayı ortalama analit dağılımı tüm örneği temsil edememesi gibi bir dezavantajı bulunmaktadır. Dolayısıyla çözme yöntemleri ile kıyaslandığında doğrudan katı örnekleme yönteminde kesinlik daha yüksek olabilir. Ancak bu özellik saç boyunca analizde analit dağılımına imkan verdiğinden kişinin ne zaman zehirlendiğini veya maruz kaldığını belirleyebildiğinden bir avantaj olabilir.

Bu çalışmada saç örneklerinde doğrudan katı örnekleme tekniği ile AAS'de kurşun, bakır ve nikel tayini tüm yönleriyle incelenmiştir. Optimize edilen metodun avantajları ve dezavantajları sunulmuş, tanımlanan metot için analitik sonuçlar ile ve yaş yakma teknikleriyle karşılaştırma yapılmıştır. Tanımlanan katı örnekleme tekniği ile kurşun, bakır ve nikel elementlerinde saç teli boyunca analit dağılımı belirlenmesinde segmentel analiz uygulanmıştır.

2. İNSAN SAÇI VE ÖZELLİKLERİ

Bütün ülkelerde ve tarih boyunca saç büyük bir öneme sahip olmuştur. Eski Mısırlılardan itibaren gücün, itibarın simgesi olmuştur. Ortalama olarak her kafada 100,000-150,000 saç olmakla beraber, 0,1 cm çapında, ortalama her bir saç telinin aylık uzama miktarıda 1 cm civarındadır. Saç büyümesi, döngüsel ve değişik sürelerle birbirini takip eden dönemlerden meydana gelir. Sağlıklı saçları olan insanlarda saçların %85'i büyüme döneminde (anagen), %1'i geçiş döneminde (katagen), %14'ü ise dökülme (telogen) dönemindedir. [18-21]

Her bir saç teli, saç tomurcuğu, kök içi tabakası ve saçın gövdesinden meydana gelir (Şekil 2.1). Saç tomurcuğu soğan şeklinde ve içinde saç kökünün gömülü olduğu bir boşluktan ibarettir. Bu tomurcuğun içinde tomurcuğun içini kaplayan ve saç için doğurucu bir tabaka olan saç matriksi mevcuttur. Saçın gövdesi ise medulla, korteks ve kutikula'dan meydana gelir. Saç, besinlerini kan damarları yolu ile içeriden alır. Saç kökünün dışını kaplayan tabaka tamamen saçın içinde bulunduğu cilt yuvası ile sarılıdır ve saçın gövdesini bu yuva içine sabitleyebilir. Ter ve yağ bezleri, saçı dikleştiren kaslar da bu yuva içinde bulunur. Bunlar cildin dışına doğru uzanan kanalın değişik bölümlerinde yer almaktadır.



Şekil 2.1 : Saç folikülü: 1.Saç 2.Cilt 3.Kas 4.Kök kılıfı 5.Sebaköz bez [20].

Saç kimyasal olarak karbon (%45), oksijen (%28), azot (%15), hidrojen (%7) ve kükürttten (%5) oluşur. Saçın asıl yapı maddesi bir çeşit protein olan keratindir. Keratin, saçın dayanıklılığını ve gücünü artırır. Saç aynı zamanda, yağ, pigment

(melanin), az miktarda vitamin, çinko ve diğer eser elementleri içerir. Ayrıca fiziksel ve kimyasal özelliği için önemli olan % 10-13 oranında su içerir.

Kimyasal maddelerin saça bağlanma mekanizmaları tam olarak aydınlatılamamıştır; ancak bunun üç şekilde gerçekleşebileceği düşünülmektedir:

Saç yapımı sırasında kandan saça geçiş:

1. Saç matriks hücreleri içinde yapılırken kan içindeki çeşitli elementler saçın yapısına girerler. Saçın yapımı tamamlandığında internal metabolizma ile ilişkisi kesilir. Bu nedenle saçın yapısında saptanacak bir kimyasal madde/metal saçın yapımı sırasında kanda bulunan madde konsantrasyonunu gösterir.

2. Ter ya da serumdan (saç diplerindeki yağ bezlerinden salgılanan yağ) saça bulaşma.

3. Dış çevreden saça bulaşma.

Organik maddeler, saç ile birleştikten sonra, uygun şartlarda (ışık ve nemden korunduğunda) saklanırsa yüzlerce yıl varlıklarını sürdürürler. M.Ö. 1500 – M.S. 2000 yılları arasında yaşadıkları saptanan, Şili ve Peru'da bulunan mumyalaşmış sekiz kişiye ait örnekte kokainin metaboliti olan benzoilekgonin saptanmıştır.

Saç kolay ve kişiye rahatsızlık vermeksizin ulaşılabilir oluşu nedeniyle de bazı durumlarda tercih edilebilmektedir. Saç örneğinin toplanması konusunda bir standardizasyon yoktur. Yapılan çeşitli bilimsel çalışmalarda kafa derisinin herhangi bir bölümünden alınmış saç örnekleri analiz için kullanılmıştır. Ancak ideal durum, saç örneğinin başın arka bölgesinden, vertex posterior denilen bölgeden alınmasıdır. Başın diğer bölgelerine kıyasla bu bölge saçın uzama hızı bakımından daha az değişkenlik göstermekte ve bu bölgede yer alan saçların yaş ve cinsiyet ile ilişkili faktörlerden daha az etkilendiği bildirilmektedir.

Saç analizi hem saç örneğinin kimyasal analizini gösterdiği gibi mikroskopik analiz ve karşılaştırılması içinde kullanılabilir. Kimyasal saç analizi kan ve idrarın analitleri artık tam olarak belirtemeyeceği geçmişe yönelik amaçlarda tarama için kullanılabilir. Özellikle bu alan adli toksikolojide ve çevresel toksikolojide artan bir şekilde kullanılmaktadır. Ayrıca alternatif tıp alanlarında da kullanılabilir.

Saç analizinin başlıca uygulama alanları;

1. Adli toksikoloji; saç analizi özellikle adli toksikolojide çeşitli terapötik ve psikoaktif ilaçların (kokain, eroin, benzodiazepinler ve amfetaminler) tayininde kullanılmaktadır. Saç testi özellikle yasadışı kullanılan maddelerin kullanım zamanının geçmişe yönelik belirlenmesinde son zamanlarda artan öneme sahip olarak kullanılan bir metottür. Saç örnekleri, alınan/maruz kalınan çeşitli ilaçlar dahil kimyasal maddeleri belli bir süre depolayabildikleri için geçmiş maruziyetlerin göstergesi olarak kullanılabilir. Saç örneği bütün olarak, ya da parçalara (segment) ayrılarak analiz edilebilir. Kesitsel analizde saç 1, 2 ya da 3cm'lik parçalara ayrılır ki bu yaklaşık olarak 1, 2 ve 3 aylık saç uzamasına karşılık gelmektedir. Böylece saptanan element/ kimyasal maddenin saç kökünden uzaklığına bakılarak maddelerin varlığı ve/veya maruziyet dozu/düzeyi hakkında objektif bilgi elde edilebilir.

İlaç/madde ile bayılma sonrası işlenen suçlarda (soygun, tecavüz vs), suçun bildirilmesi geciktiği durumlarda kullanılan madde (benzodiazepinler, hipnotikler, anestetikler, ekstazi gibi sistimal edilen ilaçlar, ya da etanol) kan, idrar gibi biyolojik örneklerden elimine edilmiş olabilir. Bu durumlarda geriye dönük olarak saptama için saç örneği tercih edilmektedir.

2. Çevresel toksikoloji; saç örneklerinin analizi ayrıca sağlık için öneme sahip bazı toksik maddelerin taranabilmesine imkan sağlamaktadır. Ayrıca çevredeki hava, toz, sediment, toprak, su, gıda ve toksinlere maruziyeti sonucu toksik maddelerin saça geçmesi saçın analizi ile bunların tayinine olanak vermesi büyük avantaj sağlamaktadır. Saç analizi ayrıca invaziv olmayan, düşük maliyetli olması ve çok sayıda ölçüm yapılabilmesi, etkileşime açık olması, toksik ve biyolojik temel elementlerin ölçülebilmesinden dolayı önemlidir. Dolayısıyla insan saçı analizi, sağlıkla bağlantılı olarak zehirleri adsorblanıp adsorblanmadığı veya ne zaman gerçekleştiğine yönelik ön testlerin yapılabilmesinden dolayı giderek artan öneme sahiptir. Uzun süreli elementel etkilerin belirlenmesinde veya genel elementel analiz başarıyla gerçekleştirilebilir. Örnek olarak Beethoven'in saçının karakteristik olarak analiz edilmesi ve 1999 yılında yapılan hamile kadınlarda kalsiyum, demir ve çinko konsantrasyonlarının saçta belirlenmesi ve beslenmenin etkileri saç analiziyle yapılmış ve saç ile bu elementlerin korelasyonu beslenmeyle açıkça ortaya konmuştur. Uzun süreli elementel etkilerin belirlenmesinin yanında, çevresel

etkilerin belirlenmesi ve bazı alternatif tıp alanında elementlerin etkilerinin tayini ve elementlerin hastalıkların teşhisinde kullanılmasında saç analizi önemli yer tutmaktadır. Örneğin otistik kişilerin saç profili normal kişilere göre farklı mineral dağılım gösterdiği gözlenmiştir. Ayrıca farklı metallere maruz kalma ve zehirlenme sonucu farklı hastalıklar ortaya çıktığı bulunmuştur. Bunların belirlenmesinde de saç analizi önemli yer tutmaktadır.

Sonuç olarak, terapötik (tedavi edici) ilaç izleme, ilaç dahil kimyasal maddeler ile gerçekleşen zehirlenme, doping kontrolü ve madde bağımlılığı analizlerinde ve geçmişe dönük madde arama gerektiği durumlarda, gerekli ve yeterli validasyon (geçerlilik, geçerlenme) çalışmaları yapıldığı ve maddenin saçtaki düzeyinin vücut/kan konsantrasyonunu yansıttığı gösterildiği takdirde söz konusu maddelerin aranması için saç örneği güvenilir/destekleyici bir biyolojik materyal olarak kullanılabilir. Ancak çevresel olarak maruz kalınabilecek, saç bakımında kullanılan ürünlerde bulunabilen, saçtaki düzeyi ile kan konsantrasyonu arasında güçlü/anlamli ilişki olduğu gösterilmemiş çeşitli elementler ve metallerin analizinde saç örneği yanıltıcı sonuçlar verebilir. Bu gibi durumlarda, geriye dönük bir saptama gerekmiyorsa, eş zamanlı bir idrar ya da kan analizi ile sonuçların desteklenmesi önerilmektedir.

3. ATOMİK ABSORPSİYON SPEKTROSKOPİSİ

3.1. Tarihçe

Atomik absorpsiyon spektroskopisinin teorisi yirminci yüzyılın başlarında bilim adamları tarafından geliştirilmeye başlanmış olup kimyasal analize uygulanması ilk olarak 1955 yılında Avustralya'da Walsh [36] tarafından oyuk katot lambasının icat edilmesiyle gerçekleşmiştir. Ayrıca aynı yıllarda Hollanda'da Alkemade ve Milatz tarafından eser element analizleri için atomik absorpsiyon spektroskopisinin uygun bir yöntem olduğu tavsiye edilmiştir [37,38]. İlk ticari aletler 1960 yılında piyasaya çıkmıştır. İlk çıkan aletlerde atomlaştırıcı kaynağı alevdir. Atomik absorpsiyon spektrofotometrenin kullanım alanı elektrotermal atomlaştırıcıların keşfedilmesi ile genişlemiştir [39].

3.2. Absorpsiyonun Temel Kuralları

Kuantum teorisine göre $h\nu$ enerjili bir foton atom tarafından absorplanırsa atomun temel seviyesindeki değerlik elektronu, enerjisi daha büyük olan bir enerji seviyesine geçerek uyarılmış olur. Plank eşitliğine göre:

$$\Delta E = E_i - E_o = h\nu = hc/\lambda \quad (3.1)$$

E_i = Elektronun uyarılmış seviyedeki enerjisi

E_o = Elektronun temel seviyedeki enerjisi

h = Planck sabiti

ν = Absorplanan ışının frekansı

c = Işın hızı

λ = Absorplanan ışının dalgaboyu

Lambert 1760 yılında homojen bir ortamdan geçen ışın miktarının ışının geçtiği tabaka kalınlığına (d) bağlı olduğunu fakat ortama gelen (I_o) ve ortamı terk eden (I) ışığın şiddetlerinin oranından bağımsız olduğu bulunmuştur [37].

$$I=I_0.e^{-xd} \quad (3.2)$$

x ışının ortam içerisinde absorplanmasının bir ölçüsü olup absorpsiyon faktörü olarak tanımlanır ve konsantrasyon ile orantılıdır.

$$x=k.c \quad (3.3)$$

Lambert yasası, Beer tarafından günümüzde kullanılan şekline dönüştürülmüştür:

$$A=\log I_0/I=k.c.d \quad (3.4)$$

A=Absorbans

I_0 =Gelen ışının şiddeti

I=Ortamı terkeden ışının şiddeti

k=Absorpsiyon katsayısı (Absorplayan maddenin cinsine ve dalga boyuna bağlıdır.)

c=Absorplanan maddenin konsantrasyonu

d=Işının geçtiği tabakanın kalınlığı

3.3. Atomik Spektrum ve Hat Genişlemesi

Planck eşitliğine göre (3.1) bir atom tarafından sadece iki enerji seviyesi arasındaki farka karşı gelen belirli dalga boyundaki ışınları absorplar ve uyarılarak bir üst enerji seviyesine geçer. Temel hale tekrar dönerken absorpladığı enerjiyi ışın şeklinde geri verir, bu olaya emisyon denilmektedir [40]. Atomlar (veya moleküller) ışın tarafından uyarılacak olursa yapılan emisyon floresans olarak adlandırılır. Atomlar yalnızca belirli enerji seviyelerine sahip olduklarından atomik absorpsiyon ve emisyon spektrumları kesiklidir. Ancak atomik absorpsiyon hatları monokromatik değildir ve belirli bir hat genişliğine sahiptir.

Atomik absorpsiyon hatlarının genişlemesine etki eden faktörler şu şekilde sıralanabilir [41]:

- 1) Doğal hat genişlemesi
- 2) Doppler genişlemesi
- 3) Basınç genişlemesi

4) İnce yapı genişlemesi

3.3.1. Doğal hat genişlemesi

Kuantum mekaniğine göre bir atomun enerji seviyeleri belirli bir değerde olmayıp E_1 - E_2 geçişine ait enerji seviyeleri ΔE_1 ve ΔE_2 gibi enerji genişliğine (belirsizliğine) sahiptir. Uyarılma sonucunda tek bir enerji yerine iki enerji teriminin belirsizliklerinin toplamı ($\Delta E_1 + \Delta E_2$) mertebesinde hat genişlemesi söz konusudur.

Heisenberg Belirsizlik Kuralına göre E_1 ve E_2 seviyelerindeki belirsizliklere karşı gelen ΔE_1 ve ΔE_2 değerleri, atomların E_1 ve E_2 seviyelerindeki ortalama alıkonma süreleri olan Δt_1 ve Δt_2 ye

$$\Delta E_1 \cdot \Delta t_1 = h/2\pi \quad (3.5)$$

$$\Delta E_2 \cdot \Delta t_2 = h/2\pi \quad (3.6)$$

eşitliklerine göre bağlanabilir. E_1 ve E_2 arasındaki geçiş için tabii hat genişliği (veya toplam belirsizlik),

$$\Delta E = (1/\Delta t_1 + 1/\Delta t_2) \cdot h/2\pi \quad (3.7)$$

veya

$$\Delta \nu N = (1/\Delta t_1 + 1/\Delta t_2) \cdot 1/2\pi \quad (3.8)$$

şeklinde yazılabilir. Atomik absorpsiyonda alt seviye kararlı olduğundan alıkonma süresi Δt_1 sonsuzdur. Bu durumda,

$$\Delta \nu N = (1/\Delta t_2) \cdot 1/2\pi \quad (3.9)$$

olur. (3.9) eşitliğine göre E_1 - E_2 geçişi için bulunacak olan tabii hat genişliği 10-5 nm mertebesinde ve diğer etkenlerin yanında oldukça küçüktür [41].

3.3.2. Doppler genişlemesi

Doppler genişlemesi atomların ısısal hareketlerinden kaynaklanır. Absorpsiyon frekansı absorplama yapan atomların ışık kaynağına hareketi sonucu değişmektedir. Absorpsiyon yapan atomlar ışık kaynağına yaklaştıkça absorpsiyon frekansı azalırken, ışık kaynağından uzaklaştıkça absorpsiyon frekansı artar. Işık kaynağına göre hareketsiz olan atomlar ise Doppler genişlemesinden etkilenmezler ve bunların absorpsiyon hat genişliği başka bir genişletici etki yoksa tabii hat genişliği kadardır. Eğer bir gaz sistemi içindeki atomlar gazın belirli bir yöndeki hareketi nedeniyle aynı

yönde eşit hızda hareket ediyorlarsa absorpsiyon hattının genişliği değişmez fakat hareket yönüne bağlı olarak daha düşük veya daha yüksek frekanslara kayar. Maxwell hız dağılımına uygun olarak gelişigüzel hareket eden atomlarda hat genişler fakat yeri değişmez; yani gaz sistemi içinde hareket eden atomların absorpsiyon hattı, tabii frekans hattı etrafında simetrik olarak genişler.

Eğer v_0 frekansında absorpsiyon yapacak olan atomlar ışık kaynağından aksi yöne doğru v hızıyla (ışın kaynağına doğru $-v$ hızıyla) hareket ederlerse, Doppler kuralına göre v_0 yerine Δv_D kadar kayma yaparak v_D frekansında absorplar. Doppler yarı genişliği,

$$\Delta v_D = 2v_0/c(2(\ln 2)RT/M)^{1/2} \quad (3.10)$$

veya

$$\Delta v_D = 7.16 \times 10^{-6} v_0 (T/M)^{1/2} \quad (3.11)$$

eşitliğine göre verilir.

M = Absorpsiyon yapan atomun atom ağırlığı

T = Mutlak sıcaklık

c =Işın hızı

3.3.3. Basınç genişlemesi

Absorpsiyon yapan atomların ortamda bulunan yabancı gaz atomları veya molekülleriyle çarpışması sonucu absorpsiyon hatlarına genişleme meydana gelmektedir. Bu çarpışma sonucunda absorpsiyon hatları genişler, hat maksimumu kayar ve hat profiline simetrisi bozulur. Basınç genişlemesi, yabancı gazın molekül ağırlığına, absorplama yapan atomun atom ağırlığına ve ortamın sıcaklığına bağlıdır.

3.3.4. İnce yapı genişlemesi

Çekirdek spininin sıfırdan farklı olması ve/veya çeşitli izotopların varlığı sonucunda her bir hat ayrı bir absorpsiyon hattı gibi davranan birbirine çok yakın farklı bileşenlere ayrılır.

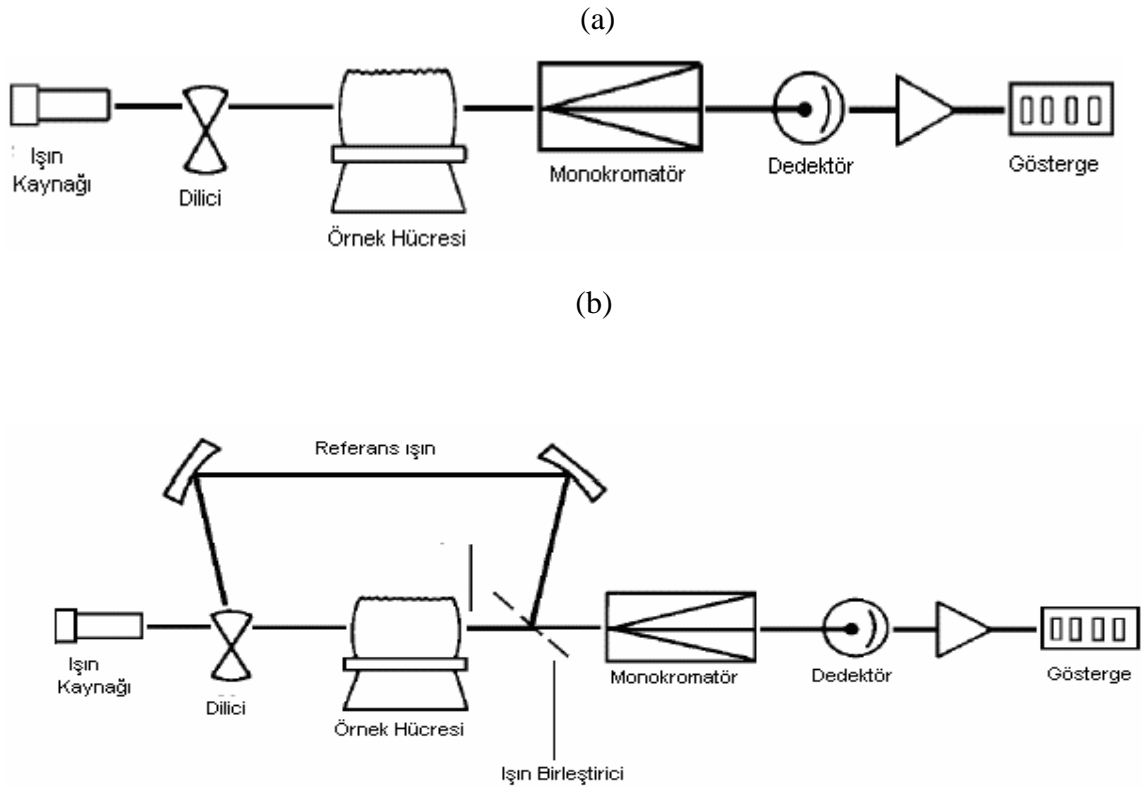
Çekirdek spin momentiyile elektron spin momentinin etkileşmesi sonucu çekirdekle elektron yörüngesi arasında manyetik etkileşme olur ve elektronun enerji seviyeleri yarılr. İnce yapı yarılrması 10^{-3} - 1 cm^{-1} mertebesindedir.

3.4. Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi (AAS)

Atomik absorpsiyon spektroskopisinin temel prensibi, temel haldeki analiz elementinin atomları üzerine absorpsiyon yapabilecekleri dalga boyunda ışın göndererek, gelen ve geçen ışık şiddetinin ölçülmesidir. Atomik absorpsiyon spektrofotometrelerinin temel bileşenleri şunlardır;

1. Analiz elementinin absorplayacağı ışımayı yayan ışık kaynağı.
2. Örnek çözeltisinin atomik buhar haline getirildiği atomlaştırıcı.
3. Çalışılan dalga boyunu diğer dalga boylarından ayıran monokromatör.
4. Işık şiddetinin ölçüldüğü dedektör.
5. Absorpsiyon sonuçlarını veren gösterge.

Şekil 3.1'de tek yollu ve çift yollu atomik absorpsiyon spektrofotometreleri gösterilmektedir [16-33].



Şekil 3.1 : Tek ışın yollu (a) ve çift ışın yollu (b) AAS cihazlarının şematik gösterimi [26].

