

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Bu çalışma Jürimiz tarafından Kimya Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Satılmış KAYA

Prof.Dr. Mustafa SOYLAK

Yrd.Doç.Dr. Sema B.ERDEMOĞLU

Onay

Yukarıdaki imzaları adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylıyorum.

.... / /

Prof.Dr. Ali ŞAHİN
Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ÇEŞİTLİ ŞİFALI BİTKİLERDE ESER ELEMENT VE BAZI ÖNEMLİ POLİFENOLLERİN TAYİNİ

Serkan BAŞGEL

İnönü Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

102 + x sayfa

2005

Danışman: Yrd.Doç.Dr. Sema B. ERDEMOĞLU

Bu çalışmada ilk olarak Türkiye’de tedavi amacıyla yaygın olarak kullanılan adaçayı, ısırgan otu, rezene, ıhlamur, papatya, senemaki ve kuşburnu örneklerinde ve bunların infüzyonlarındaki 14 adet makro ve mikro elementin (Ca, Mg, Mn, Fe, Cu, Zn, Al, Ba, Sr, Ni, Co, Cr, Cd, Pb) tayinleri yapıldı. Bu bitkilerin analizlerinden önce bitkilerin çözünürleştirme işlemleri mikrodalga ile parçalama ve yaş yakma teknikleri kullanılarak yapıldı. Bitkilerdeki ve infüzyonlarındaki Ca ve Mg derişimleri alevli atomik absorpsiyon spektroskopisi (FAAS) ile, Fe, Cu, Zn, Al, Ba, Mn, Sr, Ni, Co, Cr, Cd ve Pb içerikleri ise indüktif eşleşmiş plazma atomik emisyon spektroskopisi (ICP-AES) teknikleri ile belirlendi. Doğruluk ve kesinliğin test edilmesi amacıyla GBW 07605 sertifikalı referans madde kullanıldı.

Bu çalışmanın bir diğeri konusu ise Türkiye’de alışlagelmiş biçimde tedavi amacıyla kullanılan bu bitkilerin infüzyonlarındaki gallik asit, epikateşin gallat, epigallokateşin, epigallokateşin gallat ve epikateşin polifenollerinin seviyelerini belirlemektir. Polifenollerin analizi için uygun bir örnek hazırlama basamağından (su içerisine ekstraksiyon) sonra her bir polifenolün eş zamanlı ayrılması, tanınması ve kantitasyonu için ekonomik bir hareketli faz ile basit, hızlı ve kesin olan gradient sistem ters faz-HPLC metodundan yararlanılmıştır.

ANAHTAR KELİMELER: Element, mikrodalga parçalama, yaş yakma, FAAS, ICP-AES, polifenol, HPLC

ABSTRACT

Ms. C. Thesis

DETERMINATION OF TRACE ELEMENT AND SOME IMPORTANT POLYPHENOLS IN VARIOUS HERBS

Inonu University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

102 + x pages

2005

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Sema B. ERDEMOGLU

In this study, fourteen macro and micro elements (Al, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb, Sr and Zn) were determined in the herbs that are widely consumed for medical purposes as tea in Turkey such as chamomile (*Matricaria chamomile* L.), fennel (*Foeniculum vulgare*), linden (*Tilia vulgaris*), nettle (*Urtica dioica*), rosehip (*Rosa canina*), sage (*Salvia officinalis*) and senna (*Cassia angustifolia*) and their infusions. Before the analysis of these herbs microwave digestion and wet digestion procedures were performed for dissolution of herbs. Ca and Mg concentrations in the herbs and infusions were determined by FAAS, Fe, Cu, Zn, Al, Ba, Mn, Sr, Ni, Co, Cr, Cd and Pb concentrations were determined by ICP-AES. The accuracy and precision were verified against a GBW 07605 Poplar leaves and Tea certified reference material. The other objective of this study is to establish the levels of polyphenols such as gallic acid, epicatechin gallate, epigallocatechin, epigallocatechin gallate and epicatechin in the infusions of these herbs habitually consumed for medical purposes in Turkey. After a suitable sample preparation procedure (water extraction) for polyphenols analysis, a simple, rapid, and precise gradient RP-HPLC method with an economical mobile phase was utilized for simultaneous separation, identification and quantification of individual polyphenols.

KEYWORDS: Element, microwave digestion, wet digestion, FAAS, ICP-AES, polyphenol, RP-HPLC

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın her aőamasında yardım, öneri ve desteğini esirgemeden beni yönlendiren danışman hocam Sayın Yrd.Doç.Dr. Sema B. ERDEMOğLU'na;

Çalıőmalarım sırasında yapılan ölçüm işlemlerinde yardımlarını esirgemeyen Balıkesir Üniversitesi Kimya Bölümü öğretim üyelerinden Sayın Yrd.Doç.Dr. Sema Bağdat YAŐAR'a, tezin yazım aőamasında yardımlarını gördüğüm sevgili arkadaşım, bölümümüz Analitik Kimya Anabilim Dalından Arő.Grv. Selim ERDOğANA'a; M. Galip İÇDUYGU'ya; sevgili arkadaşım Battal YILDIRIM'a ve yüksek lisans çalıőmama ait olan 2003/9 (Güz) no'lu projemize vermiş olduğu desteklerinden dolayı İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne;

Ayrıca yüksek lisans çalıőmalarım süresince göstermiş oldukları hoşgörülerinden dolayı değerli AİLEM'e ve özellikle sevgili EŐİM'e

teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER	3
2. 1. Bitkilerle Tedavi Kavramı ve Bitkisel Çaylar	3
2. 1. 1. Rezene	4
2. 1. 2. Papatya	4
2. 1. 3. Ihlamur	4
2. 1. 4. Adaçayı	5
2. 1. 5. Senemaki	5
2. 1. 6. Kuşburnu	5
2. 1. 7. Isırgan otu	6
2. 2. Şifalı Bitkilerde Bulunabilen Bazı Elementler ve Fonksiyonları	8
2. 2. 1. Kalsiyum (Ca)	8
2. 2. 2. Magnezyum (Mg)	8
2. 2. 3. Demir (Fe)	9
2. 2. 4. Çinko (Zn)	9
2. 2. 5. Bakır (Cu)	9
2. 2. 6. Krom (Cr)	10
2. 2. 7. Mangan (Mn)	10
2. 2. 8. Nikel (Ni)	11
2. 2. 9. Kobalt (Co)	11
2. 2. 10. Stronsiyum (Sr)	11
2. 2. 11. Baryum (Ba)	11
2. 2. 12. Alüminyum (Al)	12
2. 2. 13. Kadmiyum (Cd)	12

2. 3.	Şifalı Bitkilerde Bulunan Bazı Polifenoller ve Fonksiyonları	13
2. 3. 1.	Fenolik asitler	15
2. 3. 2.	Flavonoidler	15
2. 3. 3.	Kateşinler	16
2. 4.	Şifalı Bitki Kullanımına Bağlı Olarak Ortaya Çıkan Zararlı Etkiler	17
2. 4. 1.	Alerjik reaksiyonlar	17
2. 4. 2.	Toksik reaksiyonlar	18
2. 4. 3.	Yan etkiler	19
2. 4. 4.	Mutajenik etkiler	21
2. 4. 5.	Kontaminasyona bağlı etkiler	21
2. 4. 6.	Yanlış bitki kullanılmasına bağlı etkiler	22
2. 4. 7.	Hatalı kullanıma bağlı etkiler	22
2. 5.	Bitkisel Örneklerin Analize Hazırlanması	24
2. 5. 1.	Element analizleri için örnek hazırlama	24
2. 5. 1. 1.	Örnekleme	24
2. 5. 1. 2.	Örnek boyutunun küçültülmesi	25
2. 5. 1. 3.	Örneklerin kurutulması	25
2. 5. 2	Örnek çözünürleştirme teknikleri	26
2. 5. 2. 1.	Kuru yakma	26
2. 5. 2. 2.	Yaş yakma	27
2. 5. 2. 3.	Mikrodalga enerjisi ile çözünürleştirme	28
2. 5. 2. 4.	Oksidatif UV fotoliz parçalama işlemi	30
2. 5. 3.	Organik analizler için örnek hazırlama	31
2. 5. 3. 1.	Çözgen ekstraksiyonu teknikleri	31
2. 5. 3. 2.	Sorbent ekstraksiyon teknikleri	36
2. 5. 3. 3.	Membran esaslı ayırma teknikleri	37
2. 6.	Element Analizi Metotları	38
2. 6. 1.	Atomik absorpsiyon spektroskopisi (AAS)	38
2. 6. 1. 1.	Atomlaştırma teknikleri	39
2. 6. 1. 2.	Işın kaynakları	42
2. 6. 1. 3.	Atomik absorpsiyon spektroskopide görülen girişimler	45
2. 6. 2.	İndüktif eşleşmiş plazma atomik emisyon spektrometrisi	46
2. 6. 2. 1.	ICP-AES tekniğinde örneğin analize verilmesi	47

2. 6. 2. 2.	İndüktif eşleşmiş plazma kaynağı	48
2. 6. 2. 3.	Analitin atomlaşması ve iyonlaşması	48
2. 6. 2. 4.	Hamlaç (Torch) konfigürasyonları	49
2. 6. 2. 5.	ICP-AES tekniğinin genel özellikleri	50
2. 6. 2. 6.	ICP-AES tekniğinde görülen girişimler	50
2. 6. 2. 7.	ICP-AES Tekniğinde Sınırlamalar	51
2. 6. 3.	İndüktif eşleşmiş plazma kütle spektrometrisi (ICP-MS)	52
2. 6. 4.	Atomik floresans spektrometrisi (AFS)	52
2. 6. 5.	XR floresans spektrometrisi (XRF)	53
2. 6. 6.	Nötron aktivasyon analizi	53
2. 7.	Bitkisel Örneklerdeki Polifenollerin Tayin Metotları	53
2. 7. 1.	Folin-Ciocalteau yöntemi (UV-VIS analiz tekniği)	54
2. 7. 2.	Kromatografik Yöntemler	54
2. 7. 2. 1.	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC)	54
2. 8.	Analitik Veri Değerlendirmesinde Kullanılan Kavramlar	61
3.	DENEYSEL BÖLÜM	64
3. 1.	Materyal ve Yöntem	64
3. 1. 1.	Materyal	64
3. 1. 1. 1.	Çalışmada kullanılan aletler	64
3. 1. 1. 2.	Çalışmada kullanılan diğer yardımcı aletler	66
3. 1. 1. 3.	Çözünürleştirme için kullanılan sistemler	66
3. 1. 1. 4.	Çalışmada kullanılan kimyasallar ve stok çözeltilerin hazırlanması	69
3. 1. 2.	Yöntem	71
4.	METOTLARIN UYGULANMASI	72
4. 1.	Bitkisel Çay Örneklerindeki Önemli Makro ve Mikro Elementlerin Tayini	72
4. 1. 1.	Element tayini için örnek hazırlama basamakları	72
4. 1. 1. 1.	Klasik çözünürleştirme işlemi (Yaş yakma)	72
4. 1. 1. 2.	Mikrodalga ile çözünürleştirme işlemi	73
4. 1. 1. 3.	Element analizi için çay-su ekstraktlarının hazırlanması	74
4. 1. 2.	Polifenol tayini için örnek hazırlama	74
4. 2.	Kromatografik Şartların Ayarlanması	76
5.	SONUÇLAR VE YORUM	77

5. 1.	Element Analizi Sonunda Elde Edilen Sonuçlar	77
5. 2.	Polifenol Analizi Sonunda Elde Edilen Sonuçlar	85
6.	TARTIŞMA	94
7.	KAYNAKLAR	95
	ÖZGEÇMİŞ	102

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2. 1	Gallik asitin molekül yapısı	15
Şekil 2. 2	Kaempferol ve quercetin'in molekül yapıları	16
Şekil 2. 3	(-)-EC, (-)-ECG, (-)- EGC, (-)-EGCG'ın molekül yapıları	16
Şekil 2. 4	Basınçlı çözgen ekstraksiyonu	33
Şekil 2. 5	Süper kritik sıvı ekstraksiyonu	35
Şekil 2. 6	Tipik bir katı faz ekstraksiyon yatağının yapısı	37
Şekil 2.7	AAS'de atomlaştırma süreçleri	42
Şekil 2. 8	Oyuk katot lambası	43
Şekil 2. 9	Tipik Bir ICP Hamlacı	50
Şekil 2.10	ICP-AES cihazının çalışma şekli	51
Şekil 2.11	HPLC cihazının şematik gösterimi	60
Şekil 3. 1	Mikrodalga çözünürleştirme aparatları	67
Şekil 3. 2	Klasik çözünürleştirme düzeneği	68
Şekil 4. 1	Klasik parçalama tekniği ile örneklerin çözünürleştirilme şeması	72
Şekil 4. 2	Mikrodalga ile çözünürleştirme işlemi	73
Şekil 4. 3	Örneklerin su ile ekstrakte edilmesi	74
Şekil 4. 4	Çay örneklerinde polifenol tayini için saf su ile yapılan ekstraksiyon	75
Şekil 4. 5	Bitkisel çay örneklerinde polifenol tayini için metanol ile yapılan ekstraksiyon işlemi	75
Şekil 4. 6	GA, (-)-EC, (-)-ECG, (-)-EGC, (-)-EGCG standartlarının 280 nm deki HPLC kromatogramı	85
Şekil 4. 7	Polifenol standart karışımına ait kalibrasyon grafiği	86
Şekil 4. 8	Adaçayı ve ihlamur bitkilerinin su ve alkol ekstraksiyonlarına ait elde edilen kromatogramlar	87
Şekil 4. 9	Adaçayı, ihlamur, kuşburnu ve ısırgan otu bitkilerinin su ekstraktlarına ait elde edilen kromatogramlar	89
Şekil 4. 10	Papatya, rezene, senemakinin su ekstraktlarına ait kromatogramlar	90

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2. 1	Bazı şifalı bitkilerin Latince isimleri ve başlıca kullanım alanları	7
Çizelge 2. 2	Ortalama 70 kg ağırlığındaki bir insanın günlük alması gereken element miktarları (mg/gün)	12
Çizelge 2. 3	Polifenollerin sınıflandırılması	14
Çizelge 2. 4	Yan etkisi tespit edilen bazı bitki ve bileşenler	20
Çizelge 2. 5	Ciddi bir yan etkisi tespit edilmemiş bazı bitkiler	20
Çizelge 2. 6	Toksik etki yapan bazı maddeler	22
Çizelge 2. 7	Alev atomlaştırılmada kullanılan gaz karışımları ve alev sıcaklıkları	39
Çizelge 2. 8	Q testi için kritik değerler	62
Çizelge 2. 9	% 5 güven seviyesi için kritik F değerleri	63
Çizelge 3. 1	Alevli AAS ile yapılan element tayinindeki analiz parametreleri	65
Çizelge 3. 2	ICP-AES ile yapılan element tayinindeki analiz parametreleri	65
Çizelge 3. 3	HPLC ile yapılan polifenol tayinindeki analiz parametreleri	66
Çizelge 3. 4	Çözünürleştirme amaçlı kullanılan asitler ve özellikleri	69
Çizelge 4. 1	Sertifikalı referans maddenin element içerikleri ve parçalama sonrası tayin edilen element içerikleri	77
Çizelge 4. 2	Bitkisel çaylarda ve su ekstraktlarında tespit edilen Ca, Mg, Fe, Al, Mn, Zn ve Cu içerikleri ile suya geçen element yüzdeleri	78
Çizelge 4. 3	Bitkisel çaylarda ve su ekstraktlarında tespit edilen Sr, Ba, Ni, Cr, Co, Pb, ve Cd içerikleri ile suya geçen element yüzdeleri	79
Çizelge 4. 4	Çalışılan bitkisel çaylarda tayin edilen önemli polifenollerin derişimleri	92

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

WHO	Dünya Sağlık Örgütü
ASTM	American Society for Testing Materials
AFNOR	The French Association of Standardization
EPA	The Environmental Protection Agency
FAAS	Alevli atomik absorpsiyon spektrometrisi
ICP-AES	İndüktif eşleşmiş plazma atomik emisyon spektrometrisi
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
GA	Gallik asit
EC	Epikateşin
EGC	Epigallokateşin
ECG	Epikateşin gallat
EGCG	Epigallokateşin gallat

1. GİRİŞ

Bitkiler kayıtlı tarihten çok önceki zamanlardan beri tedavi amacıyla kullanılmışlardır. Nesiller boyu deneme ve yanımlar hangi bitkilerin hangi hastalıkların tedavisinde yararlı olacağını göstermiştir. Çin ve Hindistan'da bitkilerin araştırılması ve kullanılması 5000 yıl öncesine dayanmaktadır. Eski yunanlılardan modern tıbbın babası olarak kabul edilen Hipokrat, günümüzde popüler olan yüzlerce bitkiyi günlük pratiğinde kullanmıştır. Özet olarak bitkiler zamanla sınımlı tedavi araçlarıdır. Bu nedenle de bitkisel tedavi bütün dünyadaki çeşitli kültürler tarafından kabul görmekte ve kullanılmaktadır [1].

Şifalı bitkiler, özellikle bitkisel çayların (ısırgan otu, rezene, ihlamur, papatya, senemaki, kuşburnu, adaçayı vb.) bazı hastalıkları tedavi ettiklerine inanıldığından dolayı ülkemizde de yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu çaylar, makro ve mikro elementlerin yanında polifenoller, ksantinalkoloidler ve vitaminler gibi insan sağlığı bakımından yararlı olan bazı maddeler açısından da önemli kaynaklardır. Bu özelliklerinden dolayı bitkisel çaylar, işlenmemiş ham şekilleriyle özellikle içecek olarak tüketilmekte veya ilaç yapımında hammadde olarak kullanılmaktadır. Ayrıca kafein içermemeleri ve polifenol içeriği bakımından zengin olmalarından dolayı kullanımları her geçen gün artmaktadır.

Bu tip bitkisel çayların, kardiyovasküler ve bazı iltihaplı hastalıklara iyi geldiği bilinmekle birlikte yapılarındaki polifenollerden ileri gelen antioksidan özelliklerinden dolayı kanser oluşumunu engelleyici etkileri de tespit edilmiştir. Yapılarındaki bazı elementlerin ise enzim yapılarına katılarak vücuttaki bazı yararlı metabolik olayların devamında rol aldıkları, ayrıca kas ve kemik yapısına katılarak bu yapıların dayanıklılığını artırıcı etki yaptıkları bilinmektedir. Ancak, vücuttaki element derişiminin belli bir seviyenin üzerine çıkması durumunda toksik etkiler ortaya çıkmaktadır. Ayrıca, elementlerin toplam derişimlerinin yanında, buldukları kimyasal formlar yani kimyasal türler de (spesiasyon) biyoyararlılıkları açısından oldukça önemlidir. Bu nedenle vücutta etkin olan element türlerinin belirlenmesine ait çalışmalar son yıllarda oldukça popülerlik kazanmıştır. Bu tip bitkilerde element derişimi, bitkinin yetiştirme koşullarına bağlı olarak (sulama, toprak yapısı, yetiştirildiği bölgenin konumu gibi) oldukça farklılık göstermektedir. Bu nedenle doğal örneklerde

bulunan makro ve mikro düzeydeki element (Ca, Mg, Mn, Fe, Cu, Zn, Al, Ba, Sr, Ni, Co, Cr, Cd, Pb) derişimlerinin belirlenmesi oldukça önemlidir.

Bu çalışmada; adaçayı, ısırgan otu, rezene, ıhlamur, papatya, senemaki, kuşburnu örneklerindeki toplam makro ve mikro element derişimleri, mikrodalga parçalama-yaş yakma tekniğı uygulanarak doğrudan katı örneklerde ve su ekstraktlarında (demde) alevli atomik absorpsiyon spektroskopisi (FAAS) ve indüktif eşleşmiş plazma atomik emisyon spektroskopisi (ICP-AES) teknikleri kullanılarak tayin edilmiştir. Element analizlerinde, uygulanan tayin metodunun doğruluğı GBW 07605 referans materyali kullanılarak test edilmiştir. Ayrıca antioksidan özelliklerinden dolayı önem taşıyan ve bu bitkilerin organik içeriklerini zenginleştiren polifenol grupları içerisinde; gallik asit ve bazı kateşin grubu polifenollerin derişimleri, bu bitkisel örneklerin su ve metanolik ekstraktları hazırlanarak, ters fazlı-yüksek performanslı sıvı kromatografisi (RP-HPLC) ile tayin edilmiştir.

Şüphesiz bu çalışmada kullanılan şifalı bitkilerin dışında ülkemizde yaygın olarak kullanılan pek çok bitkisel örnek vardır. Bunların başında ise tüm dünyada kullanımı giderek artan yeşil çay gelmektedir. Ancak yeşil çayın gerek element içeriğı değışiminin ve gerekse organik içeriğinin belirlenmesine ait pek çok literatür çalışmasına rastlandığı halde ülkemizde çok yaygın kullanılan bu şifalı bitkilerin kimyasal içeriğini aydınlatıcı çok fazla çalışmaya rastlanmamıştır. Kullanılan bu bitkisel çayların faydalı yönlerinin yanısıra özellikle metal içeriklerine bağılı olarak zararlı etkileri de görülebilmektedir. Bu bitkisel çaylardan rezene, papatya ve ıhlamur bebelere de verildiğinden, element içeriklerinin belirlenmesi ayrıca önem taşımaktadır. Bu şifalı bitkiler, hiçbir işlem uygulanmadan doğrudan paketlenerek pek çok isim altında ticari olarak satılmaktadır. Bunların kontrollerinin yapılması ancak kimyasal analizleri ile mümkündür. Belli kalitede bitkisel çay örneklerine satış lisansının verilmesi için element düzeylerinin belirlenmesi ve bunların satışı için belli kotaların konulmasının, sağılık açısından oldukça önemli olduğu görülmektedir.

Bu çalışmada bitkisel örneklerdeki element içeriklerinin belirlenmesi için doğru ve kolay uygulanabilir bir analiz metodu geliştirilmeye çalışıldı. Ayrıca su ekstraktlarına geçen bazı polifenollerin HPLC ile analizi için ayırma koşulları optimize edilerek ve fotodiyot array dedektör kullanılarak değışimleri belirlendi. Böylece bu bitkisel örneklerdeki antioksidan özellik gösteren bileşenlerin derişimleri hakkında da bilgi edinilmeye çalışıldı.

2. KURAMSAL TEMELLER

2. 1. Bitkilerle Tedavi Kavramı ve Bitkisel Çaylar

Bitkilerle tedavi (**Fitoterapi**), insanlık tarihi kadar eski bir iyileştirme yöntemidir. Çağlar boyunca kuşaktan kuşağa aktarılan bilgiler, tecrübeler, yoğun çalışmalar ve inanışlar, bir bütün olan bu birikimi oluşturmaktadır. Uzak geçmişin doğal reçetelerinin halen birçok hastalığa çare olacağı umuduyla kullanılması, özellikle uzmanlarca hazırlanan yapay ilaçların bir takım yan etkilerinin ortaya çıkması, fitoterapi bilimine olan ilginin artarak devam etmesine neden olmaktadır [2].

Eskiden beri şifalı bitkiler her derde deva, tüm hastalıkları iyileştiren ve doğal olduğundan dolayı hiçbir zararlı etkisi bulunmayan olağanüstü ilaçlar olarak sunulmaktadır. Bitkisel çaylar başta olmak üzere (ısırgan otu, rezene, yeşil çay, ihlamur, kuşburnu, nane, kekik, papatya vb.) **“Herbal Medicine”** adı verilen bu şifalı bitkiler, alternatif tıp denilen ve tamamen doğal yöntemlerle tedavi amacı taşıyan bir dal olarak eczacılıkta, tıpta, biyoloji ve kimyada gittikçe popülerlik kazanmıştır. Bu bitkiler, belli hastalıkları tedavi amaçlarının dışında rahatlatıcı ve sakinleştirici olarak da kullanılmaktadır. Özellikle Asya ülkeleri başta olmak üzere ülkemizde ve tüm dünyada yaygın bir şekilde kullanılan bu bitkisel içerikli ilaçların tercih edilmesinin başlıca nedeni; sentetik ilaçlara göre daha az yan etkiye sahip oldukları düşüncesidir. Buna bağlı olarak dünyada çeşitli bitkisel hekimlik türleri gelişmiştir. Bunları şöyle sıralayabiliriz.

- Avrupa Bitkisel Hekimliği
- Geleneksel Çin Hekimliği
- Amerikan Bitkisel Hekimliği
- Modern Bitkisel Hekimlik
- Amazon Bitkisel Hekimliği

Bitkisel preparatların çeşitli kullanım şekilleri mevcuttur [3]. Bunları şu şekilde sıralamak mümkündür.

- Çay şeklinde (kaynatmak suretiyle bitkideki maddelerin su içerisine ekstraksiyonu)
- Tentür şeklinde (35 - 40 derece alkol içerikli damıtılmış içkilerin veya aynı derecede etil alkol, kanyak yada elma sirkesi içine ekstraksiyon ile)

- Merhem olarak (yağ içine ekstraksiyon ile)
- Kapsül veya tablet halinde

Günümüzde bitkisel ilaçlara yönelimin belirgin biçimde arttığı açıkça görülmektedir. Bu bitkisel ilaçlardan en fazla kullanılan ve bu çalışmada içerikleri tayin edilen bitkisel çayların kullanım amaçları aşağıda verilmiştir.

2. 1. 1. Rezene

Rezene, öksürükte balgam söktürücü, özellikle bebekler ve küçük çocuklar için yatıştırıcı ve mide şişkinliklerini giderici olarak geliştirilmiş pek çok ilaçta etken madde olarak kullanılmaktadır. Kullanımı kolay olduğu için sindirim sorunu olan bebeklere ve küçük çocuklara rahatlıkla verilebilmektedir. Sindirim sistemi kramplarını çözücü etkiye de sahiptir. Sindirim sorunlarından kaynaklanan baş ağrılarını dindirici özellik taşımaktadır. Kısaca, sindirim problemleri, şişkinlik, iştahsızlık, balgamlı öksürük, adet görme zorlukları, göz kapağı iltihabı ve sinirlilik gibi rahatsızlıklara karşı özellikle çay şeklinde kullanılmaktadır [3].

2. 1. 2. Papatya

Özellikle kramplarda ve karın ağrılarında, gaz birikiminde, ishalde, deri döküntülerinde, mide rahatsızlıklarında ve solunum yolu enfeksiyonlarında öksürüklerde, adet görme aksaklıklarında, rahim şikayetlerinde, uykusuzluk, testis iltihabı, yüksek ateş, yara ve diş ağrıları gibi rahatsızlıkların giderilmesinde kullanılmaktadır. Ayrıca terletici, sakinleştirici ve kramp çözücü etkilere sahip olmasının yanı sıra her tür iltihaplanmalarda ve özellikle mukoza iltihaplarında dezenfeksiyon ve iltihap kurutucu olarak da kullanılmaktadır [4].

2. 1. 3. Ihlamur

Ihlamur çayı, öncelikle organizmanın savunma gücünü arttırarak, ateşli soğuk algınlıklarının kısa sürede giderilmesini sağlar. Bu tür hastalıkların tedavisinde gerekli

olan terlemeyi başlatıcı özelliği ile ünlüdür. Ateşli hastalıklara karşı ıhlamur çayı ile aspirin birlikte kullanıldığında antibiyotiklere ihtiyaç kalmadığı görülmüştür [5]. Ihlamurun tedavi edici özelliği, uygun bitkilerle karıştırılarak, öncelikle organizmayı güçlendirici olarak ve soğuk algınlıklarında kullanıldığında daha da artmaktadır. Özellikle kış aylarında ıhlamurun sıkça kullanılmasının çok yararlı olduğu görülmüştür.

2. 1. 4. Adaçayı

Adaçayı, değişik alanlarda kullanılabilen çok yönlü bir bitkidir. Hastalık sonrasında görülen genel güçsüzlük hallerinde kullanılabilir. Ayrıca dişeti, ağız içi ve bademcik iltihaplanmalarında büyük yardımlar sağlar, aşırı terlemeyi önler. Mideyi ve bağırsakları rahatlatır. İçerdiği uçucu yağlar dezenfekte edici ve kramp çözücü etkiye sahip olduğu için ishal olaylarında çok rahatlatıcıdır. Ama bitki öncelikle dıştan kullanım alanında çok etkilidir. Bu çay, gargara ve çalkalamalarda olduğu kadar, yara kompreslerinde de kullanılabilir. Ayrıca, tahriş kaynaklı öksürüklerde de başarılıdır [6].

2. 1. 5. Senemaki

Senemaki, kuvvetli müshil olarak kullanılır. İçerdiği antrakinon maddesi, bağırsakları uyararak 10 saat içinde boşalmalarını sağlar. Bitki kalın bağırsakta sıvı ve mineral salgılanmasını arttırıcı etki yapar ve bunların geri emilimini engeller, bazı tıbbi girişimlerden önce bağırsakların boşaltılmasına yardımcı olarak kullanılabilir, bağırsak parazitlerinin düşürülmesinde de iyi bir yardımcıdır [7].

2. 1. 6. Kuşburnu

Diüretik (idrar söktürücü) , gaz giderici, hazmı ve vücut direncini arttırıcı, kabız yapıcı, hemoroiti (basur) iyileştirici, salgıyı azaltıcı etkileri vardır. Ayrıca, A, B, C, E, K vitaminlerini içerir. Soğuk algınlığı, nezle, grip, baş ağrısı, ateş, gut ve romatizmal rahatsızlıklarda kullanılır [6].

2. 1. 7. Isırgan otu

Isırgan otu, antik çağlardan bu yana tedavi edici bir bitki olarak kullanılmaktadır. Geleneksel Afrika tıbbında burun kanamalarında enfiye şeklinde, adet ve iç kanamaların tedavisinde ve yanıklarda kullanılmıştır. Hindistanda uterin kanamalarda, cilt döküntülerinde, egzemalarda ve burun kanamalarında kullanılmaktadır. Almanyada diüretik etkisinden dolayı tıbbi çay olarak lisans almıştır. Yapay ilaçlarda romatizmal şikayetlerin azaltılması için ve alt üriner sistem iltihabı rahatsızlıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. Isırgan otunun alerjik rinit tedavisi, romatizmal şikayetler ve akut eklem romatizmasında kullanımı mevcuttur. Isırgan otu köklerinin benin prostat hipertrofisi tedavisinde kullanımı ile ilgili bir takım modern çalışmalar yapılmaktadır. Isırgan otu'nun yaygın kullanım alanlarını şu şekilde sıralayabiliriz.

- Isırgan otunun artrit ve romatizma gibi kronik enflamatuvar hastalıkların tedavisi konusundaki etkisi günümüzde de kabul görmektedir. Yapılan bir takım klinik çalışmalar ağrı ve eklem sertliklerini giderdiğini ve klasik antienflamatuvar ilaçların etkisini arttırdığını kanıtlamaktadır.
- Egzema ve diğer kronik deri hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır.
- Diüretik etkisinden dolayı yüksek tansiyonu düşürücü etkisi gözlenmiştir.
- Isırgan otu kökleri ile hazırlanan preparatlar benin prostat hipertrofisi ve diğer prostat hastalıklarında etkilidir. Hafif bir afrodisyak etki de bildirilmiştir.
- İdrar yolu enfeksiyonlarında ve saman nezlesinde etkilidir.
- Güçlü bir saç güçlendiricidir. Yıkama olarak kullanılırsa saçları ve saç derisini canlandırır.

Isırgan otu yaprakları histamin, serotonin ve kolin gibi aminleri, formik asit, flavonoidler, uçucu yağlar, tanin içerirler. Bitkinin yakıcı etkisi histamin ve formik asitten kaynaklanmaktadır. Yaprakları, C vitamini ve kalsiyum, magnezyum, demir ve potasyum gibi mineralleri de içerirler. Bütün bu besleyici özellikleri ile yaraların iyileşmesinde vücudu kuvvetlendirici bir rol oynar [7]. Çizelge 2.1'de ülkemizde yaygın

biçimde kullanılan bazı şifalı bitkilerin latince adları ve başlıca kullanım alanları görülmektedir.

Çizelge 2. 1 Bazı şifalı bitkilerin Latince isimleri ve başlıca kullanım alanları

Türkçe Adı	Latince Adı	Kullanım Amacı
Ihlamur	<i>Tilia silvestris</i>	Yatıştırıcı, idrar sökücü
Adaçayı	<i>Salvia officinalis</i>	Güçsüzlük, mide spazmı, aşırı terleme, boğaz ve diş iltihaplarını giderici
Kuşburnu	<i>Fr.Rosa caninae</i>	C Vitamini kaynağı, yatıştırıcı, kuvvet verici, bağırsak yumuşatıcı
Papatya	<i>Matricaria chamomilla L.</i>	İltihap kurutucu, spazm giderici
Isırgan otu	<i>Urtica diodica</i>	Sinir iltihabı ve kanser tedavisi
Rezene	<i>Foeniculum vulgare</i>	Gaz ve balgam söktürücü, uyarıcı, sindirim problemleri, mide krampları
Senemaki	<i>Cassia angustifolia</i>	Kronik kabızlık tedavisi
Güneşlik	<i>E. purpurea</i>	Soğuk algınlığı tedavisi
Zencefil	<i>Zingiber offiçinale</i>	Mide bulantısını giderici
Kantaron	<i>Hypericum perforatum</i>	Hafif şiddetteki depresyonlarda yatıştırıcı
Lavanta	<i>Lavandula angustifolia</i>	Antiseptik
Nane	<i>Mentha piperita</i>	Ağrı kesici, antiseptik, antibakteriyel

Şifa amaçlı kullanılan bu bitkiler, makro ve mikro elementlerin dışında polifenoller, ksantinalkoloidler, vitaminler, fiberler ve çok sayıda fitokimyasal açıdan oldukça zengin kaynaklardır. Bu bitkiler, özellikle yapılarındaki polifenolik maddelerden dolayı serbest radikal oluşumunu engelleyerek kanser, kalp rahatsızlıkları, bazı iltihaplı hastalıkların tedavisinde rol oynamaktadırlar. Ancak, bu bitkilerin kimyasal içeriklerine bağlı olarak özellikle eser düzeydeki bazı ağır metallere kaynaklanan alerjik ve toksik etkiler göstermektedirler. Özellikle vücut için gerekli olan bazı eser elementlerin vücutta belli bir seviyenin üzerine çıkmaları durumunda bu tür etkiler ortaya çıkabilmektedir. Toksik ağır metallere ana kaynaklarının başında toprak

yapısı, kullanılan pestisitler, sulama gibi etkenler gelmektedir. Bundan dolayı kullanım öncesinde mutlaka kalite kontrollerinin yapılması gerekmektedir.

2. 2. Şifalı Bitkilerde Bulunabilen Bazı Elementler ve Fonksiyonları

Bu tür bitkilerde en yaygın olarak bulunan eser elementler alüminyum, arsenik, bakır, civa, çinko, demir, kadmiyum, kobalt, kurşun, kalay, nikel, selenyum, talyum, vanadyum gibi metallerdir. Ayrıca Na, K, Ca ve Mg gibi makro elementler açısından da oldukça zengindir. Şifalı bitkilerin kullanımından önce kalite kontrollerinin yapılarak bu metalleri ne düzeyde içerdikleri tespit edilmelidir. Çünkü, vücutta metal değişiminin fizyolojik sınırın üzerine çıkması durumunda, istenmeyen sağlık sorunları ile karşılaşabilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) bu metallere arsenik, kadmiyum ve kurşun için sınır değeri olarak sırasıyla 1.0, 0.3, 10.0 mg/L olarak açıklamıştır [8]. Bu elementlerden bazılarının vücuttaki fonksiyonlarını kısaca aşağıdaki gibi özetleyebiliriz.

2. 2. 1. Kalsiyum (Ca)

Kalsiyum, vücudun hemen tüm işlevlerinde iyonize bir şekilde tepkimelerde, kasların kasılma işlevlerinde, kanın pıhtılaşmasının sağlanmasında veya kompakt bir şekilde kemiklerin ve dişlerin yapısında önemli roller üstlenen yaşamsal bir maddedir. Her bireyin günlük belli miktarlarda kalsiyum alması gerekir. Ancak özellikle kemik yapısının hızlı bir şekilde devam ettiği ergenlik döneminde, bebeğin rahim içinde gelişmekte olduğu gebelik döneminde, kadınlarda emzirme döneminde ve kemik yapılarının nispeten hızlı bir şekilde "erime" riskinin arttığı menopoz döneminde bedeninin kalsiyum dengesinin korunması olağanüstü önem taşımaktadır. Ancak günde 2.5 g kadar kalsiyum alan kişilerde herhangi bir yan etki gözlenmezken daha yüksek miktarlarda kalsiyum alan kişilerde kalsiyumun demir, çinko ve diğer gerekli minerallerin emilimini azaltmasına bağlı bazı yan etkiler gözlenmiştir [9, 10].

2. 2. 2. Magnezyum (Mg)

Gebelikte yüksek tansiyonu engellemek amacıyla kullanımı oldukça eskilere dayanmaktadır. Birçok metabolik işlem için, özellikle de sodyumun, potasyumun ve

kalsiyumun hücre zarından doğru biçimde yayılmasını sağlayan hücresel pompalar için gereklidir [11].

2. 2. 3. Demir (Fe)

Vücutun enzim sisteminde hayati önem taşıyan bir element olup ortalama olarak vücutta 4-5 g kadar demir elementi bulunmaktadır. Hemoglobin, miyoglobin ve transferin proteininin yapısında bulunur. Hemoglobin yapısına katılan demir mineralinin oldukça önemli bir görevi vardır. Bu görev, hücrelerin yaşamını devam ettirmesi için bu yapılara oksijen taşımaktır. Vücutta demir eksikliği olması durumunda “demir yetersizliği anemisi” görülmektedir. Bu tip anemide kan hücrelerinin sayısı azalır, hemoglobin sayısı düşer [12].

2. 2. 4. Çinko (Zn)

Çinko elementi, A vitamini metabolizması için oldukça gerekli bir mineraldir. Kötü beslenme ile ortaya çıkan ve çok ender rastlanan bir deri hastalığı olan kalıtsal akrodermatit enteropatikaya yakalanan çocuklarda büyümenin sağlanması için çinko çok gereklidir. Birçok araştırmacıya göre, gerek gebelik gerekse emzirme sırasında bebeğin bağışıklık sisteminin tam olarak gelişebilmesi için yeteri miktarda çinko alması gerekmektedir. Yetişkin bir insanın günlük alması gereken çinko miktarı 12-15 mg olarak belirlenmiştir [13].

2. 2. 5. Bakır (Cu)

Bakır, metabolizmanın normal çalışması için gerekli olan bir elementtir. Normal bir yetişkinin bedeninde yaklaşık olarak 60-110 mg bakır bulunmalıdır. Bazı bakırlı enzimlerin beyin metabolizması ile ilgili olduğu bilinir. Ayrıca enzim aktivatörü görevi de yapmaktadır. C vitamininin oksitlenmesinde de rol oynar. Beslenme yoluyla alınan bakırın yaklaşık % 10'luk kısmı emilir. Bakırın kan kolesterolünün düzenlenmesinde rolü olduğuna dair kanıtlar vardır [13].

2. 2. 6. Krom (Cr)

İnsan bedeninin kromu kullanabilmesi için kromun B3 vitamini (nikotinik asit) ile ve üç spesifik aminoasitle bileşim oluşturduğu bir molekül formunda olmalıdır. Buna glikoz tolerans faktörü adı verilmektedir. Kromun kan şekerinin düzenlenmesinde rol aldığı bilinmektedir. Krom miktarının vücutta belli bir seviyenin altına düşmesi durumunda eksiklik belirtileri ortaya çıkmakta ve kan şekeri düzeyinin denetimi azalarak bazı kronik dejeneratif bozukluklar meydana gelebilmektedir. Üç ana şekilde (Elementel Cr, Cr (III), Cr(IV)) bulunabilen krom bileşikleri tatsız ve kokusuzdur. Sadece Cr (III) bileşikleri vücut için diyetle eser miktarlarda alınması gerekli elementlerdir. Krom bileşiklerinin tümü yüksek miktarlarda alındığında toksik olabilir, ancak Cr (IV), Cr (III)'e göre daha toksiktir. Uzun süre yüksek ve orta düzeylerde maruz kalındığında burun kanaması ve yaraları, akciğer hasarı ve kanser dışındaki akciğer hastalıklarında artışa neden olabilir. Sindirim yoluyla yüksek düzeylerde alınırsa mide şikayetleri ve ülser, böbrek ve karaciğer hastalıklarına, hatta ölüme neden olabilir. Cilde temas durumunda cilt ülserleri oluşabilir. Ayrıca ciltte alerjik reaksiyonlara da yol açabilir. Bazı Cr(IV) bileşiklerinin de kanserojen olup akciğer kanserine neden oldukları da bilinmektedir [14].

2. 2. 7. Mangane (Mn)

İnsan vücudu yaklaşık olarak 10-40 mg Mn içermektedir. Mangane, vücutta değişik yoğunluklarda olmak üzere kemikte, yumuşak dokularda, hipofiz bezinde, karaciğerde ve böbrekte bulunur. Ceninin dölyatağı içinde gelişebilmesi, normal kıkırdak dokusu ve sinir dokusunun işlevini yapabilmesi için gereklidir. Ayrıca aminoasit ve karbohidrat metabolizmaları içinde çok gereklidir. Mn eksikliğinde büyüme geriliği, iskelet bozuklukları ve üreme bozuklukları gibi istenmeyen durumlar ortaya çıkabilmektedir. Vücutta fazla miktarda Mn birikmesi sonucunda ise nörolojik bozukluklar ve hormon bozuklukları görülmektedir [15].

2. 2. 8. Nikel (Ni)

Nikelin gerek insan gerekse hayvan metabolizmasındaki fizyolojik rolü oldukça önemlidir. Tavşanlarda ve köpeklerde bağırsak dışındaki dokularda bulunan nikel, insülin hormonunun kan şekerini düşürme etkisini artırır. Büyük dozlardaki Ni ise yağ metabolizmasını değiştirir. İnsanlarda ise, adrenalinin kan basıncını yükseltme etkisine karşı bir panzehir görevi yapmaktadır [16].

2. 2. 9. Kobalt (Co)

Kobalt, temel bir eser elementtir ve ancak B12 vitamini ile birlikte verildiğinde fizyolojik açıdan olumlu etkileri olduğu bilinir. Ancak aşırı miktarda kobalt alınması durumunda kandaki alyuvar miktarında önemli derecede artmaların meydana geldiği saptanmıştır [17].

2. 2. 10. Stronsiyum (Sr)

Kimyasal özellikleri kalsiyuma benzer. Kemik yapısında birikme eğilimi vardır. Doğal halde stronsiyum radyoaktif değildir. Bu nedenle suda stronsiyum tayini, radyoaktif kirlenmelerden gelebilecek stronsiyumu kapsayacaktır [18].

2. 2. 11. Baryum (Ba)

Baryum insan beslenmesi için gerekli olan esas maddelerden değildir. Baryum sülfat gibi baryumun suda erimeyen şekilleri çok güçlükle absorbe olur ve çok az toksisitesi vardır. Suda eriyebilen baryum tuzları kolay emilirler ve bu şekilde % 50'den fazla miktarı vücuda girer. Normal olarak gıdalarla çok az miktarda baryum absorbe olur. Emilen baryumun büyük miktarı kemiklerde toplanmakta ise de böbrek, karaciğer ve kalpte de saptanmıştır. Baryumun vücut içinde izlediği yol kalsiyumda olduğu gibidir. Ancak kalsiyumdan daha süratle atılır. Alınan baryumun yaklaşık ¼'ü 24 saat içinde atılmaktadır [19].

2. 2. 12. Alüminyum (Al)

Toksik elementlerden olan alüminyumun aşırı miktarda alınmasına bağlı olarak merkezi sinir sistemi üzerine olumsuz etkileri saptanmıştır. Öte yandan Alzheimer hastalığının da vücutta aşırı alüminyum birikmesi sonucunda ortaya çıktığı tahmin edilmektedir. Çünkü bu hastalığa yakalanan hastaların beyin dokularındaki alüminyum miktarı diğerlerinden daha fazla olduğu tespit edilmiştir [20].

2. 2. 13. Kadmiyum (Cd)

Toksik bir metal olan kadmiyum en saf halde bile Zn ile karışık olarak bulunur. Bu element vücuda alındıktan sonra kolayca uzaklaştırılmaz. Zehirli etkisini genellikle enzim sistemlerinde çinko ile yer değiştirerek bu sistemleri çalışamaz hale getirmek suretiyle gösterir [21]. İnsanlarda kadmiyumun esas biriktiği yer böbreklerin korteks bölgesidir. Bu nedenle Cd zehirlenmelerinde proteinuria, glucosuria ve aminoaciduria daima bulunmaktadır.

Çizelge 2. 2'de ortalama 70 kg ağırlığındaki bir insanın günlük alması gereken element miktarları (mg/gün) verilmiştir.

Çizelge 2. 2 Ortalama 70 kg ağırlığındaki bir insanın günlük alması gereken element miktarları [22]

Element	Miktar (mg/gün)	Element	Miktar (mg/gün)
Zn	15	Co	0.04
Mn	2.8 (2-5)	Ni	0.025
Fe	15 (10-28)	Cr	0.05-0.20
Cu	2.5 (2-3)	Pb	0.415
Al	5 (2-10)	Cd	0.057
Sr	1.6 (0.98-2.2)	Mg	300
Ba	1.1 (0.65-1.7)	Ca	500

2. 3. Şifalı Bitkilerde Bulunan Bazı Polifenoller ve Fonksiyonları

Polifenoller, yapılarında hidroksil veya karboksil grupları taşıyan halkalı organik yapılardır. Bitkilerde bulunan en önemli ve en kalabalık bileşenler olup günümüzde 8000'den fazla polifenol olduğu tespit edilmiştir. Bitkilerde özellikle de bitkisel çaylarda bol miktarda bulunan polifenoller biyolojik açıdan oldukça aktif yapılardır. Şifalı bitkilerde bulunan polifenolik yapıların yararlı etkilerini şu şekilde sıralamak mümkündür [23].

- Antioksidan özelliklerinden dolayı serbest radikal oluşumunu engelleyerek kanser oluşumunu engeller. Son derece aktif bileşikler olan serbest radikaller, denetim altına alınmazlarsa hücrenin yapısal ve fonksiyonel unsurları (membranlar, lipoproteinler, proteinler, LDL, karbohidratlar, DNA, RNA vb) ile reaksiyona girerek onları tahrip ederler. Polifenollerin antioksidan özellik taşıdıkları bilindiğine göre antioksidanların görevlerini kısaca şöyle sıralayabiliriz.

* Hasar öncesi, radikal oluşumunu önler.

* Oksidatif hasarı onarır ve hasara uğramış molekülleri temizler.

* Mutasyonları önler.

- Kardiyovasküler geçirgenliği azaltarak kalp hastalıklarını engelleyebilmektedirler.
- Özellikle flavanoid grubu polifenollerin antitrombotik, antimikrobik ve antiinflamatuvar (iltihap giderici) etkileri vardır.
- Fenolik asitler, hidrolize olabilen taninler ve bazı flavanoidler antimutajenik, antikanserojen etki göstermelerinin yanında kötü huylu tümör oluşumunu engelleme, prokanserojenlerin aktivasyonunda rol alan enzimlerin aktivitesinin düşürülmesinde rol oynamaktadırlar.
- Vücutta yüksek seviyeye ulaşmış olan metallerle kompleksler oluşturarak toksik ve alerjik etkilerini indirgemektedirler.

Polifenollerin fizyolojik etkileri olumlu ya da olumsuz yönde olabilmektedir. Okside olmamış polifenoller, "**biyoflavonoidler**" olarak bilinmektedirler. Biyoflavonoidlerin kılcal kan damarlarının dayanıklılığını arttırdığı üzerinde durulmuş

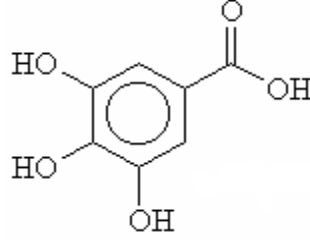
ve bunlar "vitamin P" olarak tanımlanmıştır. Ayrıca, kafein kateşolamin sentezini hızlandırırken, biyoflavonoidler bu ögenin yıkımını engellediğinden bazı bitkisel çayların ve siyah çayın antidepresant etkinlik gösterdiği ileri sürülmüştür. Biyoflavonoidlerin radyoaktif Sr 90'ı uzaklaştırarak kemik iliğinde birikimini engellediği, dolayısıyla radyasyondan kaynaklanan lösemi de koruyucu olduğu bildirilmiştir [24]. Polifenollerin ayrıntılı olarak sınıflandırılmış hali çizelge 2.3'te verilmiştir.

Çizelge 2. 3 Polifenollerin sınıflandırılması

C Sayısı	Basit İskeleti	Sınıfı	Örnek
6	C6	Basit Benzokinonlar	Kateşol
7	C6-C	Fenolik Asitler	Gallik asit, Salisilik asit
8	C6-C2	Asetofenonlar Tirozinler Fenilasetik asitler	3-asetil-6-metoksi benzaldehit Tirosol p-hidroksifenil asetat
9	C6-C3	Hidroksinamik Asitler Kumarinler	Kafeik asit, ferulik asit Aeskulatin
13	C6-C-C6	Ksantonlar	Mangiferin
14	C6-C2-C6	Stilbenler	Resveratrol
15	C6-C3-C6	Flavanoidler İzoflavanoidler	Quercetin, kaempferol Genistein
N	(C6-C3) _n (C6) _n	Ligninler Kateşoller	Melanin

2. 3. 1. Fenolik asitler

En önemli fenolik asitlerden olan gallik asit, polifenol ailesinin en basit üyesidir. Bitkisel örneklerde özellikle bitkisel çaylarda bol miktarda bulunmaktadır. Antiseptik, antikanserojen, analjezik etkisinin yanında uyarıcı etki yaptığı da tespit edilmiştir. Şekil 2.1’de gallik asitin molekül yapısı verilmiştir.



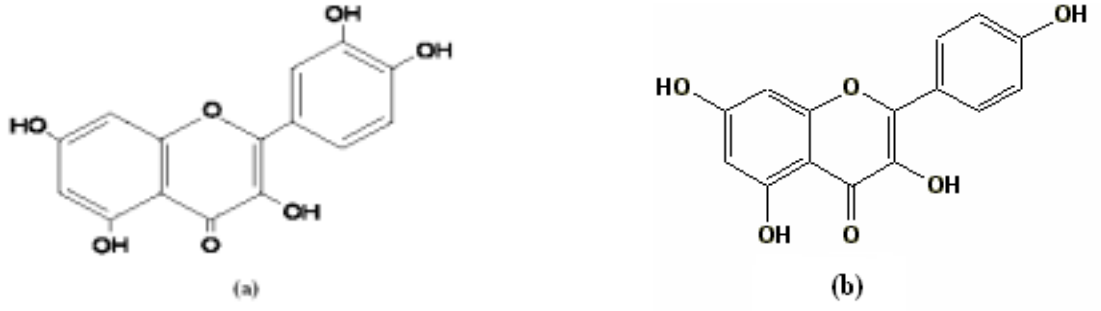
Şekil 2. 1 Gallik asitin molekül yapısı

2. 3. 2. Flavonoidler

Serbest oksijen radikallerini temizlemede C vitaminine yardımcı olmak, belleği ve derişim kapasitesini artırmak, alzheimer hastalığının oluşumunu engellemek, kan akımını sağlayan nitrik oksit düzeyini ayarlamak, hipertansiyonu engellemek, antikoagülan etkisi ile koroner ve serebrovasküler hastalıkları önlemek gibi yararlı etkiler göstermektedirler. Flavonoidleri üç grupta incelemek mümkündür. Bunlar; flavonoller (kuarsetin, kaempferol vb) flavon-3-oller (kateşin ve türevleri, teaflavinler vb), antosiyanidinler (siyanidin, peonidin, petunidin vb)’dir. Flavonoidlerin başlıca fonksiyonlarını şöyle sıralayabiliriz.

- Bağışıklık işlevlerini artırmak
- Antibakteriyel, antiviral etki göstermek
- Emflamasyonu azaltmak
- Kanseri önlemek

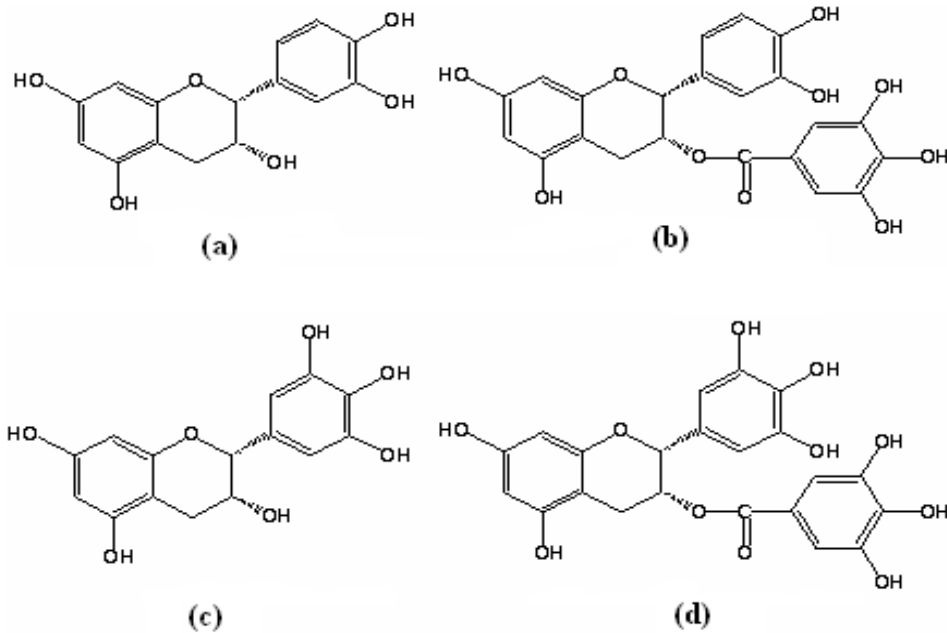
En önemli flavonoidlerden olan kaempferol ve quercetin’in molekül yapıları şekil 2.2’de görülmektedir.



Şekil 2. 2 (a) Kaempferol ve (b) quercetin'in molekül yapıları

2. 3. 3. Kateşinler

Kateşin grubu polifenollerin de tıpkı diğer polifenolik yapılardaki gibi antioksidan özelliklerinden dolayı tümör oluşumunu ve dolayısıyla kanser gelişimini engellemekte oldukları saptanmıştır. Kateşin türevleri, kanserli hücrelerin oluşumu ve gelişiminde rolü olan fibrin eritici özellikteki ürokinaz enzimini tutarak bu etkisini gösterdiği yapılan çalışmalarla belirlenmiştir. Şekil 2.3'de bazı kateşin türevlerinin molekül yapıları verilmiştir.



Şekil 2. 3 (a) (-)-epikateşin, (b) (-)-epikateşingallat, (c) (-)-epigallokateşin, (d) (-)-epigallokateşingallat'ın molekül yapıları

Epigallokateşin gallat'ın mide ve karaciğer kanserine karşı koruyucu etkisinin olduğu belirtilmektedir. Toxicology dergisinde yayınlanan iki farklı çalışmada bu polifenolik yapının 3-hidroksikinurenin'i indirgeyerek sinir hücrelerine zarar vermesini engellediği, paraquat toksisitesini azaltarak hücreler üzerine koruyucu bir etki yaptığı ortaya koyulmuştur [25, 26].

2. 4. Şifalı Bitki Kullanımına Bağlı Olarak Ortaya Çıkan Zararlı Etkiler

Acaba güvenilir olarak kabul edildikleri için ülkemizde ve diğer ülkelerde yaygın biçimde kullanılmakta olan bu bitkisel ilaçlar ne gibi zararlı etkiler gösterebilmektedirler? Yapılan araştırmalar sonucunda elde edilmiş olan bulgulara göre bu tür şifalı bitkilerden bazılarının aşağıdaki rahatsızlıklara yol açtığı tespit edilmiştir [27].

- Alerjik reaksiyonlar
- Toksik reaksiyonlar
- Yan etkiler
- Mutajenik etkiler
- Kontaminasyona bağlı etkiler
- Yanlış bitki kullanılmasına bağlı etkiler
- Hatalı kullanıma bağlı etkiler

2. 4. 1. Alerjik reaksiyonlar

Araştırmalar sonucunda bazı bitkisel preparatların aşırı duyarlılık reaksiyonlarına neden oldukları görülmüştür. Örneğin; kafur, lavanta, yasemin, gül kurusu karışımı olan ve aromaterapide kullanılmakta olan bitkisel bir karışımın alerjik etki gösterdiği tespit edilmiştir. Bilindiği üzere özellikle soğuk algınlığından korunmak amacıyla dünyada olduğu gibi ülkemizde de popülerite kazanmış olan ve son derece güvenilir olarak bilinen güneşlik (Echinacea) preparatlarının compositae (Asteraceae) fertlerine hassasiyeti olan bireylerde çapraz aşırı hassasiyete bağlı olarak alerjik reaksiyonlara neden olduğu görülmüştür. Başka bir örnek ise, ülkemizde popüler bir halk ilacı olan kantaron (Hypericum perforatum), zayıf ve orta şiddette depresyonlardaki etkinliği çeşitli klinik denemeler ile saptanmış bir ilaç olarak

“Doğanın Prozac”ı olarak adlandırılmıştır. Ancak kullanımında son derece dikkat edilmesi gerekmektedir. Bu preparatlar hiperin maddesi üzerinden standardize edilmekle beraber etken maddesi hiperin değildir ve hatta hiperin maddesi, fotosensibiliteye (ışığa karşı derinin ve göz zarının fazla hassasiyeti) neden olması nedeniyle istenmeyen bir maddedir. Bu nedenle uzmanlar tarafından bu preparatı kullananların güneş gözlüğü takmadan dışarı çıkmamaları gerektiği, aksi takdirde uzun vadede katarakt gelişimine yol açabileceği belirtilmektedir, kantaron preparatları karaciğerde ilaçları metabolize eden sitokrom enzimini de stimule ettiğinden diğer ilaçlarla tedavi gören hastalarda tedaviyi etkilediği, özellikle digoksin gibi kalp ilaçları ve warfarin (coumadin) gibi kan pıhtılaşması üzerine etkili ilaçları kullananların proteaz inhibitörleri, siklosporin ve oral kontraseptiflerin etkisini azaltabileceği bildirilmektedir.

2. 4. 2. Toksik reaksiyonlar

Hepsinde olmamakla birlikte çoğu bitkide flavanoidler, kateşin ve türevleri, gallik asit, kaempferol, quercetin ve türevleri gibi polifenolik yapılara rastlanmıştır. Bu tür maddelerin yüksek antioksidan aktiviteye sahip olmaları ve kardiyovasküler geçirgenliği azaltma gibi yararlı etkilere sahip olmalarının yanında bazı toksik reaksiyonlara da neden oldukları saptanmıştır. Bu reaksiyonlar ise hemolitik anemi, kalınbağırsak iltihabı ve kronik ishal gibi rahatsızlıklardır [28-30]. Toksik etki yapabilen bitkisel ilaçlara birkaç örnek verecek olursak, iştah açıcı, ateş düşürücü ve antiseptik özelliğinden ve zayıflamada yardımcı olduğuna inanıldığından dolayı Amerika, Kanada ve Fransa’da yaygın olarak kullanılmakta olan dalak otu (germander) bitkisinin çok fazla toksik etkiye sahip olduğu saptanmıştır. Buna bağlı olarak Amerika ve Fransa’da biri ölümlü olmak üzere otuzdan fazla karaciğer hasarı vakası, Kanadada ise iki hepatit vakası tespit edilmiş ve bu maddenin kullanımı yasaklanmıştır [31-34]. Yine Amerika’da yaygın biçimde kullanılmakta olan kediotu (Valerian root) çayı, özellikle günümüzde ön plana çıkan korku, gerginlik, stres ve sinirlilik hallerinde kullanılmaktadır. Bu maddenin içerdiği alkileyleyici ajanlar DNA ya bağlanarak timidini inhibe etmekte ve tamiri mümkün olmayan mitokondriyel fonksiyon bozukluklarına neden olmaktadır [35].

Avrupa’da da bu tip maddelerin kullanımı sonucunda çeşitli vakaların meydana geldiği görülmüştür. Örneğin; diyet amaçlı kullanılan ve aristlohic asit içeren bitkisel

bir preparatın kullanımı sonucunda otuz civarında ölümlü karaciğer ve böbrek doku hasarı vakası rapor edilmiştir [36, 37]. Bunun dışına “jin bu han adı” verilen ağrı kesici ve sakinleştirici olarak kullanılan maddenin akut hepatite ayrıca egzema tedavisinde kullanılan bitkisel bir karışımın biri ölümlü olmak üzere çok sayıda zehirlenme olayına ve soğuk algınlığı tedavisinde kullanılan syo-saikoto isimli maddenin de kronik karaciğer rahatsızlığına neden olduğu saptanmıştır [38, 39].

2. 4. 3. Yan etkiler

Çok yaygın olarak kullanılan ginseng isimli madde önemli miktarda içerdiği germanyumdan dolayı fiziksel aktiviteleri, vücut direncini, fiziksel ve zihinsel dayanıklılığı artırıcı olarak kullanılmaktadır [40, 41]. Fakat ginseng maddesinden üretilen sigarayı kullanan hastaların şizofrenik durumlarında aşırı sinirlilik ve uyku bozukluğu gibi semptomları da kapsayan bazı zihinsel bozuklukların meydana geldiği tespit edilmiş ve bu sigaranın kullanımının bırakılması ile hastaların eski zihinsel durumlarına döndükleri tespit edilmiştir [42].