3.4.1. Işın kaynakları

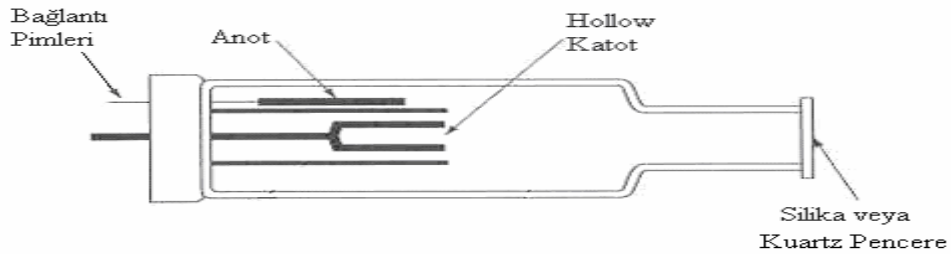
Kullanılan ışık kaynakları tayin edilen elementlerin absorpsiyon hatlarından daha dar hat spektrumları vermelidir böylece absorbans değerleri hat genişliğine bağlı olarak azalmaz. AAS'de kullanılan ışın kaynakları şu şekilde sınıflandırılabilir:

- 1) Oyuk katot lambaları
- 2) Elektrotsuz boşalım lambaları
- 3) Yüksek ışımalı lambalar
- 4) Sürekli ışın kaynakları

3.4.1.1. Oyuk katot lambaları

İlk kez Paschen tarafından 1916 yılında dizayn edilen ve Walsh ve arkadaşları tarafından geliştirilen oyuk katot lambaları atomik absorpsiyon spektrofotometresinde en yaygın olarak kullanılan ışık kaynaklarıdır [23,33].

Oyuk katot lambaları düşük basınç altında inert bir gaz (neon veya argon) ile doldurulmuş 3-4 cm çapında 8-10 cm boyunda anot ve katot içeren bir cam silindirden oluşmaktadır (Şekil 3.2). Katot genellikle 3-5 mm çapında oyuk bir silindir şeklinde olup ya analiz elementinden yapılır ya da analiz elementi ile kaplanır. Anot ise tungsten, nikel, tantal veya zirkonyumdan yapılır. Katodun tam karşısında UV ve görünür bölge ışınlarını geçiren kuartz veya camdan yapılmış bir pencere bulunur.



Şekil 3.2 : Oyuk katot lambasının yapısı [23].

Lambaya uygulanan 100-400 V gerilim sonucu lamba içindeki inert gaz atomları iyonlaşır. Pozitif yüklü gaz iyonları katoda çekilirler ve yeterli enerjiye sahiplerse katottaki atomları yerlerinden kopararak bir atom bulutu oluştururlar. Bu atomların

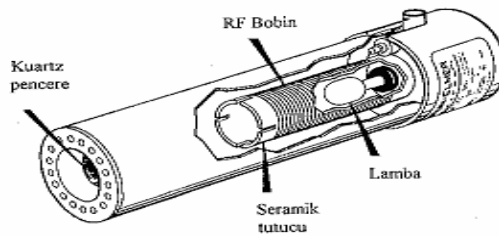
bir kısmı uyarılmış seviyededir ve temel hale dönerken katottaki elementin karakteristik spektrumunu yayarlar. Oyuk katot lambalarında gereğinden daha yüksek potansiyel uygulanmamalıdır. Aksi takdirde gaz halinde çok fazla metal oluşturur ki bu metallerin de pek çoğu uyarılmamış halde olduklarından, uyarılmış atomların yaydığı ışığı adsorbe ederler (self absorpsiyon) ve ışın demetinin şiddetini düşürürler.

Atomik absorpsiyon analizlerindeki en büyük dezavantaj; oyuk katot lambalarının her elemente özgü olup analiz sırasında spektrofotometreye yerleştirilmek zorunda olmasıdır. Bu sebeple çok elementli oyuk katot lambaları düşünülmüştür fakat pratik olmalarına rağmen her bir elementin emisyon şiddeti tekli lambanınkinden daha zayıf olduğundan sinyal/gürültü oranı artar ve bu da sonuçlarımızın kesinliğini etkiler.

3.4.1.2. Elektrotsuz boşalım lambaları

Elektrotsuz boşalım lambaları hem atomik absorpsiyon hem de atomik floresans spektrometresinde kullanılır. Işın şiddetleri oyuk katot lambasınınkinden daha fazladır ve çok ucuza mal edilebilirler. Elektrotsuz boşalım lambaları yüksek frekansta boşalım yapan lambalardır. Düşük basınç altında 1-2 mg analiz elementi ve boşalmı başlatan inert bir gaz (Ar, Ne, He gibi) içeren kuartz veya cam bir tüpten (Şekil 3.3).

Elektrotsuz boşalım lambaları hava, alev ve merceklelerin absorpsiyonu ve aynaların zayıf yansıtma özellikleri nedeniyle yüksek ışın şiddetinin önemli olduğu vakum UV bölgede büyük avantaja sahiptir. Ayrıca bu bölgede tayin edilen elementler için uygun ışın kaynağı yoktur. Bu tür lambaların en büyük dezavantajı ise ömürlerinin



kısa olmasıdır [42].

Şekil 3.3 : Elektrotsuz boşalım lambasının yapısı [26].

3.4.1.3. Yüksek ışımalı lambalar

Sullivan ve Walsh tarafından geliştirilen yüksek ışımalı lambalarda standart oyuk katottan başka bir çift yardımcı elektrot bulunmaktadır. Normal oyuk katot lambalarında katotta oluşan bütün atomlar uyarılmaz. Sadece uyarılan atomlar ışımaya yapabileceklerinden yardımcı elektrotların amacı geriye kalan temel seviyedeki atomları uyarmak için gerekli ikinci akımı geçirmektir. Böylece ışın şiddetinde oyuk katot lambasına göre 50-100 kat bir artış görülür. Buna rağmen yüksek ışımalı lambalar yapısının karmaşıklığı ve ikinci bir güç kaynağı gereksinimi nedeniyle bazı özel çalışmalar dışında pek kullanılmaz.

3.4.1.4. Sürekli ışın kaynakları

Yeterli parlaklıkta ışımaya yapan ışın kaynakları (hidrojen, döteryum, yüksek basınçlı ksenon veya halojen lambalar) ilk bakışta bazı nedenlerden dolayı daha çekici görünebilir. Bunların emisyonu kararlıdır ve özellikle birden fazla element analizinde kullanışlı ve ucuzdurlar. Sürekli ışın kaynaklarının absorpsiyon hatlarının dar olması, yüksek kalitede bir monokromatörle bile analitik doğrusalıktan sapma gözlemlendiğinden ve yüksek absorpsiyonlarla çalışılmak mümkün olmadığından dolayı çok kısa bir zamana kadar bu lambalar atomik absorpsiyon spektrofotometresinde kullanılmıyordu. Son yıllarda CCD (charge coupled device) dedektörlerinden yararlanarak sürekli ışın kaynaklarının kullanıldığı atomik absorpsiyon spektrofotometreleri geliştirilmiştir. Bu sayede çok sayıda element hemen hemen aynı anda tayin edilerek AAS'deki her element için lamba değiştirme dezavantajı ortadan kaldırılmaktadır [16-33].

3.5. Atomlaştırıcı Sistemler

Işık kaynağından yayılan tayin edilecek elementin emisyon spektrumu gaz halindeki tayin elementi atomlarının yer aldığı bir absorpsiyon ortamından geçer. Bu nedenle bu absorpsiyon ortamının en önemli işlevi, bir örnekteki tayin edilecek elementin gaz halindeki atomlarını üretmektir. Yapılan analizin duyarlılığı, atomlaştırmanın etkinliğine bağlı olduğundan cihazın en önemli bileşenidir.

Atomik absorpsiyon spektroskopisinde kullanılan en yaygın atomlaştırıcılar alev ve elektrotermal atomlaştırıcılardır [31-33].

3.5.1. Alev kullanılarak atomlaştırma

Alevli atomlaştırıcılarda örnek çözeltisi aleve bir sisleştirici yardımıyla püskürtülür. Çözelti aleve püskürtüldüğü zaman ilk olay çözücünün buharlaşmasıdır. Buharlaşma hızı damlacıkların büyüklüğüne ve çözücü türüne bağlıdır. Buharlaşma sonucu oluşan parçacıklar erir ve atomlaşır. Alevde organik bileşikler yanarken inorganik maddeler buharlaşır veya birbirleri ile ve alev gazları ile tepkimeye girerler. Çözelti taneciklerinin buharlaşmasından sonra oluşan gaz molekülleri ısıl ayrışma ile atomlarına ayrılırlar. Alev içinde analiz elementinin atomlarından başka CO₂, CO, C, H₂O, O₂, H₂, H, OH, NO, N₂ gibi birçok yanma ürünleri de oluşur. Bu nedenle alevdeki olaylar son derece karmaşıktır.

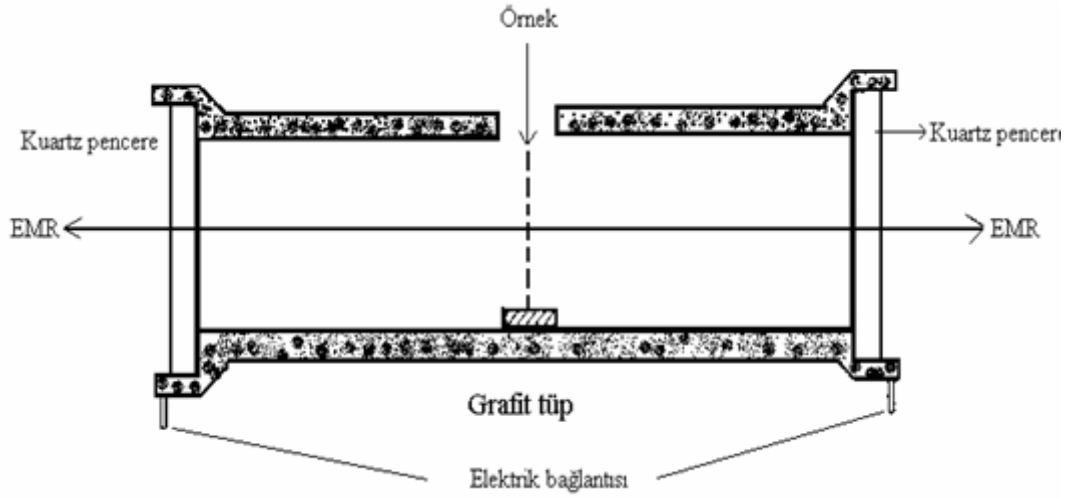
Yükseltgen olarak hava kullanıldığında, çeşitli yanıcılarla (doğal gaz, propan, hidrojen, asetilen) 1700-2400 °C arasında sıcaklıklar elde edilir ve bu sıcaklıklar kolay atomlaşan elementler için kullanılır. Daha refrakter elementlerin atomlaşması için saf oksijen veya nitröz oksit kullanılması gerekir.

İki tür alev başlığı bulunmaktadır. Ön-karıştırmaz alev başlıklarında örnek çözeltisi, yanıcı ve yakıcı gazlar birbirleri ile temas etmeden ayrı ayrı taşınarak yakıcı başlığın hemen çıkışında karşılaşır ki bu yöntem AAS'de pek kullanılmaz. Ön-karıştırmalı alev başlıklarında ise ilk kısım sisleştiricidir. Sisleştiricide örnek çözeltisi yakıcı gaz akımı ile kapiler boru tarafından emilip bir boşluğun içine taşınır ve burada yanıcı gaz ile karışır ve aerosol oluşur. Bu aerosol sisleştirici içinde bulunan kuartz çubuk ve levhalara çarparak çeşitli büyüklükteki damlacıklara dönüşür. Damlacıklar sisleştiriciden sonra püskürtme hücreğine gelir. Bu hücrede damlacıklar alevde buharlaşabilecek küçük parçacıklar seçilip aleve gönderilir ve oksitleyici/yanıcı gazlarla aleve ulaşmadan önce iyice karışması sağlanır. Bundan sonra uygun damlacıklar aleve ulaşır, daha büyük olanlar ise sistemden atılır.

3.5.2. Elektrotermal atomlaştırma

Elektrotermal atomlaştırıcılar, gaz halinde serbest metal atomlarını oluşturmak için elektriksel olarak ısıtılan sistemlerdir. Duyarlılık ve gözlenebilme sınırının daha iyi olması, numunelerin ekonomik olarak kullanılabilmesi ve alev tekniklerindeki bazı sınırlamaların olmaması gibi üstünlükleri bulunmaktadır. Elektrotermal atomlaştırıcılar olarak grafit çubuklar, metal şeritler, metal bobinler ve grafit tüpler geliştirilmiştir. En çok kullanılan elektrotermal atomlaştırıcı türü grafit tüptür. Bu tip

atomlaştırıcıların kullanıldığı cihazlar grafit fırınlı AAS (GFAAS) olarak adlandırılır. Şekil 3.4'de grafit tüplü bir fırının basit bir şeması görülmektedir. İlk olarak B.V. L'vov tarafından geliştirilmiştir. Bu fırınlarda örneğin grafit tüpe enjekte edildiği küçük bir delik bulunmaktadır. Kaynaktan gelen ışın tüpün içersinden geçer. Bu fırınlarda örneğin atomik türlerinin fırın duvarlarına difüzlenmesini önlemek için genellikle pirolitik olarak grafit ile kaplanır. Pirolitik grafit, karbonun inert atmosferde CH_4 ile ısıtılmasıyla hazırlanır. Fırın havanın oksijeni ile teması sonucu yanmaması için Ar veya N_2 ile korunur.



Şekil 3.4 : Grafit tüplü bir fırının basit şeması [23].

Daha sonra geliştirilen ve ilk ticari grafit fırın olan Massman tipi grafit fırınlarında atomlaşma tam olarak uygun koşullarda gerçekleşmemektedir. Tüpe enjekte edilen örnek bir zaman-sıcaklık programına göre kademeli olarak ısıtılmaktadır. Bu tür fırınlarda örnek atomlaşma sırasında termal denge halindeki bir ortamda olmadığından kimyasal girişimler oluşmaktadır. Ayrıca tüpün orta ve uç kısımları arasında $800\text{ }^{\circ}\text{C}$ ile $2500\text{ }^{\circ}\text{C}$ arasında değişen sıcaklıklar ölçülmüştür. Bu durumda oluşan atomların % 60'nın tüpün daha soğuk olan uç kısımlarına difüze olduğu ve buralarda yoğunlaştığı tespit edilmiştir.

L'vov ve arkadaşları örneğin direkt olarak grafit tüpün duvarlarına verilmesi yerine, tüpün içersine yerleştirilen bir platforma verilmesini önermişlerdir. Tüpün dibine yerleştirilen platform fırın duvarlarından radyasyonla ısınmaktadır. Grafit tüp atomlaşma basamağına hızlı bir şekilde ısınırken platform, fırının duvarlarından gelen ışınla ısıtıldığından sıcaklığı fırın duvarlarına göre daha düşüktür. Sonuç olarak örneğin atomlaşması fırın sıcaklığına gelene kadar geciktirilmiş olur. Örnek

sıcaklığın değişmediği ve daha yüksek olduğu bir ortamda atomlaştığından gaz fazı girişimlerinde azalma görülür.

Slavin ve arkadaşları L'vov platformun tek başına yeterli olmadığını belirterek Stabilized Temperature Platform Furnace (STPF) kavramını geliştirdiler. Bu kavram hızlı ısıtma, pik yüksekliği yerine integre edilmiş pik alanı kullanma, pirolitik grafit platform ve pirolitik kaplı tüp ve Zeeman etkili zemin düzeltme kullanımı içermektedir.

Genellikle 10-50 µl arasındaki sıvı örnek, örnek verme deliğinden, soğuk tüpün içine (tüp duvarlarına veya tüpün içindeki platforma) verilir. Tüp daha sonra programlanabilir bir güç kaynağı yardımıyla ısıtılır. Bu sistemlerde çeşitli basamaklardan oluşan bir sıcaklık programı vardır:

- 1) Kurutma Basamağı: Bu basamakta çözücünün kaynama noktasının altındaki bir sıcaklığa kadar fırın yavaşça ısıtılarak çözücü uzaklaştırılır. Sulu çözeltiler için (yaklaşık 30s) 110 °C 'ye kadar ısıtma yapılır. Sıçramaları önlemek için kurutma basamağında sıcaklık ve ısıtma hızı yeterince düşük olmalıdır.
- 2) Piroliz (Ön atomlaşma) Basamağı: Piroliz basamağı analiz edilen maddenin buharlaştırılmadan uçucu matrikslerin uzaklaştırıldığı basamak olup örnek içindeki bütün uçucu bileşenleri uzaklaştırmaya yetecek kadar uzun olmalıdır. Tipik olarak bu basamaktaki sıcaklık 350-1200 °C arasında değişir. Önatomlaşma basamağında organik ve uçucu inorganik bileşikler uzaklaşır ve örnekteki matriks bileşenleri parçalanır.
- 3) Atomlaşma Basamağı: Bu basamakta ise sıcaklık tayin elementinin gaz atomlarının oluştuğu noktaya kadar yükseltilir. Genellikle bu sıcaklık (yaklaşık 5s) 2000-3000°C arasındadır. Tayin elementinin absorpsiyonu atomlaşma basamağı sürecince ölçülür. Bu basamakta hassasiyeti arttırmak için genellikle atomlaştırıcıdan geçen gaz akışı kesilir veya bazı durumlarda azaltılır.
- 4) Temizleme Basamağı: Bu basamakta tüp yüksek sıcaklıklara ısıtılır ve bu sayede ortamdaki kalıcı veya az uçucu matriksler uzaklaştırılır.
- 5) Soğutma Basamağı: Bu basamakta fırın oda sıcaklığına kadar soğutulur.

Grafit fırınlı atomlaştırıcıların üstünlüklerini şu şekilde sıralanabilir:

- 1) Birçok metal için grafit fırında tayin sınırı alevden 100 ile 1000 kat daha düşüktür. Bu durum $1\mu\text{g/l}$ 'nin altındaki seviyelerde çok sayıda elementin örneğin zenginleştirilmesine gerek duyulmadan tayinini sağlar.
- 2) 5 ile 50 μl gibi oldukça küçük örnek miktarı ile çalışılır.
- 3) Sıvı örneklerin tamamıyla çözelti olması gerekmemektedir. Grafit fırın, homojen süspansiyonların ve emülsiyonların analiz edilmesi için de kullanılmaktadır.
- 4) Plastikler, tırnaklar, saç parçaları, toz haline getirilmiş bitki örnekleri, dokular veya kaya gibi katı örnekler uzun bir ön işleme tabi tutulmadan analiz edilebilmektedir.
- 5) Yanıcı bir gaz kullanılmadığı için daha güvenlidir. Kullanıcının bulunmadığı ortamda oto-örnekleyici ile analiz yapılabilir.

Bütün bu avantajlara rağmen grafit fırın, alev tekniğinin yerini her zaman alamaz. Eğer örnek yüksek konsantrasyonda element içeriyorsa ve çözelti halinde ise bilinen alev teknikleriyle tayin yapmak daha doğrudur. Grafit fırın bu durumda avantajlı değildir. Örnek içinde en çok bulunan bileşen analiz edilmek isteniyorsa, örneğin bir kaya örneğinde silisyum tayini gibi, grafit fırının yüksek duyarlılığı nedeniyle bu yöntem kullanılmaz.

3.6. Monokromatörler

Monokromatörler spektrofotometrelerde numuneye gelen ve geçen ışığı spektral hatlarına ayırmak için veya analiz hattını diğer hatlardan ayırmak için kullanılan cihazlardır. Spektroskopik yöntemlerin çoğunda aletin üstünlüğü doğrudan monokromatörün ayırıcılığına bağlı olduğu halde, atomik absorpsiyon spektroskopisi için bu o kadar önemli değildir. Monokromatörler, iki yarık (bir giriş ve çıkış), bir dalga boyuna ayırma bileşeni (hemen hemen daima şebeke) ve yardımcı optik bileşenlerden oluşur. Giriş ve çıkış yarıkları, ışın kaynağından çıkarak monokromatöre giren ve dedektör üzerine düşen ışın oranını kontrol eder. Geniş giriş yarığı kullanıldığında ışın enerjisinin daha büyük miktarı dedektöre ulaşır. Bu durumda gürültü, sinyale oranla küçüldüğünden sinyal kararlıdır, kesindir ve düşük derişimler ölçülebilir [29].

3.7. Dedektörler

Atomik absorpsiyon spektroskopisinde dedektörler ışın kaynağından gelen ışının şiddetinin ölçülmesi amacıyla kullanılır ve ışık sinyalini elektrik sinyaline dönüştürürler [29]. Işık sinyalinin elektrik sinyaline dönüştürülebilmesi için fotoçoğaltıcılar kullanılmaktadır. Fotoçoğaltıcılar, ışığa duyarlı bir katot, arka arkaya daha pozitif potansiyel oluşturan bir seri dinot ve bir anottan oluşan vakum fotoselidir.

Bir dedektörün, ışığa karşı duyarlı olması, ışın şiddeti ile doğru orantılı bir sinyal üretmesi, üzerine düşen ışığa cevap verme yani sinyal üretme süresinin kısa olması, kararlı olması ve üretilen elektriksel sinyalin yardımcı devrelerle çoğaltılabilmesi gibi özelliklere sahip olması istenir.

Bu dedektörde, katot yüzeyine çarpan ışın tarafından koparılan bir fotoelektron birinci dinoda doğru çekilir ve gerilim farkı ile orantılı bir kinetik enerjiyle dinot üzerine çarpar. Bunun sonucunda birinci anot üzerinden çok sayıda ikincil elektronlar fırlatılır ve bu işlem diğer dinotlarda aynı şekilde birçok kez tekrarlanarak devam eder. Sonuçta elektronlar çoğaltılarak akım kuvvetlendirilmiş olur. Bu kuvvetlendirme elektrotlar arasındaki gerilime bağlıdır. Kuvvetlendirme (veya kazanç) anotlar (dinotlar) arası voltajla üstel olarak artar.

Ancak dinotlar arası gerilim artışı karanlık akımın ve fotoçoğaltıcı tüpün foton gürültüsünü de artıracaktır. Katot üzerine ışın düşmediği zaman yüksek gerilim altında fotoçoğaltıcı tüpten geçen akım “karanlık akım” olarak adlandırılır.

3.8. Girişimler

Atomik absorpsiyon spektroskopisinde girişimler nedenlerine bağlı olarak spektral ve spektral olmayan girişimler olmak üzere iki ana grupta toplanmaktadır [29-33].

3.8.1.1. Spektral girişimler ve düzeltilmeleri

Tayin elementinin hattı ile ortamda bulunan moleküllerin veya radikallerin absorpsiyon hatlarının çakışması sonucunda ışığın buharlaşmamış moleküller tarafından absorplanması ile spektral girişimler artmaktadır. AAS’de tavsiye edilen slit aralığı kullanılırsa atomik rezonans hatların direkt çakışması olayına pek rastlanılmaz. Geniş bir dalga boyu aralığında kesiksiz bir absorpsiyon spektrumuna

sahip olan gaz fazındaki moleküller veya radikaller absorpsiyon yaparak girişime neden olurlar.