Almanya’da regl dönemindeki 170 kadın üzerinde yapılan araştırmada, kadınların 86’sına bu dönemde hayıt (Agnus cactus) isimli tropikal meyvenin özü, diğerlerine ise hiçbir özelliği olmayan şekerli su verilmiş ve hayıt özü verilen kadınlarda regl dönemi sırasında meydana gelen sinirlilik, karamsarlık, öfke, baş ağrısının ortadan kalktığı gözlenmiştir. Ayrıca bu bitkinin östrojen hormonunun özelliklerine benzer özellikler taşımasından dolayı jinekolojik hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır [43]. Ancak bu maddeyi fazla miktarda almış olan hamile bir bayanın kanındaki ovaryum hormonlarının yüksek bir seviyeye ulaşmasından dolayı ovaryumun aşırı miktarda uyarıldığı ve bunun sonucunda düşük vakasının meydana geldiği tespit edilmiştir. Çizelge 2. 4’te yan etkileri tespit edilen bazı bitkisel ilaçlar verilmiştir.

Çizelge 2. 4 Yan etkisi tespit edilen bazı bitki ve bileşenler

Bitki veya Bileşen	Yan Etkiler
Boğan otu	Kalp çarpıntısı, mide bulantısı, mide ağrıları
Aristolochiç Asit	Nefrotoksik etkiler
Bağışıklık Artırıcı İlaçlar	Ağır metal zehirlenmesi
Katırtırnağı	Oksitoksik özellikler
Maki	Karaciğer hasarı
Bitkisel Çin Preparatları	Ağır metal zehirlenmesi
Karakafes	Karaciğer hasarı
Flavanoidler	Hemolitik anemi, böbrek hasarı
Dalakotu	Karaciğer hasarı
Yarpuz (Yaban Fesleğeni)	Karaciğer hasarı
Pirolizidin Alkoloidleri	Karaciğer hasarı

Yukarıda anlatılanların aksine doğru kullanıldıklarında ciddi bir yan etkisi tespit edilememiş olan bazı bitkiler de bulunmaktadır. Çizelge 2.5’de bu bitkilere bazı örnekler verilmiştir.

Çizelge 2. 5 Ciddi bir yan etkisi tespit edilmemiş bazı bitkiler

Bitki Adı	Farmakolojik Aktivitesi
Papatya	İltihap kurutucu
Sarımsak	Kolesterol düşürücü, antihipertansif
Sabal Ekstresi (palmiye türü)	Ateş düşürücü
Nane	Ağrı kesici, antiseptik, antibakteriyel
Kekik	İdrar sökücü, antiseptik
Amerikan Hurması	Antiandrojenik, östrojenik
Binbirdelik Otu	Antidepresif

2. 4. 4. Mutajenik etkiler

Genellikle güvenilir olarak bilinmelerine karşın aloe, kascara (akdiken), senameki ve frangula (barut ağacı kabuğu) gibi müshil etkisi olan bitkilerin uzun süreli kullanımları (10-30 yıl) sonucunda kalınbağırsak kanserine neden olabildikleri tespit edilmiştir [44]. Bunun dışında kırmızı biberin önemli bir bileşeni olan capsaicin isimli maddenin de uzun süre fazla miktarda alınması sonucunda kanserojen etki yaptığı ve mide kanserine neden olabildiği saptanmıştır [45].

2. 4. 5. Kontaminasyona bağlı etkiler

Bitkilerdeki kontaminasyonun başlıca etkenleri eser düzeydeki toksik metallerdir. Tedavi amaçlı kullanılan bu tip bitkisel ilaç bileşimleri arsenik, kurşun, kadmiyum, alüminyum, civa vs. gibi toksik etkiye sahip elementleri içerebilmektedirler. Bu maddeler ya bitkinin yetiştirilmesi esnasında ya da işlenmesi sırasında ortama katılabilmektedirler.

Gerek hastalıkların tedavisinde gerekse makyaj malzemesi ve saç bakımı amaçlı olarak kullanılan ağırlıkça % 60'dan daha fazla Pb, Zn, Al, Hg, Sn ve As içeren bazı bitkisel preparatlar incelenmiş ve bu tip maddeleri kullanan kişilerin kanlarındaki ağır metal derişiminin fizyolojik sınırdan 2-10 kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir [46, 47]. Buna bağlı olarak bunları kullanan bazı bireylerde metal zehirlenmesi vakaları ortaya çıkmıştır. Bu metallere örneğin Al metalinin aşırı miktarda alınmasının nörodejeneratif bozukluklara (Alzheimer hastalığı) neden olduğu anlaşılmıştır. Al metalinin dışında toksik etki gösterdikleri bilinen bazı maddeler çizelge 2.5'te verilmiştir [41].

Çizelge 2. 6 Toksik etki yapan bazı maddeler

Alüminyum	Kafein	Efedrin	Fenilbütazon
Aminopirin	Klordiazepoksit	Kurşun	Talyum
Arsenik	Klorfeniramin	Mefenamik Asit	Teofilin
Aspirin	Kortikosteroidler	Civa	Thiazit diüretik
Betametazon	Diazepam	Parasetamol	Kalay
Kadmiyum	Diklofenak	Fenasetin	Çinko

2. 4. 6. Yanlış bitki kullanılmasına bağlı etkiler

Yukarıda bahsedilen etkenlere bağlı olarak aynı bitki türünde söz konusu olabilecek fiziksel ve kimyasal farklılıkların yanında benzer bitki türlerinin içeriklerinin ve dolayısıyla gösterecekleri etkilerin de tamamen farklı olabileceği göz önünde tutulmalıdır. Örneğin; papatya bitkisi tamamen güvenilir doğal bir antispazmotik olarak bebeklere bile verildiği halde yapı itibariyle papatyaya çok benzeyen ve sadece dilsî çiçeklerinin sarı olması ile papatyadan ayırt edilebilen kanarya otu (*Seneico vulgaris* L.) türlerinin birbiriyle karıştırıldığı çok sık görülmektedir. Kanarya otu preparatlarının tüyleri sarartmak amacı ile değil de spazm giderici olarak kullanılması durumunda taşıdığı pirazolidin alkoloitleri nedeniyle bebeklerde ölüme yol açması, yetişkinlerde ise uzun vadede karaciğer kanserine neden olması kaçınılmaz olabilmektedir [48].

2. 4. 7. Hatalı kullanıma bağlı etkiler

Burçak (*Vicia* sp.) tohumları, özellikle kan şekerini düşürmek amacıyla diyabetliler tarafından çok sık kullanılmaktadır. Tohumlarının taşıdığı proteik yapıdaki maddelerin damar büzücü etkisine bağlı olarak kullanımı sonucunda özellikle bazı organlarda kangren benzeri semptomlar ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle burçak bitkisinin kullanılmadan önce kavrularak bu proteik yapıli maddelerin parçalanması sağlanmalıdır. Ancak yine de uzun süreli kullanımından sakınılmalıdır.

Yanlış kullanıma başka bir örnek; kemoterapiye cevap vermeyen bir kalınbağırsak kanseri hastasının başka bir hastanın tavsiyesi ile burçak tohumlarını

kavurarak değil de doğrudan kaynatarak suyunu içmesi sonucunda ortaya çıkmıştır. Bir süre sonra kol ve bacaklarında uyuşmalar başlamış ve doktora başvurduğunda ise bu, kemoterapinin bir yan etkisi olarak değerlendirilmiştir. Sadece bu örnek bile şifalı bitki kullanımında dikkat etmenin ne kadar önemli olduğunu ortaya koymaktadır.

Güncel bir diğer örnek ise sarımsaktır. Tansiyon şikayeti olan hastaların sarımsak tabletleri yerine manavdan almış oldukları sarımsak dişlerini kullanmaları ile sağlanacak tedavi cevabının yetersiz kalması sık karşılaşılan bir durum haline gelmiştir. Ayrıca; sarımsak bitkisinin etken bileşenleri olarak bilinen kükürtlü bileşiklerin dayanıksız olmaları nedeniyle özellikle pişirme sırasında yapılarının bozulmasına bağlı olarak önemli etki kaybı ortaya çıkmaktadır. Diğer taraftan, sarımsak kullanılması sırasında özellikle antikoagülan ilaç dozlarının iyi ayarlanması gerekmektedir [49].

Yukarıda anlatılanlar göz önüne alındığında şifalı bitkileri kullananların dikkat etmesi gereken bazı önemli noktalar vardır. Bunlar;

- Yan etkileri araştırılmış ve kullanımına izin verilmiş olmalıdır.
- Uzun süreli kullanımdan kaçınılmalıdır.
- Herb-Drug etkileşimi olabileceği unutulmamalıdır.
- Toksik ağır metal içerebilecekleri unutulmamalıdır.
- Sadece yetkili satıcılardan alınmalıdır.
- Yan etki görüldüğü anda kullanımı kesilmeli ve hemen doktora başvurulmalıdır.

Bitkilerin bileşimlerinde fotosentez sonucu meydana gelen onlarca madde arasında tedavi edici olanların yanında zararlı / zehirli etkiler ortaya çıkarabilecek maddelerin de bulunabileceği her zaman göz önünde tutulmalıdır. Unutulmamalıdır ki; bir maddenin tedavi edici ve zehirleyici etkisi arasındaki fark alınan dozuyla yakından ilgilidir.

2. 5. Bitkisel Örneklerin Analize Hazırlanması

2. 5. 1. Element analizleri için örnek hazırlama

2. 5. 1. 1. Örnekleme

Birincil örnekleme adı verilen basamak, analiz için örneklerin seçilmesi ve toplanması basamağıdır. Eğer örnek yanlış bir şekilde toplanmış veya analiz için uygun olmayan bir örnek seçilmişse bu, analiz sonucuna direkt olarak etki edeceğinden bu basamağın doğru şekilde uygulanması sağlıklı bir analizin ilk şartıdır.

Birincil örnek alındıktan sonra fiziksel ve kimyasal yapısında bir değişme olmaksızın laboratuvara alınmalı ve analize kadar uygun koşullarda muhafaza edilmelidir. Örnek koruma yöntemlerini şöyle sıralamak mümkündür.

- Uygun toplama kabı seçimi
- Örneğe antioksidanlar veya antibakteriyel ajanların eklenmesi
- Termal degradasyonu engellemek için örneği dondurma
- Bir katı faz üzerine adsorbsiyon

İkincil örnekleme basamağında ise laboratuvara getirilen örnekler içinden bu örnek topluluğunu temsil edebilecek olan örneğin hazırlanması işlemi yapılır [50]. Örnek hazırlama basamağı bir analizin en önemli noktası olarak kabul edilir. Yıllardan beri araştırmacılar analiz hızı, ölçüm tekniğinin otomasyonu ve rapor oluşturma ünitelerinin veriminin artırılması konusunda çalışmışlar ve bu konuda çok yol almışlardır. Fakat bunun yanında örnek hazırlama basamağı süre bakımından oldukça uzun kalmıştır. Örneğin; gaz kromatografisinde ayırma ve ölçüm işlemi için birkaç dakika yeterli olurken bu analiz için örnek hazırlama basamağı analiz süresinden birkaç kat daha fazla zaman almaktadır. Anlaşılacağı gibi örnek hazırlama basamağının otomatik hale getirilmesi ve hızının artırılması kimyasal analizin süresini oldukça azaltacaktır [51].

2. 5. 1. 2. Örnek boyutunun küçültülmesi

Bunun için birçok teknik kullanılmaktadır. Bunlardan biri olan öğütme işlemi en fazla kullanılan teknik olup bunun için bir havan veya değirmen kullanılmaktadır. Öğütme sırasında oluşabilecek olan az miktardaki ısı, termal olarak bozunabilen yada buharlaşabilen bileşenlerde kayıplara yol açabilmektedir.

Bu şekilde ufalanamayan örneklerin öğütülmesi için elmas uçlu çelik öğütücüler kullanılmaktadır. Eğer çok yumuşak örnekler söz konusu ise bu durumda küçük porselen bilyeler içeren porselen veya çelik silindirden yapılmış olan değirmenler kullanılmaktadır.

2. 5. 1. 3. Örneklerin kurutulması

Örnekler genellikle nemli veya ıslak olduklarından analiz sonuçlarının doğruluğu açısından mutlaka kurutulmalıdır. Biyolojik ve bitkisel örneklerin kurutulması işleminde 100°C'nin üzerine çıkılmamalıdır. Aksi takdirde bu örneklerde bulunan bazı bileşenlerin yapısında bozulmalar meydana gelebilmektedir. Silika jel veya toprak gibi yapılardaki nemin uzaklaştırılması için ise suyun kaynama noktasının üzerindeki bir sıcaklıkta kurutma yapılmalıdır. Ancak organik hidrofobik örneklerde su absorpsiyonu minimum olduğundan kurutma gerekli değildir. Isıtmaya duyarlı örneklerin kurutulmasında ise dondurarak kurutma yapılmalıdır. Yani örnek önce dondurulmalı ve sonra yapısındaki nem vakum uygulanarak uzaklaştırılmalıdır [52].

Element analizine geçilmeden önceki en önemli basamak örneğin çözünürleştirilerek analize hazır hale getirilmesidir. Analizlenecek örnekte, tayin edilecek element analit, bileşenlerin tümü ise matriks olarak adlandırılır. Her yöntem kendine özgü hata ve girişim taşır, bu nedenle analizi yapacak kişi numune ve matriks hakkında eksiksiz bilgilenmelidir. Örneklemede kullanılacak plastik kapların, ayrıca kimyasalların körlerinin (blank) ve numunenin kirlilik oluşturacak maddelerle temas ettirilmemesi ve iyi şekilde korunması gerekmektedir. Ayrıca bitkisel örneklerin analize hazırlanması işleminde örneğin öğütülmesi yüzeyle teması artırdığı için çözünürleştirmeyi kolaylaştırır. Bu nedenle öğütmede kullanılan havan, değirmen veya öğütücüden (blendır) gelebilecek olan kirliliklerin özellikle mikro element tayininde problem oluşturabileceği dikkate alınmalıdır. Kurutulan örnekler ağzı kapalı polietilen kaplarda muhafaza edilir.

Bitkisel örneklerin çözünürleştirilmesi işleminde organik matriks mutlaka uzaklaştırılmalıdır. Çünkü organik matriks analiz sırasında ya girişim etkisi yapmakta yada analitik reaksiyonların gerçekleşmesini engellemektedir. Organik matriksi uzaklaştırmanın en basit yolu kül etme veya yükseltgeme (oksidize etme)'dir. Bu işlem sırasında yapıdaki karbon ve hidrojen yükseltgenerek CO₂ ve H₂O'ya, organik azot ise serbest azota dönüşür. Oluşan bütün yanma ürünleri gaz formuna geçerek ortamı terk ederler. Bütün diğer işlemlerde olduğu gibi oksidasyon basamağında da dikkat edilmesi gereken bazı önemli noktalar vardır. Bunlar;

- Çözünürleştirme işlemi kantitatif olmalıdır. Bütün organik materyal tamamen yükseltgenmeli ve buharlaşmalıdır. İnorganik kısım ise artık olarak kalmalıdır.
- Hızlı ve düşük maliyetli olmalıdır.
- Uygulanabilirliği yüksek olmalıdır.
- Örnekteki inorganik bileşenlerde kayıp olmadığı gibi herhangi bir dış etki ile (kimyasallar, kullanılan kaplar, atmosfer gibi.) kalıntıya kirlilik bulaşması engellenmelidir.

2. 5. 2 Örnek çözünürleştirme teknikleri

Element analizlerinde organik matriksin parçalanması için farklı teknikler uygulanmaktadır. Bunlar; kuru yakma, yağ yakma, mikrodalga ile çözünürleştirme ve oksidatif UV fotoliz teknikleridir.

2. 5. 2. 1. Kuru yakma

En eski çözünürleştirme tekniğidir. Bu teknikte örnekteki organik kısım havada kömürleştirildikten sonra örnek, uygun bir kaba (kroze gibi) alınarak alevde veya kül fırında yakılır. Organik matriks genellikle önce kömürleşir, yanar ve kül şeklinde kalır. Kalan bu kısım inorganik maddeleri içermektedir. Bazı örneklerde ise oluşan CO₂ gazı karbonat şeklinde kül içinde kalabilir. Bunu önlemek için örnek, oksijence zengin alevde veya saf oksijenle yakılmalıdır. Yakma işlemi sırasında gerek hızı artırmak gerekse tam oksidasyonu sağlamak amacıyla ortama bazı reaktifler eklenebilmektedir. Elementel analizlerde gayet iyi bilinmelidir ki termal olarak kararlı karbon, silisyum ve

bor bileşikleri matriks elementlerine dönüşebilmektedirler. Yanma sırasındaki bu tür sorunları gidermek için yanmadan hemen önce veya yanma sırasında ortama HNO_3 , H_2SO_4 , NH_4NO_3 , $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ gibi yükseltgeyici reaktifler katılır. Eğer belirli bileşenlerin kaybının engellenmesi isteniyorsa kül etme esnasında ortama bazı spesifik reaktifler de eklenebilir. Örneğin; bor elementinin borata dönüşerek buharlaşmasını engellemek amacıyla ortama CaO eklenmesi gibi.

Kuru yakma yöntemi genellikle pek tavsiye edilmemektedir. Bunun nedeni ise selenyum ve civa gibi uçuculuğu yüksek olan elementlerin kayba uğramasıdır. Kuru yakmanın tam olabilmesi için gereken sıcaklık değerlerine ulaşıldığında sodyum ve potasyumda kayıplar da meydana gelebilmektedir [53].

2. 5. 2. 2. Yaş yakma

Bu teknikte örnekler, genellikle HCl , H_2SO_4 , HNO_3 , HClO_4 , HF , H_2O_2 gibi yükseltgeyici kimyasallar veya bunların karışımlarında çözülür [54].

H_2SO_4 ile çözünürleştirme: Uçuculuğu diğer asitlere göre daha düşük olduğundan yüksek sıcaklığın istendiği durumlarda kullanılmaktadır.

HCl ile çözünürleştirme: Oksitler, karbonatlar, fosfatlar ve sülfürlerin çözünürleştirilmesinde etkilidir.

HNO_3 ile çözünürleştirme: Arsenik, antimon ve civa sülfürleri çözebildiğinden tercih edilmektedir.

HF ile çözünürleştirme: Silikatlar, tantalatlar ve niyobatlar için etkin bir uygulamadır [55].

Yaş yakma yöntemi, mineral asitlere (HCl , H_2SO_4 , HNO_3 , HClO_4 , HF , H_2O_2) ve ısıya dayalı olarak yürütülen bir parçalama tekniği olarak günümüzde kuru yakma işleminden daha çok kullanılmaktadır. Bu teknik, açık ve kapalı kaplarda, farklı sıcaklıklarda yürütülmektedir. Örnek parçalama için bu asitlerin genellikle çeşitli kombinasyonları kullanılmaktadır. Örneğin; H_2O_2 - HNO_3 karışımı organik örneklerin parçalanmasında en fazla kullanılan oksidasyon karışımıdır. Ayrıca, hidrojen peroksit yüksek saflığa sahip olduğundan eser element analizleri için oldukça uygundur. H_2SO_4 - HNO_3 karışımı ise parçalama işlemleri için kullanılan bir diğer kombinasyondur. Fakat bu karışımın bazı dezavantajları vardır. Bunlardan en önemlisi parçalama işlemi sırasında baryum sülfat gibi çözünmeyen maddelerin oluşması ve bu maddelerin spektroskopik tayin sırasında girişim yapmasıdır. En etkili kombinasyon ise HNO_3 -

HClO₄ karışımıdır. Tehlikeli olmasına karşın en fazla kullanılan yükseltgeyici reaktif HClO₄'tür.

Yaş yakma tekniğinde en önemli noktalardan biri de uygun bir ısıtma işleminin uygulanmasıdır. Özellikle nitrik asit kullanıldığında bu daha da önem kazanır. Çünkü nitrik asitin uçuculuğu sülfürik asit ve perklorik asitin uçuculuğundan daha fazladır. Isıtma yüksek sıcaklıklarda yapılırsa numune tamamen okside olmadan asit uçacaktır ve etkin bir yakma işlemi yapılamayacaktır. Aromatik hidrokarbon, yağ, protein ve diğer organik bileşenleri içeren örneklerdeki yakma işlemi ise daha fazla dikkat gerektirmektedir. Çünkü bu bileşenler nitrik asit ve sülfürik asitle etkileştirildiklerinde sülfone ve nitrate olacaklar ve bu formlarını yakma işlemi boyunca koruyacaklardır. İşte bu yüzden yaş yakma işlemine geçilmeden önce mutlaka kömürleştirme yapılmalıdır [56]. Yaş yakma işleminin kuru yakma işlemine göre daha fazla çözücü gerektirdiğinden reaktiflerden gelen kirlenmeler, örnek miktarında sınırlama ve daha fazla dikkat gerektirmesi gibi dezavantajları da vardır.

2. 5. 2. 3. Mikrodalga enerjisi ile çözünürleştirme

Bu teknik ilk defa 1975 yılında Abu Samra ve arkadaşları tarafından biyolojik örnekleri parçalamak amacıyla kullanılmıştır. Diğer parçalama tekniklerine göre daha kontrollü, etkili, hızlı ve pratik olduğundan dolayı günümüzde oldukça popülerlik kazanmıştır. Ayrıca American Society for Testing Materials (ASTM), The Environmental Protection Agency (EPA) ve The French Association of Standardization (AFNOR) gibi büyük laboratuvarlar da bu tekniğin kullanılmasını destekleyen kuruluşlar arasındadır. Bu tekniğin en önemli parçası olan mikrodalgalar, kızıl ötesi ışınlarıyla ultra yüksek frekanslı radyo dalgaları arasında kalan bölgede bulunan dalgalardır [54]. Mikrodalgaların karakteristik özellikleri ise şunlardır.

- Elektromanyetik spektrumun üyesidir.
- Enine düzlem dalgalardır.
- Elektromanyetik spektrumda 300–300000 MHz arasındaki bölgeyi oluştururlar.
- İyonlaşmaya neden olmazlar ve ortama enerji salarlar.

Mikrodalga yardımıyla parçalamanın amaçlarını şöyle sıralayabiliriz.

- Örneklerde tam çözünürleştirmeyi sağlamak ve daha berrak bir çözelti elde etmek
- Girişimleri önlemek amacıyla matriksi tamamen gidermek
- Çözünürleştirme sırasında her türlü analit kaybını önlemek
- Bozucu etki yapan iyonları önleme yani daha düşük reaktif hacmi ile çalışmak

Mikrodalga parçalama işlemi sırasında uygulanan güç, parçalama sıcaklığı, ortamda parçalamayla oluşan basınç, zaman ve parçalama reaktifinin kimyasal gücü mutlaka kontrol edilmesi gereken kritik parametrelerdir. Mikrodalga parçalama işlemi açık ve kapalı kaplarda olmak üzere iki farklı şekilde uygulanabilmektedir. Açık sistemlerde asit/asit karışımı ile örnek birlikte bir tüp içine alınır ve mikrodalga enerjisi gönderilerek ısıtma yapmak suretiyle çözünürleştirme yapılır. Kapalı sistemde ise asit /asit karışımı ile örnek yüksek basınç altında teflon tüp içerisinde etkileştirilir ve mikrodalga enerjisi gönderilerek ısıtma yapmak suretiyle çözünürleştirme gerçekleştirilir. Bu teknikte, yaklaşık 0.500–1.000 g kuru ağırlıktaki örnekler, kademeli sıcaklık ve basınç değerleri uygulanarak çeşitli asit veya asit karışımları ile kapalı bir sistemde etkileştirilmek suretiyle çözünürleştirme yapılır [57, 58]. Mikrodalga parçalama için bir mikrodalga ünitesinde bulunması gerekenler şunlardır.

- 260°C'ye kadar ısıtma sıcaklığı
- 1.000 g'a kadar örnek alma imkanı
- Her kapta sıcaklık kontrolü ve opsiyonel olarak her kapta basınç kontrolü
- Tüm sıcaklık profillerini kaydedebilme

Mikrodalga parçalama tekniğinde organik ve inorganik matrikslerin her biri için farklı reaktif/reaktif karışımları kullanılmaktadır [59]. Organik matrikslerin parçalanması için kullanılan reaktifler aşağıda verilmiştir.

HNO₃ (%65): Genellikle kolay oksitlenebilen maddelerin parçalanması için kullanılmaktadır. Nitrat veya azot, analize bozucu etki yapmaz.

HNO₃ (%65) / H₂O₂ (%30) 4:1 karışımı: Parçalama kalitesini artırmak için kullanılır. Plastikler gibi zor parçalanmış örneklerde iyileşme sağlamaz.

H₂SO₄ (%98) / H₂O₂ (%30) 1:1 karışımı: Genellikle sulu numunelerin (atık su) parçalanmasında kullanılır.

HNO₃ / H₂SO₄ 1:1 karışımı: Plastikler gibi zor parçalanan numunelerde kullanılır. Matriksteki karbon, susuzlaştırma işlemi ile daha kolay giderilebilir.

Mikrodalga parçalama tekniğinde inorganik matriksler için secilebilecek reaktifler ise şunlardır.

HCl, Kral Suyu veya HCl/HF karışımı: Saf metallerin çözünürleştirilmesinde kullanılmaktadır.

H₂SO₄ / HCl, H₃PO₄ / HCl veya HF karışımları: Oksitlerin (Al₂O₃ dahil olmak üzere) parçalanmasında kullanılır. Orta derecedeki basınçlarda daha yüksek sıcaklıklara ulaşmak için yüksek kaynama noktasına sahip olan asitin yüksek oranda (% 80) bulunması gerekmektedir.

Mikrodalga parçalama tekniğinin avantajlarını şöyle sıralamak mümkündür.

- Hızlı ve kolay uygulanabilirliği
- Minimum enerji ve kimyasal sarfiyatı
- Çevresel kirlilik oluşturmaması
- Uçucu bileşenlerin kaybını engellemesi
- Teflon çözünürleştirme kaplarının mikrodalga enerjisini absorbe etmemesinden dolayı enerji kaybının minimum olması
- Yüksek sıcaklığa izin vermesi

Mikrodalga parçalama tekniğinde karşılaşılan problemler ise şunlardır.

- Sıcaklık ve basıncın daima kontrol edilmesi
- Mikrodalga enerjisini absorbe edecek kapların kullanılması sonucu enerji kaybı
- Basınç düşürme mekanizmasının gerekliliği

2. 5. 2. 4. Oksidatif UV fotoliz parçalama işlemi

Eğer organik bileşenlerin girişimi söz konusu ise örnek hazırlama için oksidatif UV fotoliz tekniği daha kullanışlıdır. Bu teknik, direkt olarak UV radyasyonu ile organik yapının temasından çok, radikalik bir mekanizma ile parçalama esasına dayalıdır [60]. HO· radikalleri fotolitik olarak üretilir ve organik matriks ile etkileştirilerek matriksin parçalanması sağlanır. Bu radikallerin sayısı arttıkça parçalama

işlemi de hızlanır. Eğer radikal oluşumu daha da hızlandırılmak istenirse tepkime ortamına az miktarda H₂O₂ eklenir ve böylece oksidasyon süresi de azaltılmış olur. UV radyasyonu için ise genellikle Hg lambalar kullanılır. Parçalama işleminin verimi aslında direkt olarak UV ışını yoğunluğu, radyasyon süresi ve örneğin sıcaklığına bağlıdır.

Bu teknik, eşzamanlı olarak farklı örneklerin parçalanmasına imkan vermektedir. Ancak uzun oksidasyon süresi gerektirmesi bu tekniğin bir dezavantajıdır.

2. 5. 3. Organik analizler için örnek hazırlama

Organik yapılar için örnek hazırlama işleminin temelini ekstraksiyon basamağı oluşturur. Çözünebilen organik yapılar dikkate alındığında bu yapılar genellikle su, metanol, etanol ve aseton ile ekstrakte edilirler. Yapılarında bağlı şeker olması durumunda bu yapılar suda ve sulu çözümlerde daha fazla çözünmektedirler. Öte yandan daha az polar olan yapılar (izoflavonlar, flavanonlar, metoksilenmiş flavonlar, flavanoidler) susuz çözümlerde daha iyi çözünürler.

Ekstraksiyon tekniklerini çözümler ekstraksiyonları, sorbent ekstraksiyonları ve membran esaslı ekstraksiyonlar olarak üç ana başlıkta incelemek mümkündür.

2. 5. 3. 1. Çözümler ekstraksiyonu teknikleri

Soxhlet ekstraksiyonu, basınçlı çözümler ekstraksiyonu (PFE), süperkritik sıvı ekstraksiyonu (SFE), mikrodalga destekli sıvı ekstraksiyonu (MAE) ve sonikasyon teknikleri çözümler ekstraksiyonuna iyi birer örnektir. Sıvı örnekler için en popüler ekstraksiyon yöntemi olup birbiri içerisinde çözünmeyen iki sıvı faz arasında katı bileşenlerin dağılması ilkesine dayanır. Bu fazlardan biri sulu faz, diğeri ise organik fazdır. Katı bileşenlerin dağılma oranları ise bu yapıların bağlı çözünürlüklerine bağlıdır. Ekstraksiyon işlemi sırasında hidrofobik yapılar organik faza geçerken iyonik yapılar ise sulu fazda kalmayı tercih ederler. Bu yöntemdeki dağılma olayı Nernst Dağılma Kanunu ile ifade edilebilir. Bu kanuna ait eşitlik aşağıda verilmiştir.

$$K_D = C_0 / C_{aq} \quad (2. 1)$$

K_D , dağılma sabiti

C_0 , analitin organik fazdaki derişimi

C_{aq} , analitin sulu fazdaki derişimi

K_D değerini artırmak için şu yaklaşımlar söz konusu olabilir.

- Analitin organik fazdaki çözünürlüğünü artırmak için bu faz değiştirilebilir,
- Analitin sulu fazdaki çözünürlüğünü azaltmak için sulu faza inert veya nötral bir tuz eklenebilir (Salting Out),
- Hidrofobik kompleksleştiricilerle metal iyonları kompleksleştirilebilir,
- Analit iyonik formda veya iyonlaşabilir durumda ise iyonlaşmayı baskılayarak organik fazdaki çözünürlüğü artırılarak K_D değeri artırılabilir.

Çözgen ekstraksiyonunu etkileyen faktörler

- Çözgenin tipi: Bileşenlerin ekstraksiyonunda en fazla metanol ve metanol/su karışımı kullanılmaktadır. Bunların dışında aseton veya etil asetat da kullanılabilir.
- Ekstraksiyon ortamının pH'sı: Çözünebilen bileşenlerin çözünürlük derecelerini etkilemektedir.
- Sıcaklık: Ekstraksiyonun etkinliği yüksek sıcaklıklarda artmaktadır. Ekstrakte edilen bileşenlerin çözünürlüğü ve difüzyon katsayıları artar ve çözgenin vizkositesi azalır. Böylece çözgenin katı substrata etki etmesi kolaylaşır.
- Ekstraksiyon basamağı sayısı ve çözgen hacmi: Ekstraksiyon basamağı sayısı arttıkça ekstraksiyon verimi de artış göstermektedir. Çözgen hacmi de verime etki edebilmektedir. Örneğin; 50 mL hacimdeki çözgen ile 4 kez tekrarlanan bir ekstraksiyonun verimi 200 mL aynı çözgenle bir kez yapılanıkinden daha iyi olduğu tespit edilmiştir.
- Parçacık büyüklüğü: Partiküllerin büyüklüğü ekstraksiyon verimine etki etmektedir. Bitkisel materyal ne kadar iyi toz haline getirilirse çözgenle o kadar iyi temas edecek ve iyi bir verim sağlanacaktır [61].

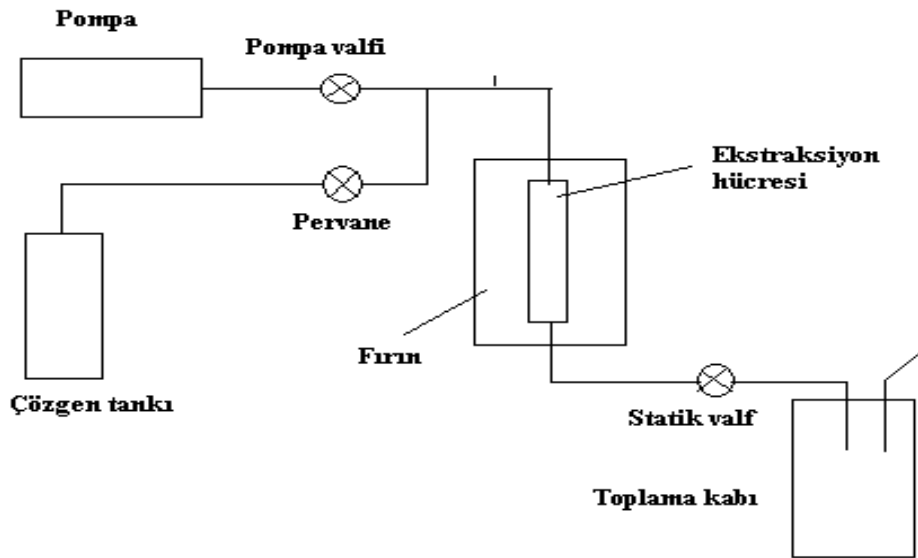
Soxhlet ekstraksiyonu

Franz Soxhlet tarafından tasarlanan ve çözgen ekstraksiyonuna çok benzeyen bu teknikte filtrasyona gerek duyulmamaktadır. Örnek, soxhlet cihazında bulunan filtre kağıdından yapılmış poröz bir kap içine koyulur. Bu örnek kabı alttaki çözgen içerisine daldırılır ve ısıtma yapılır. Isının etkisiyle çözgen molekülleri örneğe nüfuz eder. Bu

teknikte devamlı olarak taze çözen eklenmesi gerektiğinden çözen sarfiyatı fazladır. Ayrıca ekstraksiyondan sonra çözenin buharlaştırılması da gerektiğinden pratik değildir. Genellikle yağ tayinlerinde uygulanan bir ekstraksiyon yöntemidir [61].

Basınçlı çözen ekstraksiyonu

Bu teknik, soxhlet ekstraksiyonuna benzemekte olup farkı ise çözen olarak süperkritik bir çözenin kullanılmasıdır. Bu özellikteki sıvılar daha iyi ekstraksiyon oranı sağlamaktadırlar [62]. Yüksek sıcaklıklara çıkıldığında çözen moleküllerinin viskoziteleri düşeceğinden örnek ile teması daha iyi olur ve bu şekilde ekstraksiyon verimi artırılmış olur. Uygulanan basınç ise süperkritik çözenin kendi kaynama noktasının altında kalmasına ve örneğe daha iyi temas etmesine yardımcı olmaktadır. Bu teknikte örnek, paslanmaz çelik bir ekstraksiyon hücresine yerleştirilir ve bu hücreye istenilen sıcaklık ve basınçtaki çözen pompalanır. Kullanılan sıcaklık değeri genel olarak 80-200°C, basınç ise 10-20 MPa arasındadır. Bu teknik en çok gıdalardaki kirliliklerin kontrolü amacıyla kullanılmakta olup ekstraksiyon süresinin kısa olması, daha az çözen kullanımı gibi avantajlara sahiptir. Dezavantajları, pahalı aparatlar gerektirmesi ve yüksek basınçta çalışmasıdır. Şekil 2.4'de basınçlı çözen ekstraksiyonuna ait şekil verilmiştir.



Şekil 2. 4 Basınçlı çözen ekstraksiyonu

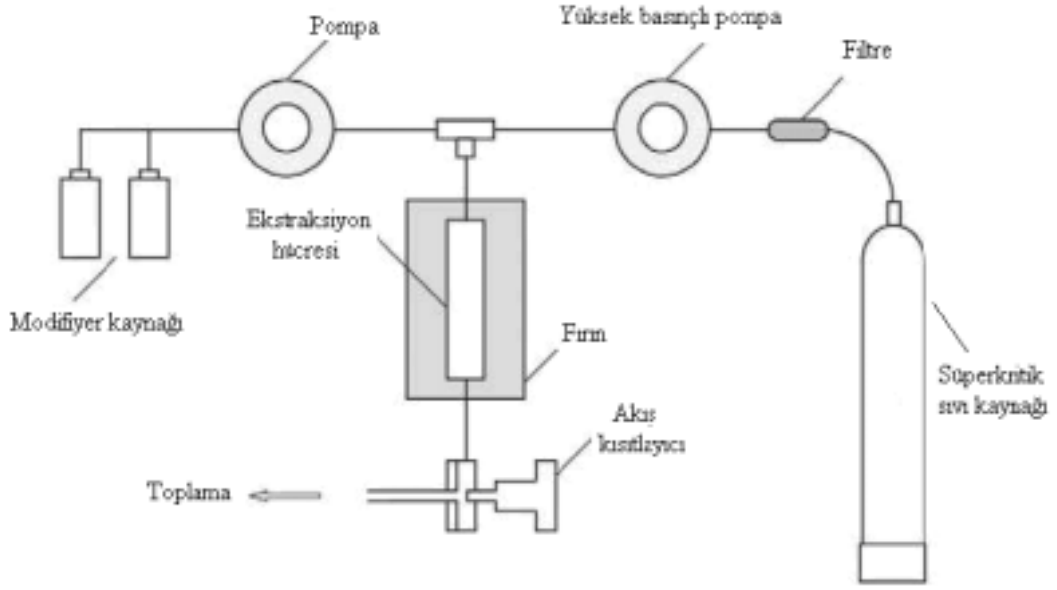
Süper kritik sıvı ekstraksiyonu

Bu modern ekstraksiyon tekniğın ana avantajı, ekstraksiyon için sıvı ve gazların karakteristiklerinin kombine edilmiş olmasıdır. Süperkritik akışkanların çok düşük vizkositeye sahip olmaları onlara yüksek difüzyon kapasitesi ve hücre duvarına bağlı yapılara daha iyi etki edebilmelerini sağlamaktadır. Dahası, izomerizasyon ve oksidasyon gibi diğer ekstraksiyon tekniklerinde meydana gelebilen degradasyonların da en aza inmesi sağlanmaktadır. Bu teknikte, en fazla kullanılan çözen süperkritik CO₂ dir. CO₂ in tercih edilme nedenleri ise düşük toksik etkisi, kimyasal olarak inert olması, kirlilik oluşturmamasıdır. Bunun dışında süperkritik çözen olarak nadir de olsa su ve nitroz oksit de kullanılmaktadır.

Bu teknik iki basamaktan meydana gelir. İlkinde süperkritik sıvıda çözümlendirme yapılır ve istenilen yapılar matriksten ekstrakte edilir. İkinci basamakta ise çözünen bileşenler metanol gibi bir çözen içerisine veya bir inert katı yüzeyinde tutulur. Katı yüzeyinde tutmanın avantajı, daha az çözen kullanılarak analitin alınabilmesidir.

Bileşenlerin ekstraksiyonu için örnekler toz haline getirilerek bir örnek kartuşuna yerleştirilir ve modifiye edici bir madde eklenir. Bu madde etanol, metanol, sulu metanol veya etil asetat olabilir. Ekstraksiyon sıcaklığı fazla yüksek olmamalıdır. Çünkü yüksek sıcaklıklarda bazı yapılar kararsızlaşır ve kolayca okside olabilirler. Ekstraksiyon sonunda örnek kartuşu içinden süperkritik CO₂ geçirilir. Bu teknikte, 1 g örnek için yaklaşık 20-25 mL çözen kullanılır ve ekstraksiyon en az üç kez daha tekrarlanır. Bu tekniği etkileyen parametreler ise süperkritik sıvının doğası, sıcaklık, basınç, ekstraksiyon süresi, ekstraksiyon hücresinin şekli, örneğin partikül büyüklüğü ve örneği toplamak için kullanılan substratın tipidir [63].

Şekil 2. 5’de süperkritik sıvı ekstraksiyonunun şematik gösterimi verilmiştir.



Şekil 2. 5 Süper kritik sıvı ekstraksiyonu

Mikrodalga destekli sıvı ekstraksiyonu

Bu teknik, mikrodalga ve klasik metotların kombine edildiği modern bir tekniktir. Avantajları; daha kısa zamanda daha az çözügen ile daha iyi ekstraksiyon verimi sağlamasıdır. Özellikle çay yapraklarındaki ve üzüm çekirdeklerindeki polifenolik yapıların ekstraksiyonunda çok iyi verim sağlamaktadır.

Bu teknikte tamamen toz haline getirilmiş 0.50-10.0 g aralığındaki örnek ve 20-30 mL arasındaki miktarlarda çözügen kullanılır. Örnek üzerine mikrodalga ışınları aralıklı olarak 4-12 dakika boyunca gönderilir. Işınlama sırasında sıcaklık artışı olacağından 45 saniye ışınlamadan sonra soğutulur ve ekstraksiyondan önce 90 dakika oda sıcaklığında bekletilir. Yüksek dielektrik sabitine sahip çözügenler daha fazla mikrodalga enerjisi absorblayabildiklerinden çözügenlerin polariteleri çok önemlidir. Polar çözügenlerin apolar çözügenlere göre daha iyi oldukları düşünülmesine karşın “**Broken Cell-Wall**” teorisi, mikrodalga enerjisini geçiren çözügenlerin absorblayanlara göre daha iyi verim sağladıklarını savunmaktadır. Mikrodalga enerjisini geçiren çözügenler kullanıldığında enerjinin tümü bitki materyali tarafından absorblanmakta, hücre içindeki su bu enerjiyi absorbladığında hücre ısınmakta ve hücre duvarının bu ısıyla çatlaması sonucunda hücre materyali çözügene karışmaktadır. Genelde bu teknik,

gıdalardaki kirliliklerin kontrolü amacıyla kullanılmasına karşın son yıllarda gıda analizleri için örnek hazırlanması amacıyla da kullanılmaya başlanmıştır [64].

Sonikasyon

Bu teknikte örnek ile çözügen ultrasonik banyo içerisinde etkileştirilir. Gönderilen ultrasonik radyasyonun etkisiyle çözügen molekülleri örnek içine difüze olur. Bu tekniğin veriminin artırılması için ek olarak ısıtma yapılabilir. Sıcaklığın etkisiyle çözügen moleküllerinin difüzyon hızı artar ve ekstraksiyonun hızı ve verimi artar. Bu yöntem hızlı ve güvenilirdir. En iyi sonuçlar granüler örneklerde sağlanmakta olup çoklu örnekler eş zamanlı olarak çözügenle etkileştirilerek ekstraksiyon işlemi yürütülebilmektedir [65].

2. 5. 3. 2. Sorbent ekstraksiyon teknikleri

Bir çözültiden analitlerin ekstraksiyonu için analiti alıkoyan katı bir adsorban kullanılıyorsa bu teknik sorbent ekstraksiyonu adını alır. En önemli uygulaması ise katı-faz ekstraksiyonu (SPE)'dur.

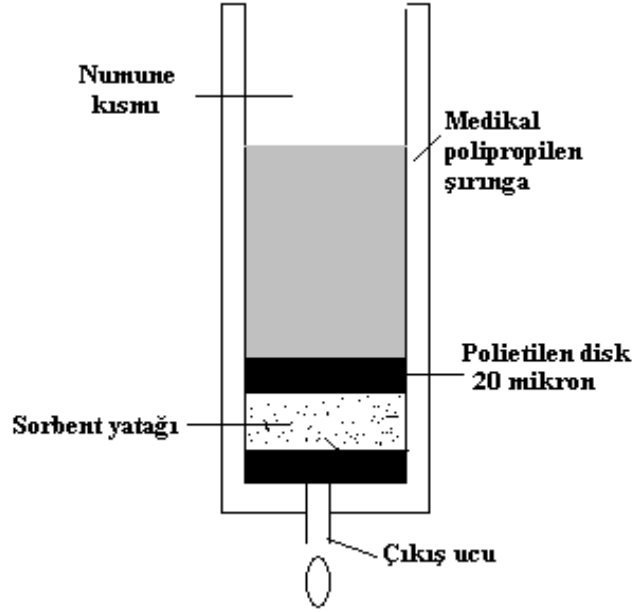
Katı faz ekstraksiyonu

Bu teknik günümüzde klasik sıvı-sıvı ekstraksiyon tekniklerinin yerini almaya başlamıştır. Bu teknikte örnek çözültisi aktif sorbent yatağından geçirilerek analitler katı yüzeyine adsorblanırken diğer türler adsorbe olmadan geçerler. Sorbent olarak alümina, magnezyum silikat veya grafit karbon kullanılmaktadır. Ancak en fazla tercih edilen adsorban madde ise silikadır. Son yıllarda polimer esaslı sorbent yatakları da (polistiren / divinil benzen) kullanılmaya başlanmıştır [66].

Bu teknikte ilk sorbent şartlandırmasından sonra, sıvı haldeki örnek çözültisi sorbent yatağından geçirilir. İkinci basamakta ya analitin sorbent üzerinde alıkonmasına yada alıkonmadan kolondan geçmesine bağlı olarak örnek çözügen şartları seçilir. Üçüncü basamakta ise analit alıkonurken interferanslar kolondan elüe edilir. Daha sonra güçlü bir elüsyon çözügeni ile kolonda alıkonan analit elüe edildikten sonra toplanır. Güçlü çözügen olarak organik bir çözügen veya derişik bir tampon kullanılabilir. Şekil 2. 6'da tipik bir katı faz ekstraksiyon yatağının yapısı görülmektedir. Buharlaştırma işlemi

yapıldıktan sonra örnek ölçüme hazır hale getirilmiş olur [67]. Bu tekniğin özelliklerini şöyle sıralayabiliriz.

- Seçicidir.
- İnterferanslar daha iyi bertaraf edilir.
- Daha düşük örnek hacmi ile çalışılabilir.



Şekil 2. 6 Tipik bir katı faz ekstraksiyon yatağının yapısı

2. 5. 3. 3. Membran esaslı ayırma teknikleri

Membranların seçici doğası, özellikle kromatografik teknikler söz konusu olduğunda çözgen ekstraksiyonuna iyi bir alternatif olmaktadır [68]. Moleküllerin bağlı büyüklükleri genellikle bir membranın seçiciliğini belirler.

Membranlar genellikle fiber, alümina gibi sentetik polimerik maddelerden yapılmışlardır. Bir membran maddesi seçilirken analit çözeltisi ile uyumlu olma ve sıvıyı kabul edebilme özellikleri dikkate alınmalıdır. Diyaliz ve membran ekstraksiyonu bu tekniğe en iyi iki örnektir.

Diyaliz

Bu teknik ile yüksek molekül kütleli bileşenlerin düşük molekül boyutuna sahip analitlerden ayrılmasında kullanılan bir membran ayırma tekniğidir. Bu teknikteki en önemli parametre analitin boyutudur. Ayırma işlemi, örnek çözelti (donör) ile akseptör çözeltinin arasında iki bloktan oluşan bir hücrede gerçekleşir. Uygun boyuttaki tüm moleküller membran vasıtasıyla akseptör çözeltiye geçerler [69].

Membran ekstraksiyonu

Bu da yine bir membran ayırma tekniğidir. Yüksüz haldeki istenilen analitlerin alınabilmesi ve membrandan kolayca geçebilmeleri için örnek pH'sı ayarlanmalıdır. Akseptör çözelti, analitlerin membrandan kolay geçmeleri ve donör içerisine tekrar geri ekstrakte olmamalarını sağlayacak bir pH değerine sahip olmalıdır.

Membran esaslı tüm ayırma metotlarında daha az çözgen kullanımı, daha az kirlilik oluşumu, ucuz olması ve pratik olması gibi avantajlar söz konusudur [70].

2. 6. Element Analizi Metotları

Eser element tayininde en yaygın olarak kullanılan metot, atomik absorpsiyon spektroskopisi (AAS)'dir. Bunun dışında kullanılan diğer analiz teknikleri ise indüktif eşleşmiş plazma atomik emisyon spektroskopisi (ICP-AES), indüktif eşleşmiş plazma kütle spektrometrisi (ICP-MS), atomik floresans spektroskopisi (AFS), XRF spektrometrisi ve nötron aktivasyon analizi'dir.

2. 6. 1. Atomik absorpsiyon spektroskopisi (AAS)

AAS atomlaştırıcının ürettiği temel halde ve gaz fazındaki atomların ışınımı soğurmaları ilkesine dayanır. Tayini yapılacak analit için gerekli gözlemlenebilir sınırları genellikle $\mu\text{g/kg}$ (ppb) veya mg/kg (ppm) düzeyinde ise grafit fırın kullanılmalıdır. Kurutma, kül etme ve atomlaştırma biçiminde gelişen ve diğerlerinden tümüyle farklı bir sistemin uygulandığı yöntemle; alev gazlarının ve oluşan analit atom bulutlarının en az 1000 kez daha az seyreltiği veya diğer bir deyişle oluşan analit atom sayısı yoğunluğunun 1000 kez fazla olduğu elektrotermal atomlaştırma ortamına bağlı

olarak pikogram (pg) düzeyinde gözlemlenebilme sınırlarına ulaşmak mümkündür. Gözlenebilme sınırlarının ppm düzeyinde olduğu örneklerde alev ile çalışılmaktadır. Kullanılan en yaygın alev, hava-asetilen alevidir ancak, zor atomlaştırılan Si, Al, Sc, Ti, V, Zr gibi elementler için daha düşük gözlemlenebilme sınırlarına da ulaşılabilen azotprotoksit - asetilen ($N_2O-C_2H_2$) alevi tercih edilmelidir [71, 72].

2. 6. 1. 1. Atomlaştırma teknikleri

Alevli atomlaştırma

Atomlaştırma görevi yapan alevin içerisine numune çözeltisi bir yanıcı - yükseltgen gaz karışımı yardımıyla taşınır ve püskürtülür. Püskürtme sonucunda numunedeki çözücü buharlaşarak uzaklaşır ve moleküler bir aerosol oluşur. Bu aerosol moleküllerinin çoğu ayrılarak atomik bir gaz meydana gelir. Bu şekilde oluşan atomların çoğu iyonlaşarak katyon ve anyonları oluştururlar. Çizelge 2.7’de alev spektroskopide kullanılan yanıcı ve yükseltgen gazlar ile bu gaz karışımları ile ulaşılabilen en yüksek sıcaklıklar verilmiştir.

Çizelge 2. 7 Alev atomlaştırmada kullanılan gaz karışımları ve alev sıcaklıkları

Yanıcı Gaz	Yükseltgen Gaz	Sıcaklık (°C)
Doğal Gaz	Hava	1700-1900
Doğal Gaz	Oksijen	2700-2800
Hidrojen	Hava	2000-2100
Hidrojen	Oksijen	2550-2700
Asetilen	Hava	2100-2400
Asetilen	Oksijen	3050-3150
Asetilen	Nitröz Oksit	2600-2800

Atomik absorpsiyon tekniğinde kullanılan alev atomlaştırıcıları şu prensibe göre çalışmaktadır. Yükseltgen gaz akışı ile oluşan aerosol, yanıcı gaz ile karışır ve çok küçük olmayan sıvı damlalarını bertaraf etmek için bir yüzeye çarptırılır. Bu çarpma sonucunda büyük damlalar karışma odasının dibinde toplanır ve buradan atık kabına

gönderilir. Aerosol ise genellikle 5-10 cm uzunluğunda alev oluşturan bir yarıklı bek içinde yakılır. Alev atomlaştırma tekniğinin performans özelliklerini şöyle sıralayabiliriz.

- Tekrarlanabilirlik yönünden şimdiye kadar atomik absorpsiyon ve floresans spektrometride sıvı numune girişi için geliştirilen diğer yöntemlere göre daha üstün görünür.
- Numune verme verimi ve dolayısı ile duyarlık yönünden diğer atomlaştırma yöntemleri belirgin olarak alev atomlaştırmadan daha iyidir. Bu ise iki sebebe dayandırılır. Birincisi, numunenin büyük bir kısmının atığa geçmesi ve ikincisi, alev içindeki optik yolda tek tek atomların kalma süresinin 10^{-4} s kadar kısa olmasıdır.

Elektrotermal atomlaştırma

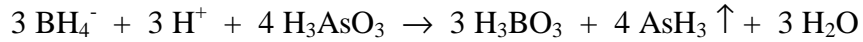
Elektrotermal atomlaştırıcılar, genel olarak kısa sürede tüm numunenin atomlaştırılması ve atomların optik yolda kalma sürelerinin bir saniye veya daha fazla olması nedeniyle duyarlılıkta artış sağlamaktadır [73]. Bu atomlaştırma tekniğinin genellikle atomik absorpsiyon ve atomik floresans ölçümleri için kullanılmasına karşın son yıllarda indüktif eşleşmiş plazma emisyon spektrometride de kullanılmaya başlanmıştır. Atomlaştırma işlemi şu şekilde yürütülmektedir. Elektriksel olarak ısıtılmış grafit bir tüp içerisinde önce numunenin birkaç mikrolitresi kurutulur ve yakılır. Ardından yaklaşık 2000-3000°C sıcaklık oluşturabilen akım, hızlı bir şekilde birkaç yüz ampere yükseltilir. Numunenin atomlaşması ise birkaç milisaniyeden saniyelere kadar değişen periyotlarda meydana gelir. Atomlaşan taneciklerin absorpsiyon ve floresansları, ısıtılmış yüzeyin hemen üzerindeki yüzeyden ölçülür. Elektrotermal atomlaştırma tekniğinin performans özelliklerini şöyle sıralamak mümkündür.

- Küçük numune hacimlerinde yüksek duyarlığa sahiptir. Genellikle 0.5-10 μ l'lik numune hacimleri kullanılmaktadır.
- Düşük analitik aralığa sahip olup üst sınır alt sınırın yüz katından daha azdır.

- Alevsiz yöntemlerin bağıl kesinliği % 5-10 aralığında olup alev ve plazma atomlaştırma tekniğinden beklenen % 1 veya daha iyi kesinlikten daha kötüdür.
- Yavaştır ve element başına tipik olarak birkaç dakika gereklidir.

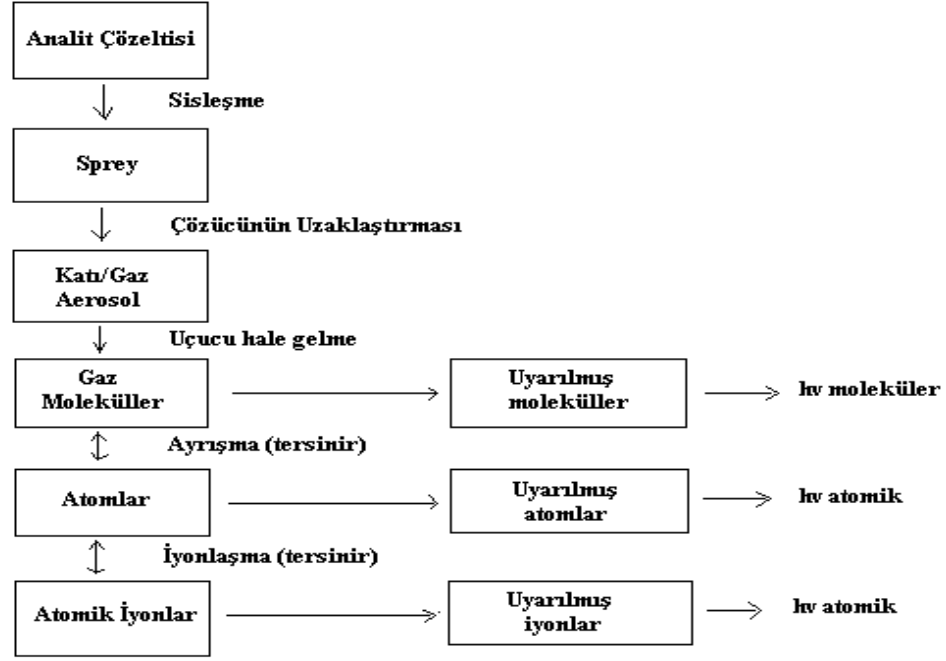
Hidrür atomlaştırma

Arsenik, antimon, kalay, kurşun, bizmut, selenyum, germanyum, tellür gibi elementlerin atomlaştırıcıya gaz halinde verilmesi için kullanılan atomlaştırma tekniğidir [74]. Bu işlem ile bu elementlerin gözlenebilme sınırı 10-100 kat azaltılabilmektedir. Uçucu hidrürlerin hızlı oluşumu, genel olarak bir cam kapta bulunan % 1'lik sodyum borhidrür'ün küçük bir hacmi içerisine numunenin asitlendirilmiş sulu çözeltisinin eklenmesi ile sağlanır. Bu oluşum şu reaksiyon denklemi ile gösterilebilir.



Oluşan uçucu hidrür, inert bir gaz ile atomlaştırma odasına sürüklenir. Bu oda, silisyumdan yapılmış olan bir borudur. Bu boru, yine boru şeklindeki bir fırın yardımıyla birkaç yüz dereceye ısıtılır. Bu sıcaklıkta hidrür bozunur ve nötral analit atomları oluşur. Oluşan bu atomların derişimi ise absorpsiyon veya emisyonlarının ölçülmesi ile bulunur. Oluşan sinyal, elektrotermal atomlaştırmada olduğu gibi bir piktir.

Hidrür oluşturma tekniğinin başlıca iki avantajı vardır. Analit matriksten uzaklaştırılmaktadır ki bu, girişim etkisini en aza indirir. İkinci olarak birkaç saniye içinde 1-50 mL arasındaki örneğin tamamının atomlaştırıcıya ulaşması ile atom sayısı yoğunluğu normal alev atomlaştırma tekniğine oranla fazla olmaktadır [75]. Atomik absorpsiyon spektrometrisindeki atomlaştırma süreçlerini şekil 2.7'de görmek mümkündür.



Şekil 2.7 AAS’de atomlaştırma süreçleri

2. 6. 1. 2. Işın kaynakları

Atomik absorpsiyonu esas alan analitik yöntemler, elektronik geçiş enerjilerinin her elemente özgü olması ve atomik absorpsiyon çizgilerinin önemli derecede dar olmasından dolayı (0.002–0.005 nm) oldukça spesifikdir. Bu nedenle sürekli bir ışın kaynağı kullanılarak absorpsiyon hattını ayırmak yerine emisyon hattı veren spektral kaynaklar kullanılmaktadır. Bu ışın kaynakları ise oyuk katot lambalar ve elektrotsuz boşalım lambalarıdır [76].

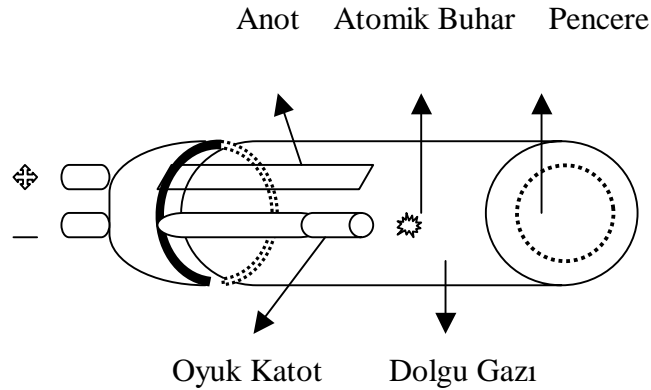
Oyuk katot lambalar

Atomik absorpsiyon ölçümlerinde en yaygın olarak kullanılan ışın kaynaklarıdır. Bu lambalar, 1-5 torr basınçta argon veya neon gazı ile doldurulmuş bir cam tüp içinde bir tarafı kapalı silindirik katot ve bir tungsten anottan oluşmaktadır. Katot, spektrumu istenen metalden veya bu metalin bir tabakasını destekleyen başka bir metalden imal edilmektedir. Anot ile katot arasında 300 V civarında bir potansiyel uygulandığında inert gaz atomları iyonlaşır. İyonlar ve elektronlar elektrotlara geçerken 5-15 mA’lik bir

akım oluşur. Eğer potansiyel farkı yeterli ise yüksek hızla katota çarpan katyonlar katot yüzeyindeki atomlardan bazılarını kopararak gaz fazına geçirir. Uyarılmış haldeki metal atomları temel hale dönerken ışımaya yaparlar ve metal atomları tekrar katot yüzeyine difüzyonlanır veya tüpün cam duvarlarında birikirler [77].

Oyuk katot lambasının yaydığı ışının şiddeti belli bir aşamaya kadar artan akımla artar. Akım çok büyük ise doppler genişlemesi ve self-absorpsiyon, hattın orta kısmının genişlemesine neden olur. Hat şiddeti ölçülen absorpsiyon etkilemese de, hat genişlemesi etkileyecektir. Dolayısıyla hat genişlemesini önleyecek ve iyi bir lamba kararlılığı verebilecek optimum bir çalışma akımı seçilmelidir. Yüksek potansiyelde gaz halinde çok metal atomu oluşur. Bunlar da uyarılmamış halde olduğundan ışını absorplayarak ışının şiddetini düşürürler.

Oyuk katot lambasının silindirik yapısı, ışının metal tüpün sınırlı bir bölgesinde yoğunlaşmasını sağlar. Bu tasarım atomların cam duvardan çok katot yüzeyde toplanmasını kolaylaştırır. Şekil 2.8’de tipik bir oyuk katot lambasının şekli görülmektedir.



Şekil 2. 8 Oyuk katot lambası

Elektrotsuz boşalım lambaları

Oyuk katot lambalardan 10-100 kat daha fazla ışın şiddetine sahiptirler. İlgilenilen metalin yada tuzun küçük bir miktarı ve birkaç torr basınçta argon gibi inert bir gaz içeren kapalı kuvarz bir tüpten yapılan bu lambalarda elektrot bulunmaz. Elektrot yerine şiddetli bir radyo frekansı veya mikrodalga ışınların sağladığı alan yardımıyla atomlar uyarılır. Önce argon atomları iyonlaşır ve oluşan iyonlar uygulanan alanın yüksek frekans bileşeni ile hızlandırılır. Hızlanan bu iyonlar, spektrumu istenen

atomlara çarpar ve bu atomları uyarırlar. Elektrotsuz boşalım lambalarının performansı oyuk katot lambalar kadar iyi değildir [79].

Çok elementli lamba

Atomik absorpsiyon analizlerinde her element için ayrı bir lamba kullanma gereği, çok elementli katotların yapılması düşüncesine yol açmıştır. Çok elementli lambalarda bütün elementler kullanışlı bir şekilde birleştirilemezler. Bazı bileşimler metalurjik açıdan mümkün değildir, bazı bileşimlerde ise spektral girişimler ortaya çıkar. Çok elementli lambalarda diğer bir sorunsu üç yada daha fazla element bir lambada birleştirildiğinde, her bir elementin emisyon şiddetinin tek elementli lambaya göre zayıflamasıdır. Bunun sonucunda sinyal-gürültü oranının azalması ile kesinlik ve gözlenebilme sınırı etkilenebilir [77].