Spektral girişimlerin oluşmasının bir diğer nedeni ise atomik buhardaki küçük parçacıkların ışığı saçmasıdır. Bu olaya grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektrometresinde alevli atomik spektrometresine oranla daha sık rastlanır. Grafit fırında, soğuk uçlardaki örnek kalıntılarının tekrar buharlaşmasıyla oluşan partiküller veya tüp duvarlarından gelen karbon tanecikleri ışığın saçılmasına sebep olurlar. Bu iki etki (moleküler absorpsiyon+saçılma) genellikle zemin değeri veya zemin absorpsiyonu olarak tanımlanır. Tayin elementi atomlarının net absorbansını elde etmek için absorplanan (veya saçılan) ışın miktarı ölçülerek toplam absorbanstan bu değer çıkarılmasıyla elde edilir.

En iyi ölçümün yapılabildiği yüksek sıcaklıklı alev kullanılarak Alevli AAS'de moleküler absorpsiyon ve partiküller tarafından ışının saçılması ile oluşan spektral girişimlerin yok edilebilmektedir. İyi dizayn edilmemiş ön-karıştırıcı yakıcılar ve hava/asetilen alevinde ışın yolundaki moleküller veya parçacıklar girişime neden olurken daha sıcak azot protoksit/asetilen alevi kullanıldığında moleküllerin sayısı oldukça azalır ve bu etki hemen hemen hiç görülmez. Bununla birlikte bazı elementlerin hassasiyeti daha sıcak alev ortamında azaldığından azot protoksit alevini her zaman kullanmak mümkün değildir.

Matriks modifikasyonu ile grafit fırın tekniğinde spektral girişimler azaltılabilir. Yüksek konsantrasyonda bir reaktif ilave edilerek tayin elementi daha kararlı hale getirilir veya matriks bileşenlerinin daha uçucu olmaları sağlanır böylece atomlaşma basamağından önce iyi bir ayırım gerçekleştirilir. Spektral girişimleri azaltmanın diğer bir yolu da analiz elementini içermeyen fakat diğer matriksleri içeren ve örnek ile aynı zemin absorpsiyonunu oluşturan bir boş (blank) numunenin hazırlanarak absorbansının ölçülmesidir. sentetik olarak blank numune hazırlanması her bir bileşenin yüksek saflıkta olması gerektiğinden ve örnekten örneğe bileşenlerin kompozisyonunun farklılık göstermesinden dolayı bu işlem pratikte çok kullanılmaz.

Spektral girişimler aletsel olarak da düzeltilebilir. Gerçek aletsel zemin düzeltme yöntemleri şu şekilde sıralanabilir:

- (i) Çift hat yöntemi
- (ii) Self absorpsiyonla zemin düzeltme yöntemi

(iii) Sürekli ışın kaynaklı zemin düzeltme yöntemi

(iv) Zeeman etkili zemin düzeltme yöntemi

3.8.1.1. Çift hat yöntemi

Çift hat yönteminde, tayin elementinin rezonans hattında toplam absorpsiyon (atomik ve zemin absorpsiyonu) ölçülür. Daha sonra başka bir elementin oyuk katot lambası kullanılarak tayin elementinin absorpsiyon yapmadığı ama absorpsiyon dalga boyuna en yakın dalga boyunda zemin absorpsiyonu ölçülür. İki kanallı atomik absorpsiyon spektrofotometresi kullanılmasıyla çift hat yöntemi hızlı bir şekilde uygulanabilmektedir kullanılmalıdır. Birinci kanala yerleştirilen monokromatörde analiz elementinin absorpsiyon dalga boyu seçilir, ikinci kanala yerleştirilen monokromatörde zemin sinyali düzeltmesi için dalga boyu seçilir. En uygun ve yakın dalga boyunu bulmak bu yöntemde karşılaşılan sorunlardan biridir. Özellikle grafit fırında zemin sinyalinin sabit olmaması yöntemin başarısını engeller.

3.8.1.2. Self absorpsiyonla zemin düzeltme yöntemi

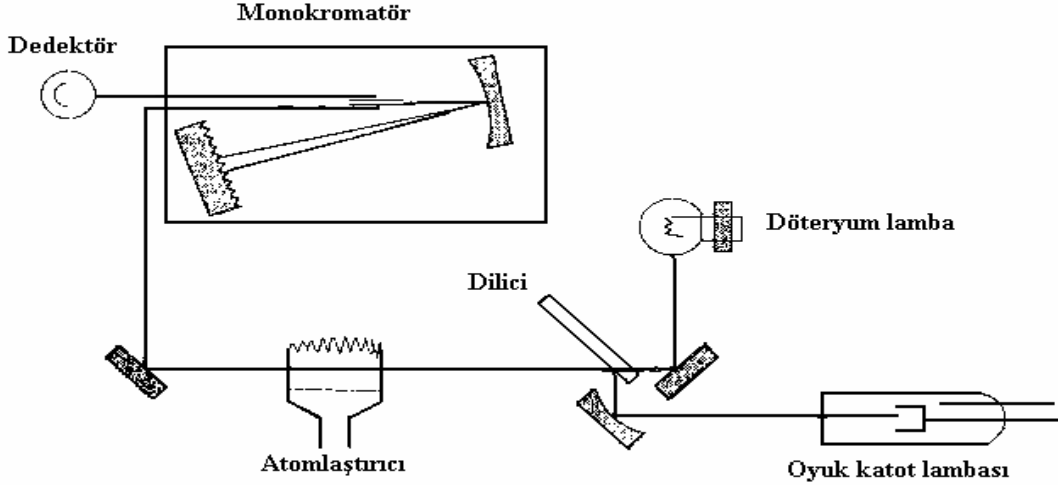
Self absorpsiyonla zemin düzeltme yöntemi, yüksek akım uygulaması ile katot lambasından yayılan ışının self absorpsiyon veya self reversal yapması prensibine dayanır. Lambanın katodunda yüksek akım uygulanarak büyük miktarda uyarılmamış akım üretilir ve bunlar uyarılmış atomlardan gelen emisyonun absorplanmasını sağlar. Ayrıca yüksek akım uyarılmamış türlerin emisyon bandı belirgin bir şekilde genişletmektedir. Sonuçta absorpsiyonun meydana geldiği orta kısmın minimum olduğu bir bant oluşur.

3.8.1.3. Sürekli ışın kaynaklı zemin düzeltme yöntemi

Sürekli ışın kaynaklı zemin düzeltme yönteminde, spektrofotometreye oyuk katot lambasına ek olarak döteryum veya halojen lambası gibi geniş bir dalga boyu aralığında sürekli ışın yapabilen bir ışın kaynağı yerleştirilir. Bu ışın kaynağı ile spektrofotometrenin spektral genişliği (0,2-0,7 nm) içinde zemin absorpsiyonu ölçülür. Temel bir ışın kaynağıyla elementin rezonans hattındaki toplam absorbans değeri ölçülür [37].

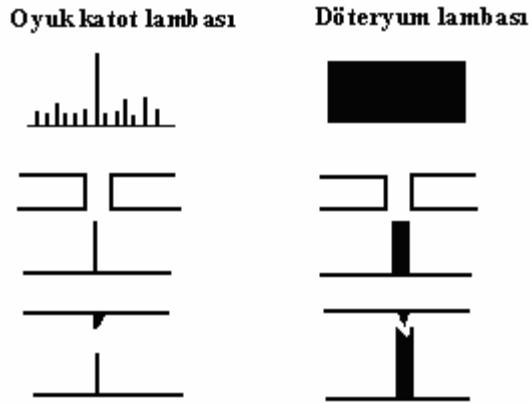
Şekil 3.5’de sürekli ışın kaynaklı zemin düzelticili bir atomik absorpsiyon spektrofotometresi şematik olarak gösterilmiştir. Burada dilicinin görevi, oyuk katot

lambasından ve sürekli ışın kaynağından gelen ışının atomlaştırıcıdan sıra ile geçmesini sağlamaktır.



Şekil 3.5 : Sürekli ışın kaynaklı zemin düzeltici bir atomik spektrofotometresinin şematik gösterimi [23].

Şekil 3.6'de döteryum lambası (D_2) kullanılarak zemin engellemelerinin düzeltilmesi gösterilmiştir. Slit genişliği belirli bir aralıkta tutularak sürekli ışın kaynağından gelen ışının örnek atomları tarafından absorplanan kesrinin önemsiz bir miktarda olması sağlanır. Öte yandan oyuk katot lambasından gelen dar emisyon hattı analiz elementinin absorpsiyonu yanında zemin absorpsiyonundan da etkilenirken sürekli ışın kaynağının geniş emisyon bandı yalnız zemin absorpsiyonundan etkilenir. Sürekli ışının absorpsansı (zemin absorpsiyonu) oyuk katot lambasının absorpsansından (zemin+atomik absorpsiyon) çıkarıldığında düzeltilmiş atomik absorpsans değerleri elde edilmiş olur.



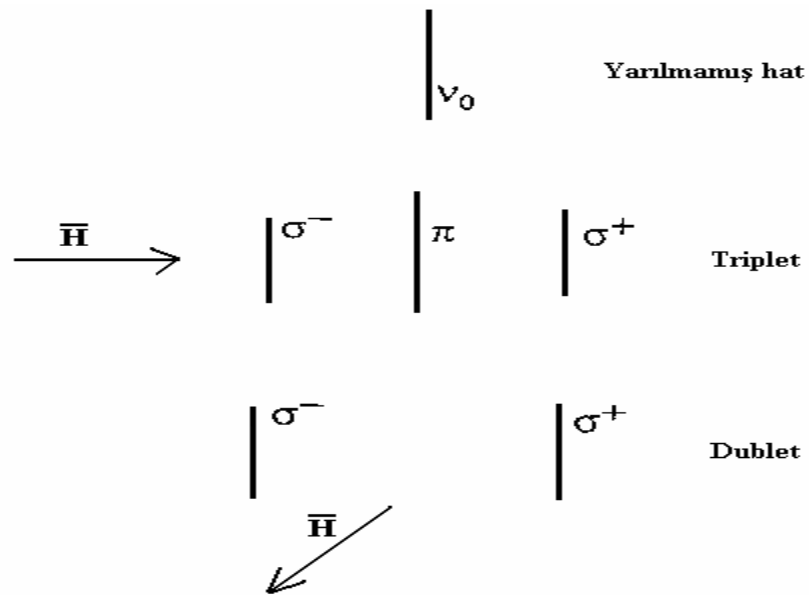
Şekil 3.6 : Döteryum lambası (D_2) ile zemin engellemelerinin düzeltilmesi [23].

3.8.1.4. Zeeman etkili zemin düzeltme yöntemi

Bir atomik spektrum hattının kuvvetli bir manyetik alana maruz bırakıldığında birbirinden az farklı dalga boylarındaki bileşenlerine ayrılması olayına “Zeeman etkisi” denilir. Bileşenlerin sayısı elemente bağlı olarak değişmektedir. Zeeman etkisi, normal Zeeman etkisi ve anormal Zeeman etkisi olmak üzere iki grupta toplanır.

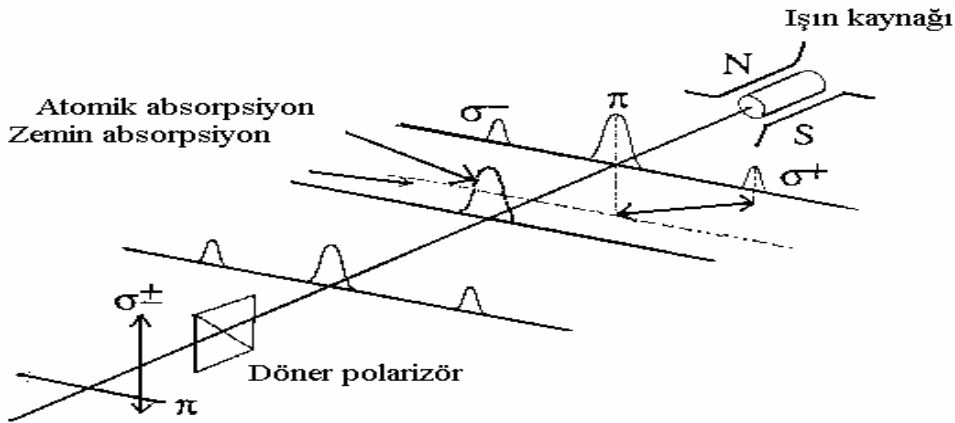
Normal Zeeman etkisinde atomun yayılan veya absorplanan hattı bir manyetik alan etkisiyle üç bileşene yarılr (Şekil 3.7). Merkez bileşen, π , manyetik alana paralel polarize ve orijinal absorpsiyon hattı ile aynı dalga boyundadır. Diğer iki bileşen σ^+ ve σ^- merkez bileşenin her iki tarafında eşit dalga boyunda uzaklıkta ve manyetik alana dik düzlemde polarizedir. Kaymanın derecesi uygulanan manyetik alanın kuvvetine bağlıdır. Bu üç bileşenin şiddetinin toplamı daima orijinal şiddete (etkilenmemiş hat) eşittir. Normal Zeeman etkiye göre spektral hatların üç bileşene ayrılması sadece singlet hatlı atomlarda ($s=0$ olan terimler) gerçekleşir. Singlet hatlar toprak alkali metallerin (Be, Mg, Ca, Sr, Ba) ve çinko grubu metallerin (Zn, Cd, Hg) esas rezonans hatlarıdır.

Anormal Zeeman etkisinde ise bileşen sayısı üçten fazladır yani π ve σ bileşenleri çok sayıda bileşene yarılr. σ bileşenlerinin dalgaboyundaki kaymaları, hem normal hem de anormal Zeeman etkisinde uygulanan manyetik alan ile orantılı olarak değişmektedir.



Şekil 3.7 : Manyetik alanda spektral bir hattın normal Zeeman etkisi ayrılması [26].

Işın kaynağına yeterince güçlü bir manyetik alan uygulanırsa σ bileşenleri bir elektrotermal atomlaştırıcı veya alevli atomlaştırıcıda oluşmuş olan atomik buharların absorpsiyon profilinin dışına kaymaktadır. Böylece rezonans hattın oluşan π bileşenleri hem atomik hem de atomik olmayan türler tarafından absorplanırken σ bileşenleri sadece atomik olmayan türler tarafından azaltılmaktadır. Atomlaştırıcıdan sonra yer alan döner bir polarizör sırası ile π ve σ bileşenlerini monokromatörden geçirir. π ve σ bileşenlerinin absorbanslarının birbirinden çıkarılması ile düzeltilmiş atomik absorpsiyon sinyalleri elde edilir (Şekil 3.8).



Şekil 3.8 : Işın kaynağına manyetik alanın uygulandığı Zeeman AAS tekniği [26].

Bu tekniğin avantajları şu şekilde sıralanabilir:

- (i) Sadece bir ışın kaynağı kullanılır.
- (ii) Sadece UV bölgesinde çalışan zemin düzeltici ışın kaynakları ile sınırlı değildir.

Dezavantajları ise:

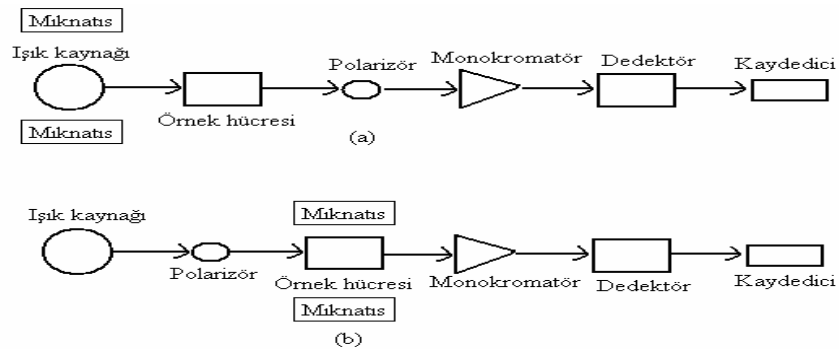
- (i) Sıradan atomik absorpsiyon spektrometrelerindeki gibi ışın kaynağından gelen başka hatlar olmamalıdır.
- (ii) Özellikle zemin değerinin büyük olduğu durumlarda zayıf düzeltme olacağından, zemin değeri doğrudan ölçülmez.
- (iii) Kuvvetli manyetik alanda oyuk katot lambasını çalıştırmak çok zordur. Bu nedenle özel ışın kaynaklarına ihtiyaç duyulur. Ticari aletlerde bu yöntem pek sık kullanılmaz.

Diğer bir Zeeman düzeltme yönteminde ise manyetik alan, ışın kaynağına dikey yönde elektrotermal atomlaştırıcı veya alev ile oluşturulmuş atomik buhara

uygulanır. Atomik absorpsiyon hattının σ bileşenleri kaynaktan gelen rezonans ışığı absorplamayacak kadar kaydırılır. Uygun bir optik polarizörün kullanılması ile oyuk katot lambadan gelen ışın sırasıyla manyetik alana paralel veya dik düzlemde polarize olabilmektedir. Manyetik alana paralel polarize rezonans ışın absorpsiyon hatlarının π bileşeni tarafından absorplanır. Buna karşılık manyetik alana dikey polarize olmuş rezonans ışın atomik absorpsiyon hattının σ bileşenleri ile çalışmamaktadır ve σ bileşenlerinin absorpsiyonu söz konusu değildir. Absorpsiyon ortamdaki atomik olmayan türler tarafından ışının saçılması ve moleküler absorpsiyon rezonans ışın kaynağının her iki polarizasyonu için eşit olacaktır. Düzeltilmiş atomik absorpsiyon sinyali her iki polarizasyon için ayrı ayrı absorbanların ölçülüp birbirinden çıkarılması ile elde edilir.

Diğer bir yöntemde ise atomlaştırıcıya kesikli olarak manyetik alan uygulanır. Fırın içindeki analiz elementine ani bir manyetik alan uygulanacak olursa atomik ve zemin absorpsiyonu ölçmek için primer rezonans hattın kullanılmasıyla ideal zemin değeri gözlenir. Manyetik alan uygulanmadığı durumda ise atomik ve zemin absorpsiyonu birlikte ölçülmüş olur. Böylece atomik absorpsiyon hattının σ bileşenleri orijinal rezonans hattın kayma yapar ve polarizör ile π bileşenine engel olunur. Böylece sadece zemin absorpsiyonu ölçülür. İki okuma değeri arasındaki fark atomik absorpsiyona eşittir. Atomlaştırıcıya uygulanan Zeeman düzeltme yönteminde hem moleküler hemde atomik absorpsiyon aynı dalga boyunda ölçülür. Bu nedenle atomik absorpsiyon hattında moleküler absorpsiyonun ani değişimi nedeniyle diğer düzeltme yöntemlerinde ortaya çıkan hatalar bu yöntemde gözlenmez.

Zeeman etkisinin ışın kaynağına veya atomlaştırıcıya uygulanışı Şekil 3.9'de şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 3.9 : Zeeman etkili cihazların genel şematik gösterimi (a) Işın kaynağına manyetik alanın uygulanışı (b) Atomlaştırıcıya manyetik alanın uygulanışı [26].

3.8.2. Spektral olmayan girişimler

Spektral olmayan girişimler analiz elementinin sinyalini doğrudan etkiler. Atomik absorpsiyon spektrometrisi numune ve referans absorbanslarının karıştırılması prensibine dayanan bir yöntem olduğundan örnek içindeki analiz elementinin davranışının referansinkinden farklı olması girişime neden olur. Ancak oluşan bu girişimlerin nedeni tam olarak belli değildir.

Fiziksel girişimler, analizi yapılacak maddenin ve referans maddesinin viskozite, yüzey gerilimi ve yoğunluk gibi fiziksel özelliklerinin farklı olması durumunda oluşur. Bu tür girişimler örnek absorbansının referansa (standarta) göre hem daha büyük hem de daha küçük çıkmasına neden olabilirler. İç standart yöntemi kullanılarak ve örnek ile referans çözeltilerin özellikleri birbirine benzetilerek fiziksel girişimler engellenebilir.

İyonlaşma girişimleri, atomlaştırıcıda atomların önemli bir miktarının uygulanan sıcaklıkla iyonlaşması sonucu ortaya çıkmaktadır. Atomlaştırıcı sıcaklığının çok yüksek olduğu durumlarda iyonlaşma meydana geldiğinden dolayı atomlaşma sıcaklığı düşürülerek iyonlaşma bir ölçüde engellenebilir. Fakat düşük sıcaklıkta birçok element atomlaşmadığından dolayı bu tam bir çözüm değildir. Standart ve örnek çözeltilerine iyonlaşma enerjisi düşük olan başka bir elementin ilave edilmesiyle ortamdaki elektron basıncının artırılması ve böylece elementin iyonlaşma veriminin düşürülmesiyle iyonlaşma girişimleri azaltılabilir.

Tayin elementinin moleküler halde buharlaşması ve oluşan atomların gaz fazında bulunan diğer atom ve radikallerle hemen tepkimeye girerek absorpsiyon ortamında yeteri kadar uzun kalmaması sonucu kimyasal girişimler meydana gelmektedir. Bu tür girişimler kimyasal çevrenin değiştirilmesi ve grafit fırının sıcaklığının artırılması sonucunda engellenebilmektedir. Bu önlemler uygulanmadığında tayin edilecek element kompleks oluşumu ile korunabilir veya örnek çözeltilere aşırı miktarda başka bir katyon eklenerek girişim yapan anyonun bu eklenen katyona bağlanması sağlanır. Kimyasal girişimleri engellemenin diğer bir yolu ise standart çözeltilere engelleyici iyonlar ilave edip örnek ve standart matriksi birbirine benzetmektir [29-33,37].

4. KATILARIN DOĞRUDAN ANALİZİ

4.1. Katıların Doğrudan Analizi

Analiz bir örnek içerisindeki aranan maddenin varlığını ve miktarını belirlemek için yapılan işlemlerdir. Sadece maddenin varlığının belirlenmesine kalitatif, maddenin örnek içerisindeki miktarının belirlenmesine ise kantitatif analiz denilmektedir. Analiz edilen örnekler sulu çözeltiler, diğer sıvı örnekler ve katı örnekler olmak üzere üç gruba ayrılabilir. Sulu çözeltiler (çeşitli su örnekleri, gazlı içecekler, kan, serum, idrar), diğer sıvı örnekler (yağlar, yakıtlar, organik çözücüler) veya katı halde (toprak, sediment, bitki, hayvan hücresi, metaller, plastikler). Analizin en önemli basamağı örnek alma ve örneği analize hazırlama basamaklarıdır. Sıvı örneklerin Atomik Absorpsiyon Spektrometresi ile eser element analizleri, örnek hazırlama aşamasında ön işlemlerin çok az olması sebebiyle kolay gerçekleşmektedir. Katı örnekler içerisindeki eser element analizi ise genellikle uygun çözme, ayırma işlemleri sonunda AAS ile yapılabilir. Katıların doğrudan analizi bu aşamada çok önem kazanmaktadır. Çünkü çözme işlemi sırasında zaman kaybı, asit kullanımı ve örneğin kirlenme riski artmaktadır. Dolayısıyla analizin en önemli basamağını örnek alma ve örneği analize hazırlama oluşturmaktadır [30,33].

Katı örnek içerisindeki eser metal analizi Grafit Fırınlı Atomik Absorpsiyon Spektrometresi (GFAAS) ile farklı teknikler kullanılarak yapılabilir. Çizelge 4.1’de her basamağın işlem sırası görülmektedir. Doğrudan katı analize ile ön işlemlere gerek duyulmadığından analiz süresi kısalmakta, örneğin kirlenme riski ve analitik hatalar azalmaktadır.