Yüksek ışımalı lambalar

Self-absorpsiyonu ortadan kaldırmak ve emisyon şiddetini artırmak için Sullivan ve Walsh tarafından geliştirilen yüksek ışımalı bu lambalarda standart oyuk katot yanında bir çift de yardımcı elektrot vardır. Yardımcı elektrotlardan ikinci bir akım geçirilerek oluşturulan atom bulutunda ilk boşalımda uyarılmayan atomlar da uyarılır. Böylece ışık şiddetinde 50-100 kat artış görülür.

Yüksek ışımalı lambalar önce büyük ilgi görmüş olsalar a sonraları yapısının karmaşıklığı, ikinci bir güç kaynağı gerektirmesi ve emisyonun kararlı hale gelmesi için uzun süre beklemesi nedeniyle, bazı araştırmalar dışında kullanılmamaktadır [78].

Buhar boşalım lambaları

Buhar boşalım lambaları, incelenen elementi içeren bir buhardan elektrik akımı geçirilmesiyle emisyon yaparlar. Civa, talyum, çinko gibi çok uçucu metaller ve alkali metalleri buhar boşalım lambaları kullanılarak tayin edilmekteydi. Oyuk katot lambalarının geliştirilmesiyle bu lambalar atomik absorpsiyonu analizlerinde önemini kaybetmiştir [78].

2. 6. 1. 3. Atomik absorpsiyon spektroskopide görülen girişimler

Genel olarak analizi bozan yani analiz sonucuna doğrudan etki eden her türlü etkiye **girişim** adı verilmektedir. Çözeltinin fiziksel özelliği ve atomlaşma sırasında ortamın fiziksel ve kimyasal özelliklerinin analizi yapılacak elementin soğurma sinyalini pozitif veya negatif yönde etkilemesi girişim olarak değerlendirilir [80]. Girişimleri spektral ve kimyasal girişim olmak üzere iki ana başlık altında inceleyebiliriz.

Spektral girişim

Girişim yapan türlerin absorpsiyon veya emisyon çizgileri, analitin esas çizgisiyle çakışırsa yada bu çizgiler monokromotör tarafından ayırlamayacak kadar birbirine yakınsa spektral girişimler ortaya çıkmaktadır. Bu tür girişimlerin meydana gelebilmesi için iki çizgi arasındaki mesafenin 0.1 \AA 'dan daha az olması gerekir.

Spektral girişimlerin başka nedenleri de vardır. Bunlar ise ışınların saçılmasına neden olan katı tanecikli ürünler veya geniş bant absorpsiyonu oluşturan yanma ürünleridir. Bu girişimler, gelen ışının gücünü azaltarak pozitif hataya neden olmaktadır. Bunun dışında numune matriksinin absorpsiyon ve saçılmaya neden olduğu durumlar da vardır. Bu durumda matriks atomları geçen ışının gücünü (P) azaltır ancak gelen ışının gücü (P_0) azalmaz. Sonuçta absorbansta dolayısıyla derişimde pozitif hata meydana gelir. Bu sorunu giderebilmek için sürekli spektrum veren hidrojen ve döteryum lambaları kullanılmaktadır [81].

Kimyasal girişim

Kimyasal girişimler, absorpsiyon karakterini değiştiren ve atomlaştırma sırasında oluşan çeşitli kimyasal işlemlerden kaynaklanmaktadır. Spektral girişimlerden daha yaygındır. En fazla görülen kimyasal girişim, analit ile uçuculuğu düşük bileşik oluşturan ve böylece atomlaşmayı geciktiren anyonların yapmış oldukları girişimdir. Bu girişimin sonucunda ise olması gerekenden daha düşük sonuçlar elde edilir. Katyon girişimi de meydana gelebilmektedir. Örneğin; alüminyum metalinin ısıya dayanıklı Al/Mg bileşimini oluşturarak Mg tayinini güçleştirmesi gibi.

Bu tür girişimler çoğu zaman yüksek sıcaklıklarda giderilebilir veya azaltılabilir. Bunun dışında, girişim yapan türle reaksiyon veren ya da analitle bu türün etkileşmesini engelleyen bir katyon olan serbestleştirici reaktifler kullanılarak bu girişimler en aza indirilebilir.

Uçuculuğu düşük bileşiklerin oluşması dışında girişim olarak kabul edilen diğer etkenler ise ortamdaki serbest atomların diğer atom veya radikallerle tepkimeye girerek farklı formdaki bileşikleri oluşturmalarıdır. Bunun sonucunda hidroksitler, oksitler, karbürler veya nitrürler oluşabilmekte ve bu da 30 kadar metalik elementin hava-asetilen alevinde tayinini imkansız hale getirmektedir [82].

2. 6. 2. İndüktif eşleşmiş plazma atomik emisyon spektrometrisi (ICP-AES)

Bir güç kaynağı sayesinde oluşturulan plazma içerisine püskürtülen çözeltinin iyonlaştırılarak oluşan iyonların emisyonunun ölçümüne dayalı olarak yapılan kantitatif ve kalitatif analiz tekniğidir. Bu teknik sayesinde 2 dakikadan daha az sürede eş zamanlı olarak fosfor ve azot elementleri de dahil olmak üzere 70'in üzerinde elementin tayini ppb düzeyinde yapılabilmektedir. Eş zamanlı ölçüm yapan bir cihaz için bir örneğin verilmesi, sistemin hazır duruma gelmesi, verilerin alınması ve yıkama işlemi yaklaşık olarak 2 dakika almaktadır. Ardışık olarak ölçüm yapan cihazlar için ise bu süre biraz daha uzundur. ICP-AES tekniği, geniş ölçüm aralığı, düşük tayin sınırı, yüksek doğruluk ve tekrarlanabilirliği nedeniyle multielement analizlerinde çok yaygın biçimde kullanılır. Cihazın ısınması ve kalibrasyonu için yaklaşık olarak 30-60 dakika gereklidir. Katı veya sıvı örnekler, örnek hazırlama işlemlerinden sonra, cihaza verilmeye uygun hale getirilir. Cihazın örnek giriş sistemi, verilen sıvı çözeltiyi aerosole dönüştürür. Aerosol plazmaya taşındıktan sonra önce katı partiküllere sonra da gaz haline geçer. Yaklaşık 6000-8000 K plazma sıcaklığında örnekten gelmiş olan atom ve iyonlar uyarılmış halde bulunur. Bu atom ve iyonlara ait karakteristik radyasyon, cihazın optik sistemi tarafından intensite olarak ölçülür. Analizlenen örneğin intensitesi ve bilinen derişimlerdeki standartların intensite değerleri karşılaştırılarak, elementlerin kantitatif tayini yapılır. ICP-AES tekniğinin uygulamaları ise aşağıda verilmiştir [83].

- Su, hava, toprak ve katı atıklarda kirletici metallerin tayini
- Yağlayıcılarda kullanılan metallerin tayini

- Katalizör zehirleyici elementlerin tayini
- Bilinmeyen maddelerin elementel bileşimlerinin tayini
- Hammaddelerin, üretim sırasındaki ara ürünlerin ve üretim sonundaki son ürünlerin element içeriklerini belirlenmesi

2. 6. 2. 1. ICP-AES tekniğinde örneğin analize verilmesi

Bu teknikte sıvı ve gaz örnekler direkt olarak cihaza verilirken katı örnekler ise uygun ekstraksiyon veya çözünürleştirme teknikleri uygulandıktan sonra çözelti halinde cihaza verilebilmektedir. Genellikle örnekler bir gece önceden çözünürleştirilmeli ve seyreltme işlemi ise cihazın ısınması beklenirken yapılmalıdır. Bu teknikte kullanılan numune verme teknikleri ise sisleştirme, hidrür oluşturma, elektrotermal buharlaştırma olarak başlıca üç tanedir [84].

Sisleştirme

En yaygın olarak kullanılan numune verme tekniğidir. Burada numune bir argon gazı akışıyla çapraz akışlı bir sisleştirici içinde sisleştirilir ve oluşan çok küçük damlacıklar plazmaya taşınır [85].

Hidrür oluşturma

Atomik absorpsiyon spektroskopisinde de anlatıldığı gibi bu numune verme tekniği arsenik, bizmut, germanyum, selenyum, antimon, kalay, tellür ve kurşun gibi elementler için kullanılmaktadır. Bu tekniğin avantajlarını sıralayacak olursak;

- Analitin mümkün olabilecek matriks interferantlarından fiziksel olarak ayrılabilmesi
- İnorganik ve organik türlendirmeye uygun olması
- Sisleştirme işleminden daha yüksek etkinliğe sahip olması
- Akış-enjeksiyon teknikleri ile kullanıldığında otomasyonun daha kolay olmasıdır.

Dezavantajları ise şunlardır.

- Reaksiyonların yavaş olması
- Etkinliği düşüren kirleticilerden kaynaklanan interferantlar
- Reaktif derişimi ve pH gibi kritik deneysel şartların kontrolü
- İlgilenilen analitin oksidasyon durumu gibi ekstra etkili faktörler

Elektrotermal buharlaştırma

Tıpkı hidrür oluşturmada olduğu gibi sisleştirmede karşılaşılan bazı sorunları gidermek amacıyla geliştirilmiştir. Burada numune elektrotermal atomlaşma için bir fırında buharlaştırılır. Kullanılan bu fırın, atomlaştırmadan çok numune girişi için kullanılmaktadır. Bunun dışında örneği cihaza göndermek amacıyla karbon çubuklar, karbon kaplar, grafit tüpler ve tungsten kablolar gibi elektrotermal aletler kullanılmaktadır [86]. Oluşan buhar, plazmaya bir argon akışıyla taşınır. Gözlenen sinyal, elektrotermal atomik absorpsiyonda elde edilen piklere benzer geçişli bir piktir. Bu yöntem ile çok az miktardaki örnekle düşük gözlenebilme sınırlarına ulaşılabilir, girişimler önlenir. Bunların dışında lazer ablasyon, direkt olarak numune verme ve termosprey gibi tekniklerle de örnek verme işlemi yapılabilmektedir [87-90].

2. 6. 2. 2. İndüktif eşleşmiş plazma kaynağı

Genel olarak ICP'de kullanılan tipik bir plazma, bir aleve benzer kuyruğu olan çok yoğun, parlak beyaz ve geçirgen olmayan bir merkeze sahiptir. Bu merkez, argonun atomik spektrumunu bastıran sürekli bir spektrum oluşturur. Sürekli ışımamın azaldığı merkezin üzerindeki 10-30 mm'lik plazma optik olarak geçirgendir. Spektral gözlemler genel olarak, indüksiyon bobininin üzerinde 15-20 mm'lik bir yükseklikte yapılır. Plazmanın bu bölgesinde duyarlı analit çizgilerinin birçoğu Ca^+ , Ca^{2+} , Cd^+ , Cr^{2+} ve Mn^{2+} gibi iyonlardan ileri gelmektedir [91].

2. 6. 2. 3. Analitin atomlaşması ve iyonlaşması

Numune atomları sıcaklığın 4000-8000 K olduğu gözlenen noktaya ulaştıklarında burada 2 ms kadar kalırlar. Bu sıcaklık, alev atomlaştırma tekniklerinde sağlanan en yüksek sıcaklıktan 2-3 kat daha fazla olduğundan iyi bir atomlaşma

meydana gelir ve daha az kimyasal girişim meydana gelir. Argonun iyonlaşmasından meydana gelen elektron derişiminin numunenin iyonlaşmasından meydana gelen elektron yoğunluğundan çok büyük olmasından dolayı iyonlaşma girişimi neredeyse hiç görülmez. Plazma kaynaklarının üstünlüklerini şöyle sıralayabiliriz.

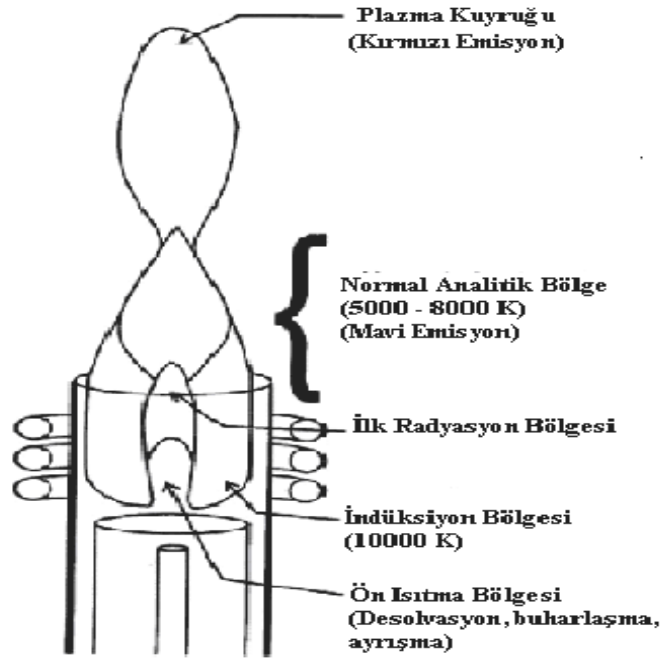
Atomlaşmada, oksit oluşumunu önleyerek, analitin ömrünü artıran inert bir ortam oluşturması ve ark, kıvılcım ve alevli kaynakların aksine, plazma sıcaklığının nispeten her bölgede aynı olmasıdır. Bunun sonucunda self-absorbsiyon ve self-dönüşüm etkileri ile karşılaşılmayacağı için doğrusal kalibrasyon eğrileri elde edilebilmektedir.

2. 6. 2. 4. Hamlaç (Torch) konfigürasyonları

Dikey görünüm: ICP-AES için standart bir operasyon modu olup plazma dikey konumdadır. Analitik bölge, plazmanın kenarında gözlenir. Bu konfigürasyon, normal analitik bölgedeki gözlem seviyesini (hacmini) sınırlamakta ve böylece potansiyel, spektral ve zemin interferansların etkilerini sınırlamaktadır.

Yatay görünüm: Bu konfigürasyonda plazma yatay durumda olup normal analitik bölge plazmanın sonundadır. Bu görünüm dikey konfigürasyona göre daha iyi duyarlılık ve 5-10 kat daha düşük gözlenebilme sınırı sağlamaktadır [92]. Dezavantajı ise spektral ve matriks kaynaklı interferanslarda artış meydana gelebilmesidir. Ancak bu etkiler, azaltıcı gaz (shear gas) kullanılarak indirgenebilmektedir [93].

Çift yönlü görünüm: Çok karmaşık örnek matrikslerinin söz konusu olması halinde geniş bir element aralığı muhtemeldir. Bu durumda yatay konfigürasyon uygun olmayabilmektedir. Bunun için her iki konfigürasyon kombine edilmiş ve bu görünüm meydana getirilmiştir. Şekil 2. 9'da tipik bir ICP hamlacı görülmektedir.



Şekil 2. 9 Tipik Bir ICP Hamlacı [94]

2. 6. 2. 5. ICP-AES tekniğinin genel özellikleri

- 7000-8000 K sıcaklığa ulaşmanın mümkün olması ve yüksek elektron yoğunluğu sağlaması (10^{14} - 10^{16} cm⁻³)
- Birçok element için kabul edilebilir iyonlaşma derecesine ulaşılabilmesi
- Yüksek doğruluk ve kesinliğe sahip olması
- Birçok element için mükemmel tayin sınırlarının (0.1-100 ng/ml) sağlanması
- Refrakter (uçuculuğu düşük) elementlere uygulanabilir olması
- Eş zamanlı olarak P ve S elementleri de dahil olmak üzere 70'ten fazla elementin yaklaşık 2 dakikada tayininin yapılabilmesi

2. 6. 2. 6. ICP-AES tekniğinde görülen girişimler

Bu teknik, diğer spektroskopik tekniklere göre en az girişimin görüldüğü tekniktir. Alevin kimyasal reaktivitesiyle karşılaştırıldığında argon plazma daha inerttir. Plazmadaki yüksek sıcaklık nedeniyle kimyasal interferantların çoğu indirgenmektedir. Öte yandan düşük sıcaklıktaki alevde ise indirgenmeyen kimyasal interferantlar çeşitli

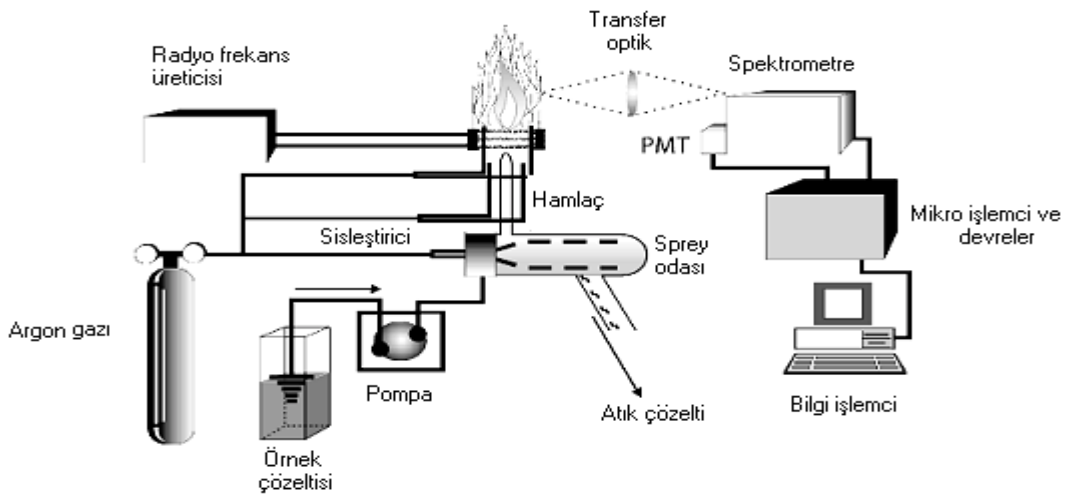
problemler meydana getirmektedirler. Örneğin; kalsiyumun alevde tayininde çok az miktardaki alüminyum bile girişim yapar. Ancak ICP-AES de ise Al derişimi 100 kat fazla bile olsa böyle bir girişim görülmemektedir.

ICP'de en fazla görülen girişim türü spektral girişimdir. Bu ise yüksek çözünürlüğe sahip spektrometrelerin kullanılmasıyla giderilebilmektedir. En iyi ticari cihazlarda bile spektral çakışmalar meydana gelebilmektedir. Bu durumda gelişmiş zemin düzeltme teknikleri kullanılabilir veya ilgilenilen elementler için farklı bir analitik dalga boyu seçilebilir [95].

2. 6. 2. 7. ICP-AES Tekniğinde Sınırlamalar

- Özel örnek verme teknikleri kullanılmadığından kolay buharlaşabilen organik çözümlerde ciddi kayıplar hatta yok olmalar meydana gelmektedir.
- Tayini yapılacak elementler, 160-190 nm aralığında bir veya daha fazla atomik yada iyonik emisyon çizgisine sahip olmalıdırlar.
- Büyük bileşenler, eser düzeydeki bileşenlerle çakışan çizgiler verebileceklerinden tayin sınırı kötü yönde etkilenebilmektedir.
- Örnekler ve standartların bileşimlerindeki farklılıklar, analitik cevabın yada plazma zemin emisyon yoğunluğunu değiştirebileceğinden bundan kaçınılmalıdır.

Şekil 2.10'da ICP-AES cihazının genel şematik gösterimi verilmiştir.



Şekil 2.10 ICP-AES cihazının çalışma şekli [96]

2. 6. 3. İndüktif eşleşmiş plazma kütle spektrometrisi (ICP-MS)

1980'lerin başından beri birçok element için düşük gözlenebilme sınırları, yüksek seçiciliği, iyi doğruluk ve kesinliği ile en önemli tekniklerden biri olarak kullanılmaktadır. İyonlaştırma sonucu açığa çıkan atomik emisyon yerine iyonları kütlelerine göre ayıran bir sistemdir. Bu teknikte çözeltiler için numune klasik veya ultrasonik bir sisleştirici ile verilir. Katılar için ise numune, doğrudan atomlaştırıcıya verilebilir, elektrotermal veya ark ve kıvılcım aşındırma tekniklerinden biri ile buharlaştırılarak atomlaştırıcıya verilebilir. İyonlaştırma sonrası açığa çıkan pozitif metal iyonları bir diferansiyel pompa ile bir kuadrapol kütle spektrometresine iletilir. Bu şekilde elde edilen spektrumlar, varolan tüm elementler için bir dizi izotop pikinden oluşur. Bu spektrumlar numunede bulunan elementlerin kalitatif ve kantitatif tayininde kullanılır. Miktar tayini, analit için iyon sayımının bir iç standart için iyon sayımına oranı ile derişim arasında çizilen bir kalibrasyon eğrisi yardımıyla yapılır. AAS ile tayinleri yapılan elementlerin hepsi ICP-MS cihazı ile tayin edilebilmekte ve ayrıca AAS ile tayin edilemeyen P, B, S, Zr gibi pek çok element de ICP-MS ile yüksek doğruluk ve tekrarlanabilirlik ile tayin edilebilmektedir. Bunun yanısıra radyoaktif elementlerin de "Isotope Dilution" yöntemi ile tayinleri mümkün olmaktadır.

ICP-MS'de bozucu madde derişimleri 500-1000 µg/ml'den daha büyük olduğunda matriks etkisi söz konusu olabilir. Bu etki genellikle analit sinyalini zayıflatır. Matriks etkisi daha seyreltik çözelti kullanılarak, numune verme işlemi değiştirilerek veya birbirini etkileyen türleri ayırarak en aza indirilebilir. Aynı zamanda uygun bir iç standart kullanımı ile bu etki büyük ölçüde giderilebilir [97].

2. 6. 4. Atomik floresans spektrometrisi (AFS)

Atomların uyarılması kesikli veya sürekli bir ışık kaynağından gelen ışımının absorblanması ile gerçekleşiyorsa uyarılmış enerji düzeyine çıkan atomların temel enerji düzeyine dönerlerken yaydıkları ışımının ölçülmesine dayanmaktadır [98]. Bu teknik, çok sayıda elementin kantitatif tayininde kullanılmasına karşın atomik emisyon ve atomik absorbsiyon tekniklerinin başarısını aşamaması nedeniyle yaygın hale gelememiştir. Lazer kaynağı kullanıldığında oldukça pahalı hale gelmektedir. Ancak

düşük tayin sınırı sağlaması ve interferanslara karşı düşük duyarlılığa sahip olması gibi avantajlara da sahiptir.

2. 6. 5. XR floresans spektrometrisi (XRF)

Elektromanyetik ışının floresansının ölçümüne dayanmaktadır. Atom numarası sodyumdan büyük olan bütün elementlerin kalitatif ve kantitatif tayini için kullanılan yaygın bir element tayin tekniğidir. Hem katı hem de sıvı örneklerle uygulanabilmektedir. Eş zamanlı olarak multielement tayini mümkün olup bazı interferanslara karşı duyarlılığı da oldukça düşüktür. Bunların yanında, tayin sınırlarının diğer element tayin tekniklerine göre yüksek olması, pahalı olması ve matriks etkisi gibi interferanslara karşı duyarlılığının yüksek olması gibi dezavantajlara da sahiptir [99].

2. 6. 6. Nötron aktivasyon analizi

Numune (genelde sıvı) içindeki bir veya birkaç element, uygun bir ışın veya tanecik (genellikle bir nükleer reaktörden çıkan termal nötronlar) ile uyarılır ve meydana gelen radyoaktivite ölçülür [100]. Işınlama süresi birkaç dakikadan birkaç saate kadar olabilmektedir. Işınlama sonunda numune ve standart madde bir süre soğumaya bırakılır. Bu süreç içinde girişim yapabilecek olan ürünlerin bozunması sağlanmış olur. Soğutmanın bir başka nedeni de maddenin sayımı sırasında meydana gelebilecek sağlık sorunlarını azaltmaktır. Bu teknik; yüksek duyarlılık, minimum miktarda numune, kalibrasyon kolaylığı gibi birçok avantaja sahiptir. Bu analiz tekniği ile 69 elementin tayini yapılabilmektedir.

2. 7. Bitkisel Örneklerdeki Polifenollerin Tayin Metotları

Bitkisel örneklerdeki polifenollerin toplam miktarının tayini yapılmak isteniyorsa spektrofotometrik bir teknik olan Folin-Ciocalteu yöntemi (UV-VIS analiz tekniği), her bir polifenolün ayrı ayrı tayini yapılmak isteniyorsa kromatografik yöntemlerden yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), ince tabaka kromatografisi (TLC), Gaz-sıvı kromatografisi (GLC) veya elektroforez teknikleri kullanılmaktadır.

2. 7. 1. Folin-Ciocalteu yöntemi (UV-VIS analiz tekniği)

Bu yöntem ile ekstrakttaki toplam polifenol içeriğini galik asit veya uygun diğer bir polifenol cinsinden (kateşin, tannik asit vb.) tayin etmek mümkündür.

Kullanılmakta olan FC reaktifi, fosfomolibdik ve fosfotungstik heteropoli asitlerden meydana gelen kompleks polimerik iyonların bir çözeltisidir. Bu reaktif polifenolik yapıları okside etme eğilimindedir. Bu oksidasyon sırasında indirgenen heteropoliasitler mavi renkli Mo-W kompleksini oluştururlar. Oluşan bu renk spektrofotometrik olarak 725 nm de ölçülerek toplam polifenol içeriği belirlenir [101].

2. 7. 2. Kromatografik Yöntemler

Kromatografi, bir karışımda bulunan bileşenlerin birbirinden ayrılmasını gerçekleştiren ve bu sayede kalitatif ve kantitatif analizlerinin yapıldığı yöntemlerin genel adıdır. Bu yöntemlerde çalışma düzeneği temel olarak iki bileşenden oluşur. Bu bileşenlere sabit faz ve hareketli faz adı verilir. Hareketli fazın içerisinde yer alan bileşenler, sabit faza ait dolgu maddesiyle etkileşimleri sebebiyle, bir miktar tutulurlar. Bu tutulma, örnekteki farklı bileşenler için farklı miktarlarda olur. Böylece bileşenler sabit fazın sonlarına doğru farklı hızlarda ilerledikleri için birbirinden ayrılmış şekilde sabit fazı farklı zamanlarda terk ederler. Bu şekilde sabit fazdan çıkan bileşenlerin derişimleri uygun bir biçimde ölçülür ve zamana veya mobil fazın kullanılan hacmine karşı y-ekseninde işaretlenerek “kromatogram” denilen grafikler elde edilir [102].

Örnekte bulunan polifenollerin ayrı ayrı tayini yapılmak isteniyorsa bu durumda kromatografik yöntemler tercih edilmektedir. Kromatografik teknikler içinde polifenollerin tayini için en yaygın olarak kullanılan teknik ise yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC)'dir.

2. 7. 2. 1. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC)

Bitkisel örneklerdeki polifenol ve vitaminlerin tayininde en fazla kullanılan teknik **yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC)**'dir. Bu tekniğin tercih edilmesinin başlıca nedenleri, duyarlılığı, kantitatif tayinlere kolaylıkla uyarlanabilir olması, uçucu olmayan veya sıcaklıkla kolayca bozunabilen bileşiklerin ayrılmasına uygunluğudur. HPLC'nin başlıca kullanım alanları aşağıda verilmiştir [103].

- Organik, inorganik ve biyolojik bileşenler, polimerler, kiral bileşenler, küçük iyonlar ve makromoleküllerin ayrılması
- Safsızlık tayini
- Buharlaşılabilen ve buharlaşmayan yapıların tayini
- Nötral, iyonik ve çift iyonik türlerin tayini
- Bileşen izolasyonu ve saflaştırılması

HPLC'nin yaygın uygulamaları ise;

- Fizyolojik örneklerdeki bazı aminoasit, nükleik asit ve protein miktarlarının tayini
- İlaç aktif maddelerinin, sentetik biyoürünlerin yada farmasötik ilaçlardaki bozunma ürünlerinin tayini
- Pestisit ve insektisit ve diğer çevresel örneklerin tayini
- Karışımlardaki bileşenlerin ayrılması
- Kalite kontrolü
- Bir karışımdaki polimerlerin moleküler ağırlık dağılımının belirlenmesidir.

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi tekniğinin düzgün bir şekilde uygulanabilmesi için çalışma koşulları ve parametreleri oldukça iyi ayarlanmalıdır. Kolon dolgu maddesi, kolon boyu ve iç çapı, kolon sıcaklığı ve hareketli fazın akış oranı gibi. Enjeksiyonun yapılabilmesi için örnekler mutlaka sıvı olmalıdır. Katı örnekler ise durgun ve hareketli faza uyumlu olan bir çözügenle çözüldükten sonra yada ekstraksiyon işlemi yapıldıktan sonra enjekte edilebilmektedir. Enjeksiyon hacmi ise analit için kullanılan dinamik dedektör aralığına ve duyarlılığına bağlı olarak 1-100 µL arasındadır. Bu teknikte analiz süresi genellikle 5 ile 120 dakika arasında değişmektedir.

Tipik bir HPLC cihazı sekiz üniteden meydana gelmektedir. Bunlar; çözügen tankı, örnek giriş ünitesi, pompa, kolon, dedektör atık toplama ünitesi, bağlantı tüpü ve bilgi işlemcidir. Sıvı kromatografisinde en önemli olan aparatlar şüphesiz kolonlar ve dedektörlerdir [104].

Kolonlar

Modern HPLC donanımının 4 temel yapı taşından birisi olan kolon, karmaşık örneklerde bileşenlerin birbirinden iyi çözünürlükle ayırımından sorumlu olan sabit fazdır. Kolon üretiminde yapı materyali olarak 316 paslanmaz çelik, teflon, cam veya PEEK en sık tercih edilenlerdir. Kolonun ayırım gücü ve performansı yapıldığı materyalden çok iç yüzeyine yapılan kaplamada kullanılan malzemenin kimyasal ve fiziksel özelliklerinden etkilenmektedir. Kullanılan bu tür kaplama malzemeleri çok çeşitli olup kullanılacak hareketli fazın ve uygulanacak HPLC metodunun özelliklerine ve analizi yapılacak örneğin bilinen kimyasal ve fiziksel özelliklerine göre seçilmelidir. Seçilecek kolonun HPLC uygulamasında kullanılacak akış hızı ve dolayısıyla oluşacak basınçta dayanıklı olmasına dikkat edilmelidir. Birçok analitik kolonun iç çapı 2-5 mm aralığında değişmektedir. Kolon iç çapı arttıkça akış hızı ve iç doldurma hacmi artmakta ama oluşacak piklerin çözünürlüğü ve dolayısıyla duyarlılık azalmaktadır. Kolonların boyları çok çeşitli olup genellikle 30-300 mm aralığında değişmektedir. Kolon uzunluğu arttıkça örnek bileşenlerinin ayırımı daha iyi olmakta fakat analiz süresi uzadığı için daha fazla mobil faz harcanmaktadır [105].