Çizelge 4.1 : Bir katı örneğin farklı tekniklerle GFAAS de analiz basamakları.

GFAAS (Çözerek)	GFAAS (Bulamaç)	Katı örnekleyici GFAAS (Doğrudan katı)
Kurutma Eleme Öğütme Çözünürleştirme Parçalama ekstraksiyon / önzenleştirme Matriks modifikasyonu Aletsel Analiz	Kurutma Eleme Öğütme Bulamaç hazırlama Aletsel Analiz	Kurutma Eleme Öğütme Aletsel Analiz

4.2. Katıların Doğrudan Analizinde Kalibrasyon

Analiz sonuçlarının doğruluğunu arttırmak için uygun kalibrasyon yöntemi seçmek gerekmektedir. Tüm absorpsiyon tekniklerinde olduğu gibi katı örneklemede de matriksin analat üzerine etkisinin kuvvetli olması sebebiyle kalibrasyon oldukça önemlidir.

Kalibrasyon için kullanılan madde ile örnek kompozisyonun aynı olması analiz sonucunda elde ettiğimiz değerlerin doğruluğunu arttırmaktadır. Analizini yaptığımız madde çevre örneği ya da insan veya hayvan vücudundan alınan doku örneği ise aynı kompozisyona sahip kalibrasyon maddesinin bulunması imkansızdır. Yeni geliştirilen cihazlarda kalibrasyon maddesi ve metod seçmek için geniş bir alan oluşturulmuştur.

4.2.1. Referans çözeltilerin kullanımı ile kalibrasyon

Sulu çözeltiler rahat bulunabilmesi ve pahalı olmaması gibi avantajları ile kalibrasyon maddesi olarak kullanılmaktadır. Katı örnekler için uygun kalibrasyon maddesi seçimi için Styris ve grubu iki temel kriter belirlemiştir [34]. İlk olarak

atomlaşma basamağında analitik hacme giren serbest atomların sayısını her örnekteki analat miktarı ile orantılı olmasıdır, ayrıca katı örnek ve sulu çözeltideki analat tek basamaklı atomlaşmada tamamen açığa çıkmaktadır. Tabii ki sıvı ve katı örnek için aynı tür atomlaşma mekanizmasının geçerli olması gerekir.

Sıvı referans madde kullanılarak elde edilen grafiklerde katı örneklerin içerisindeki matriksin incelenen analatın buharlaşma/atomlaşma işlemlerini kuvvetlice etkilemesi dışında başka bir problemle karşılaşmamaktadır. Atomlaşma basamağında açığa çıkan analatın pik alanı ile ölçümü gerçekleştirildiğinde bu problem giderilmektedir. Daha önce yapılmış çalışmalar bize gösterir ki; kuvvetli matriks etkisi altında bile kalibrasyon pik alanı ile yapıldığında doğru sonuçlar elde edilebilmektedir. Genellikle analatın kararsızlık problemi referans çözelti %1'lik HNO₃ ile asitlendirilince giderilmiş olur. Sonuçların güvenilirliği açısından çalışma alanının ve kullanılan malzemelerin temizliğine dikkat edilmelidir. Referans çözeltilerle yapılmış olan kalibrasyon grafiği kullanıldığında katı örneklerin nem içeriği problem oluşturabilir.

4.2.2. Standart referans madde (CRM) kullanımı ile kalibrasyon

Matriks ve buharlaşma/atomlaşma basamağına etki eden kalibrantın etkilerini en aza indirmek amacıyla doğal katı standart referans maddeleri kalibrasyon grafiklerinde kullanılmaya başlanmıştır. Yapılan çalışmalar, örneğe benzer kompozisyonda katı standart referans maddeler kullanılarak yapılan çalışmalarla başarılı sonuçlar elde edildiğini göstermiştir. Analizlerde kullanılan örnek miktarının az olması ve analatın örnek içerisinde homojen olarak dağılmaması elde edilen sonuçlarda belirsizliğe yol açmaktadır. Kalibrasyon eğrisindeki belirsizlik aralığını en aza indirmek için daha fazla örnek ölçümü yapılmalıdır. Elde edilen analitik sinyali sadece matriks kompozisyonu değil fırına verilen matriks miktarı da etkiler. Dolayısıyla kullanılan kalibrasyon maddesindeki ve örnekteki analat miktarlarının aynı oranda olduğundan emin olunmalıdır.

4.2.3. Sentetik referans madde oluşturarak kalibrasyon

Örnek kompozisyonun çok iyi bilindiği durumlarda sentetik referans madde hazırlanabilmektedir. Buna en iyi örnek gümüş içindeki Au ve Pd analizinde standart çözeltilere çözülmüş gümüş ekleyerek (400 µg) aynı tür matriks ortamı oluşturulmuş

ve sinyalin azaltılmasının önüne geçilmiştir [31-33]. Katı sentetik referans maddelerin hazırlanması sıvı sentetik referans maddelere oranla daha zor olmasına rağmen bu konuda çeşitli teknikler geliştirilmiştir.

Sülfid filizi analizi için Langmyhr ve grubu matriks kompozisyonunu oluşturan maddelerin(ZnS, FeS, PbS, CuS, S) öğütülüp karıştırılmasıyla sentetik katı referans maddeyi elde edip, içerisine analat olarak kadmiyum sülfürü iki seyreltme basamağıyla ilave edip hazırlamış olduğu sentetik katı referansı kullanarak sülfür filizi içerisindeki Cd analizini gerçekleştirmiştir. Bu metotla elde edilen sonuçlar diğer metotlarla elde edilen sonuçlarla oldukça yüksek oranda uyum göstermektedir [31-33].

4.2.4. Standart ekleme metodu

Standart ekleme metodunda bilinen miktardaki analat bilinmeyen örnekle birleştirilir. İncelenen katı test örneği üzerine bir miktar bilinen analat çözeltisi eklendiğinde ancak çok özel şartlar altında eklenen analatın buharlaşma/atomlaşma kinetiğinin örnek matriksi tarafından eşit oranda etkileneceğini varsayabiliriz. Klasik standart ekleme metodunda değişken oranlarda analat içeren referans çözeltiler sabit miktardaki (sabit hacim) test örneğine eklenir. Lineer regrasyon işlemleri ile “sıfır cevap” noktası yardımıyla örnek içindeki analat miktarı bulunmuş olur. Katı örneklemede sürekli aynı örnek miktarını almak mümkün olmadığı için farklı standart ekleme yöntemleri kullanılabilir. Bu yöntemlerden birincisi “değişken örnekli standart ekleme metodu”dur. Bu yöntemde eklenen analat miktarı sabit tutularak örnek miktarı değiştirilmektedir. Klasik standart ekleme yöntemindeki işlem basamakları ile örnek içerisindeki analat konsantrasyonu bulunabilir. Eğer hem örnek miktarı hemde eklenen analat miktarı aynı anda değiştirilir ise bu yöntem “değişken örnekli ve standartlı standart ekleme metodu” denir. Bu durumda üç boyutlu grafik elde edilir ve buradan örnek içerisindeki analat konsantrasyonuna geçilir [31-33].

4.3. AAS ile Katı Analizin Gelişimi

Grafit fırın tekniğinin katı örneklerin doğrudan analizi için uygun olduğu bu tekniğin atomik spetrometre ile element analizini geliştiren L’vov tarafından [37] ilk kez ifade edilmiştir. L’vov yayınlamış olduğu bu makalede grafit fırının katı örneklerin

doğrudan analizi için uygun bir atomlaştırıcı olabileceğini ileri sürmüştür. Bunu takip eden yıllarda L'vov ve çalışma grubu birçok deney yaparak grafit fırının katı örneklerin analizi için uygun olduğunu ispatlamışlardır [38].

Katı örneklerin doğrudan analizinin sistematik gelişiminin ve temel metodolojik temellerinin atılması Oslo üniversitesindeki Langmyhr ve arkadaşları tarafından jeolojik örneklerin analizi sırasında şekillenmiştir [40].

Zemin absorpsiyon düzeltme tekniklerindeki sınırlamalar sebebiyle doğrudan katı analizin çeşitli örneklerde uygulanmasını engellemiştir. Zemin absorpsiyonunu düzeltici tekniklerin gelişimi ve Zeeman etkisinin kullanımı ile bu tür örneklerin doğrudan analizi de gerçekleştirilebilmiştir. 1971 yılında Lawrence Berkeley laboratuvarında çalışan Hadeishi, McLaughlin ve çalışma arkadaşları geliştirmiş oldukları Zeeman AAS cihazının yüksek zemin absorpsiyonu veren biyolojik örneklerin doğrudan katı analizi için uygun olduğunu ispatlamışlardır [41].

Hadeishi'nin bu buluşu ile Zeeman etkili zemin düzelticiye sahip atomik absorpsiyon cihazlar geliştirilmiş ve ilk cihaz Grün-Optik şirketi tarafından üretilmiştir. Doğrudan katı örneklerin analizi için özel olarak dizayn edilmiş bu cihazda katı örneğin fırına verimesini sağlayan platform bot kullanılmıştır. Katı analizin geniş uygulama alanları ve bunların sistematik gelişimi Grobecker ve çalışma arkadaşları tarafından katı analizinin ilk metodolojisi olarak yayınlanmıştır [33].

Aynı yıllarda Kitami Enstitüsünde Atsuya ve çalışma arkadaşları ticari grafit fırınlı AAS cihazını modifiye ederek katı örneklerin analizini gerçekleştirmişlerdir. Yapmış oldukları bu cihazda (Hitachi) ters Zeeman etkisi kullanılmış (manyetik alan atomlaştırıcıya uygulanmakta) ve örnek taşıyıcı olarak ta grafit kap başarı ile uygulanmıştır. Bu grubun yapmış olduğu biyolojik örneklerdeki analizlerin sistemin gelişmesi için büyük katkıları olmuştur [42].

Örneğin heterojen olmasının etkisi Kurfürst ve grubu tarafından uzun yıllar çalışılmış ve katı örneklerin doğrudan analizinde örnek heterojenliğinin belirleyici bir etken olduğu bulunmuştur. Bu çalışmalar sonucunda "heterojenlik kontrolü" katı örnekleme sistemleri içinde yeni bir çalışma alanı haline dönüşmüştür [33].

Sıvı örneklerin analizi için geliştirilen cihazlar, katı örnekler için yeni örnek verici sistemler geliştiren üreticilerin hızı bir şekilde kabul görmesini engellemiştir. Katı örnekler için yeni geliştirilen sistemlerin çabuk kabul görmemesinin nedeni, yeni

geliştirilen cihazlarda grafit tüpün boyutunun oldukça küçültülmesi sonucu yüksek hassasiyet sağlanması fakat buna karşılık katı örneklerin fırına verilmesinin engellenmesidir. Buna karşılık yeni bir yöntem olan slurry tekniği önem kazanmıştır. Bulamaç tekniğinde öğütülmüş olan örnekler bulamaç halinde fırına verilmektedir. Bu teknik ile sıvı analiz için geliştirilen sistemler değişikliğe gerek duyulmadan kullanılabilir. Miller-Ihli “ultrasonic agitation” uygulamasıyla bulamaç tekniğini geliştirmiş ve bu konuda karşılaştırmalı çalışmalar yaparak bu tekniğin metodolojisini ve çeşitli uygulamalarını bilim dünyasına kazandırmıştır [43]. Yapılan bu çalışmaların katı örnekleme için uygulamaları da olabilmektedir. Bunların yanı sıra son yıllarda sürekli ışık kaynaklı atomik absorpsiyon spektrometreleri de geliştirilmiştir [44]. Yüksek çözünürlüklü sürekli ışık kaynaklı atomik absorpsiyon spektrometreleri ile de katı örnekleme aparatı uygulanarak analizler yapılmaktadır [44].

4.4. Doğrudan Katı Analizin Avantajları

Katı örneklerin GFAAS ile doğrudan analizi örnek çözme basamaklarında meydana gelen zaman kaybını ortadan kaldırdığı için yaş analiz metodlarına göre daha iyi bir yöntemdir. Direk katı örnekleme analizi yöntemi yüksek hassasiyet, kolay örnek hazırlama, düşük kontaminasyon ve volatilizasyon riski, toksik çözücüler kullanmaya gereksinim duyulmaması gibi avantajlar içermektedir. Yaş analiz metodunda örneği çözmek için kullanılan asitler eser elementlerin analizi sırasında girişimlere sebep olabilmektedir [30,33].

Diğer avantajları ise düşük dedeksiyon limitleri ve küçük örnek hacminde çalışabilme ihtimalidir. Bu yöntemin dezavantajları ise yüksek girişimler, kalibrasyon oluştururken meydana gelen zorluklar ve örneklerin homojen dağılmaması problemi.

Örneklemedeki hataların sebepleri; analitin dağılım düzeni, partikül büyüklüğü, örnek miktarı ve analit konsantrasyonudur.

Doğrudan örnekleme GFAAS de karşılaşılan en büyük problem kalibrasyonun güvenilirliğidir. Metod optimizasyonu sırasında sertifikalı referans madde kullanılırsa, analitik prosedürün kalite kontrolü için konsantrasyonu bilinen analit

kullanılır. Eğer uygun sertifikalı referans madde yoksa analitik metodun doğruluğunu teyit etmek zorlaşacaktır [44].

Son zamanlarda doğrudan katı rneklemele GFAAS ile eser element analizleri yaygın olarak kullanılmaktadır. zellikler elektrotermal atomlaştırıcı GFAAS'nin sunduğu birçok avantaj bulunmaktadır; tekrarlanabilirlik, düşük maliyet ve kontaminasyonun etkilerinin en aza indirilmesi gibi. Bundan yaklaşık 12 yıl öncesine kadar GFAAS ile direkt katı rneklemele analiz yöntemi sadece Zeeman arka plan düzeltici ve aksiyel olarak ısıtılan grafit fırınla mümkündü, son dönemlerde çıkan yayınlarda D₂ arka plan düzeltici ve enlemesine ısıtılan grafit fırınlar kullanılmaktadır.

Doğrudan katı rneklemele analizlerde partikül büyüklüğü ve homojen olmama sorunu analiz sonuçlarının kesinliğini doğrudan etkilemektedir. Ortalama olarak tek seferde analizi yapılması gereken örnek miktarı 0,030-0,690 mg'dır. Birçok katı örneğin parçacık boyutunun küçülmesi için analizden önce öğütülmesi gerekmektedir. Çoğu katı maddeler, özellikle doğa örneklerinin, uygun boyutlara getirilmesi için öğütülmesi gerekmektedir. (e.g. 20 mm'den küçük boyutlara indirilir). Bu yöntem, ölçüm için 0,5 g'dan büyük miktarların kullanıldığı ve örneklerin çözme metodu ile homojenize edildiği yaş metoduyla karşıt özelliktedir [44].

5. DENEYSEL KOŞULLAR

5.1. Kullanılan cihazlar

Bu çalışma D₂ zemin düzeltmeli Analytik Jena Vario 6 Atomic Absorption Spektrometresi kullanılmıştır. Ayrıca katı örnekleme için SSA61 Katı Örnekleyici ve boyuna ısıtmalı grafit tüp ile çalışılmıştır. Cihaza monte edilebilen bilgisayar kontrollü otomatik katı örnekleyici kullanılarak örnekleyici üzerinde bulunan 0,001 mg düzeyinde mikro terazi yardımıyla tartımlar alınmıştır. Pirolitik kaplı grafit tüpler ve katı örneklerin kullanımı amacıyla özel olarak üretilmiş pirolitik kaplı platformlar deneyde kullanılmıştır. Mikro terazide ölçülen değerler otomatik olarak ana işlemciye gönderilmiş, gerektiğinde sıvı standart veya modifier kullanımı için otomatik olarak sistem ayarlanmıştır. Sıvı enjeksiyonlar $\pm 0,3 \mu\text{L}$ (%3,0) hassasiyetli Eppendorf mikro pipet kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Işık kaynağı olarak Pb, Ni, Cu oyuk katot lambaları kullanılmıştır. Çalışılan elementler için enstrümental parametreler Çizelge 5.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 5.1: Pb, Cu, Ni için enstrümental parametreler.

Element	Dalga boyu (nm)	Bant genişliği (nm)	Lamba akımı (mA)
Pb	283,3	0,8	4
Cu	324,8	0,8	3
Ni	232,0	0,2	12

Sıvı örnekleme sistemi için Varian Atomik Absorpsiyon Spektrometresi kullanılmıştır. Örnekler HNO₃ ve H₂O₂ kullanılarak CEM Mars 5 mikrodalga fırınında çözme işlemi gerçekleştirilmiştir.

Çalışma şartlarının optimize edilmesinden sonra deneylerde kullanılan elementlerin katı örnekleme ile grafit fırın programı Çizelge 5.2'deki gibidir.

Çizelge 5.2 : Katı örnekleme ile Pb, Cu, Ni tayini için grafit fırın programı.

Basamak no	Fırın sıcaklığı (°C)	Çıkış hızı (°C/s)	Süre (s)	Argon akış hızı (L/s)
Kurutma	120	25	15	0,3
Piroliz	*	250	20	0,3
Atomlaşma	**	Max power (>1000)	***	0,0
Temizleme	2600	1000	5	0,3

*kurşun için 800 °C, bakır için 900 °C ve nikel için 1200 °C

** kurşun için 1800 °C, bakır için 1900 °C ve nikel için 2400 °C

***kurşun için 5 s, bakır ve nikel için 10 s

5.2 Kullanılan kimyasallar

Kullanılan tüm reaktifler analitik saflıktadır (Merck, Almanya). Sertifikalı referans maddesi olarak toz halinde bulunan NCS ZC 81002b ve NCS DC 73347 Sertifikalı Referans maddeleri (China National Analysis Center, Çin) kullanılmıştır.

Pb, Cu, Ni stok çözeltileri 1000 mg/L den seyreltilerek kullanılmıştır (Titrisol, Merck, Almanya). Tüm seyreltmeler distile-deiyonize su kullanılarak yapılmıştır.

Sürükleyici gaz olarak %99,99 saflıkta Argon gazı kullanılmıştır.

5.3 Örnek hazırlama

İnsan saçı örnekleri IAEA [2]'de belirtildiği üzere önce yıkanmıştır. Yıkama işlemi için sırasıyla aseton, destile-deiyonize su (3'er kez) ve tekrar aseton ile işleme tutulduktan sonra 75 °C'de etüvde kurutulmuştur. Kurutulan örnekler sıvı azot varlığında agat havanda öğütülmüştür. Saç örnekleri sıvı azot kullanmadan öğütme işlemi gerçekleştirmek mümkün değildir. Öğütme işlemi istenilen örnek boyutuna

geldikten ve uygun homojenizasyon sağlanana kadar 20-30 dak arasında devam etmektedir. Ancak tamamen homojen dağılım tam olarak sağlanmamaktadır.

Yaklaşık olarak 0,05-1,0 mg kurutulmuş örnekler katı örnekleyici platforma yüklenmiştir. Platform üzerindeki örnekler otomatik olarak tartılmış ve fırına gönderilmiştir. Tüm çalışmada pik alanları üzerinden hesaplamalar yapılmıştır. Katı örnekleme sisteminde kullanılmak istendiğinde çözeltiler 10 µL haciminde mikropipet kullanılarak enjekte edilmiştir.

Sıvı örnekleme için örnekler yaklaşık olarak 50 mg saç örnekleri tartılmış ve mikrodalga fırın kullanılarak çözünürleştirme işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla 6 mL konsantre HNO₃ ve 2 mL %30'luk H₂O₂ kullanılarak 160 °C'de 30 dak mikrodalga çözünürleştirme işlemi gerçekleştirilmiştir.

Kalibrasyon, sıvı çözeltiler kullanılarak standart kalibrasyon tekniği ile yapılmıştır. Sonuçlar 5 ölçümün ortalaması alınarak verilmiştir.

Katı örnekleyici sistem kullanılarak yapılan toplam ve segmentel saç analizlerinde, saç teli temiz ve düzgün bir yüzeye yapıştırılmış ve daha sonra 0,5 cm uzunluğunda kesilerek platforma yerleştirilmiştir. Bir ile üç saç teli aynı bölgeden alınmış ve aynı uzunlukta kesilmiştir. Önemli olan noktalardan biri saç telinin aynı bölgelerden alınmasının yanı sıra büyüme yönünün bilinmesidir. Aksi durumda analitlerin kronolojik analizinin incelenmesi gerçekleştirilemez. Toplam veya segmentel analit konsantrasyonu için herbir kişinin aynı yerden alınmış aynı boyuttaki saç örneklerinin 5'er kez ölçülmesinin ortalaması alınarak yapılmıştır.

6. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada, insan saçı örneklerinde ve saç teli boyunca katı örnekleme tekniği ile grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektrometresinde çeşitli elementlerin doğrudan analizi için yöntemler geliştirilmiş ve sonuçlar rutin çözme tekniği ile karşılaştırılmıştır. Bu amaçla piroliz sıcaklığı ve atomlaşma sıcaklığının, modifier ve yardımcı reaktifler eklemenin (hidrojen peroksit, nitrik asit ve çeşitli yüzey aktif maddeler) ve örnek miktarının doğruluk, duyarlık ve kesinliğe etkileri incelenerek deneysel koşullar optimize edilmiştir. Optimize koşullarda analitik parametreler belirlenerek ve sertifikalı referans maddeler kullanarak yöntem validasyonu yapılmıştır. Çeşitli insan saçı örneklerinde analizler yapılmış ve sonuçlar çözme tekniği ile karşılaştırılmıştır.

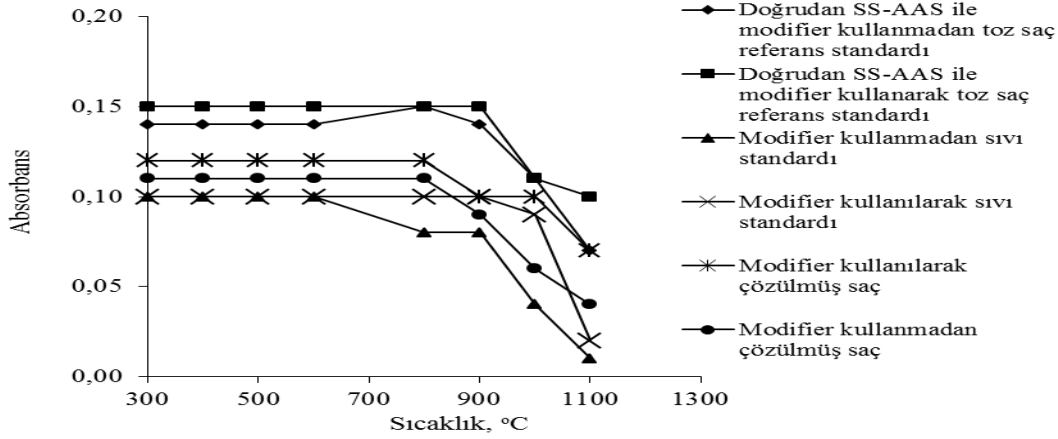
Analitlerin saç teli boyunca dağılımı saç büyüme hızı ile korale edildiğinde belli zaman aralığı içinde kişinin söz konusu analite maruziyetinin zamanla değişimi ve özellikle aşırı bir maruziyet varsa bunun ne zaman gerçekleştiği konusunda bilgi verebilmektedir. Katı örnekleme tekniği çok düşük miktarda örnek analizi için uygun olduğundan analit(ler)in saç teli boyunca heterojen dağılımının incelenmesi (segmentel analiz) bakımından özellikle önemli bir avantaj sağlamaktadır. Bu amaçla insan saçı teli 0,5 cm'lik kısımlara ayrılarak optimize edilen katı örnekleme yöntemi ile analiz edilmiştir. Segmentel analiz bilinen sıvı örnekleme tekniği ile yapılamamaktadır. Bunun en büyük nedeni her seferinde örnek çözünürleştirilmesi için en küçük miktarın 50 mg kadar olabilmesidir.

6.1 Kurşun Tayini:

6.1.1. Piroliz ve Atomlaşma Sıcaklığı Optimizasyonu ve Yardımcı Reaktiflerin ve Modifierın Etkisi

Piroliz eğrisi etkisini incelemek amacıyla 0,025 ng sulu Pb standardı, katı ve çözülmüş sertifikalı referans insan saçı (NCS ZC 81002b) ile çalışılmıştır. Bu örnekler üzerine modifier ve ayrıca örneklerin atomlaşma öncesi en azından kısmen bozundurulması için yardımcı reaktif (%0,1 (v/V) H₂O₂ + %1,0 (v/V) HNO₃)

ekleyerek ve eklemeyen deneyler yapılmıştır. Çeşitli koşullarda elde edilen piroliz eğrileri Şekil 6.1’de gösterilmiştir. Yardımcı reaktiflerin anlamlı bir etkisi olmadığından ve çok fazla eğri olduğundan şekilde karışıklığa neden olmamak için yardımcı reaktiflerin etkisi gösterilmemiştir.



Şekil 6.1 : Doğrudan katı örnekleme ile 0,025 ng standart Pb çözeltisi, çözülmüş saç referans maddesi (NCS ZC 81002b) ve katı saç referans standart maddesi (NCS ZC 81002b) için Pd/Mg modifier kullanılarak ve kullanılmadan piroliz eğrileri (N=5).

Grafit fırına enjekte edilen sulu standart 0,025 ng Pb içerdiği halde doğrudan katı örnekleme tekniğinde her seferinde tam olarak 0,025 ng Pb içerecek şekilde örnek tartılması mümkün olmadığından sağlıklı bir karşılaştırma yapabilmek amacıyla farklı kütlelerde tartılan sertifikalı referans saç maddesinin absorbans değerleri sertifika değerine göre 0,025 ng kurşuna normalize edilmiştir.

Bu çalışmada yardımcı reaktif ve/veya modifier dağılımını kolaylaştırmak amacıyla Triton X-100 kullanılmıştır. Ancak Triton X-100 örneklerin platform üzerinde fırına yollanması sırasında bazı saç tozlarının dağılmasına neden olduğundan tekrarlanabilir sonuçlar elde edilememiş ve dolayısıyla başarıyla uygulanamamıştır.

Modifier olmadan kurşun sıvı standardı ve çözülmüş saç örneği grafit fırında 600 °C'ye kadar buharlaşmadan kalmaktadır. Buna karşın modifier çözeltisi (10 µg Pd + 3 µg Mg) varlığında 1000 °C'ye kadar termal olarak stabil olarak kalabilmektedir (Şekilde gösterilmemiştir). Ancak bu durumda blank değerleri saç örneğinin kurşun içeriği civarında bulunmaktadır. Dolayısıyla blank hazırlanması ve ölçümü sırasında farklı kaynaklardan gelen en küçük değişimler bile ciddi ve tolere edilemez büyük hatalara yol açmaktadır.

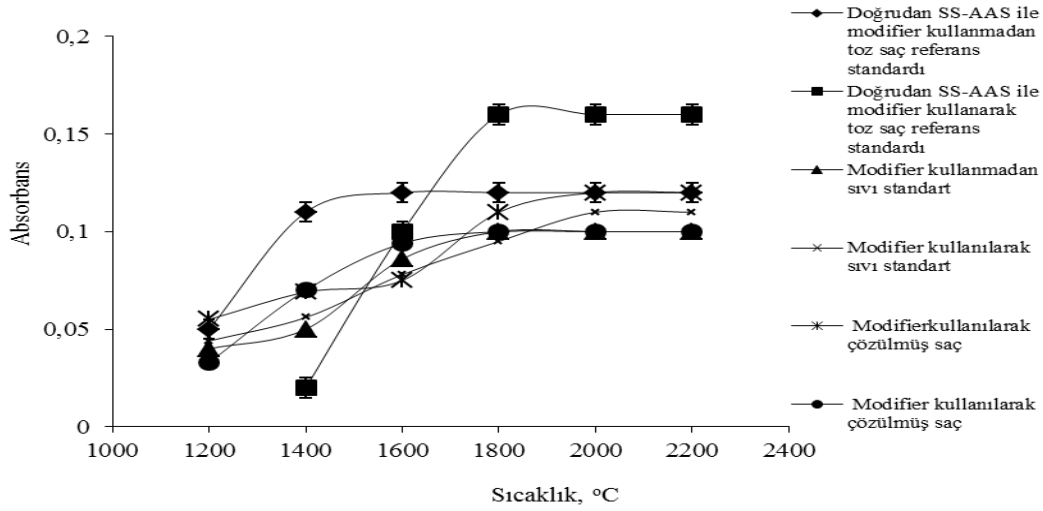
Katı örnek üzerine modifier + yardımcı reaktif çözelti karışımı (10 µg Pd + 3 µg Mg + %0.1 H₂O₂ + %1 HNO₃) eklendiğinde, kurşun 1000 °C'nin üzerinde grafit fırında stabil olarak kalmaktadır. Ancak çözelti tekniğinde olduğu gibi 1000 °C'ye ulaşsa bile modifier + yardımcı reaktif çözelti karışımı (10 µg Pd + 3 µg Mg + % 0,1 H₂O₂ + % 1 HNO₃) için zemin ve blank değerleri yine yüksek ve ayrı ayrı hazırlanan blanklerin değerleri tolere edilemeyecek kadar farklı olduğundan hatalı ve kesinliği daha düşük sonuçlara yol açabilmektedir.

Diğer yandan yukarıda belirtilen modifier + yardımcı reaktif karışımı katı saç örnekleri katılmadığında kurşun grafit fırında 800 °C ile 900 °C'lerde stabil kalabilmektedir ve zemin değerleri yeterince düşüktür. Ayrıca neredeyse hiç blank değerleri elde edilmemiştir. Saçın kendini koruyabilmesinden dolayı modifierin ve bununla beraber yardımcı reaktif kullanımının sonuçlarda dikkate değer bir gelişme sağlayamadığı görülmektedir. Buna karşılık, reaktif eklenmesinin yüksek blank değerlere neden olmuştur. Modifier varlığındaki 100-200 °C'lik ilave korumanın avantajı blank ve zemin değerler nedeniyle ortaya çıkan dezavantajlar nedeniyle göz ardı edilebilir. Bu nedenle saçta kurşun analizinde modifier ve yardımcı çözücü/bozundurucu reaktiflerin kullanılmamasına karar verilmiştir.

İnsan saç örneklerinde kurşunun modifier olmadan korunabilmesi saçın kendi fiziksel ve/veya kimyasal özelliğinden kaynaklanmaktadır. Saçtaki kurşun keratinin sistinindeki kükürt atomlarından, ve/veya diğer amino asitlerin, karboksil grupların veya melanindeki semikinonların sülfüdrür (SH) gruplarından bağlanabilir, bu da analitin az uçucu birleşikleri formuna geçirerek modifier olarak ve/veya piroliz sırasında saçı karbonize ederek kurşunun fiziksel olarak korunması şeklinde rol oynamasına neden olur. Ancak, IAEA'ya göre literatürde saçtaki kimyasal grupların eser elementlerle bağı kesin olarak açıklanamamıştır [2]. Dolayısıyla, kurşunun saç bileşenleriyle fonksiyonel olarak nasıl bir bağ yaptığı ile ilgili daha ileri bir yorum getirememekteyiz.

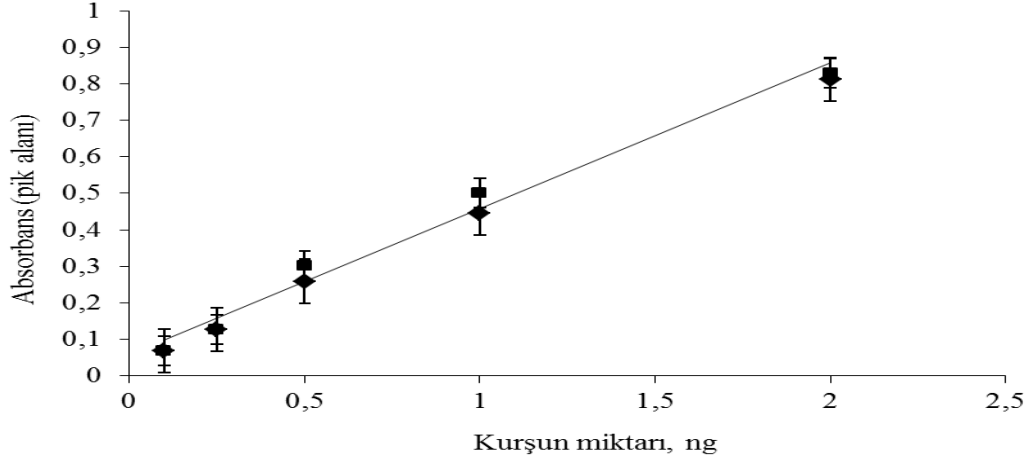
Şekil 6.1'den çıkartılacak diğer bir sonuç ise sıvı çözeltide ve katı saç standardında kurşunun duyarlılıkları birbirine yakındır. Dolayısıyla saçtaki kurşun herhangi bir modifier ve/veya yardımcı reaktifler gerek olmadan sıvı standart kullanarak tayin edilebilir. Sıvı standart ve katı saç standardı kullanarak elde edilen kalibrasyon eğrisi Şekil 6.3'de verilmiştir. Buradan da açıkça görülmektedir ki doğrudan katı örnekleme ile saçta kurşun analizinde sıvı kurşun standardı kullanılabilir.

Atomlaşma sıcaklığı optimizasyonu için de piroliz çalışmasında olduğu gibi 0,025 ng sıvı Pb standardı, çözülmüş insan saçı standart referans maddesi (NCS ZC 81002b), toz halde insan saçı standart referans maddesi (NCS ZC 81002b) ile çalışılmıştır. Bu örnekler üzerine modifier (10 µg Pd + 3 µg Mg) ve yardımcı reaktif (için % 0,1 (v/V) H₂O₂ + % 1,0 (v/V) HNO₃) kullanılarak ve kullanılmadan deneyler yapılmıştır. Burada da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Yapılan bir seri çalışma sonucu 1800 °C’de herhangi bir modifier ve/veya yardımcı reaktif kullanmadan uygun atomlaşma saptanmıştır(Şekil6.2).



Şekil 6.2 : Doğrudan katı örnekleme ile 0,025 ng standart Pb çözeltisi, çözülmüş saç referans maddesi (NCS ZC 81002b) ve toz saç referans standart maddesi (NCS ZC 81002b) için Pd/Mg modifier ve yardımcı reaktif kullanılarak ve kullanılmadan atomlaşma eğrileri (N=5).

İnsan saçı standart referans maddesinin analizinde doğrudan örnekleme tekniğinin standart sapmaları değerleri çözelti tekniğine göre yüksek çıkmaktadır. Bunun nedeni genel olarak bilindiği gibi standart referans maddedeki mikro heterojeniteden kaynaklanmaktadır. Katı örneklemede kullanılan saç miktarı (<1 mg) saç örneğinin çözülerek analizinde kullanılan ve aynı zamanda sertifikalı örneğin sertifikasında belirtilen değer ve belirsizliğin eldesi için tartılması gereken miktarına göre (50 mg civarında) çok daha azdır. Referans maddelerin sertifika değerleri ancak belirli miktar örnekleme için geçerli olup bu değerler katı örneklemede kullanılan miktarlardan çok daha azdır. Dolayısı ile garanti edilen değerler ve belirsizlikleri katı örneklemede kullanılan miktarlarda tam geçerli değildir ve bulunan sonuçların sertifika değerlerinin belirsizlik sınırları dışında kalabilmesi makul karşılanır.



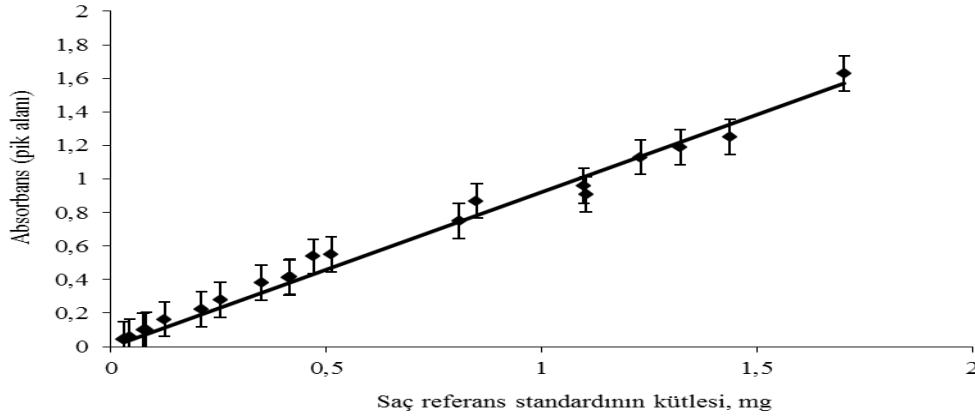
Şekil 6.3 : Sıvı standart (◆) ile ve toz saç standardı (İnsan saçı, NCS ZC 81002b) (■) ile kurşun için kalibrasyon eğrisi.

6.1.2. Madde Miktarı Etkisi

Doğrudan katı örnekleme için diğer bir parametrede örnek miktarının lineerliğe etkisidir. Birçok kitap ve makalede belirtildiği gibi doğrudan katı örnekleme tekniğinde hem analit hem fırına yüklenen örnek miktarına bağlı olarak kalibrasyon eğrisinin lineerliği etkilenmektedir [28-31]. Bu nedenle fırına yüklenen katı örnek miktarı bu iki parametre bakımından lineerliği sağlayacak şekilde olmalıdır. Lineerlik uygun miktarda olamayan katı örnek nedeniyle sapabilir. Kurşun için katı örnek miktarının duyarlılığa etkisi Şekil 6.4'te gösterilmiştir. Örnek miktarının etkisi 0,03 mg ile 2,00 mg arasındaki toz standart saç referans maddesinde (NCS ZC 81002b) denenmiştir. Şekil 6.4'te de görüldüğü gibi sıvı standart çözeltiye göre hazırlanan kalibrasyon eğrisinin lineerlik sınırını aşmadan ve içerisinde 7 ng kurşun içeriği bulunan referans maddede 1,8 mg madde miktarına kadar lineer olup daha yüksek miktarlarda tekrarlanabilirlik azalmakta ve duyarlılık düşmektedir. Bu da göstermektedir ki örnek miktarı da lineerliği etkilemektedir. Bunun nedenlerinden biri aşırı dolu platformda analitin atomlaşmasının tam olmaması olabilir. Ancak bu konuda kesin bir açıklama olmadığından bu durumu ampirik olarak değerlendirip daha fazla spekülasyondan yapılmamıştır.

Sonuç olarak toz haldeki saç örneği için, analit konsantrasyonuna bağlı olarak grafit fırına yüklenen saç örneğinin miktarı 1,8 mg'ı geçmemelidir. Diğer yandan, platforma fazla miktarda yükleme yapılırsa örneğin fırına transferi (teraziye ve oradan fırına transfer) sırasında zaman zaman bazı kayıplar olabilmektedir.

Dolayısıyla bu çalışmada emniyeti göz önüne alarak platforma yüklenen madde miktarı 1,0 mg geçmeyecek şekilde yapılmıştır.



Şekil 6.4 : İnsan saçı standart referans maddesi (NCS ZC 81002b) kullanarak örnek kütlesinin kurşunun lineerliğine etkisi.

6.1.3. Analitik Özellikler ve Metodun Uygulaması

Doğrudan katı örneklemede daha iyi analitik sonuç elde etmek için platforma yüklenen örnekler modifier (Pd, Mg, Ca vb), yardımcı çözeltiler (H_2O_2 , HNO_3 vb) ve Triton X-100 gibi yüzey aktif maddelerle muamele edilmektedir. Ancak tüm bu eklemeler aslında katı örneklemenin temeline aykırıdır, çünkü katı örneklemenin avantajlarından bazıları kimyasallar ve tehlikeli reaktifler kullanılmaması ve dolayısıyla düşük maliyet ve çevresel kirliliği önlemektir. Ayrıca örnek içeren platforma reaktif eklendiğinde, blank değerleri ve tayin sınırı (LOD) değerleri eklenen reaktiflerin blank değerlerine bağlı kalmaktadır. Bu şartlar altında blank değerleri daha az tekrarlanabilir olabilir, aynı şekilde LOD değerleride tekrarlanan ölçümlerin standart sapmalarından (3σ) hesaplandığından hiç bir reaktif eklenmeden doğrudan bulunan LOD değerlerine göre daha yüksek olabilir. Bu durum özellikle LOD değerlerine yakın düşük konsantrasyonlu örnekler için önemlidir. Ayrıca ayrı ayrı hazırlanan blank değerlerin az da olsa tekrarlanabilir olmaması farklı günlerde yapılan aynı örnek analizlerinde farklı sonuçların ortaya çıkmasına neden olabilmektedir. Yine de bazı uygulamalarda yardımcı reaktiflerin ve modifierlerin katı örneklere eklenmesi gereği tamamen reddedilmemektedir.

Tayin sınırı (LOD) ve en düşük gözlenebilir sınır (LOQ), 3σ ve 10σ ya göre 10 defa boş fırın absorbans değerlerinin okunmasıyla elde edilmiştir. LOD (3σ , $N=10$)

0,54 ng/g, LOQ (10σ ; N=10) 1,8 ng/g olarak hesaplanmıştır. Bulunan LOD değerleri ile lineer eğriden (Şekil 2) hesaplanan (zero mass) değerler neredeyse aynı sonuçları verdiği görülmüştür.

Doğrudan katı örnekleme ile kurşun analizinde optimize edilen metot iki farklı standart referans madde için uygulanmış ve Çizelge 6.1’de verilen sonuçlar elde edilmiştir. Analizlerde sıvı standart ile kalibrasyon uygulanmıştır. Her iki standart referans madde için de doğrudan katı örnekleme Atomik Absorpsiyon Spektrometresi ile elde edilen sonuçlar % 95 güven aralığı içinde bulunmuştur. NCS DC 73347 ile yapılan kurşun konsantrasyonlarının relatif standart sapması biraz yüksektir. Fakat tablodan da görüldüğü gibi bu standart referans madde için belirtilen belirsizlikte mikro skalada homojen olmamasından dolayı aynı değerde yüksektir.

Çizelge 6.1: Sertifikalı insan saçı referans maddeleri için doğrudan katı örnekleme Atomik Absorpsiyon Spektrometresi ile kurşun analizi için bulunan analitik sonuçlar (N=5).

Örnek	Sertifika değeri ($\mu\text{g/g}$)	Bulunan* ($\mu\text{g/g}$)	Geri kazanım (%)
İnsan saçı(1) (NCS DC 73347)	8,8 \pm 1,1	7,6 \pm 2,4	86,4
İnsan saçı(2) (NCSZC 81002b)	3,83 \pm 0,18	3,53 \pm 0,4	92,2

* ortalama \pm güven aralığı

Daha sonra farklı kişilerin ense bölgesinden alınan 10 insan saçı örneğinde hem çözelti tekniği ile hem de doğrudan katı tekniği ile kurşun tayini yapılmıştır (Çizelge 6.2). Doğrudan katı örnekleme için saç telleri platformun büyüklüğüne göre küçük parçalara bölünerek verilmiştir. Herhangi bir modifier ve diğer reaktifler kullanılmamıştır. Aynı örnekler çözelti tekniği için mikrodalga fırında çözülmüş ve bu örnekler için Pd/Mg modifier kullanılarak yapılmıştır. Doğrudan katı örnekleme için her bir örnekten (kişiden) 5 ayrı örnek alınırken, çözelti tekniği içinde her bir çözülmüş örnekten 5'er enjeksiyon yapılmıştır. Her iki teknikle bulunan ortalama değerler % 95 güven aralığında olup fark gözlenmemiştir. Katı örneklemede RSD

değerleri beklendiği gibi daha yüksektir. Tüm sonuçlar göz önüne alındığında doğrudan katı örnekleme insan saçında kurşun tayini için uygun olduğu görülmüştür.

Çizelge 6.2 : Farklı insan saç örneklerinde ETAAS ile kurşun analizi* (N=5).