Dedektörler

HPLC donanımında 4 temel bileşenden birisi olan dedektörler, solutun veya hareketli fazın bazı özellikleri ile doğru orantılı olarak bir elektriksel sinyal üretirler. Dedektörleri “**genel dedektörler**” ve “**seçici dedektörler**” olmak üzere ikiye ayırmak mümkündür. Kullanılan dedektör hem solutun hemde hareketli fazın özelliklerini ölçüyorsa (refraktif indeks dedektörü gibi) buna genel dedektör, eğer sadece solutun özelliklerini ölçüyorsa (UV dedektörleri gibi) buna seçici dedektör denilmektedir. Seçici dedektörler, genel dedektörlerine göre yaklaşık 1000 kat daha duyarlıdır.

İyi bir HPLC dedektöründe aranan özellikler ise duyarlılık, güvenilirlik, kolay kullanım, düşük ölü hacim ve lineerliktir [106]. Dedektörler, örnek bileşenlerini tayin ederken ölçtükleri fiziksel özelliklere göre başlıca 6 çeşittir.

Ultraviyole-görünür bölge dedektörü

Absorbans ölçen dedektörler olup HPLC’de kullanılan dedektörlerin yaklaşık % 80’ini oluşturmaktadırlar. Lambert-Beer yasası geçerlidir. Spektrum taraması yapmak, farklı dalga boyunda çalışmak veya dalga boyunu zamana karşı programlamak mümkündür. Hareketli faz, UV/VIS fotometre ya da spektrofotometrenin bulunduğu küçük bir akış hücresinden geçirilir. Hücreden geçen solut, bir miktar UV ışını absorblar ve dedektör tarafından bu absorpsiyona bağlı olarak bir sinyal oluşturulur. Bu sinyal, solut derişimi ile orantılıdır. Bu dedektörler ile sadece alkenler, aromatik yapılar, C-O, C-N, C-S bağı içeren bileşenlerin tayin edilebilmektedir [107]. UV/VIS dedektörler içerisinde fotodiyot array dedektör son yıllarda yaygın olarak kullanılmaktadır. UV/VIS dedektörden farkı, her elementin ayrı bir dalga boyundaki absorbansını eş zamanlı olarak ölçebilmesidir. Bu sayede üç boyutlu kromatogramlar almak ve istenilen her pikin çok hızlı spektrum taramasını görebilmek ve farklı dalga boyunda absorbans yapan türleri aynı anda tayin etmek olasıdır. Ayrıca istenilen dalga boyu aralığında çalışabilmesi bu dedektörün sağladığı bir diğer önemli avantajdır. Kullanılan ışık kaynağı döteryum veya tungsten lambadır.

Fluoresans dedektörü

Organik maddelerin yaklaşık % 15’i fluoresans oluşturma yeteneğine sahiptir. Oluşan fluoresans ölçülmektedir. Kullanılan ışık kaynağı ksenon lamba olup duyarlılığı UV/VIS dedektöre göre yaklaşık 10^3 kat fazladır [108].

İletkenlik dedektörü

İletkenlik ölçülür. Daha çok anyon ve katyon analizlerinde ve iyon kromatografisinde kullanılır. Sıcaklık kontrolü çok önemlidir, bu sebeple kolon firmı içerisinde çalışmalıdır. Kullanılan mobil fazın iletkenliği ne kadar düşük olursa oluşan gürültü de o kadar düşük olmaktadır [109].

Refraktif indeks dedektörü

Kırılma indisi ölçülür. Sıcaklıktan etkilenir. Örnek bileşenlerinin bulunduğu ortamda yoğunluk artacağından gelen ışık kırılarak hücreyi terkeder. Işığın ölçülen kırılma oranından (kırılma indisi) kantitatif tayin yapılır.

Elektrokimyasal dedektör

Elektroaktif maddeler analizlenebilir. Yani bileşenler belirli potansiyel değerlerinde yükseltgenebilir veya indirgenebilir olmalıdır. Ölçülen fiziksel özellik tayin sırasında oluşan elektrik akımıdır.

Kütle dedektörü

Hareketli iyonları kütle/yük oranlarına göre hızlı biçimde ayırabilen bir cihazdır. İyonların çoğu tek yüklü olduklarından, oran basitçe iyonun kütlesine eşittir. Bu dedektörün kullanımı ile örnek bileşenlerine ait çok özgün kromatogramlar elde edilir, dolayısıyla kalitatif tayinlerde teşhis amaçlı kullanımlarda çok önemli bir dedektördür. İyon kaynağı, kütle analizörü ve iyon dedektör sistemi olmak üzere başlıca üç kısımda incelenebilir [110].

Ion Max API Kaynağı: Analizi yapılacak numuneye bağlı olarak ESI (Electrospray Ionization) veya APCI (Atmospheric Pressure Chemical Ionization) iyonizasyon teknikleri kullanılabilir. Her iki teknikte atmosferik basınçta gerçekleşir. Genel olarak aminler, peptidler ve proteinler gibi polar bileşikler ESI tekniği ile steroidler gibi apolar bileşikler ise APCI tekniği ile analiz edilir.

Kütle Analizörü: İyon kaynağından gelen iyonlar, kütle analizöründe değişen elektrik alana tabi tutularak m/z (kütle/yük) oranlarına göre ayrılırlar.

MS İyon Dedektör Sistemi: MS dedektörü yüksek duyarlılığa sahip, pozitif ve negatif iyon modlarında çalışan bir iyon dedektör sistemidir. MS ünitesi ile aynı bileşik He gazı kullanılarak MSⁿ modunda dokuz kez parçalanabilir. Bu şekilde analizde daha kesin sonuçlar elde etmek mümkündür.

HPLC tekniğinde sistem türleri:

İzokratik sistem: Bu sistemde tek pompa ve tek çözügen kullanılır. Kullanılan çözügen bir karışım olabilir. Bu sistemdeki ayırım yetersizdir.

Düşük basınçlı gradient sistem: Bu sistemde tek pompa, polariteleri önemli derecede birbirinden farklı maksimum dört farklı mobil faz vardır. Ayırım, izokratik sistemden daha iyidir.

Yüksek basınçlı gradient sistem: Bu sistemde iki yada üç pompa ve polariteleri önemli derecede birbirinden farklı iki yada üç mobil faz vardır. Karışma pompadan sonra meydana gelir.

HPLC’de ayırma teknikleri

Normal faz HPLC: İlk geliştirilen teknik olup kolon polar, mobil faz apolardır. Kullanılan kolonlar silica jel, cyano, amino, diol veya nitro kolonlardır.

Ters faz HPLC: En sık kullanılan teknik, olup kolon apolar, mobil faz polardır. Kullanılan kolonlar C18, C8, C4, phenyl, TMS, cyano’dur.

Ters faz iyon çifti kromatografisi: İyonik türlerin ayrılması için kullanılan bir tür ters faz dağılma kromatografisidir. Hareketli faz, metanol ve asetonitril gibi bir organik çözügen içeren sulu bir tampon ve tayin edilecek analit ile zıt yüklü “karşit iyon” içeren bir iyonik bileşikten meydana gelmiştir. Karşit iyon, analit ile birleşerek ters faz dolgu maddesi ile alıkonulabilen nötral iyon çifti oluşturan bir iyondur.

İyon değişim kromatografisi: İyon kromatografisi olarak da bilinmektedir. Yüklü bir maddenin ters yükle yüklenmiş katı bir sabit fazla tutulması prensibine dayanır. İyonların ayrılması ve tayini için modern bir yöntemdir.

Boyut eleme kromatografisi (GPC/GFC): Analizlenecek maddelere ait moleküller boyutlarına göre ayrılmaktadır. Bu işlem için çok değişik por çapları içeren dolgu

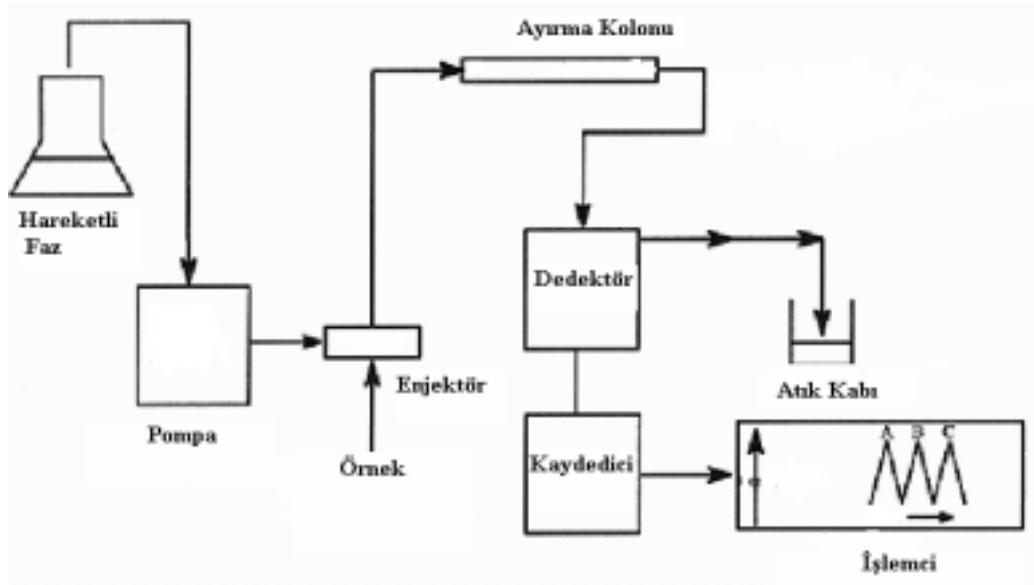
maddesiyle doldurulmuş kolonlar kullanılmaktadır. Böylece değişik çaplardaki porlar birer elek gibi davranarak maddeleri boyut çaplarına göre alıkoymaktadır.

Kiral ayırım kromatografisi: Optikçe aktif izomerleri ayırmak amacıyla geliştirilmiştir. Bu teknik, gaz kromatografide uygulansa da, kolon ve düzlemsel yüksek performanslı sıvı kromatografisine daha uygundur.

HPLC tekniğinde sınırlamalar

- Bileşenlerin tanımlanması, bazı durumlarda kütle spektrometresi ile kombine edilmemiş olan HPLC kullanıldığında yeterli olmayabilmektedir.
- Karmaşık örneklerde iyi çözünürlük sağlamak zor olabilmektedir.
- Aynı anda sadece bir örnek analizlenebilmektedir.

Tipik bir HPLC cihazının şematik gösterimi şekil 2. 11’de verilmiştir.



Şekil 2.11 HPLC cihazının şematik gösterimi

2. 8. Analitik Veri Değerlendirmesinde Kullanılan Kavramlar

Kesinlik: Elde edilen sonuçların tekrarlanırlığı olarak tanımlanır. İki veya daha fazla tekrar ile elde edilen sonuçların veya tamamen aynı yolla elde edilmiş ölçüm sonuçlarının sayısal değerleri arasındaki uyumluluktur.

Doğruluk: Ölçümlerin gerçek değer veya doğru kabul edilen değere yakınlığını belirtir. Doğruluk, bağıl bir terimdir. Bağıl ve mutlak hata terimleri ile açıklanır.

Mutlak Hata (Ea): Az sayıda tekrar analizi ile elde edilen bir veri takımının ortalamasının mutlak hatası,

$$E_a = X_i - X_t \quad (2.2)$$

eşitliği ile verilir. Buradaki X_t , söz konusu büyüklüğün gerçek kabul edilen değeridir.

Bağıl Hata (E): Genellikle mutlak hatadan daha kullanışlıdır.

$$E = (X_i - X_t) / X_t \times 100 \quad (2.3)$$

eşitliği ile ifade edilir.

Standart Sapma (s): Sınırlı sayıdaki veri takımına ait standart sapma şu eşitlikle verilir.

$$s = [\sum_{i=1}^n (X_i - X_{ort})^2 / (N-1)]^{1/2} \quad (2.4)$$

Çok sayıdaki veri takımına ait standart sapma söz konusu olduğunda s yerine σ , X_{ort} (numune ortalaması) yerine ise μ (gerçek ortalama) kullanılır.

Güven Sınırları (GS): Bir ölçümün gerçek veya popülasyon ortalaması bir sabittir ve bilinmeyen olarak kalmalıdır. Bu ortalamanın sınırları, verilen bir olasılık derecesi ile popülasyon ortalamasının beklendiği bir aralıkta tespit edilebilir. Bu şekilde elde edilen sınırlar güven sınırlarıdır. Genellikle kullanılan güven seviyesi % 95 ve buna karşılık gelen güven sınırları ise 1.96 S'dir.

$$\mu \text{ için GS} = X_{ort} \pm z * \sigma / (N)^{1/2} \quad (2.5)$$

Q Testi: Basit ve yaygın olarak kullanılan istatistiksel bir testtir. Bu testte şüpheli sonuç ve ona en yakın olan sonuç arasındaki farkın mutlak değeri, sonuçların yayılmasına bölünür. Q_{deneysel} bulunmuş olur. Bu değer, Q_{kritik} değerinden büyükse şüpheli değer verilen güven seviyesinde atılabilir. Q testi için kritik değerler çizelge 2.9’da verilmiştir [111].

Çizelge 2. 8 Q testi için kritik değerler

Gözlem Sayısı	% 90	%95	%99
3	0.941	0.970	0.994
4	0.765	0.829	0.926
5	0.642	0.710	0.821
6	0.560	0.625	0.740
7	0.507	0.568	0.680
8	0.468	0.526	0.634
9	0.437	0.493	0.598
10	0.412	0.460	0.568

F Testi: Bu test, iki sorunun cevabının aranmasında kullanılır. Birincisi, A metodu B metodundan daha kesin midir? Diğeri ise iki metodun kesinlikleri arasında fark var mıdır? İlk sorunun cevabı için daha kesin olduğu varsayılan metodun varyansı (s^2) paydaya diğerininki paya yazılır. İkinci sorunun cevabı için ise büyük olan varyans paya yazılır. Deneysel F değeri eğer tablodaki değerden büyükse iki standart sapmanın aynı olduğu ve dolayısıyla her iki yöntemin kesinliklerinin aynı olduğunu savunan null hipotezinin doğru olduğu kabul edilir. % 5 güven seviyesi için kritik F değerleri çizelge 2.10’da verilmiştir [112].

Çizelge 2. 9 % 5 güven seviyesi için kritik F değerleri

S.D.	2	3	4	5	6	12	20	∞
2	19.00	19.16	19.25	19.30	19.33	19.41	19.45	19.5
3	9.55	9.28	9.12	9.01	8.94	8.74	8.66	8.53
4	6.94	6.59	6.39	6.26	6.16	5.91	5.80	5.63
5	5.79	5.41	5.19	5.05	4.95	4.68	4.56	4.36
6	5.14	4.76	4.53	4.39	4.28	4.00	3.87	3.67
12	3.89	3.49	3.26	3.11	3.00	2.69	2.54	2.30
20	3.49	3.10	2.87	2.71	2.60	2.28	2.12	1.84
∞	3.00	2.60	2.37	2.21	2.10	1.75	1.57	1.00

(Payda)

3. DENEYSEL BÖLÜM

3. 1. Materyal ve Yöntem

3. 1. 1. Materyal

Çalışmada kullanılan bitkisel çaylar, (TEMA (2003), Doğadan (2004), Arifoğlu (2004)) marketlerde perakende olarak satılan farklı markalardaki çayların alınarak harmanlanması ile elde edildi. Harmanlanan örnekler yıkama işlemi uygulanmaksızın polietilen kaplarda saklandı.

3. 1. 1. 1. Çalışmada kullanılan aletler

Yapılan bu çalışmada element analizi için döteryum düzeltmeli PHILIPS PU 9100 X Software (Part No: 942391/79416) alevli atomik absorpsiyon spektrometresi ile Perkin-Elmer Optima 3100 XL (Axial Torch) model ICP-AES cihazı kullanıldı.

Polifenol analizi için Agilent 1100 G 1322A model degasser, Agilent 1100 G 1311A çift solvent pompalı ünite, Rheodyne 7725i enjeksiyon ünitesi ve Agilent 1100 DAD G 1315B fotodiyot array dedektör ile donatılmış olan Agilent 1100 Series yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC) cihazı kullanıldı. Ayırma kolonu olarak SGE C₁₈ (4.6 x 250 mm, 5µm) ters faz kolon kullanıldı.

Çalışmada kullanılan alevli AAS, ICP-AES ve HPLC teknikleri için ölçüm koşulları çizelge 3.1, 3.2 ve 3.3'de verilmiştir.

Çizelge 3. 1 Alevli AAS ile yapılan element tayinindeki analiz parametreleri

Parametreler	Elementler	
	Ca	Mg
Örnek verme hızı (mL/dk)	5	5
Hava akış hızı (L/dk)	30	30
Asetilen akış hızı (L/dk)	15	15
Lamba akımı (mA)	5	5
Dalga boyu (nm)	393	279
Bant genişliği (nm)	0.5	0.5

Çizelge 3. 2 ICP-AES ile yapılan element tayinindeki analiz parametreleri

Güç (W)	1300	
Gaz akış oranı (L/dk)	Plazma Gazı	15
	Yardımcı Gaz	0.5
	Sisleştirici Gaz	0.5
Örnek akış oranı (mL/dk)	2	
Hamlaç (Torch)	Yatay	
Oto örnekleyici	AS 90 Plus	
Okuma süresi (s)	5	
Gecikme süresi (s)	60	
Yıkama süresi (s)	15	
Elementler için kullanılan dalgaboyları (nm)	Al (308.22), Ba (493.41), Cd (226.50), Co (228.62), Cr (267.2), Cu (324.75), Fe (259.94), Mn (257.61), Ni (231.60), Pb (220.35), Sr (421.55), Zn (213.86)	

Çizelge 3. 3 HPLC ile yapılan polifenol tayinindeki analiz parametreleri

Parametre	
Kolon	SGE C ₁₈ (4.6 x 250 mm,5µm)
Dedektör	Diyot array dedektör (DAD)
Çözgen karışımı	Metanol : Su : Asetik Asit (29 : 70 : 1)
Çözgen akış hızı (mL/dk)	1.0
Kolon sıcaklığı (°C)	25
Tayin yapılan dalga boyu (nm)	280
Hesaplama kriteri	Pik alanı

3. 1. 1. 2. Çalışmada kullanılan diğer yardımcı aletler

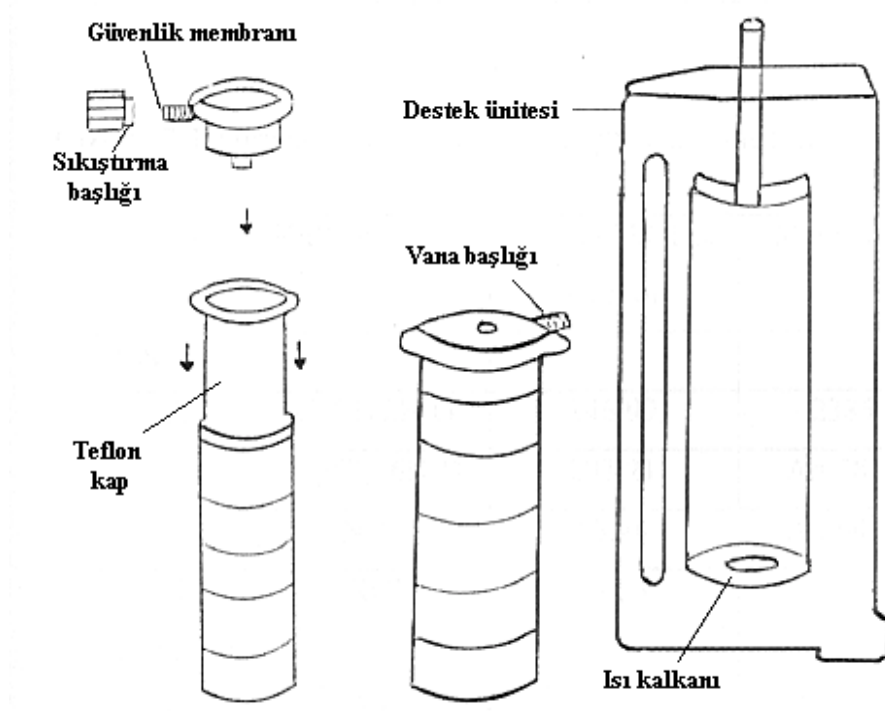
- Su saflaştırma sistemi (Millipore Milli-Q Water Purification System)
- Değirmen (Model M 20 Country of OR:DU, IKA, Labour Technic)
- Etüv (Nüve EN-500)
- Terazı (Gec-Avery VA-304, seri no: 940689)
- Mikropipet (Brand)
- Çalkalayıcı (Labotron İnfors AG)
- Ca ve Mg için Photron oyuk katot lamba

3. 1. 1. 3. Çözünürleştirme için kullanılan sistemler

Mikrodalga fırın ile çözünürleştirme

- Mikrodalga fırın (Arçelik MD - 500)
- Mikrodalga çözünürleştirme kabı(CEM Mars HP – 500, patent no: 5, 427, 741)
- Polipropilen ısı kalkanı (W / TFM)
- Teflon gaz kontrol başlığı

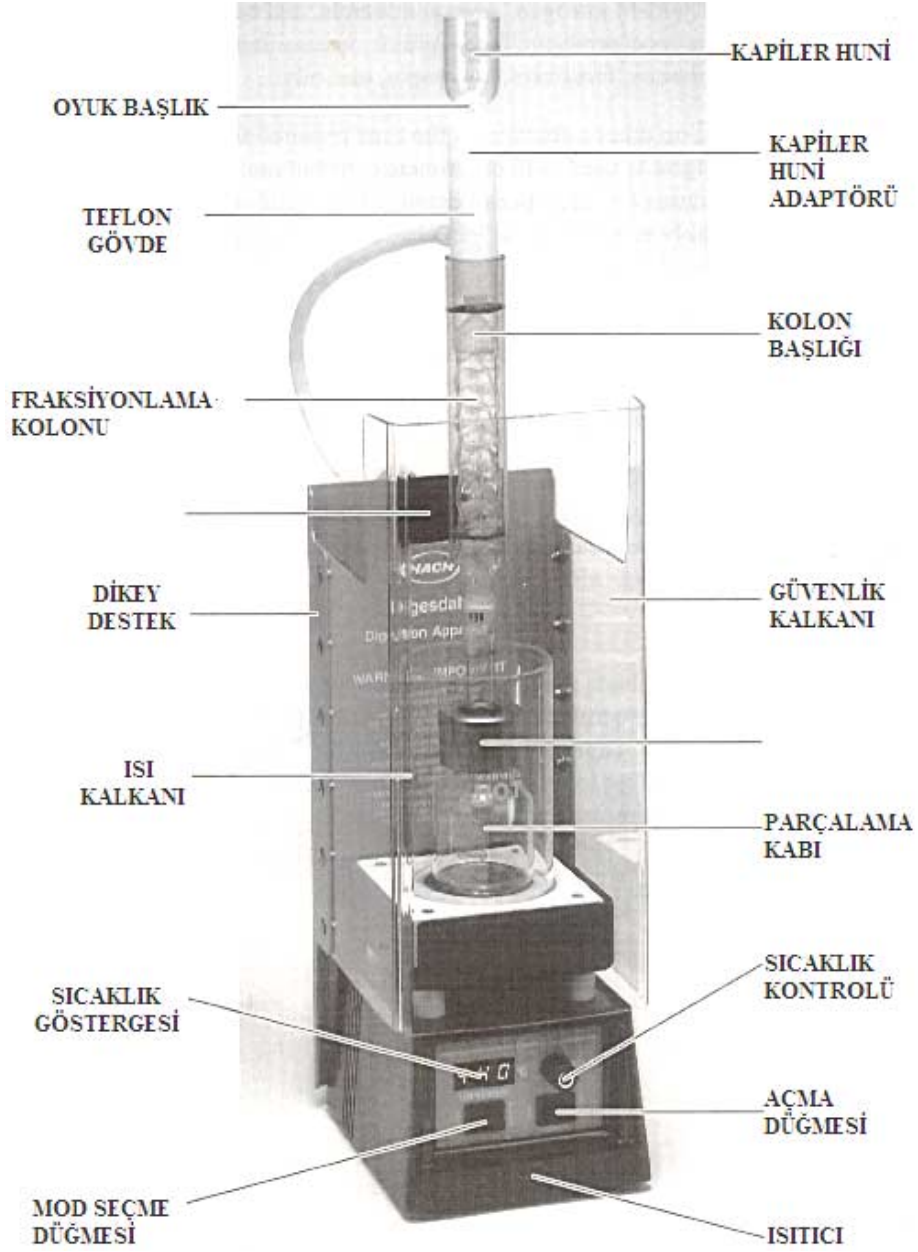
Şekil 3. 1'de parçalama işleminde kullanılan mikrodalga çözünürleştirme aparatları görülmektedir.



Şekil 3. 1 Mikrodalga çözünürleştirme aparatları

Klasik çözümlendirme sistemi

Şekil 3. 2'de HACH Digestion Apparatus (model 23130-20) çözümlendirme düzeneği görülmektedir.



Şekil 3. 2 Klasik çözümlendirme düzeneği

3. 1. 1. 4. Çalışmada kullanılan kimyasallar ve stok çözeltilerin hazırlanması

Çalışmada element analizi için çözünürleştirme amaçlı kullanılan asitler ve özellikleri çizelge 3.4'te verilmiştir.

Çizelge 3. 4 Çözünürleştirme amaçlı kullanılan asitler ve özellikleri

Asit	%	Yoğunluk (g/mL)	Molekül ağırlığı (g/mol)	Merck no
HCl (ekstra saf)	37	1.19	36.5	1.00317.2500
HClO ₄ (ekstra saf)	70-72	1.68	100.46	1.00519.2500
H ₂ SO ₄ (ekstra saf)	95-98	1.84	98.08	1.00713.2500
HNO ₃ (ekstra saf)	65	1.41	63.01	1.00443.2500

- Element analizinde kullanılan stok ve çalışma standartlarının hazırlanması

Yapılan çalışmada ICP-AES ile element analizi için (Ca ve Mg hariç) çalışma standartları 1, 10, 100, 1000 µg/L derişimlerinde hazırlandı. Bunun için 1 mg/mL derişimindeki ICP-AES stok multielement çözeltisi (Merck, Titrisol, Germany) seyreltilerek belirtilen derişimlerdeki standart çözeltiler hazırlandı. AAS'de Ca ve Mg elementlerinin tayini için her bir elementin 1000 mg/L'lik stok standart çözeltileri hazırlandı. 1000 mg/L magnezyum stok standart çözeltisi için analitik saflıktaki 4.1823 g MgCl₂.6H₂O deiyonize suda çözülerek 1 mL derişik HCl eklenmesinden sonra hacmi deiyonize su ile 500 mL'ye tamamlandı. 1000 mg/L kalsiyum stok standart çözeltisi için analitik saflıktaki 2.9462 g Ca(NO₃)₂.4H₂O deiyonize suda çözülerek 1 mL derişik HNO₃ eklenmesinden sonra hacmi deiyonize su ile 500 ml'ye tamamlandı.

Hazırlanan 1000 mg/L'lik Ca ve Mg stok standart çözeltilerinin herbirinden 20 mg/L, 40 mg/L, 60 mg/L, 80 mg/L içeren çalışma standart çözeltileri hazırlandı.

- Polifenol analizinde kullanılan stok ve çalışma standartlarının hazırlanması

Stok (-)-epikateşin çözeltisi (1000 mg/L): Analitik saflıktaki 0.250 g (-)-epikateşin (61K2521, Sigma Chemical Co. St.Louis, MO, USA) deiyonize suda çözüldü ve hacmi de iyonize su ile 250 ml'ye tamamlanarak 1000 mg/L derişimdeki (-)-epikateşin çözeltisi hazırlandı.

Stok (-)-epigallokateşin çözeltisi (1000 mg/L): Analitik saflıktaki 0.250 g (-)-epigallokateşin (014K0692, Sigma Chemical Co. St.Louis, MO, USA) deiyonize suda çözüldü ve hacmi 250 ml'ye tamamlanarak 1000 mg/L derişimdeki (-)-epigallokateşin çözeltisi hazırlandı.

Stok (-)-epikateşin gallat çözeltisi (1000 mg/L): Analitik saflıktaki 0.250 g (-)-epikateşin gallat (03K1283, Sigma Chemical Co. St.Louis, MO, USA) deiyonize suda çözüldü ve hacmi 250 ml'ye tamamlanarak 1000 mg/L derişimdeki (-)-epikateşin gallat çözeltisi hazırlandı.

Stok (-)-epigallokateşin gallat çözeltisi (1000 mg/L): Analitik saflıktaki 0.250 g (-)-epigallokateşin gallat (093K1526, Sigma Chemical Co. St.Louis, MO, USA) deiyonize suda çözüldü ve hacmi 250 ml'ye tamamlanarak 1000 mg/L derişimdeki (-)-epigallokateşin gallat çözeltisi hazırlandı.

Stok gallik asit çözeltisi (1000 mg/L): Analitik saflıktaki 0.250 g gallik asit deiyonize suda çözüldü ve hacmi ile 250 ml'ye tamamlanarak 1000 mg/L derişimdeki gallik asit (Sigma Chemical Co. St.Louis, MO, USA) çözeltisi hazırlandı.

Stok çözeltiler hazırlanırken, tam çözünmeyi sağlamak için ultrasonik banyo kullanıldı ve hazırlanan çözeltilerin ışık ve sıcaklıktan etkilenmemeleri için koyu renkli cam şişelerde ve buzdolabında saklandı.

Hazırlanan stok çözeltiler kullanılarak her bir polifenolden 5, 10, 20, 30 ve 40 mg/L içecek şekilde standart çözelti karşımı hazırlandı.

3. 1. 2. Yöntem

- Farklı markalardaki bitkisel çayların harmanlanmasıyla elde edilen örnekler, paslanmaz çelikten imal edilmiş olan değirmende toz haline gelene kadar öğütüldü.
- Öğütülen örnekler 24 saat boyunca 70°C’de kurutuldu.
- Kurutulan örnekler temiz polietilen kaplara alınarak numaralandırıldı ve çözünürleştirme işlemlerinden önce bu örnekler tekrar 70°C’de 3 saat kurutulduktan sonra tartım alındı.
- Çözünürleştirilen örnekler belli hacimlere tamamlandıktan sonra polietilen kaplarda saklandı.
- Çözünürleştirme performansını ve uygulanan metodun doğruluğunu kontrol etmek ve ayrıca klasik yaş yakma ile mikrodalga çözünürleştirme yöntemleri arasında fark olup olmadığını anlamak amacıyla her iki yöntemle çözünürleştirilmiş olan GBW-07605 (Poplar Leaves and Tea, Approved By State Bureau Of Technical Supervisor, Langfang, China) sertifikalı referans madde kullanıldı.
- Elementlerin bitkide bulunan ve deme geçen miktarının (infüzyon ya da su ekstraktı) tayini için herbir çay örneği mikrodalga çözünürleştirme tekniği ile 5 kez çözünürleştirildi ve yine 5 kez su ekstraktları hazırlandı.
- Ca ve Mg elementlerinin tayini için FAAS, bunların dışındaki Fe, Cu, Mn, Ba, Cr, Co, Cd, Ni, Pb, Sr, Zn elementlerinin tayini için ise ICP-AES tekniği kullanıldı.
- Polifenol tayininde ise öğütülüp kurutulan örneklerin metanol ve su ekstraktları hazırlandı ve önemli polifenol içerikleri ters faz HPLC ile tayin edildi.