Örnek No	Çözelti tekniği (µg/g)	Doğrudan katı örnekleme tekniği (µg/g)
1	4,41 ±0,12	4,23±0,89
2	3,91 ±0,20	3,26±0,83
3	2,29 ±0,11	2,84±0,40
4	2,07 ±0,11	2,13±0,27
5	0,41 ±0,07	0,36±0,06
6	1,41 ±0,09	1,38±0,07
7	0,71 ±0,04	0,73±0,12
8	1,31 ±0,10	1,27±0,06
9	4,42 ±0,10	4,34±0,01
10	4,49 ±0,02	4,60±0,57

* ortalama±güven aralığı (İki farklı örnekleme tekniği ile bulunan kurşun içeriklerinde herhangi bir belirgin fark yoktur ($p>0.05$))

Normal sınır belirleme çalışmalarından en valide edilmiş olarak yapılan çalışmalardan biri olan Rodushkin and Axelsson'un yaptığı çalışmada 114 rastgele denek arasından alınan insan saç örneklerinde kurşun konsantrasyonu 0,22-7,26 µg/g arasında bulunmuş olup ortalaması (±SD) 0,95(±0,85) µg/g'dır [45]. Ancak normal sınır değer, elementel saç konsantrasyonu sağlıklı nüfustaki geniş değişimden dolayı genelde belirlenmemektedir. Buna coğrafya, yaş, cinsiyet, etnik faktör, saç tipi, saç yapılan muameleler ve diğer dış maruziyetler neden olmaktadır. Buna karşın DiPietro ve arkadaşları [46] Amerika Birleşik Devletlerinde hiçbir önemli etkiye maruz kalmamış yetişkin sağlıklı insanların saçlarında 28 element için analiz yapmış

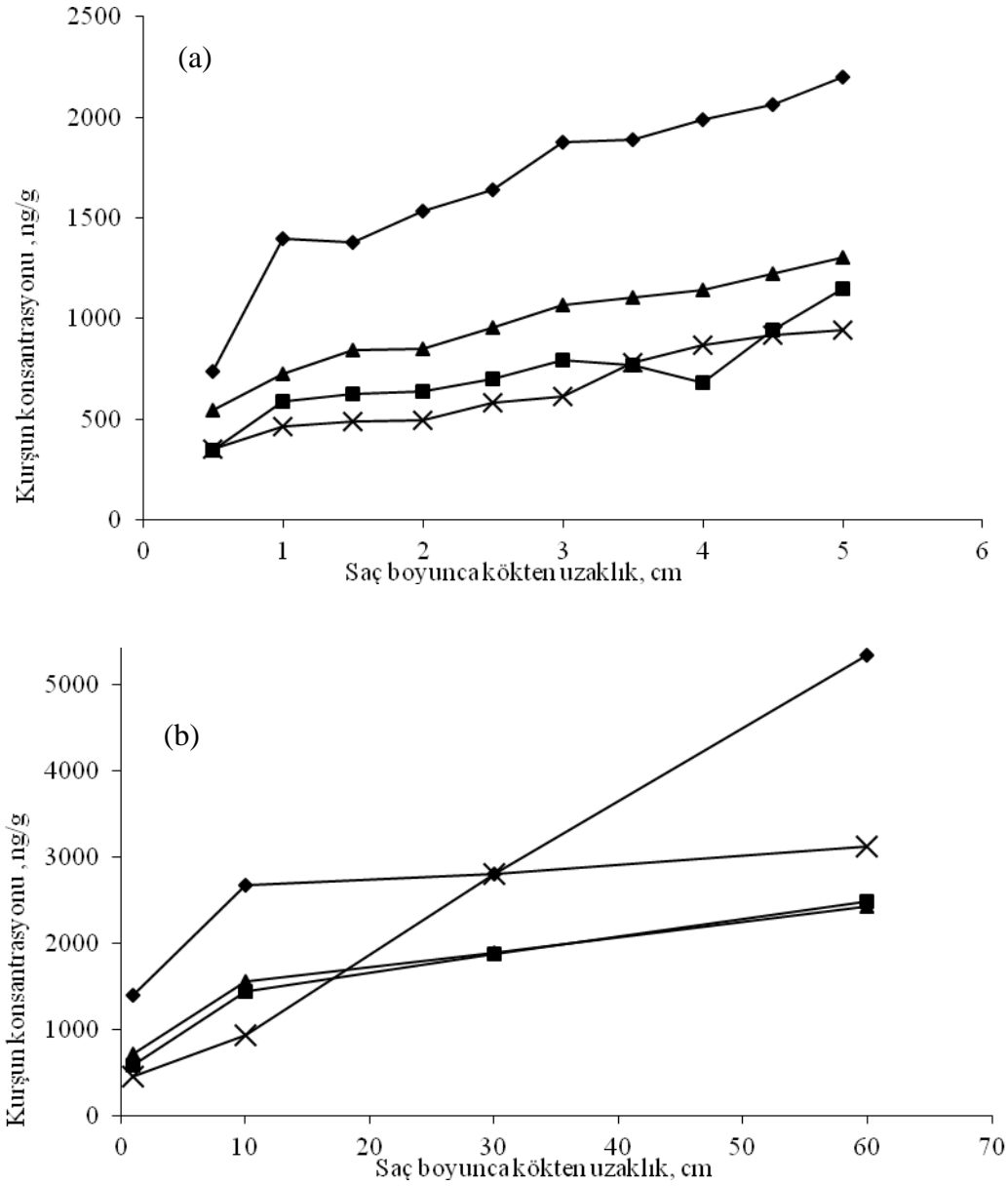
ve arsenik (0,15 ppm); kadmiyum (<0,15 ppm); nikel (0,39 ppm); ve kurşunu (2,43 ppm) olarak bulmuştur.

6.1.4. Segmentel Analiz

Saç kökünden alınan saç miktarı her zaman yaş yakma yöntemleri için yeterli miktara sahip olamaz ki yaş yakma yöntemleri için en az 50 mg örneğe ihtiyaç vardır. Buna ek olarak birçok insan çok miktarda özellikle saçın köke yakın yerlerinden saç vermek istemezler. Yaş yakma metotlarında saç örneğinin ortalama dağılımı hakkında bilgi verir ve toksikolojik olarak kişinin herhangi etkiye maruz kalıp kalmadığını (örneğin akut zehirlenme gibi) gösteremez; özellikle adli araştırmalarda akut veya kronik maruziyetin (çalışma koşullarından, gıdalardan, çevreden, özellikle kişiye kasten verilen veya kişinin aldığı zehirlerden) belirlenmesinde bu özellik önem kazanmaktadır. Eğer analitin ortalama bir konsantrasyonu gerekli ise yaş yakma teknikleri bir avantajdır. Ancak mikro skalada saç boyunca analit dağılımı yani segmentel analiz yapılacaksa veya yeterli miktarda örnek yoksa doğrudan katı örnekleme tekniği avantajlar sağlamaktadır. Doğrudan katı örnekleme tekniği çözelti tekniğiyle karşılaştırıldığında, çok küçük miktarlarda (<1 mg) çalışılabildiğinden az miktarlardaki örneklerde ve bir veya birkaç saç telinde yapılabilen segmentel analiz için için uygun bir tekniktir. Segmentel analizde bir veya birkaç saç teli kullanılarak herhangi bir toksik duruma maruz kalınmanın tarihçesi (ne zaman veya ne kadar miktarda) çıkartılabilir. Bu durum özellikle adli ve suç araştırmalarında yüksek dozda maruz kalma veya yüksek doz alımında veya geçmişte herhangi bir şeyle zehirlenme durumunda önem kazanmaktadır.

Segmentel kurşun analizinde saç teli örnekleri farklı kişilerden alınmıştır ve sıvı çözeltiye karşı doğrudan katı örnekleme ile valide edilen metodu uygulanarak tayin edilmiştir. Analiz için her bir saç teli 0,5 cm lik parçalara kesilmiştir. Bu belirleme saçların her 15-20 günlük büyüme periyotları olduğu düşünülerek yapılmıştır. Şekil 6.5'de farklı kişilerden alınan saç örneklerinde, saç boyunca kurşun konsantrasyonunun kronolojik değişiminin sonuçları verilmektedir. Her bir 0,5 cm lik parça 20-30 günlük maruziyet veya alımı göstermektedir. Eğer tek bir saç teli kurşun konsantrasyonunun tayin edilebilmesinde çok düşük geliyorsa iki veya daha fazla aynı yerden alınmış aynı 0,5 cm'lik saç teli platforma yüklenmiştir. Segmentel analiz için aynı bölgeden aynı uzunluktaki saç kısımlarından alınan 0,5 cm lik

kısımlardan 5'er tekrar yapılmıştır. Bazı saç telleri için aynı bölge ve aynı uzunlukta olsalar bile aynı büyüme evresinde olmazlar, bu durumda büyüme evrelerine göre kurşun içeriklerinde hem farklı saç telleri için hem de saç boyunca bazı farklılıklar gözlenebilmektedir.

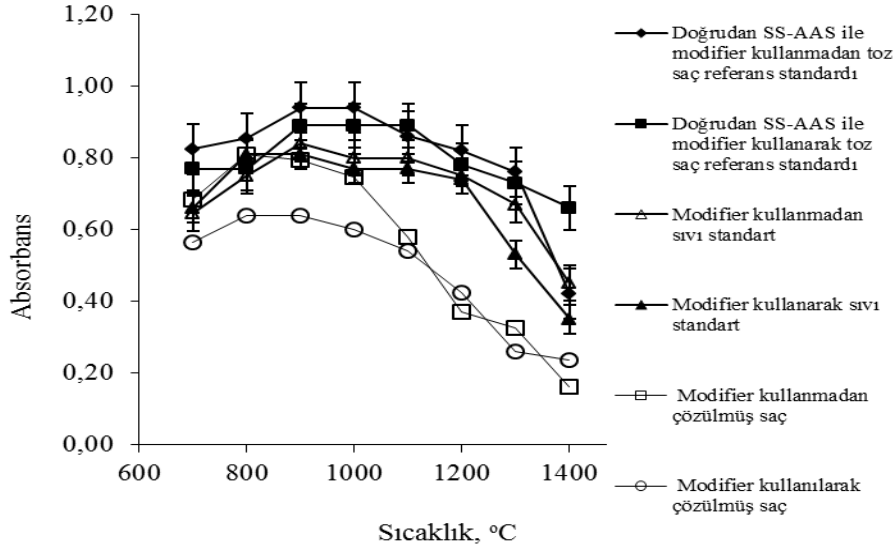


Şekil 6.5: Farklı kişilerden alınan saç örneklerinde kısa (a) ve uzun (b) saç boyunca kurşun konsantrasyonu dağılımı (N=5)

6.2. Bakır Analizi

6.2.1. Piroliz ve Atomlaşma Sıcaklığı Optimizasyonu ve Yardımcı Reaktiflerin ve Modifierın Etkisi

Piroliz eğrisi etkisini incelemek amacıyla 2,0 ng sulu Cu standardı, katı(toz halde) ve çözülmüş sertifikalı referans insan saçı (NCS ZC 81002b) ile çalışılmıştır. Bu örnekler üzerine modifier ve yardımcı reaktif kullanılarak ve kullanılmadan deneyler yapılmıştır. Modifier olarak 10 µg Pd + 3 µg Mg karışımı kullanılmış, ve ayrıca fırın programı devam ederken atomlaşma öncesinde örneklerin en azından kısmen bozuldurulması için % 0,1 (v/V) H₂O₂ + % 1,0 (v/V) HNO₃ yardımcı reaktif etkisi araştırılmıştır. Piroliz sıcaklığı belirlenmesinde çeşitli şartlarda saç örnekleri ve standart çözelti üzerine modifier etkisi Şekil 6.6'de gösterilmiştir. Çok önemli bir katkısı olmadığından ve şekilde çok sayıda eğri olduğundan karışıklığa neden olmamak için yardımcı madde varlığında piroliz eğrileri gösterilmemiştir.

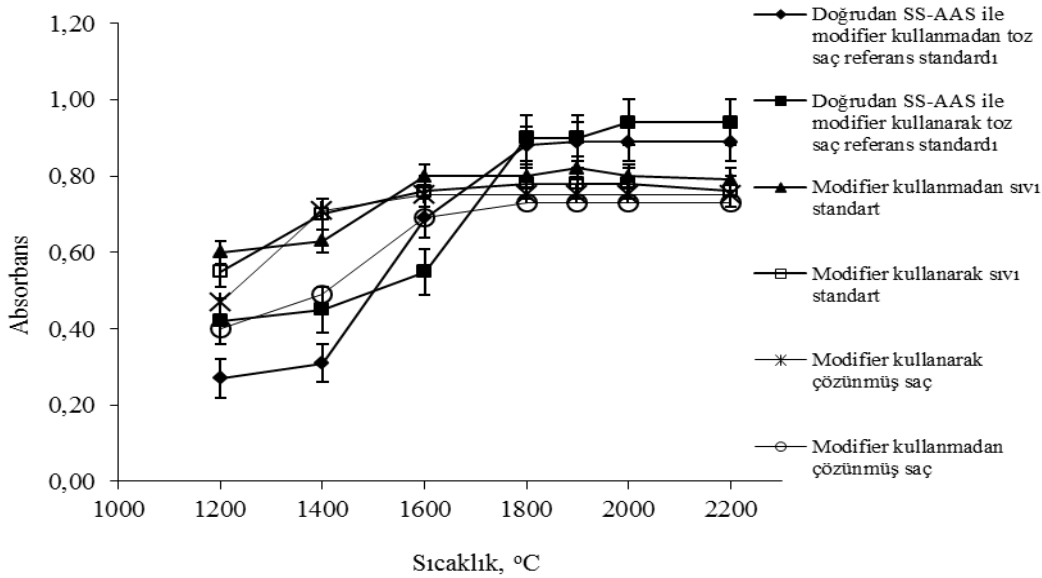


Şekil 6.6 : Doğrudan katı örnekleme ile 2,0 ng standart Cu çözeltisi, çözülmüş saç referans maddesi (NCS ZC 81002b) ve katı saç referans standart maddesi (NCS ZC 81002b) için Pd/Mg modifier kullanılarak ve kullanılmadan piroliz eğrileri (N=5)

Kurşun analizinde de olduğu gibi doğrudan katı örnekleme tekniğinde her seferinde tam olarak aynı miktarda örnek tartılması mümkün olmadığından sağlıklı bir karşılaştırma yapabilmek amacıyla farklı kütlelerdeki absorbans değerleri 2,0 ng sertifikalı referans saç maddesinin sertifika değerine göre normalize edilmiştir.

Modifier yokluğunda hem sıvı standart hem de çözülmüş saç örnekleri için en yüksek piroliz sıcaklığı olarak 900 °C elde edilmiştir. Aynı zamanda 10 µg Pd + 3 µg Mg modifier varlığında da 1100 °C olarak piroliz sıcaklığı bulunmuştur. Diğer bir yandan modifier + yardımcı reaktif katı saç örneğine katılarak ve katılmadan piroliz sıcaklığı incelendiğinde bu sıcaklığın 1100 °C’lerde termal olarak stabil olduğu görülmüştür. Ancak zemin ve blank değerleri daha düşük olmaktadır. Kurşunda olduğu gibi Triton X-100 gibi yüzey aktif maddelerin kullanımı burada da saç tozlarının uçmasına ve platform üzerinde dağılımı etkilemektedir, dolayısıyla Cu tayininde de kullanılmamıştır.

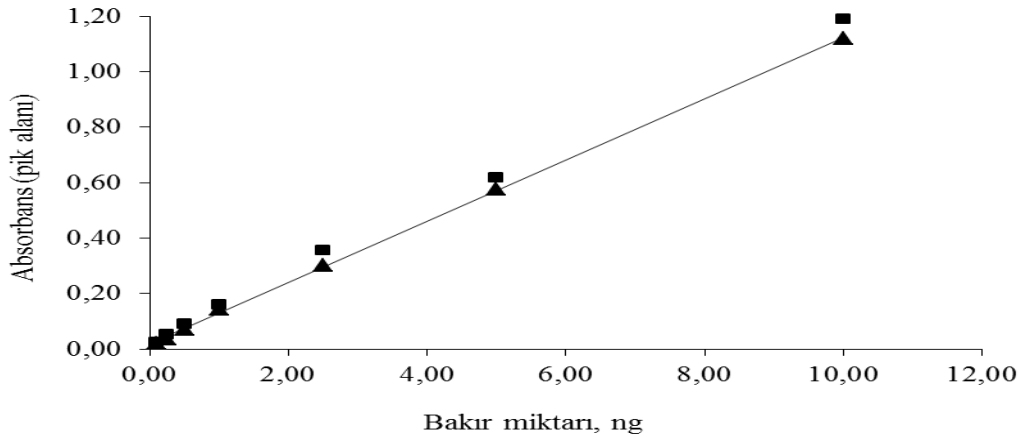
Piroliz sıcaklığında yapıldığı gibi atomlaşma sıcaklığının optimizasyonunda da aynı şartlar üzerinden denemeler yapılmıştır ve Şekil 6.7’deki eğrilerde görüldüğü gibi 1900 °C tüm örnekler için en uygun atomlaşma sıcaklığı olarak belirlenmiştir.



Şekil 6.7 : Doğrudan katı örnekleme ile 2,0 ng standart Cu çözeltisi, çözülmüş saç referans maddesi (NCS ZC 81002b) ve toz saç referans standart maddesi (NCS ZC 81002b) için Pd/Mg modifier ve yardımcı reaktif kullanılarak ve kullanılmadan atomlaşma eğrileri (N=5).

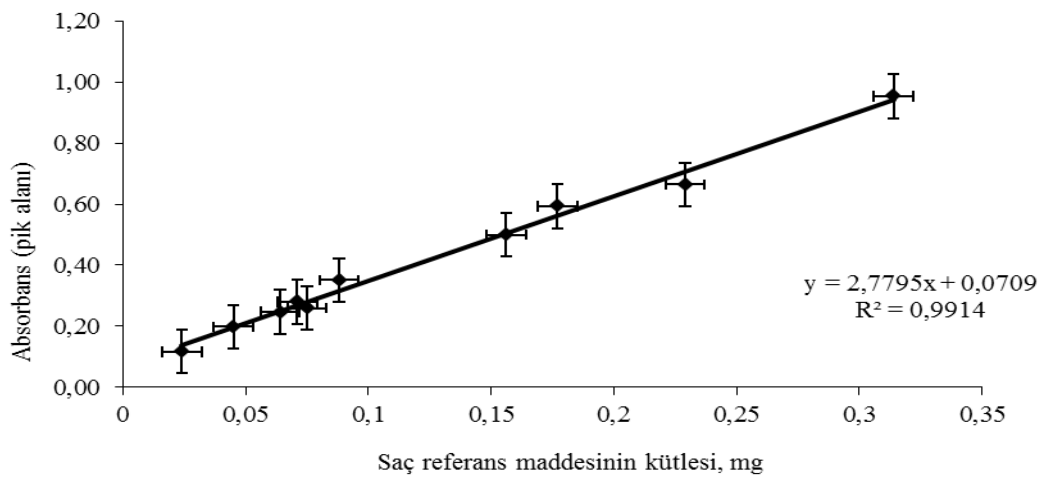
6.2.2. Madde Miktarı Etkisi

Sulu Cu standardı ve katı saç standardı kullanarak bakır için hazırlanan ortak kalibrasyon eğrisi Şekil 6.8’de gösterilmiştir. Kalibrasyon eğrisine göre 10 ng Cu’ya kadar lineerlik elde edilmiştir. Eğriden de açıkça görüldüğü üzere sulu Cu standardı kalibrasyon eğrisi oluşturmak için doğrudan katı örnekleme tekniği ile saç analizlerinde rahatlıkla kullanılabilir.



Şekil 6.8 : Sıvı standart (◆) ile ve toz saç standardı (İnsan saç, NCS ZC 81002b) (■) ile bakır için kalibrasyon eğrisi.

Doğrudan katı örnekleme tekniği için analit konsantrasyonuna ilaveten diğer önemli bir parametre olan platforma yüklenen madde miktarının da lineerliğe etkisi araştırılmıştır (Şekil 6.9). Benzer örnek miktarları tekrarlanarak her bir data noktası için ortalama değerler alınmış ve lineer olduğu aralık bulunmuştur. Buna göre 0,5 mg katı standart referans madde miktarına kadar lineerlik sağlanmıştır. Bu miktardaki katı standart içinde 11 ng Cu olduğundan sulu standartla hazırlanmış kalibrasyon eğrisinin lineerlik sınırları ile uyuşmaktadır. Metot optimizasyonu çalışmaları için kullanılan standart referans madde göreceli olarak yüksek bakır içeriğinden (33,6 ng Cu/g) bu örnek için sadece madde miktarı lineerliği sınırlayıcı bir kriter değildir. Ancak analit konsantrasyonu ne olursa olsun tartılan örnek miktarı sınırsız olamaz. Bu nedenle bakır çalışmalarında referans standard madde ile çalışabilmek için örnek miktarı 0,5 mg ile sınırlı tutulmuştur.



Şekil 6.9 : İnsan saç standart referans maddesi (NCS ZC 81002b) kullanarak örnek kütlesinin bakır lineerliğine etkisi.

6.2.3. Analitik Özellikler ve Metodun Uygulaması

Optimize edilmiş olan deneysel ve aletsel şartlarda sıvı standart kalibrasyon tekniği uygulanarak iki farklı standart referans madde üzerinde yapılan geri kazanım çalışmalarında, sertifika değerleri % 95 güven aralığı içinde bulunmuştur (Çizelge 6.3). Diğer doğrudan katı örnekleme ile elde edilen sonuçlarda olduğu gibi buradaki nispeten yüksek relatif standart değerleri örneğin mikro skalada homojen olmamasından kaynaklanmaktadır.

Çizelge 6.3 : Sertifikalı insan saçı referans maddeleri için doğrudan katı örnekleme Atomik Absorpsiyon Spektrometresi ile bakır analizi için bulunan analitik sonuçlar (N=5).

Örnek	Sertifika değeri ($\mu\text{g/g}$)	Bulunan* ($\mu\text{g/g}$)	Geri kazanım (%)
İnsan saçı(1) (NCSDC73347)	10,6 \pm 1,2	11,2 \pm 2,7	105,7
İnsan saçı(2) (NCSZC 1002b)	33,6 \pm 2,3	32,8 \pm 1,4	97,6

* ortalama \pm 95% güven aralığı

Herhangi bir reaktif eklenmeden boş platform kullanarak Tayin Sınırı (LOD, 3σ , N=10) 22 ng/g olarak hesaplanmıştır.

Daha sonra farklı kişilerin ense bölgesinden alınan saç örneklerinde hem çözelti tekniği ile hem de doğrudan katı tekniği ile bakır tayini yapılmıştır (Çizelge 6.4). Doğrudan katı örnekleme için saç telleri platformun büyüklüğüne göre küçük parçalara bölünerek verilmiştir. Herhangi bir modifier ve diğer reaktifler kullanılmamıştır. Her bir örnekten doğrudan katı örnekleme için 5'er katı okuma, çözelti tekniği içinde her bir çözülmüş örnekten 5'er enjeksiyon yapılmıştır. Her iki teknikte bulunan ortalama değerler % 95 güven aralığında olup fark gözlenmemiştir. Tüm sonuçlar göz önüne alındığında doğrudan katı örnekleme tekniğinin insan saçında bakır tayini için uygun olduğunu göstermektedir.

Çizelge 6.4 : Farklı insan saçı örneklerinde GFAAS ile bakır tayini* (N=5).

Örnek No	Çözeltili tekniği ($\mu\text{g/g}$)	Doğrudan katı örnekleme tekniği ($\mu\text{g/g}$)
1	6.49 \pm 0.23	6.99 \pm 0.79
2	5.50 \pm 0.26	5.01 \pm 0.44
3	6.22 \pm 0.17	6.05 \pm 0.26
4	4.91 \pm 0.24	4.74 \pm 0.31
5	4.41 \pm 0.19	4.86 \pm 0.83
6	4.24 \pm 0.11	4.08 \pm 0.31
7	5.71 \pm 0.09	5.52 \pm 0.20
8	4.53 \pm 0.10	4.64 \pm 0.19
9	3.42 \pm 0.13	3.53 \pm 0.27
10	11,21 \pm 0,02	11,06 \pm 0,22

* ortalama \pm SD

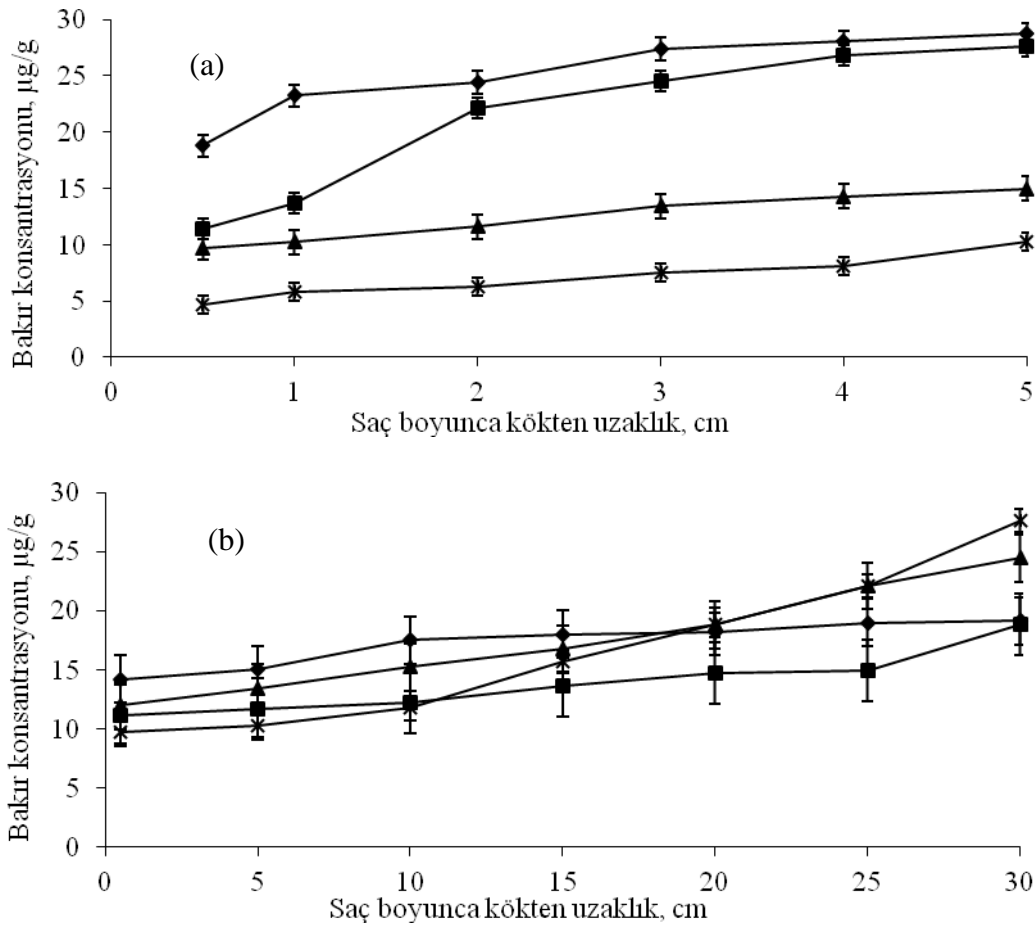
Chatt ve Katz [19] çalışmasında insan saçında bazı elementlerin (Pb, Cd, Zn and Cu) normal konsantrasyon seviyelerini belirlenmesini incelemişlerdir. Bu çalışmada bakır için sağlıklı insanda alt limit olarak 7-8 $\mu\text{g/g}$, üst limit olarak 11-12 $\mu\text{g/g}$ bulunmuştur. Rodushkin ve Axelsson [45] ise daha geniş bir çalışma yaparak 71 element için şehirde yaşayan örneklerden alınan insan saçında ve tırnakta ICP-MS ile tayinini yapmıştır. Bu çalışma şu ana kadar ki en geniş ve tamamlanmış validasyon çalışması olmakla beraber ortalama bakır konsantrasyonu (\pm SD) 25 (21) $\mu\text{g/g}$ ve 8,5-96 $\mu\text{g/g}$ bakır konsantrasyon aralığında bulunmuştur. Aynı yazarın başka bir çalışmasında ise Cu 0,3-293 $\mu\text{g/g}$ olarak verilmiştir.