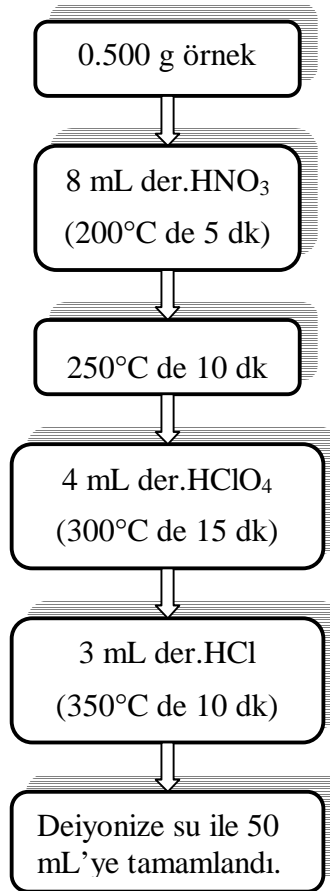
4. METOTLARIN UYGULANMASI

4. 1. Bitkisel Çay Örneklerindeki Önemli Makro ve Mikro Elementlerin Tayini

4. 1. 1. Element tayini için örnek hazırlama basamakları

4. 1. 1. 1. Klasik çözünürleştirme işlemi (Yaş yakma)

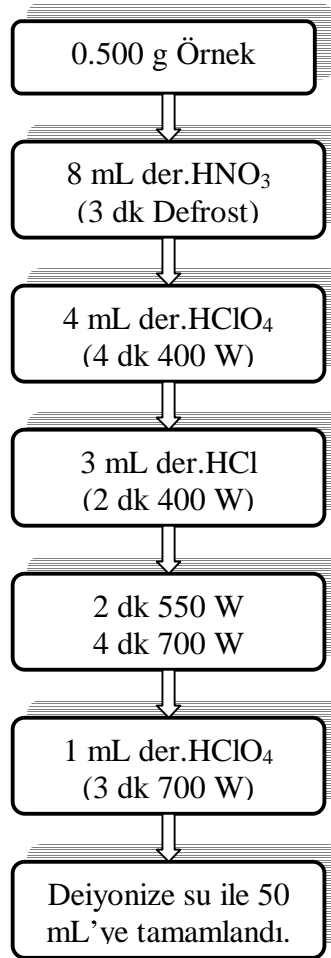
Bu çözünürleştirme işleminde HACH parçalama cihazı kullanıldı. Sıcaklık ve süre kontrol edilerek berrak bir çözelti elde edilinceye kadar parçalama işlemi devam ettirilmiş ve parçalama işleminde 3 farklı asit kullanılmıştır. Şekil 4.1’de klasik çözünürleştirme işlem şeması verilmiştir.



Şekil 4. 1 Klasik parçalama tekniği ile örneklerin çözünürleştirilme şeması

4. 1. 1. 2. Mikrodalga ile çözünürleştirme işlemi

Klasik çözünürleştirme işlemine göre daha az sürede ve daha etkin parçalama yapmaya imkan veren mikrodalga parçalama işlemi bitkisel çay örneklerine şekil 4. 2'de gösterildiği gibi uygulandı. Her asit eklenmesi işlemi ve mikrodalga ile çözünürleştirme uygulamasından sonra soğutma işlemi yapıldı.



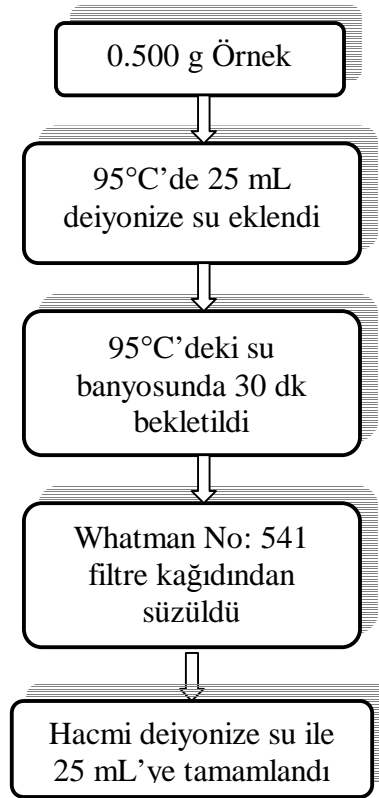
Şekil 4. 2 Mikrodalga ile çözünürleştirme işlemi

Mikrodalga çözünürleştirme tekniği uygulanırken HClO₄ yerine H₂O₂ kullanıldığında aynı şartlarda tam çözünürleştirme olmadığı ve bazı denemelerde kuruluğa kadar buharlaşmanın olduğu görüldü. Bundan dolayı her asit ekleme işleminden sonra uygulanan mikrodalga enerjinin gücü basamaklı olarak artırılarak

optimum parçalama koşulları sağlandı. Bu çözünürleştirme işlemleri hem sertifikalı referans maddeye hem de tüm bitkisel çay örneklerine uygulanmıştır.

4. 1. 1. 3. Element analizi için çay–su ekstraktlarının hazırlanması

Şekil 4.3'te elementlerin deme geçen miktarlarının belirlenmesi için uygulanan örnek hazırlama işlemi görülmektedir.

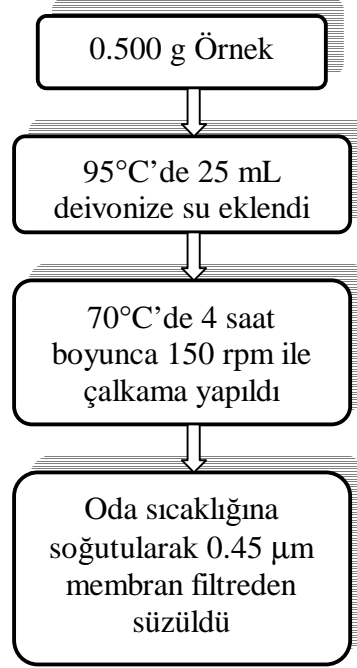


Şekil 4. 3 Örneklerin su ile ekstrakte edilmesi

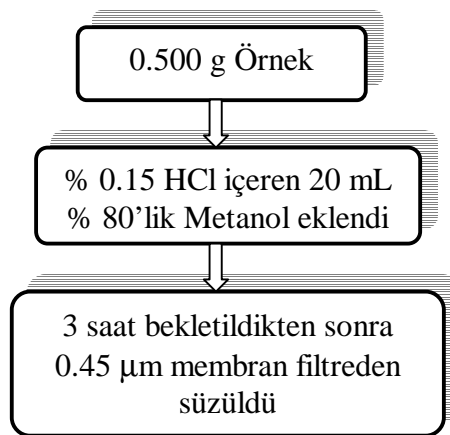
4. 1. 2. Polifenol tayini için örnek hazırlama

Polifenol tayini için çay örneklerine iki farklı örnek hazırlama tekniği uygulandı. Kateşin grubu polifenoller ışığa duyarlı olduklarından örnek ve standart hazırlama işlemleri loş ışık altında yapıldı. Çay infüzyonlarındaki polifenol düzeyleri 280 nm dalga boyunda iyi bir şekilde tayin edildi. Kalibrasyon eğrileri beş farklı polifenol için dış standart kullanılarak çizildi. Polifenol tayini için çalışma standart karışımı her bir

polifenolden 5, 10, 20, 30 ve 40 mg/L içecek şekilde hazırlandı. Analiz için her bir bitkisel çay örneğinin 5 adet su ekstraktı hazırlandı ve her biri üçer kez enjekte edilerek elde edilen verilerin aritmetik ortalamaları alınarak sonuçlar hesaplandı. Deiyonize su ile yapılan örnek hazırlama tekniği şekil 4.4'de, metanol ile yapılan ise şekil 4.5'te verilmiştir.



Şekil 4. 4 Bitkisel çay örneklerinde polifenol tayini için saf su ile yapılan ekstraksiyon işlemi



Şekil 4. 5 Bitkisel çay örneklerinde polifenol tayini için metanol ile yapılan ekstraksiyon işlemi

4. 2. Kromatografik Şartların Ayarlanması

Polifenollerin ayrılması işlemi için gradient sistem uygulandı. A (deiyonize su) ve B (% 1 HAcO içeren metanol) çözenleri değişen miktarlarda kolondan geçirilerek ayırma koşulları optimize edildi. Gradient elüsyon profili A:B (90:10) ile başlatıldıktan sonra B çözeni % 20'ye 3-14 dakika arasında basamaklı olarak yükseltildi. 15'inci dakikadan sonra yine başlangıç koşullarına dönüldü. Bir sonraki enjeksiyona geçilmeden önce kolondan 3 dakika boyunca çözen karışımı geçirilerek kolonun temizlenmesi sağlandı. Çözen akış hızı ise 1 mL/dk olarak seçildi.

5. SONUÇLAR VE YORUM

5. 1. Element Analizi Sonuçları

GBW 07605 sertifikalı referans maddeye ve çay örneklerine aynı örnek hazırlama işlemleri uygulandı. Uygulanan çözünürleştirme ve analiz tekniğinin doğruluğunu göstermek için, referans maddenin verilen element içerikleri ve çözünürleştirme sonrasında tayin edilen element içerikleri çizelge 4.1’de görülmektedir.

Çizelge 4. 1 Sertifikalı referans maddenin element içerikleri ve parçalama sonrası tayin edilen element içerikleri (Ortalama değer mg/kg \pm S; n=5)

Element	GBW 07605		Tayin Edilen Miktar	
Mg (%)	0.170	\pm 0.001	0.166	\pm 0.008
Ca (%)	0.43	\pm 0.02	0.38	\pm 0.01
Fe	264	\pm 10	271	\pm 9.8
Mn	1240	\pm 40	1272	\pm 94.6
Al	3000	-	3118	\pm 116
Cu	17.3	\pm 1.0	16.1	\pm 2.0
Zn	26.3	\pm 0.9	27.3	\pm 0.35
Sr	15.2	\pm 0.5	14.66	\pm 0.40
Ba	58	\pm 3	57.4	\pm 1.0
Cr	0.80	\pm 0.02	0.75	\pm 0.07
Ni	4.6	\pm 0.3	4.77	\pm 0.26
Co	0.18	\pm 0.02	0.17	\pm 0.04
Pb	4.40	\pm 0.20	3.98	\pm 0.60
Cd	0.057	\pm 0.008	0.060	\pm 0.003

Çizelge 4.1 incelendiğinde sertifikalı referans maddeye ait element içerikleri ile tayin edilen element içerikleri karşılaştırılacak olursa bulunan değerlerin sertifikalı

değerler ile uyduğu görülmektedir. Ayrıca, çizilen kalibrasyon grafiklerinde element derişimi ile absorbans değerleri arasında iyi bir korelasyon vardır. Korelasyon katsayıları her bir element için 0.99'dan büyüktür. FAAS ve ICP-AES teknikleri ile yapılan element analizlerine ait sonuçlar çizelge 4.2 ve 4.3'te verilmiştir. Çizelge 4.2'de bitkisel çaylarda ve su ekstraktlarında tespit edilen Ca, Mg, Fe, Al, Mn, Zn ve Cu içerikleri ile suya geçen element yüzdeleri görülmektedir.

Çizelge 4. 2 Bitkisel çaylarda ve su ekstraktlarında tespit edilen Ca, Mg, Fe, Al, Mn, Zn ve Cu içerikleri ile suya geçen element yüzdeleri (mg/kg \pm S g, n=5)

Örnek	Ca	Mg	Fe	Al	Mn	Zn	Cu
Papatya	12720 \pm 200	1643 \pm 70	502.7 \pm 3.0	356 \pm 23	60.2 \pm 3.3	30.6 \pm 2.1	8.34 \pm 0.05
İnfüzyon	2000 \pm 137	905 \pm 21	8.10 \pm 0.14	1.6 \pm 0.03	16.7 \pm 1.6	12.6 \pm 1.6	6.75 \pm 0.90
% İnf.	15.72	55.08	1.61	0.43	27.74	41.18	80.93
Rezene	10780 \pm 221	2774 \pm 39	224.8 \pm 9.2	158 \pm 5.7	27.8 \pm 0.4	37.0 \pm 2.4	16.2 \pm 0.4
İnfüzyon	1694 \pm 110	1532 \pm 19	4.90 \pm 0.04	6.2 \pm 0.8	4.30 \pm 0.04	18.0 \pm 2.1	8.1 \pm 0.18
% İnf.	15.7	55	2.18	3.92	15.5	49	50
İhlamur	22760 \pm 184	1797 \pm 45	228 \pm 26	87 \pm 9.2	71.2 \pm 1.5	35.6 \pm 2.2	9.64 \pm 0.76
İnfüzyon	17740 \pm 195	764 \pm 37	2.45 \pm 0.11	7.40 \pm 0.2	15.5 \pm 0.7	9.90 \pm 0.4	3.85 \pm 0.01
% İnf.	78	43	1.1	8.5	21.76	27.8	40
Isırgan							
Otu	30480 \pm 210	3778 \pm 48	810 \pm 7.2	596 \pm 31.7	79.8 \pm 2.3	47.2 \pm 4.813	5.60 \pm 0.40
İnfüzyon	17740 \pm 195	2078 \pm 53	8.2 \pm 0.2	15 \pm 1.2	5.80 \pm 0.4	13.9 \pm 0.4	3.35 \pm 0.34
% İnf.	58	55	1.0	2.5	7.3	29.5	60
Kuşburnu	17596 \pm 150	1909.2 \pm 9	267.2 \pm 30	157 \pm 12	244 \pm 13.8	21.9 \pm 1.2	4.94 \pm 0.76
İnfüzyon	965 \pm 74.8	1378 \pm 3	38.5 \pm 3.6	5.6 \pm 0.5	49.1 \pm 4.7	6.1 \pm 0.08	2.95 \pm 0.14
% İnf.	5.5	72	14.4	3.6	20	28	60
Adaçayı	23560 \pm 128	2143 \pm 57	297.4 \pm 20.2	178 \pm 12.0	32.6 \pm 3.15	48.4 \pm 2.2	35.8 \pm 4.2
İnfüzyon	3242 \pm 68.7	610 \pm 34	107.4 \pm 13.3	7.95 \pm 1.4	12.15 \pm 1.2	13.8 \pm 1.2	2.70 \pm 0.10
% İnf.	14	29	36	4.47	37	29	7.54
Senemaki	26052 \pm 168	3321 \pm 582	323 \pm 30.5	123 \pm 10.6	23.0 \pm 1.6	23.3 \pm 1.9	3.92 \pm 0.80
İnfüzyon	14975 \pm 168	1827 \pm 52.5	6.70 \pm 0.3	19.7 \pm 1.8	9.5 \pm 0.35	15.5 \pm 1.2	2.45 \pm 0.38
% İnf.	57	50	2.07	16	41.3	67	62.5

Çizelge 4. 3'te bitkisel çaylarda ve su ekstraktlarında tespit edilen Sr, Ba, Ni, Cr, Co, Pb ve Cd içerikleri ile suya geçen element yüzdeleri görülmektedir.

Çizelge 4. 3 Bitkisel çaylarda ve su ekstraktlarında tespit edilen Sr, Ba, Ni, Cr, Co, Pb, ve Cd içerikleri ile suya geçen element yüzdeleri (mg/kg \pm S, n=5)

Örnek	Sr	Ba	Ni	Cr	Co	Pb	Cd
Papatya	47.6 \pm 1.9	16.9 \pm 0.7	1.8 \pm 0.4	1.22 \pm 0.02	0.32 \pm 0.03	0.72 \pm 0.08	0.44 \pm 0.02
İnfüzyon	10.3 \pm 1.2	3.2 \pm 0.8	0.98 \pm 0.1	-	-	-	-
% İnf.	21.63	20.0	54.5	-	-	-	-
Rezene	20.0 \pm 0.5	5.40 \pm 0.36	5.40 \pm 0.14	1.04 \pm 0.20	0.40 \pm 0.02	0.48 \pm 0.074	0.004 \pm 0.001
İnfüzyon	2.75 \pm 0.3	2.15 \pm 0.02	2.90 \pm 0.10	-	0.15 \pm 0.01	-	-
% İnf.	14	39.8	53.7	-	37.5	-	-
Ihlamur	51.6 \pm 2.2	23.8 \pm 1.0	2.46 \pm 0.24	0.34 \pm 0.08	0.14 \pm 0.00	0.26 \pm 0.04	-
İnfüzyon	3.70 \pm 0.5	1.80 \pm 0.07	0.95 \pm 0.04	-	-	-	-
% İnf.	7.2	7.6	38.6	-	-	-	-
Isırgan Otu	174 \pm 3.2	43.6 \pm 1.4	3.60 \pm 0.90	1.20 \pm 0.06	0.48 \pm 0.02	4.80 \pm 0.92	0.06 \pm 0.01
İnfüzyon	43.5 \pm 2.3	5.40 \pm 0.9	0.04 \pm 0.01	0.37 \pm 0.02	-	-	-
% İnf.	25	12.4	1.1	31	-	-	-
Kuşburnu	58.8 \pm 2.98	46.8 \pm 2.4	2.90 \pm 0.78	0.92 \pm 0.07	0.40 \pm 0.01	0.34 \pm 0.15	0.07 \pm 0.01
İnfüzyon	30.5 \pm 0.42	11.7 \pm 1.2	1.90 \pm 0.02	0.25 \pm 0.07	-	-	-
% İnf.	52	25	66	27	-	-	-
Adaçayı	17.5 \pm 0.2	14.6 \pm 0.2	2.90 \pm 0.09	2.12 \pm 0.40	0.34 \pm 0.09	1.14 \pm 0.28	-
İnfüzyon	2.45 \pm 0.07	3.15 \pm 0.15	0.85 \pm 0.07	-	-	-	-
% İnf.	14	22	29	-	-	-	-
Senemaki	115 \pm 7.9	74.0 \pm 5.4	0.90 \pm 0.12	0.34 \pm 0.03	-	-	-
İnfüzyon	37.6 \pm 2.5	25.7 \pm 1.6	0.60 \pm 0.10	-	-	-	-
% İnf.	33	35	67	-	-	-	-

Çizelge 4.2 ve 4.3 incelendiğinde çalışmada kullanılan tüm bitkisel çay örneklerindeki Ca miktarının oldukça yüksek olduğu görülmektedir. Bilindiği üzere Ca elementi insan vücudu için gerekli olan temel makro elementlerden biridir. Çay örneklerindeki toplam Ca miktarı 10780 mg/kg ile 30480 mg/kg arasında değişim

göstermektedir. En yüksek Ca içeriği ısırgan otuna ait iken en düşük Ca içeriği ise rezene bitkisine aittir. Fakat senemakide de 26052 mg/kg gibi yüksek bir miktarda Ca bulunmaktadır. Buna göre ısırgan otu ve senemakinin iyi bir Ca kaynağı olduğunu söylemek mümkündür. Ancak çay şeklinde tüketilen bitkilerin toplam element içeriğinden çok deme geçebilen element miktarları daha fazla önem taşımaktadır. Ca dikkate alındığında en yüksek Ca infüzyonunun 17740 mg/kg ile yine ısırgan otuna ait olduğu, en düşük infüzyonun ise 965 mg/kg ile kuşburnu bitkisine ait olduğu görülmektedir. % infüzyon değerlerine bakılacak olursa sahip olduğu toplam Ca içeriğinin yaklaşık % 78'i deme geçebilmiş olan ıhlamurun en yüksek % Ca infüzyonuna sahip olduğu görülmektedir. En düşük % Ca infüzyonu değeri ise % 5.5 ile en düşük Ca içeriğine sahip olan kuşburnuna aittir.

İnsan vücudu için gerekli olan bir diğer önemli makro element ise Mg'dir. Bu element hücrel pompaların çalışmasını düzenleyici etki yapmaktadır. Çalışılan çay örneklerinin Mg içerikleri 1643 mg/kg ile 3778 mg/kg aralığında olup en yüksek Mg içeriğine kalsiyumda olduğu gibi ısırgan otu sahip iken en düşük Mg içeriği papatya bitkisine aittir. Deme geçebilen Mg miktarlarına bakılacak olursa en yüksek Mg infüzyonunun 1378 mg/kg ile kuşburnuna ait olduğu görülmektedir. Bu, aynı zamanda kuşburnu bitkisinin sahip olduğu toplam Mg miktarının yaklaşık % 72'si olmaktadır ki bu değer en yüksek % Mg infüzyonu değeridir. Fernandez ve arkadaşlarının [113] 2002'de yapmış oldukları benzer bir çalışmada yeşil çay ve siyah çaydaki Ca ve Mg içeriği 5-22 mg/kg aralığında bulunurken Lozak ve arkadaşlarının 2002'de yapmış oldukları bir çalışmada ise Mg ve Ca içerikleri sırasıyla 5778 mg/kg ve 15331 mg/kg olarak bulunmuştur [114].

Bitkisel çay örneklerinin içermiş oldukları bir diğer önemli element ise Fe'dir. Bilindiği üzere demir elementi insan metabolizmasında önemli bir rol oynamaktadır. Hücrelerin canlılığını koruması için gereken oksijenin hücrelere taşınmasında görev alan hemoglobinin yapısına katılarak bu proteinin görevini yapmasını sağlamaktadır. Çizelge 4.2'deki değerlere bakılacak olursa toplam Fe içeriği bakımından en zengin olan bitki 810 mg/kg ile ısırgan otudur. Fe bakımından en fakir içeriği olan bitki ise 224 mg/kg ile rezene'dir. Deme geçen Fe miktarlarına bakılacak olursa en yüksek Fe infüzyon değeri 107.7 mg/kg ile adaçayına aittir. Aynı zamanda adaçayı % 36 ile en yüksek Fe infüzyon yüzdesine sahiptir. İlginç bir nokta ise Fe içeriği bakımından en zengin bitki olan ısırgan otundaki toplam demirin yalnızca % 1'lik kısmının deme

geçebilmiş olmasıdır. Adaçayında ise toplam Fe içeriğinin (297.4 mg/kg) % 36 gibi yüksek bir kısmı deme geçmiştir.

İnsan vücudunda kıkırdak ve sinir hücrelerinin işlevlerini yapmasını sağlamak gibi önemli görevleri olan Mn elementinin çalışılan bitkisel çay örneklerindeki derişimi 24 mg/kg ile 244 mg/kg aralığında olduğu görölmektedir. Mn bakımından en zengin olan çay örneği kuşburnu iken en düşük Mn içeriği ise senemakiye aittir. Mn elementinin deme geçen miktarları ise 4.3 mg/kg ile 49.1 mg /kg aralığında değişim gösterdiği ve en yüksek Mn infüzyonunun yine kuşburnuna ait olduğu görölmektedir. % Mn infüzyon değerlerine bakıldığında Mn içeriği bakımından en fakir olan senemaki bitkisine ait toplam Mn içeriğinin yaklaşık % 41'lik kısmının deme geçmiş olduğu görölmektedir. Bu değer en yüksek % Mn infüzyonu değeridir. En düşük % Mn infüzyonu ise % 7.3 ile ısırgan otuna aittir.

Çalışılan bitkisel çaylarda tayini yapılan bir diğer element ise A vitamini metabolizması için vazgeçilmez olan Zn'dir. Bitkisel çay örneklerindeki Zn içeriğine bakılacak olursa adaçayı ve ısırgan otunun Zn elementi içeriklerinin birbirine oldukça yakın olduğu görölmektedir. Bu değerler adaçayı ve ısırgan otu için sırasıyla 48.4 mg/kg ve 47.2 mg/kg'dır. En yüksek Zn içeriğine adaçayı sahip iken en düşük Zn içeriği ise 21.9 mg/kg ile kuşburnuna aittir. Deme geçen Zn miktarlarına bakılacak olursa en yüksek Zn infüzyonu sahip olduğu toplam Zn içeriğinin yaklaşık % 67'si deme geçmiş olan senemaki bitkisine ait olup bu değer 15.5 mg/kg'dır. En düşük infüzyon değerleri ise en düşük Zn içeriğine sahip olan ve bu sahip olduğu Zn içeriğinin yaklaşık % 28'lik kısmı deme geçmiş olan kuşburnu çayına ait olup bu değer ise 6.1 mg/kg'dır.

Çay örneklerinin insan metabolizmasının normal çalışmasında rol alan bir element olan Cu içerikleri incelenecek olursa bitkisel örneklerdeki Cu içeriğinin 3.92 mg/kg ile 35.8 mg/kg arasında değişim gösterdiği görölmektedir. En yüksek Cu içeriği adaçayına ait olup bu değer diğer çaylardakinin yaklaşık 2-3 katı kadardır. En düşük Cu içeriği ise senemakiye aittir. Cu infüzyonu değerlerine bakılacak olursa en yüksek infüzyon değerleri 8.1 mg/kg ile sahip olduğu toplam bakırın yaklaşık % 50'si deme geçmiş olan rezeneye aittir. En düşük Cu infüzyonu ise 2.45 mg/kg ile sahip olduğu toplam bakırın yaklaşık % 62.5'i deme geçmiş olan senemakiye aittir. Bakır içeriği bakımından en zengin olan adaçayının sahip olduğu toplam bakırın sadece % 7.54'lük bir kısmı deme geçebilmiştir. Bu değer en düşük % Cu infüzyonu değeridir.

Çay örneklerindeki Sr elementi içeriği 17.5 mg/kg ile 174 mg/kg arasında değişmekte olup Sr bakımından en zengin olan çay örneği ısırgan otu, en düşük Sr içeriğine sahip olan ise adaçayıdır. Papatya ve ıhlamur bitkilerinin Sr içerikleri birbirine oldukça yakın olup bu değerler sırasıyla 47.6 mg/kg ve 51.6 mg/kg'dır. Deme geçen Sr içeriklerine bakılacak olursa en yüksek Sr içeriğine sahip olan ısırgan otunun 43.5 mg/kg ile en yüksek Sr infüzyonuna da sahip olduğu görülmektedir. % Sr infüzyon değerlerine bakıldığında sahip olduğu toplam Sr içeriğinin yaklaşık % 52'lik bir kısmı deme geçmiş olan kuşburnu çayı en yüksek % infüzyon değerine sahiptir.

Genelde toksik olduğu kabul edilen bir element olan Al'nin bu tür bitkilerde ne kadar bulunduğu oldukça önem taşımaktadır. Çünkü, Al metalinin vücutta aşırı miktarda birikmesi sonucunda nörodejeneratif bozukluklara neden olabileceği bilinmektedir [115]. Bu bitkilerde tespit edilen toplam Al içerikleri 87 mg/kg ile 596 mg/kg arasında değişmekle beraber Al içeriği bakımından en zengin olan bitki ısırgan otu iken Al bakımından en fakir olan ise ıhlamurdur. Diğerlerinde olduğu gibi Al elementi için de en önemli nokta ne kadar Al'nin deme geçmiş olmasıdır. Çünkü bu bitkilerin çoğu çay şeklinde tüketilmektedir. Buna göre bitkisel örneklerin deme geçen Al içeriklerine bakılacak olursa en yüksek Al infüzyonu 19.7 mg/kg ile sahip olduğu toplam Al içeriğinin yaklaşık % 16'sı deme geçmiş olan senemakiye, en düşük Al infüzyonu ise 1.6 mg/kg ile sahip olduğu toplam Al'nin yaklaşık % 0.43'ü deme geçmiş olan papatyaya aittir. Buradan papatya bitkisinden hazırlanmış olan çayların oldukça az miktarda Al elementi içerdiğinden Al toksisitesi riski taşımadığı sonucuna varılabilir.

Bitkisel çay örneklerindeki Ba içeriği ise Sr ile karşılaştırıldığında kısmen daha düşük seviyede olup çay örneklerinin Ba içerikleri 5.4 mg/kg ile 74 mg/kg arasına değiştiği görülmektedir. En yüksek Ba içeriği senemakiye ait olup en düşük içerik ise rezeneye aittir. Deme geçen Ba miktarlarına bakıldığında en yüksek Ba infüzyonu, 25.7 mg/kg ile içerdiği toplam baryumun % 35'i deme geçmiş olan senemakiye, en düşük Ba infüzyonu ise 1.8 mg/kg ile içerdiği toplam baryumun % 7.6'sı deme geçmiş olan ıhlamura aittir.

Çay örneklerinde insan vücudundaki adrenal hormonunu dengeleyici görev yapan Ni elementi içerikleri 0.90 mg/kg ile 5.40 mg/kg arasında değişim göstermekte olup Ni içeriği bakımından en zengin olan çay örneği rezene iken en düşük Ni içeriğine sahip olan çay örneği ise senemakidir. Ni infüzyonu miktarları ise 0.04 mg/kg ile 2.90 mg/kg arasındadır. En yüksek Ni infüzyonuna yapısındaki toplam nikelin yaklaşık % 53.7'si deme geçmiş olan rezene sahip iken en düşük nikel infüzyonuna ise yapısındaki

toplam nikelin yaklaşık % 1.1'i deme geçmiş olan ısırgan otu sahiptir. % infüzyon değeri en yüksek olan çay ise % 67 ile en düşük Ni içeriğine sahip olan senemakidir.

Vücutta yararlı etkilerinin yanında buldukları kimyasal forma göre toksik etkileri de olan Cr elementi miktarlarına bakılacak olursa en yüksek Cr içeriğine 2.12 mg/kg ile adaçayı, en düşük Cr içeriğine ise 0.34 mg/kg ile ıhlamur ve senemaki bitkileri sahiptir. Çalışılan tüm çaylarda Cr elementi tespit edilmiş olup infüzyonlar göz önüne alındığında sadece kuşburnu ve ısırgan otuna ait infüzyonlarda Cr elementi tespit edilmiş olup Cr infüzyonu değerleri kuşburnu ve ısırgan otunda sırasıyla 0.25 mg/kg ve 0.37 mg/kg'dır. Bu her iki bitkideki % infüzyon değerleri de birbirine oldukça yakın olup sırasıyla % 27 ve % 31'dir. Diğer çay örneklerine ait infüzyonlarda Cr elementi tespit edilemediği için bu bitkilerin çay şeklinde tüketilmesi ile toksik olan Cr elementinin alınması söz konusu değildir.

Vücutta aşırı miktarda bulunduğu akyuvar sayısında anormal artışlara sebep olan bir element olan Co, senemaki dışındaki tüm çay örneklerinde 0.14 mg/kg ile 0.48 mg/kg arasında tespit edilmiş olup en yüksek Co içeriğine ısırgan otu, en düşük Co içeriğine ise ıhlamur sahiptir. Çay örneklerinin infüzyonlarına bakıldığında sadece rezeneye ait infüzyonda Co tespit edilmiş olup derişimi ise 0.15 mg/kg'dır.