K. Sreenivasa Rao ve arkadaşları ICP-AES kullanarak Hindistan'daki farklı yaş ve cinsiyetteki kişilerden alınan saç örneklerinde Fe, Co, Ni, Mn, Zn, Cu, Cd ve Pb tayini yapmıştır. Bakır konsantrasyonunu 4,90-22,54 $\mu\text{g/g}$ arasında bulmuşlardır [47].

Farklı pil üretim işçilerinde ve benzin istasyonunda çalışan işçilerde diferansiyel anodik puls stripping voltametri ile yapılan bakır tayininde ise bakır konsantrasyonları benzin istasyonunda çalışan işçilerde 5,7-24,9 $\mu\text{g/g}$, kurşun-asit pil işçilerinde 3,1-26,9 $\mu\text{g/g}$, nikel-kadmiyum pil işçilerinde 12,4-30,8 $\mu\text{g/g}$ ve iş yerinde hiçbir şeye maruz kalmamış kişilerde 7,4-47,8 $\mu\text{g/g}$ arasında bulunmuştur [22].

6.2.4. Segmentel Analiz

Doğrudan katı örnekleme ile 0,02-0,4 mg gibi çok düşük madde miktarlarında saç örneklerinde analit içeriğinin belirlenmesinin yanında, mikro skalada analitin saç boyunca homojen dağılımının belirlenmesi bakımından önemli bir yöntemdir. Daha önceki bölümlerde anlatıldığı gibi çok küçük miktarlarda (<1 mg) çalışılabildiğinden az miktarlardaki örneklerde ve bir veya birkaç saç telinde yapılabilen segmentel analiz için uygun bir tekniktir. Bu amaçla farklı kişilerden alınan her bir saç grubundan kesilen 0,5 cm lik parçalarda bakır konsantrasyonları doğrudan katı örnekleme tekniği ile optimize edilen koşullarda tayin edilmiştir. Şekil 6.10'da uzun ve kısa saç boyunca yapılan segmental analiz sonuçları verilmiştir. Böylece kişilerin saç büyüme evresindeki zaman aralığında bakır maruziyetleri tespit edilebilmektedir. Bazı kişilerden alınan saç tellerinde saç boyunca artan bakır konsantrasyonu zaman içinde sistematik bir bakır maruziyetin varlığını göstermektedir.

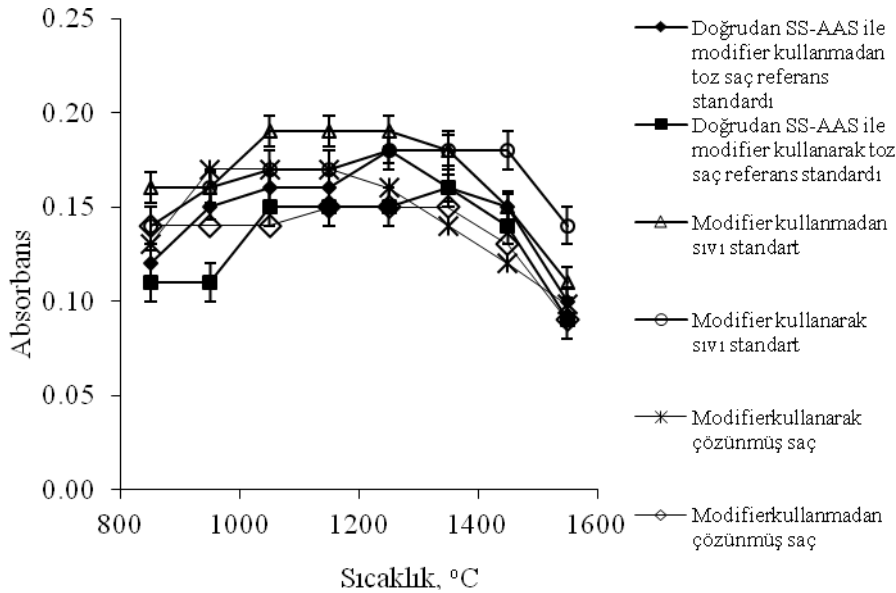


Şekil 6.10 : Farklı kişilerden alınan saç örneklerinde kısa (a) ve uzun (b) saç boyunca bakır konsantrasyonu dağılımı (N=5).

6.3. Nikel Analizi

6.3.1. Piroliz ve Atomlaşma Sıcaklığı Optimizasyonu ve Yardımcı Reaktiflerin ve Modifiyerin Etkisi

Piroliz sıcaklığı optimizasyonu için 2,5 ng sulu Ni standardı, katı (toz halde) ve çözülmüş sertifikalı referans insan saçı (NCS ZC 81002b) ile çalışılmıştır. Bu örnekler üzerine modifiyer ve yardımcı reaktif kullanarak ve kullanmadan deneyler yapılmıştır. Modifiyer olarak 10 µg Pd + 3 µg Mg karışımı kullanılmış ve fırın programı devam ederken atomlaşma öncesi örneklerin en azından kısmen bozundurulması için % 0,1 (v/V) H₂O₂ + % 1,0 (v/V) HNO₃ yardımcı reaktif kullanılmıştır (Şekil 6.11). Piroliz sıcaklığı belirlenmesinde çeşitli formdaki saç örnekleri ve standart çözelti üzerine modifiyer ve yardımcı reaktifin etkisi incelenmiş olmasına karşın bazı eğrilerin etkisi olmadığından ve karışıklığa neden olduğundan Şekil 11’de gösterilmemiştir.

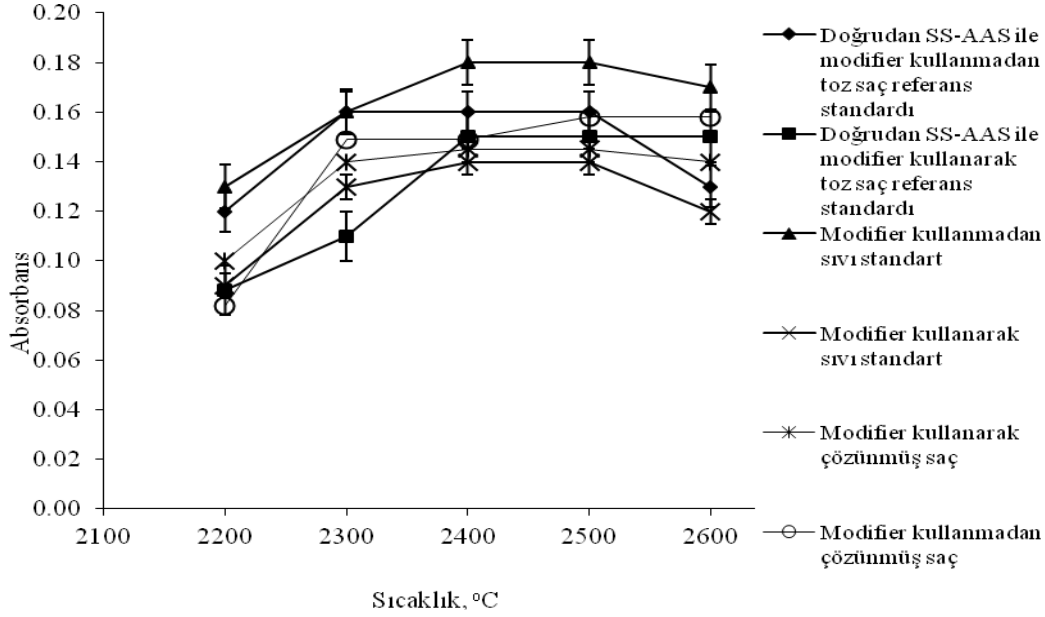


Şekil 6.11: Doğrudan katı örnekleme ile 2,5 ng standart Ni çözeltisi, çözülmüş saç referans maddesi (NCS ZC 81002b) ve katı saç referans standart maddesi (NCS ZC 81002b) için Pd/Mg modifiyer kullanılarak ve kullanılmadan piroliz eğrileri (N=5).

Diğer analitlerin analizinde de olduğu gibi doğrudan katı örnekleme tekniğiyle her seferinde tam olarak aynı miktarda örnek tartılması mümkün olmadığından sağlıklı bir karşılaştırma yapabilmek amacıyla farklı kütlelerdeki absorbans değerleri 2,5 ng sertifikalı referans saç maddesinin sertifika değerine göre normalize edilmiştir.

Modifier yokluğunda sıvı standart için en yüksek piroliz sıcaklığı olarak 1150 °C elde edilmiştir. Bu değer 10 µg Pd + 3 µg Mg modifier varlığında da 1400 °C'ye kadar çıkmıştır. Diğer bir yandan modifier + yardımcı reaktifin katı saç örneğine eklenmeden yapıldığında piroliz sıcaklığı en az 1200 °C'lerde termal olarak stabil olduğu görülmüştür. Ancak zemin ve blank değerleri hiçbir reaktif eklenmediği zaman daha düşük olmaktadır. Kurşunda olduğu gibi Triton X-100 gibi yüzey aktif maddelerin kullanımı burada da saç tozlarının uçmasına ve platform üzerinde dağılımı etkilemektedir, dolayısıyla Ni tayininde de kullanılmamıştır.

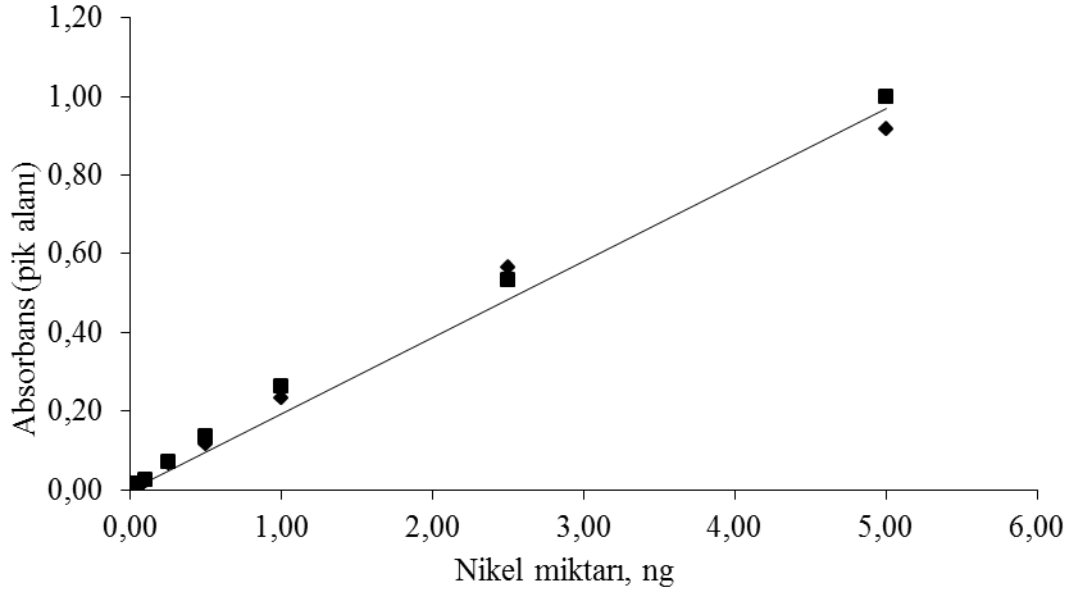
Piroliz sıcaklığında belirlenmesinde yapıldığı gibi atomlaşma sıcaklığının optimizasyonunda da aynı şartlar üzerinden denemeler yapılmıştır ve Şekil 6.12'deki eğrilerde görüldüğü gibi 2400 °C tüm örnekler için en uygun atomlaşma sıcaklığı olarak belirlenmiştir.



Şekil 6.12 : Doğrudan katı örnekleme ile 2,5 ng standart Ni çözeltisi, çözülmüş saç referans maddesi (NCS ZC 81002b) ve toz saç referans standart maddesi (NCS ZC 81002b) için Pd/Mg modifier ve yardımcı reaktif kullanılarak ve kullanılmadan atomlaşma eğrileri (N=5)

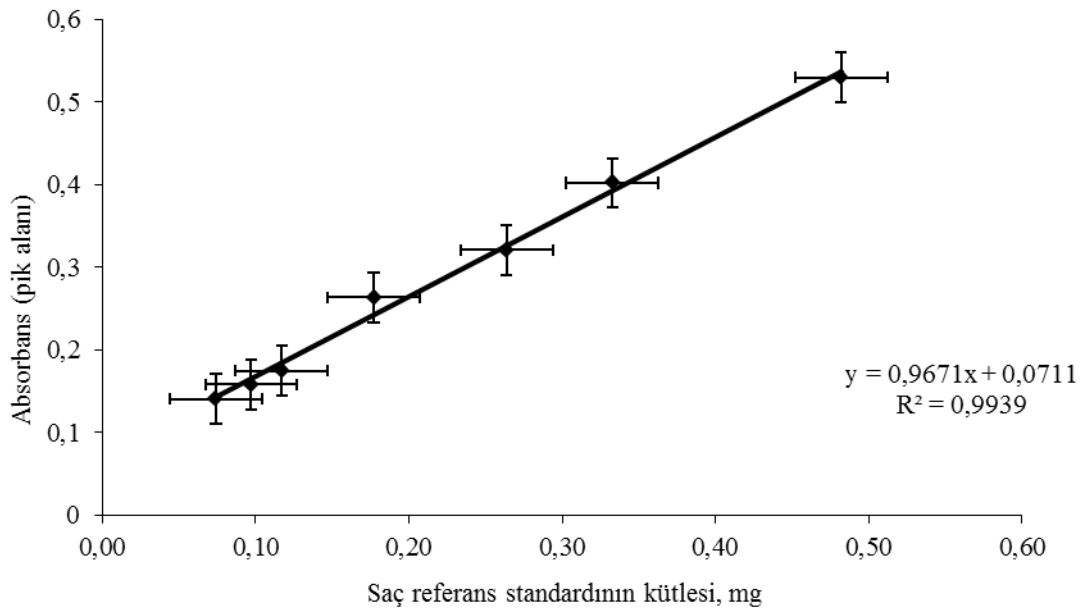
6.3.2. Madde Miktarının Etkisi

Nikel için ortak kalibrasyon eğrisi sulu Ni standardı ve katı saç standardı kullanarak yapılmıştır (Şekil 6.13). Kalibrasyon eğrisine göre 5 ng Ni'e kadar lineerlik bulunmaktadır. Eğriden de açıkça görüldüğü üzere sulu Ni standardı ile kalibrasyon eğrisi oluşturmak doğrudan katı örnekleme tekniği ile saç analizlerinde rahatlıkla kullanılabilir.



Şekil 6.13 : Sıvı standart (◆) ile ve toz saç standardı (İnsan saçı, NCS ZC 81002b) (■) ile nikel için kalibrasyon eğrisi.

Doğrudan katı örnekleme tekniği için analit konsantrasyonu ve platforma yüklenen madde miktarı lineerliği etkileyen iki önemli bir parametredir. Şekil 6.14'te platforma yüklenen madde miktarının lineerliğe etkisi görülmektedir. Bu amaçla diğer analitlerde olduğu gibi toz haldeki insan saçı standart referans maddesi (NCS ZC 81002b) kullanarak madde miktarı etkisi incelenmiştir. Benzer örnek miktarı tekrarlanarak her bir data noktası için ortalama değerler alınmış ve lineer olduğu aralık bulunmuştur. Buna göre 0,6 mg katı standart referans madde miktarına kadar lineerlik sağlanmıştır.



Şekil 6.14 : İnsan saçı standart referans maddesi (NCS ZC 81002b) kullanarak örnek kütlelerinin nikel lineerliğine etkisi.

6.3.3. Analitik Özellikler ve Metodun Uygulaması

Kurşun ve bakır tayininde olduğu gibi nikel tayininde de optimize edilmiş olan deneysel ve aletsel şartlar altında sıvı standart kalibrasyon tekniği uygulanarak iki farklı sertikalı standart referans madde üzerinde yapılan geri kazanım çalışmaları yapılmış ve sertifika değerleri % 95 güven aralığı içinde bulunmuştur (Çizelge 6.5). Diğer doğrudan katı örneklemede olduğu gibi burada da göreceli olarak yüksek standart sapmalar elde edilmiştir. Bu durum örneğin mikro skalada homojen olmamasından kaynaklanmaktadır. Aslında her CRM ancak belli miktar madde kullanmak şartı ile sertifika değerini ve belirsizliğini garanti etmektedir. Bu durum CRM nin serifikasında belirtilmiştir. Katı örneklemede kullanılan madde miktarı bu değerlerin çok altındadır. Dolayısı ile bulunan sonuçlar ve güven aralıkları sertifika değerinin verilen belirsizlik sınırları içinde bulunmasa bile bu durum homojenliğin mükemmel olmamasına atfedilebilir.

Çizelge 6.5 : Sertifikalı insan saçı referans maddeleri için doğrudan katı örnekleme Atomik Absorpsiyon Spektrometresi ile nikel analizi için bulunan analitik sonuçlar (N=5).

Örnek	Sertifika değeri ($\mu\text{g/g}$)	Bulunan* ($\mu\text{g/g}$)	Geri kazanım (%)
İnsan saçı(1) (NCSDC 73347)	0,83±0,19	0,79±0,27	95,2
İnsan saçı(2) (NCSZC 81002b)	(5,77)**	5,56	96,4

* ortalama $\pm 95\%$ güven aralığı

** () referans olarak verilmiştir

Rodushkin ve Axelsson [45] yaptığı bir çalışmada ise Ni 0,002–28 $\mu\text{g/g}$ olarak verilmiştir.

Diğer analitlerle aynı şekilde herhangi bir reaktif kullanmadan boş platformun tayin sınırı (LOD) değeri (3σ , N=10) 35 ng/g dır.

Daha sonra farklı kişilerin ense bölgesinden alınan 10 farklı insan saçı örneğinde hem çözelti tekniği ile hem de doğrudan katı örnekleme tekniği ile nikel tayini yapılmıştır (Çizelge 6.6). Doğrudan katı örnekleme tekniği için saç telleri platformun büyüklüğüne göre küçük parçalara bölünerek verilmiştir. Herhangi bir modifier ve diğer reaktifler kullanılmamıştır. Her bir örnekten doğrudan katı örnekleme için 5'er katı okuma, çözelti tekniği içinde her bir çözülmüş örnekten 5'er enjeksiyon yapılmıştır. Her iki teknikle bulunan ortalama değerler % 95 güven aralığında olup fark gözlenmemiştir. Tüm sonuçlar gözönüne alındığında doğrudan katı örnekleme tekniği ile insan saçında nikel tayini için uygun olduğu görülmüştür.

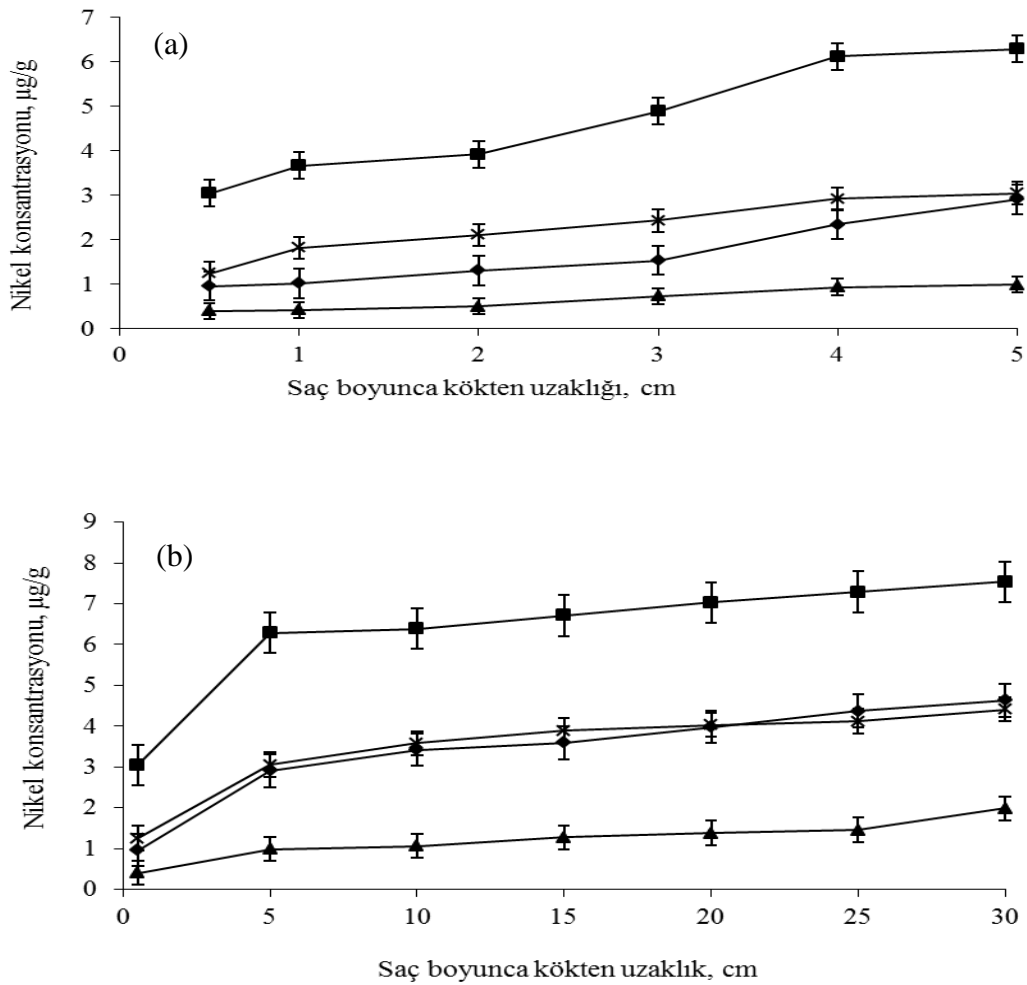
Çizelge 6.6 : Farklı insan saçı örneklerinde GFAAS ile nikel tayini* (N=5).

Örnek No	Çözelti tekniği (µg/g)	Katı örnekleme tekniki (µg/g)
1	0,43±0,13	0,41±0,24
2	0,94±0,05	0,90±0,17
3	1,31±0,11	1,37±0,12
4	1,65±0,15	1,83±0,28
5	2,03±0,13	2,19±0,23
6	1,49±0,16	1,64±0,26
7	0,09±0,11	0,08±0,24
8	2,43±0,10	2,36±0,25
9	0,43±0,12	0,40±0,30
10	0,23±0,16	0,21±0,26

* ortalama ± SD

6.3.4. Segmentel Analiz

Doğrudan katı örnekleme segmentel analiz için aynı bölgeden aynı uzunlukta saç grubundan 0,5 cm lik kısımlar alınarak optimize edilen koşullarda nikel konsantrasyonu tayin edilmiştir. Bazı saç telleri aynı bölge ve aynı uzunlukta olsalar bile aynı büyüme evresinde olmazlar, bu durumda büyüme evrelerine göre kurşun ve bakır içeriklerinde olduğu gibi nikel içeriğinde de hem farklı saç telleri için hem de saç boyunca bazı farklılıklar gözlemlenmektedir. Şekil 6.15'te görüldüğü gibi kökten uçlara doğru gidildikçe nikel konsantrasyonunda artış vardır. Ancak bu artış belirttiğimiz gibi saç tellerinin farklı büyüme evrelerinde olmasından dolayı ve her saçın kendine özgü karakteristiğinden dolayı lineer bir artış şeklinde değildir. Buna karşın saç teli boyunca endojen olarak nikelin konsantrasyonunda bir artış olması doğaldır.



Şekil 6.15: Farklı kişilerden alınan saç örneklerinde kısa (a) ve uzun (b) saç boyunca nikel konsantrasyonu dağılımı (N=5).

6.4. Doğrudan Katı Örnekleme Tekniğinin Çözelti Ve Bulamaç Tekniğine Göre Üstünlükleri

Özellikle saç örnekleri gibi sınırlı örnek miktarlarında çalışıldığında örnekleme tekniği madde miktarı nedeniyle büyük önem kazanmaktadır. Eğer analit dağılımı homojen değilse, 0,05-1,0 mg gibi çok az madde miktarına sahip örneklerde doğrudan katı örnekleme ile sadece alınan parçayı değil tüm saç örneğini temsil edilebilmektedir. Farklı saç tellerinden dolayı yüksek standart sapmalar elde edilse bile birçok katı örneklemede bunun örneklerine rastlanmıştır. Bu nedenle kişinin tüm saçlarının temsil etmesi amacıyla birçok saç teli örneklemeye dahil edilmeli ve sonuçların ortalaması alınarak sonuca varılmalıdır. Bu başta birçok örnekleme ve tekrar analizlerine ihtiyaç duyulması gibi bir dezavantaj gibi görülsede tümün farklı bölgelerinden alınan örneklerin analit konsantrasyonunu tayin etmek analitin ortalama değerini bulmaya göre daha önemli ve avantajlıdır.

Standart referans madde örneklerinin kantitatif analizleri 5 örneğin ortalaması alınarak yapılmıştır ki bu tüm örneği temsil etmektedir. Ancak 5 tekrar analizi için gereken örneğin miktarı (~50 mg) çözelti tekniği için gereken en az madde miktarından yine de çok daha azdır. Bu durum özellikle ense saçı gibi az miktarda bulunma olasılığı çok olan örneklerde hayati bir önem taşır.

Saç analizinde, birkaç atomlaşma basamağından sonra yüksek sıcaklıktaki ısıtma uygulansa bile grafit tüpte karbon kalıntıları kalmaktadır. Bu kalıntılar çözelti ve bulamaç tekniğinde dikkatlice kontrol edilmelidir. Karbon oluşumu gözleendiğinde analiz durdurulmalı, fırın açılmalı, tüm parçalar temizlenmeli ve tekrar yerleştirilip, analiz için şartlanmalıdır. Bu da büyük bir zaman kaybına ve probleme yol açabilmektedir. Ancak doğrudan katı örneklemede örneğin bulunduğu platformlar fırının dışında olduğundan her analiz döngüsünden sonra örnek yüklenmesi ve tartım sırasında kalıntılar rahatça temizlenebilir.

Diğer bir alternatif örnekleme tekniği olan bulamaç tekniği, katı örnekleme ve çözelti tekniğinin arasındadır. Bulamaç tekniğinde örneğin mükemmel şekilde homojen olarak parçalanması gerekmektedir. Ancak saç gibi elastik özelliği bulunan örneklerin bu şekilde kolayca homojen bir şekilde toz hale getirilmesi o kadar kolay değildir. Bu amaçla kullanılan zirkonyum kiryojenik miller olsa da, ya da en azından sıvı azot kullanarak agat havanda muamele edilebilse de pahalı bir yöntemdir. Bu

Çalışmada homojenizasyon için kurutulmuş insan saçı örnekleri sıvı azot kullanarak agat havanda gtlmştr. Ancak ne kadar dikkatli çalışılsa da tamamen homojen bir toz elde etmek mümkün değildir. Bununla beraber çok az madde miktarı için bile çok miktarda sıvı azot harcanmaktadır. Dolayısıyla gtme işlemi problemlı, pratik olmayan, uzun ve kontaminasyona açık olmaktadır. Bununla beraber tüm uğraşlara rağmen örneklerin tamamen toz haline getirilememesi ve homojen olarak elde edilememesi bulamaç tekniği için büyük problem yaratmaktadır. Katı analizinde ise sa örnekleri tam olarak toz haline getirilmesi ve homojen dağılıma sahip olması çok gerekli değildir. Ayrıca yaptığım çalışmalar sonucunda sa örnekleri için bulamaç tekniği, katı örnekleme ve çözelti tekniğine göre daha az uygundur.

7. SONUÇLAR

Bu çalışmada insan saçında kurşun, nikel ve bakır katı örnekleme tekniği ile Atomik Absorpsiyon Spektrometresinde herhangi bir yardımcı reaktif (modifier ve/veya çözünmeye yardımcı maddeler ve yüzey aktif maddeler gibi) kullanmadan tayin edilmiştir. Çözme ve bulamaç tekniklerinde olduğu gibi örnek hazırlama hemen hemen hiç yoktur. Blank değerleri (sadece boş fırın) düşüktür ve tekrarlanabilir. Analit kaybı ve kontaminasyon minimum seviyededir. Bu özellikler nedeniyle sonuçlar doğru, LOD değerleri düşük, yöntem ucuz ve analiz süresi kısadır. Korozif ve zehirli reaktiflerin kullanılmaması nedeniyle çevresel kirlenme olmamaktadır. Tekrarlanabilirlik ise iyi değil gibi görünmektedir. Bunun nedeni analitlerin mikroskalada homojen dağılmamasıdır. Çok küçük miktarda örnek kullanıldığı için mikroheterojenlik nedeniyle sonuçlar doğal olarak tekrarlanabilir değildir. Ancak bu özellik saç boyunca mikroskalada analit dağılımını gösteren segmentel analize, analitin geçmişte alımı veya maruziyetini belirleyen kronolojik analize imkan sağlar. Bu sayede karşılaştırmalı olarak bir kişinin ne zaman ve ne miktarda analite maruz kaldığı rahatça belirlenebilir. Bu özellik çevresel etkilerden, gıdalardan, iş ortamından kaynaklanan maruziyetlerde ve zehirlenmelerde büyük öneme sahiptir. Bu yöntem sayesinde aylar hatta yıllar sonra bile birçok akut ve kronik toksisite olayları açığa kavuşturulabilir.

Bu çalışmada deneysel parametreler (grafit fırın programı, örnek miktarı) optimize edilmiş, sertifikalı referans örneklerde sertifika değerleri kalibrant olarak sulu standartlar kullanarak doğru ve yüksek kesinlikle tayin edilmiştir. Deneylerde modifier ve yardımcı çözeltiler kullanılmaması yöntemin diğer bir avantajıdır. Daha sonra çeşitli kişilerden alınan saç örneklerinde saç boyunca analit analiz yapılarak kronolojik maruziyet hakkında bilgi edinilmiştir. Sonuç olarak saç gibi örnek miktarının limitli olduğu durumlarda doğrudan katı örnekleme tekniği eşsiz bir yöntemdir.

KAYNAKLAR

- [1] **Jenkins, D.W.**, 1980. Biological Monitoring of Toxic Trace Metals, E.P.A. (Pub. No. 600/3-8-089) Washington. D.C.
- [2] **International Atomic Energy Agency**, Activation analysis of hair as an indicator of contamination of man by environmental trace element pollutants, Report IAEA/RL/50, Vienna, October 1978.
- [3] **Baumgartner, W.A., Hill, V. A., Bland, W.H.**, 1989. Hair Analysis for Drugs of Abuse, *J. Forensic Sci.* **34**, 1433-1453.
- [4] **Esteban, E., Rubin, C., Jones, R., Noonan, G.**, 1999. Hair and blood as substrates for screening children for lead poisoning, *Archives of Environmental Health* **54**, 436-440.
- [5] **Assarian, G.S., Oberleas, D.**, 1977. Effect of washing procedures on trace-element content of hair, *Clin. Chem.* **23**, 1771-1772.
- [6] **Saiki, M., Alves, E.R., Jaluul, O., Sumita, N.M., Jacob Filho, W.**, 200. Determination of trace elements in scalp hair of an elderly population by neutron activation analysis, *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, **276**, 53-57.
- [7] **Kolmogorov, Y., Kovaleva, V., Gonchar, A.**, 2000. Analysis of trace elements in scalp hair of healthy people, hyperplasia and breast cancer patients with XRF method, *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res., Sect. A*, **448**, 457-460.
- [8] **Forte, G., Alimonti, A., Violante, N., Di Gregorio, M., Senofonte, O., Petrucci, F., Sancesario, G., Bocca, B.**, 2005. Calcium, copper, iron, magnesium, silicon and zinc content of hair in Parkinson's disease, *J. Trace Elem. Med. Biol.*, **19**, 195-201.
- [9] **Steely, S., Amarasiriwardena, D., Jones, J., Yanez, J.**, 2007. A rapid approach for assessment of arsenic exposure by elemental analysis of single strand of hair using laser ablation-inductively coupled plasma-mass spectrometry, *Microchem. J.*, **86**, 235-240.
- [10] **Lafleur, J.P., Lam, R., Chan, H.M., Salin, E.D.**, 2005. Induction heating-electrothermal vaporization for direct mercury analysis of a single human hair strand by inductively coupled plasma mass spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.*, **20**, 1315-1317.

- [11] **Paschal, D.C., DiPietro, R.S., Phillips, D.L., Gunter, E.W.**, 1989. Age dependence of metals in hair in a selected U.S. population, *Environ. Res.* **48**, 17-28.
- [12] **Stephenson, J.**, 1999. X-ray analysis of hair reveals breast cancer, *JAMA-J. Am. Med. Assoc.* **281**, 1578-1579.
- [13] **Sakamoto, T., Tanaka, A., Nakahara, Y.**, 1996. Hair Analysis for Drugs of Abuse XII. Determination of PCP and Its Major Metabolites PCHP and PPC in Rat Hair after Administration of PCP, *J Anal. Toxicol.* **20**, 124-130.
- [14] **Rodushkin, I., Axelsson, M.D.**, 2000. Application of Double Focusing Sector Field ICP-MS for Multielemental Characterization of Human Hair and Nails. Part I. Analytical Methodology, *Sci. Total Environ.* **250**, 83-100.
- [15] **Gonzalez-Munoz, M.J., Pena, A., Meseguer, I.**, 2008. Monitoring heavy metal contents in food and hair in a sample of young Spanish subjects, **46**, 3048-3052.
- [16] **Welz, B., Sperling, M.**, 1999. *Atomic Absorption Spectrometry*, 3 rd Ed., Wiley-VCH. Weinheim, Newyork.
- [17] **Kurfürst, U.**, 1998. *Solid Sample Analysis – Direct and Slurry Sampling Using GF AAS and ETV-ICP*, Springer, Berlin.
- [18] **Robbins, C.R.**, 2002. *Chemical And Physical Behavior Of Human Hair*, 4 th Ed., Springer Verlag, USA.
- [19] **Chatt, A., Katz, S.A.**, 1989. *Hair Analysis. Applications in the Biomedical and Environmental Sciences*, VCH Publishers, Inc., New York, NY (USA).
- [20] url en.wikipedia.org/wiki/hair, alındığı tarih 13.07.2011.
- [21] url en.wikipedia.org/wiki/hair_analysis, alındığı tarih 13.07.2011.
- [22] **Walsh, A.**, 1955. Application of atomic absorption spectra to chemical analysis, *Spectrochim. Acta*, **7**, 108-117.
- [23] **Welz, B.**, 1985. *Atomic Absorption Spectrometry*, 2nd Ed., Federal Republic of Germany, Weinheim.
- [24] **Alkemade, C.T.J., and Milatz, J.M.W.**, 1955. Double beam method of spectral selection with flames, *Appl. Sci. Res. Sect. B*, **4**, 288-289.
- [25] **Prichard, E., MacKay, M., and Points, J.**, 1996. *Trace Analysis: A Structured Approach to Obtaining Reliable Results Approach*, *The Royal Society of Chemistry*, Cambridge.

- [26] **Skoog, D.A., Holler, F.J. and Nieman, T.A.**, 1998. Principles of Instrumental Analysis, Sounders College Publishing, Philadelphia.
- [27] **Akman, S.**, 1980. Atomik absorpsiyon spektroskopisinde grafit fırında (HGA-74) atomlaşma mekanizmasının incelenmesi, *Doktora Tezi*, Hacettepe Üniversitesi, Ankara.
- [28] **Lajunen, J.L.H.J.**, 1992. Spectrochemical Analysis by Atomic Absorption and Emission, *The Royal Society of Chemistry*, Cambridge.
- [29] **Gündüz, T.**, 1990. Instrumental Analiz, Bilge Yayıncılık, Ankara
- [30] **Coşkun, N.**, 2004. Grafit Fırınlı Atomik Absorpsiyon Spektrometrisi ile Katıların Doğrudan Analizi için Yöntem Geliştirilmesi, *Doktora Tezi*, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [31] **Tokman, N.**, 2007. Grafit Fırınlı Atomik Absorpsiyon Spektrometrisinde Bizmut ve Demir Üzerine Bazı İnorganik Tuzların Girişim Etkilerinin Araştırılması, *Doktora Tezi*, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [32] **Ozcan, M.**, 2001. Grafit Fırınlı Atomik Absorpsiyon Spektrometrisi ile Kalay Tayininde Bazı Anorganik Tuzların Girişim Mekanizmalarının İncelenmesi, *Doktora Tezi*, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [33] **Demir, S.**, 2011. Doğrudan Katı Örnekleme Yüksek Çözünürlüklü Sürekli Işık Kaynaklı Atomik Absorpsiyon Spektrometresi İle Camlarda Kurşun Analizi, **Yüksek Lisans Tezi**, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [34] **Brown, G.N., Styris, D.L., Hinds, M.W.**, 1995. Mechanisms controlling direct solid sampling of silicon from gold samples by electrothermal atomic absorption spectrometry.-Part 2. Atomization from aqueous and solid samples, *J.Anal.At.Spectrom.*, **10**, 527-530.
- [35] **Hinds, M.W.**, 1993. Determination of gold, palladium and platinum in high purity silver by different solid sampling GFAAS methods, *Spectrochimica Acta B*, **48**, 435-445.
- [36] **Langmyhr, F.J., Solberg, R., Wold, L.T.**, 1974. Atomic absorption determination of silver, bismuth and cadmium in sulfide ores by direct atomization from the solid state, *Anal. Chim. Acta.*, **69**, 267-273.
- [37] **Skoog, D.A.**, 1985. Principles of Instrumental Analysis, 3rd Ed., CBS College Publishing, New York. Sounders College Publishing, Philadelphia.
- [38] **L'vov, B.V.**, 1959: *Inzh. Fiz. Zh.*, **2**, 44.

- [39] **L'vov, B.V.**, 1970. Atomik absorption spectrochemical analysis, Adam Hilger, London.
- [40] **Langmyhr, F.J.**, 1977. Direct Atomic Absorption Spectrometric Analysis of Geological Materials; A Review, *Talanta*, **24**, 277-282.
- [41] **Hadeishi, T., McLaughlin, R.**, 1985. Direct ZAAS analysis of solid samples: Early development, *Fresenius Z.Anal.Chem.*, **322**, 657-659.
- [42] **Atsuya, I., Itoh, K.**, 1983. The use of an inner miniature cup for direct determination of powdered biological samples by atomic absorption spectrometry, *Spectrochim. Acta B*, **38**, 1259-1264.
- [43] **Miller-Ihli, N.J.**, 1992. A systematic approach to ultrasonic slurry GFAAS, *At. Spectrosc.*, **13**, 1-6.
- [44] **Welz, B., Vale, M.G.R., Borges, D.L.G., Heitman, U.**, 2007. Progress in direct solid sampling analysis using line source and high-resolution continuum source electrothermal atomic absorption spectrometry, *Anal Bioanal Chem*, **389**, 2085-209.
- [45] **Rodushkin, I., Axelsson, M.D.**, 2000. Application of double focusing sector field ICP-MS for multielemental characterization of human hair and nails. Part II. A study of the inhabitants of northern Sweden, *Sci. Total Environ.* **262**, 21-36.
- [46] **DiPietro, E.S., Phillips, D.L., Paschal, D.C., Neese, J.W.**, 1989. Determination of trace elements in human hair Reference intervals for 28 elements in nonoccupationally exposed adults in the US and effects of hair treatments, *Biological Trace Element Research*, **22**, 83-100.
- [47] **Sreenivasa Rao, K., Balaji, T., Prasada Rao, T., Babu, Y., Naidu, G.R.K.**, 2002. Determination of iron, cobalt, nickel, manganese, zinc, copper, cadmium and lead in human hair by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, *Spectrochim. Acta Part B*, **57**, 1333-1338.

ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad: Aslı BAYSAL

Doğum Yeri ve Tarihi: Bursa, 27/07/1979

Lisans Üniversitesi: İstanbul Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya Bölümü

Yayın Listesi:

- **Baysal A.**, Akman, S., ‘A practical method for the determination of sulphur in coal samples by high-resolution continuum source flame atomic absorption spectrometry’ *Talanta*, 85, 2662-2665 (2011).
- Aydemir, N., Tokman, N., Akarsubasi, A.T., **Baysal, A.**, Akman, S., ‘Determination of some trace elements by flame atomic absorption spectrometry after preconcentration and separation by Escherichia coli immobilized on multiwalled carbon nanotubes’ *Microchim Acta* 175,185–191(2011).
- **Baysal A.**, Demir S., Kahraman M., Akman S. ‘Slurry sampling electrothermal atomic absorption spectrometric determination of chromium after separation/enrichment by mercaptoundecanoic acid modified gold coated TiO₂ nanoparticles’ *Microchemical Journal*, 99, 421-424 (2011).
- **Baysal A.**, Saatci A.D., Kahraman M., Akman S. ‘FAAS slurry analysis of lead and copper ions preconcentrated on titanium dioxide nanoparticles coated with a silver shell and modified with cysteamine’ *Microchimica Acta* 173, 495 (2011).
- **Baysal A.**, Akman S. ‘Comparison of digestion and solid sampling techniques for the determination of Pb and Cu in blackpepper’ *International Journal of Food Science and Technology* 46, 1515 (2011).
- **Baysal A.**, Ozcan M., Akman S. ‘A rapid method for the determination of Pb, Cu and Sn in dried tomato sauces with solid sampling electrothermal atomic absorption spectrometry’ *Food and Chemical Toxicology* 49, 1399 (2011).
- Sen M. , Yilmaz U., **Baysal A.**, Akman S., Cakar Z.P. ‘In vivo evolutionary engineering of a boron-resistant bacterium: *Bacillus boroniphilus*’ *Antonie van Leeuwenhoek* 99, 825 (2011).
- **Baysal A.**, Akman S. ‘A rapid solid sampling method for determination of nickel and copper along human hair by ETAAS’ *Microchemical Journal* 98, 291 (2011).

- Gunduz S., Akman S., **Baysal A.**, Culha M. ‘The use of gold nanoparticles as an effective modifier for the determination of arsenic and antimony by electrothermal atomic absorption spectrometry’ *Microchimica Acta* 172, 403 (2011).
- **Baysal A.**, Özbek N., Akman S. ‘A Practical Solid Sampling Method for the Determination of Lead in Chewing Gum by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry’ *Food Chemistry* 123-3, 901 (2010).
- **Baysal A.**, Akman S. ‘Determination of lead in hair and its segmental analysis by solid sampling electrothermal atomic absorption spectrometry’ *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy*, 65, 340 (2010).
- Gunduz S., Akman S., **Baysal A.**, Kahraman M. ‘The use of silver nanoparticles as an effective modifier for the determination of arsenic and antimony by electrothermal atomic absorption spectrometry’ *Spectrochemical Acta Part B* 65-4, 297 (2010).
- Sur I., Cam D., Kahraman M., **Baysal A.**, Culha M., ‘Interaction of multi-functional silver nanoparticles with living cells’ *Nanotechnology*, 21, 175104-175114 (2010).
- **Baysal A.**, Akman S ‘Solid-phase extraction of Mn(II) and slurry analysis of the sorbent by electrothermal atomic absorption spectrometry’, *Environ Monit Assess*, 160, 199 (2010).
- **Baysal A.**, Kahraman M., Akman S. ‘The Solid Phase Extraction of Lead Using Silver Nanoparticles –Attached to Silica Gel Prior to its Determination by FAAS’*Current Analytical Chemistry*, 5, 352 (2009).
- **Baysal A.**, Akman S., Çalışır F. ‘A novel slurry sampling analysis of lead in different water samples by electrothermal atomic absorption spectrometry after coprecipitated with cobalt /pyrrolidine dithiocarbamate complex’ *Journal of Hazardous Materials* 158, 454 (2008).
- **Baysal A.**, Tokman N., Akman S. ‘The use of solid-phase extraction and direct injection of a copolymer sorbent as slurry into the graphite furnace prior to determination of Cd ETAAS’, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 88, 141 (2008).
- **Baysal A.**, Tokman N., Akman S., Ozeroglu C. ‘Slurry analysis after lead collection on a sorbent and its determination by electrothermal atomic absorption spectrometry’, *J. Hazardous Materials*, 150, 804 (2008).