Toksik olduğu bilinen elementlerden biri de Pb olup çalışılan çay örneklerinden senemaki dışındaki tüm örneklerde bu elemente rastlanmıştır. Pb'nin tespit edilmiş olan derişim aralığı ise 0.26 mg/kg ile 4.8 mg/kg arasındadır. En yüksek Pb içeriği ısırgan otuna ait iken en düşük içerik ise ıhlamura aittir. Senemaki dışındaki tüm bitkisel çay örneklerinde Pb elementine rastlanmasına rağmen çay örneklerinin hiçbirinin infüzyonunda toksik Pb elementi tespit edilememiştir. Belirtildiği gibi bu bitkiler genellikle çay şeklinde tüketildiklerinden deme geçen element derişimleri çok önemlidir. Ancak demlerde Pb elementine rastlanmaması bu bitkilerin Pb toksisitesine sebep olmayacaklarının bir göstergesidir.

Bilinen toksik elementlerden biri de kadmiyumdur. Yapılan analizler sonucunda rezene, adaçayı ve senemaki dışındaki diğer çay örneklerinde bu element içeriğinin 0.0040 mg/kg ile 0.44 mg/kg derişim aralığında olduğu tespit edilmiştir. En yüksek Cd içeriği papatyaya, en düşük içerik ise rezeneye aittir. Ayrıca, Cd içerdikleri tespit edilen çay örneklerine ait infüzyonların hiçbirinde Cd tespit edilememiştir.

Elde edilen sonuçlara genel olarak bakılacak olursa çay örneklerindeki Ca, Mg, Sr, Ba, Al gibi elementlerin miktarlarının biraz fazla gibi görülmektedir. Ancak, belirtildiği üzere bu bitkiler çoğunlukla çay olarak tüketildiklerinden, bitkideki toplam

miktarlarından çok deme geçen element miktarı önem taşımaktadır. Örneğin; kuşburnu bitkisinin toplam Ca içeriğinin 17596 mg/kg olmasına karşın deme bunun ancak % 5.5'i geçebilmiştir. Benzer olarak ıhlamur bitkisindeki toplam Ba içeriğinin 23.8 mg/kg olmasına karşın bunun yalnızca % 7.6'sı deme geçebilmiştir.

Çalışmada kullanılan çay örneklerini makro ve mikro element içerikleri bakımından; ısırgan otu > senemaki > adaçayı > ıhlamur > kuşburnu > papatya > rezene şeklinde, içerdikleri toksik element (Cr, Co, Pb, Cd) miktarı bakımından ise; ısırgan otu > adaçayı > papatya > rezene > kuşburnu > ıhlamur > senemaki şeklinde sıralamak mümkündür.

Bu durumda senemaki bitkisinin toksik elementler dışındaki diğer makro ve mikro elementleri fazla miktarla içerdığı, ısırgan otunun ise toksik elementler de dahil olmak üzere tayini yapılan 14 elementin tümünü yüksek miktarlarda içerdiklerini söylemek mümkündür. Ayrıca ıhlamur ve papatya bitkilerinin hem makro ve mikro elementleri hem de toksik elementleri düşük miktarlarda içermelerinden dolayı çay şeklinde tüketilmelerinde bir sakıncanın olmadığı da söylenebilir.

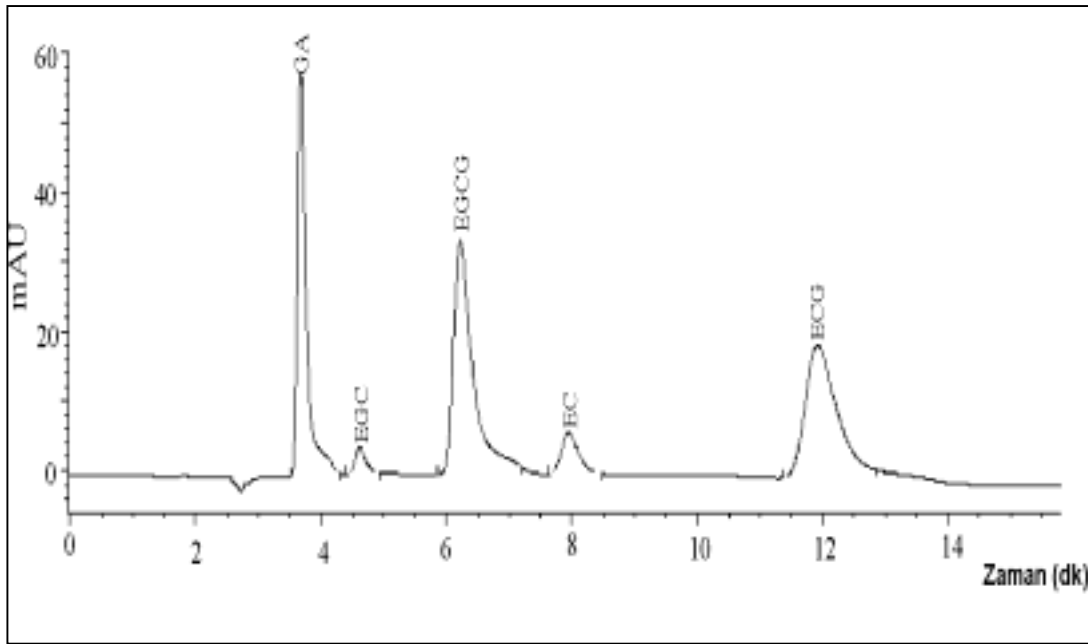
Bitkisel çaylardaki ve dolayısıyla çay infüzyonlarındaki element içeriği birçok parametreden etkilenmektedir. Bunların başında bitkinin organik matriksi, inorganik mineral içeriği ve infüzyonun hazırlandığı suyun doğal pH'sı gelmektedir. Ayrıca bitkinin yetişmesi, işlenmesi ve sulanması gibi parametrelerde element içeriğine etki edebilmektedir.

Çizelge 2.2'de ortalama 70 kg ağırlığındaki yetişkin bir insanın günlük alması gereken element içeriklerine tekrar bakılacak olursa çalışmada kullanılan bitkisel çayların insan vücudu için gerekli olan element ihtiyacını karşılayabilecek iyi bir kaynak olduğu görülmektedir. Unutulmamalıdır ki, çizelge 4.2 ve 4.3'deki değerler 1 kg bitkide bulunan değerlerdir. Bu yüzden değerler yüksek görünebilmektedir. Fakat bitkisel çaylar genellikle 2 g'lık paketler halinde kullanıldıklarından günde 5 bardak bitkisel çay tüketen bir insan ancak 10 g kadar çay tüketmiş olduğundan günde bu miktarda çay tüketilmesinin herhangi bir toksik etkiye sebep olacağı düşünülmemektedir. Ancak yine de bitkisel çayların tüketimi sıkı bir kontrol altında yapılmalıdır. Dış etkiler sonucunda bitkinin yapısına katılabilecek olan Pb, Cd, Co, Cr gibi toksik etkiye sahip elementler çay infüzyonlarında ya hiç bulunmamalı ya da çok düşük derişimlerde bulunmalıdır.

5. 2. Polifenol Analizi Sonunda Elde Edilen Sonuçlar

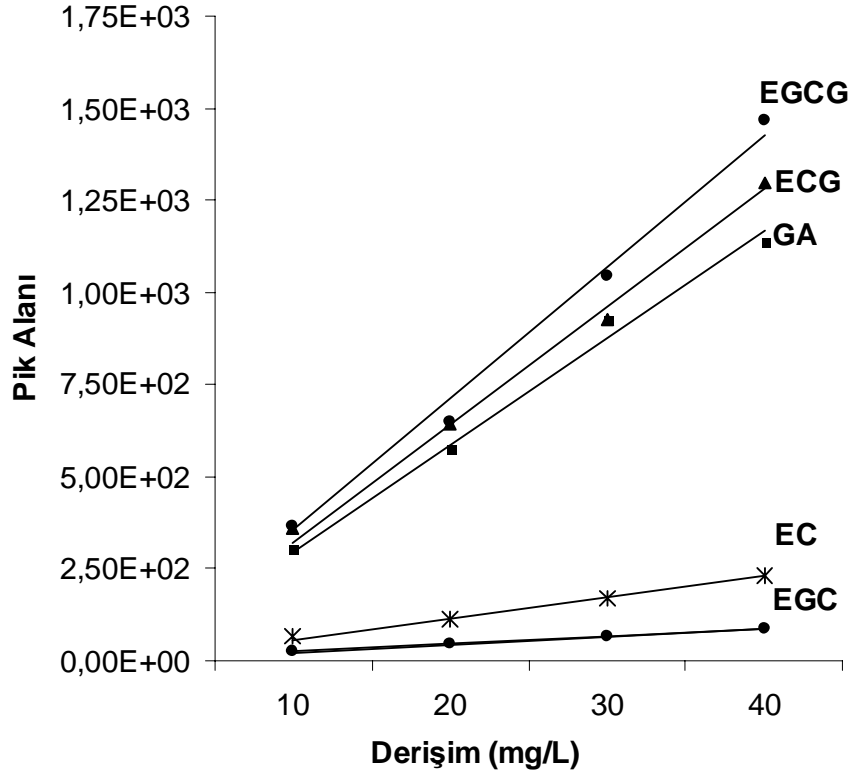
Yapılan bu çalışmada ülkemizde yaygın olarak kullanılan ve çoğunlukla çay şeklinde tüketilen yedi farklı çay örneğindeki beş önemli polifenolün HPLC ile analizleri yapıldı.

Polifenol tayini için hazırlanan gallik asit (GA), (-)-epikateşin (EC), (-)-epikateşin gallat (ECG), (-)-epigallokateşin (EGC), (-)-epigallokateşin gallat (EGCG) standartlarının 280 nm deki HPLC kromatogramı şekil 4.6'da verilmiştir.



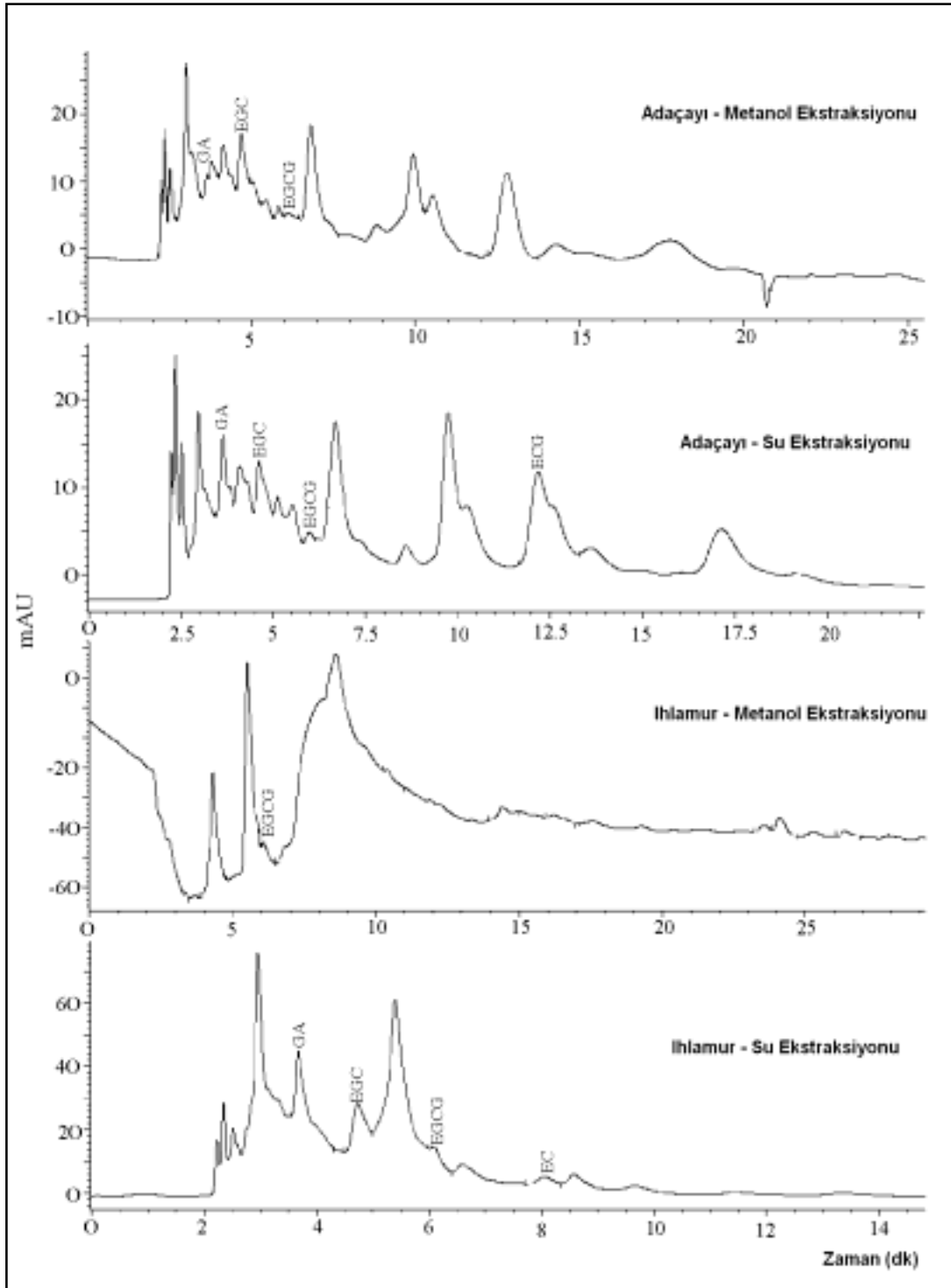
Şekil 4. 6 Gallik asit (GA), (-)-epikateşin (EC), (-)-epikateşin gallat (ECG), (-)-epigallokateşin (EGC), (-)-epigallokateşin gallat (EGCG) standartlarının 280 nm deki HPLC kromatogramı

Şekil 4.6'da tayini yapılacak olan her bir polifenölü 5, 10, 20, 30, 40 mg/L derişimlerde içeren polifenol standart karışımına ait kromatogram görülmektedir. Polifenol standart karışımına ait kalibrasyon grafiği ise şekil 4.7'de verilmiştir. Şekilde de görüleceği gibi tüm kalibrasyon eğrileri lineer olup korelasyon katsayıları 0.99'dan büyüktür. Analizi yapılan tüm bileşenler için kalibrasyon grafiklerinde fenolik derişim ile pik alanları arasında iyi bir korelasyonun olduğu görülmektedir.



Şekil 4. 7 Polifenol standart karışımına ait kalibrasyon grafiği

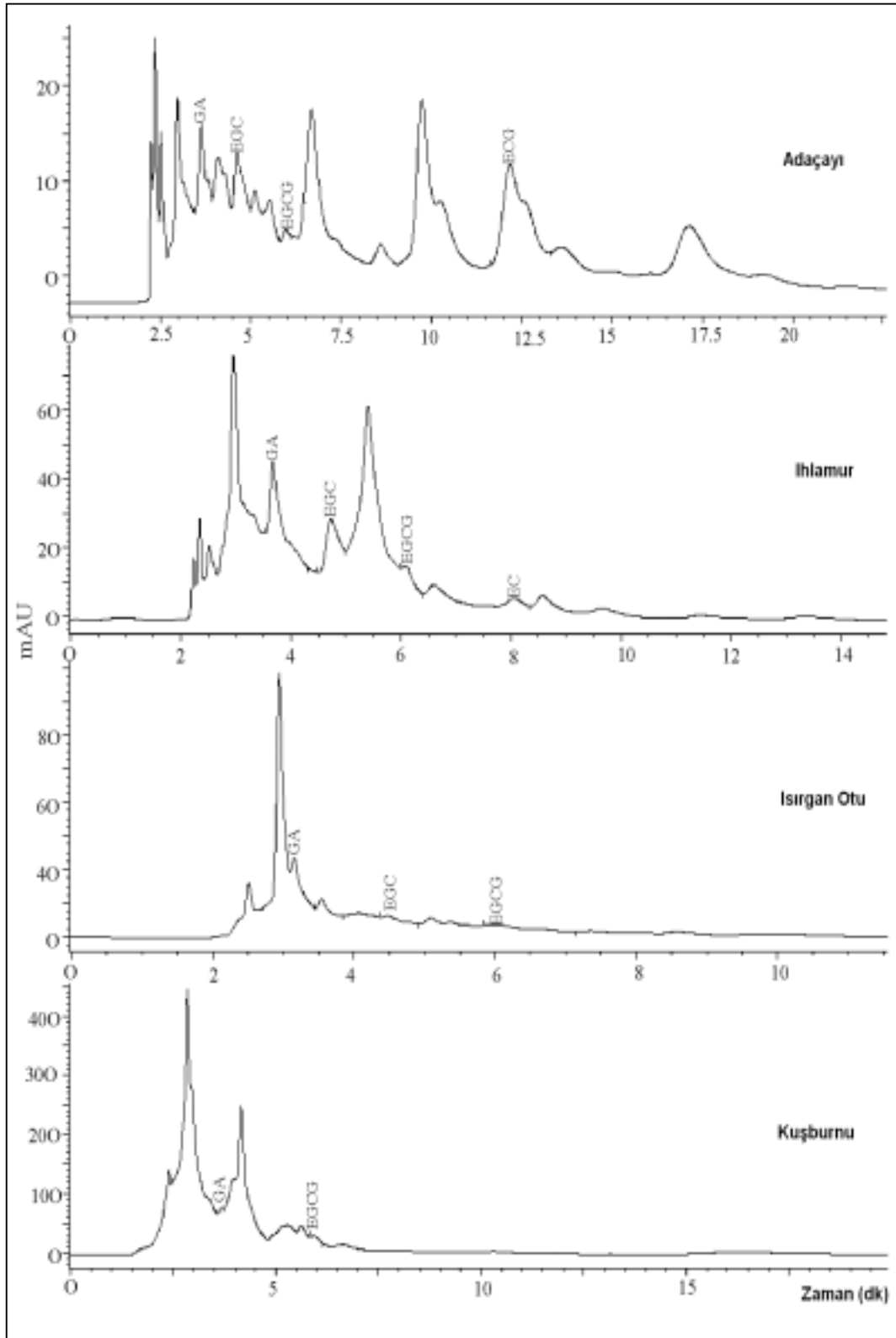
Adaçayı ve ıhlamur bitkilerinin su ve alkol (metanol) ekstraktlarına ait kromatogramlar şekil 4. 8’de verilmiştir.



Şekil 4. 8 Adaçayı ve ıhlamur bitkilerinin su ve alkol (metanol) ekstraksiyonlarına ait elde edilen kromatogramlar

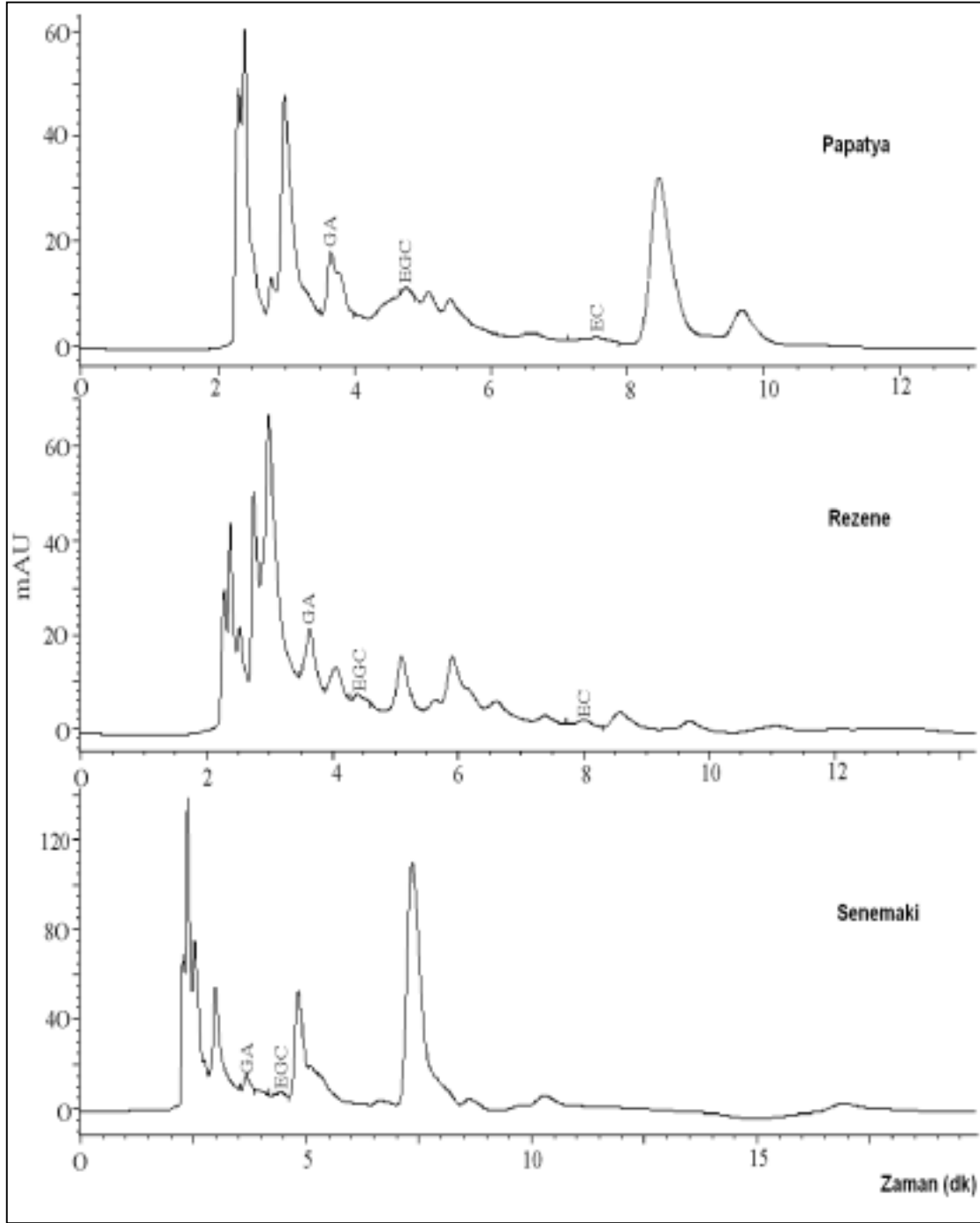
Şekil 4.8'deki adaçayı ve ıhlamur bitkilerinin metanol ve su ile hazırlanmış olan ekstraktlarına ait kromatogramlar incelendiğinde alkol ekstraktlarına ait kromatogramların su ekstraktlarınınkine göre daha kötü olduğu yani piklerin birbirlerinden yeterince ayrılmamış olduğu ayrıca piklerde yayılmalar ve kuyruklanmaların meydana geldiği görülmektedir. Kromatogramlarda görülen polifenollere bakılacak olursa adaçayının su ekstraktında gallik asit (GA), (-)-epigallokateşin (EGC), (-)-epikateşin gallat (ECG), (-)-epigallokateşin gallat (EGCG) tespit edilirken metanol ekstraktında ise bunlardan (-)-epikateşin gallat (ECG) tespit edilememiştir. Benzer şekilde ıhlamurun su ekstraktında gallik asit (GA), (-)-epigallokateşin (EGC), (-)-epikateşin (EC), (-)-epigallokateşin gallat (EGCG) tespit edilirken metanol ekstraktında sadece(-)-epigallokateşin gallat (EGCG) tespit edilmiştir. Bu sebepten dolayı bitkisel çay örneklerinin analize hazırlanması işleminde ekstraksiyon basamağında metanol yerine su ile ekstraksiyon tercih edilmiştir.

Adaçayı, ıhlamur, kuşburnu ve ısırgan otu bitkilerinin su ekstraktlarına ait kromatogramlar şekil 4. 9'da verilmiştir.



Şekil 4. 9 Adaçayı, ıhlamur, kuşburnu ve ısırgan otu bitkilerinin su ekstraktlarına ait elde edilen kromatogramlar

Papatya, rezene, senemaki bitkilerinin su ekstraktlarına ait elde edilen kromatogramlar şekil 4.10’da verilmiştir.



Şekil 4. 10 Papatya, rezene, senemaki bitkilerinin su ekstraktlarına ait elde edilen kromatogramlar

Şekil 4.9 incelendiğinde adaçayına ait kromatogramda gallik asit (GA), epigallokateşin (EGC), epikateşin gallat (ECG) ve epigallokateşin gallat (EGCG) polifenollerine ait piklerin düzgün bir şekilde ayrıldığı görülmektedir. Ihlamura ait kromatogramda ise gallik asit (GA), epigallokateşin (EGC), epikateşin (EC) ve epigallokateşin gallat (EGCG) polifenol piklerinin yine düzgün bir şekilde ayrılmış olup adaçayınıninkine göre daha sade bir kromatogram elde edilmiştir. Isırgan otuna ait kromatogram incelendiğinde oldukça sade bir kromatogramın elde edildiği göze çarpmaktadır. Bu kromatogramda ise gallik asit (GA), epigallokateşin (EGC) ve epigallokateşin gallat (EGCG) polifenollerine ait pikler görülmektedir. Kuşburnuna ait kromatogramda ise gallik asit (GA) ve epigallokateşin gallat (EGCG) pikleri görülmektedir. Ancak bu pikler diğerlerinde olduğu gibi fazla belirgin değildir. Dört kromatogramda da polifenollerin alıkonma zamanları değişmeden kalmış yani hepsinde kararlı alıkonma süreleri söz konusudur.

Şekil 4.10 incelendiğinde papatya ve rezeneye ait olan kromatogramlarda gallik asit (GA), epigallokateşin (EGC) ve epikateşin (EC) polifenollerine ait pikler göze çarpmaktadır. Her iki kromatogramda da fenolik bileşenlerin alıkonma sürelerinde bir değişimin olmadığı görülmektedir. Senemakiye ait olan kromatograma bakıldığında sadece gallik asit (GA) ve epigallokateşin (EGC) polifenollerine ait pikler görülmektedir. Bu kromatogramda da bileşenlerin alıkonma süreleri yine öncekilerle aynıdır.

Polifenollerin HPLC ile tayini yapılırken bir gradient elüsyon programı uygulandı ve tüm bileşenler 14 dakikada başarıyla ayrıldı. Ayrıca, piklerin ayrılmasına asetik asitin herhangi bir etkisinin olup olmadığını anlamak amacıyla hareketli faza değişen oranlarda asetik asit eklendi ve piklerin ayrılması üzerine çok az bir olumlu etkisi olduğu belirlendi. Asetik asitin miktarı biraz daha artırıldığında ise alıkonma zamanında bir miktar azalma olduğu görüldü. Buna göre hareketli faza % 1 oranında asetik asit eklenerek hareketli fazın yüzde bileşimi su:metanol:asetik asit (70:29:1) olarak belirlendi. Metanol derişimi % 29'un üzerine çıkarıldığında ise sinyallerde büyük miktarda azalmalar ve pik genişliklerinde artma görüldü.

Yapılan HPLC analizleri sonucunda çay örneklerinde tespit edilen polifenol içerikleri çizelge 4.4’de verilmiştir.

Çizelge 4. 4 Çalışılan bitkisel çaylarda tayin edilen önemli polifenollerin derişimleri

Örnek	Derişim (ortalama ± standart sapma; n=5) (mg polifenol / g bitkisel çay±S)				
	GA	EGC	EGCG	EC	ECG
Ihlamur	2.28 ± 0.40	7.02 ± 0.41	0.36 ± 0.09	0.86 ± 0.09	---
Isırgan Otu	0.63 ± 0.01	3.44 ± 0.04	0.38 ± 0.05	---	---
Kuşburnu	1.17 ± 0.08	---	0.56 ± 0.06	---	---
Papatya	1.19 ± 0.04	1.69 ± 0.33	---	0.32 ± 0.04	---
Rezene	0.60 ± 0.03	1.50 ± 0.14	---	0.39 ± 0.04	---
Adaçayı	0.50 ± 0.03	1.83 ± 0.02	0.18 ± 0.03	---	0.58 ± 0.03
Senemaki	0.35 ± 0.02	1.45 ± 0.07	---	---	---

Çizelge 4.4’teki veriler incelendiğinde insan vücudunda birçok yararlı metabolik olayların yürütmesinde ve özellikle kanser gibi bazı hastalıkların oluşumunun engellenmesinde rol alan polifenol ailesinin en basit üyesi olan gallik asiti çalışılan tüm bitkisel çay örneklerinin içerdiği ve örneklerdeki gallik asit miktarının 0.35 mg/g ile 2.28 mg/g aralığında olup en yüksek gallik asit içeriğine ihlamurun, en düşük gallik asit içeriğine ise senemakinin sahip olduğu görülmektedir.

Çay örneklerindeki kateşin grubu polifenollerden olan epigallokateşin (EGC) miktarı 1.45 mg/g ile 7.02 mg/g arasında değişmekte ve kuşburnu dışındaki tüm çay örneklerinde EGC bulunmaktadır. En yüksek EGC içeriği gallik asitte olduğu gibi ihlamurda tespit edildi. EGC derişiminin en düşük olduğu çay ise senemaki’dir. Ayrıca ısırgan otunun 3.44 mg/g gibi yüksek bir EGC içeriğine sahip olduğu görülmektedir.

Polifenollerin önemli üyelerinden biri olan epigallokateşin gallat (EGCG), papatya, rezene ve senemaki bitkilerinin dışındaki diğer tüm bitkisel çay örneklerinde tespit edilmiş olup en yüksek EGCG içeriği 0.56 mg/g ile kuşburnu bitkisine, en düşük EGCG içeriği ise 0.18 mg/g ile adaçayına aittir. İhlamur ve ısırgan otunun EGCG içerikleri birbirine oldukça yakın olup sırasıyla 0.36 mg/g ve 0.38 mg/g'dır.

Bir diğer önemli kateşin grubu polifenol olan epikateşin (EC) ise, ıhlamur, papatya ve rezene bitkilerinde 0.32 mg/g ile 0.86 mg/g derişim aralığında tespit edilmiştir. En yüksek EC içeriği gallik asit ve epigallokateşinde olduğu gibi ıhlamura aittir. Isırgan otu, kuşburnu, adaçayı ve senemaki bitkilerinde ise EC polifenolüne rastlanmamıştır.

Kateşin grubu polifenollerinden bir başkası olan epikateşin gallat, sadece adaçayında tespit edilmiş olup derişimi 0.58 mg/g'dır. Diğer çay örneklerinde bu polifenole rastlanmamıştır.

Yapılan bu çalışmada önemli polifenol içerikleri belirlenen yedi farklı çay örneğinde tayini yapılan 5 polifenolün toplam içeriklerini sıralayacak olursak, ıhlamur > ısırgan otu > papatya > adaçayı > rezene > senemaki > kuşburnu gibi bir sıralama yapmak mümkündür. Görüldüğü gibi gallik asit ve kateşin grubu polifenol içeriği bakımından en zengin olan bitkisel çay ıhlamurdur. Ancak ısırgan otu da ıhlamur gibi polifenol içeriği bakımından zengindir. Senemaki bitkisi ise tayini yapılan polifenoller açısından diğer çay örneklerine göre daha fakirdir. Yapılan bu çalışmaya benzer bir çalışma Zuo ve arkadaşları tarafından sekiz farklı yeşil ve siyah çay kullanılarak yapılmıştır [116]. Yaptıkları çalışma sonunda elde etmiş oldukları sonuçlardan gallik asit dışındaki diğer polifenol miktarları bu çalışmada bulunan değerlerden daha yüksektir. Çalışmamızda kullanılan çay örnekleri taze çay yapraklarının direkt olarak kurutulması ile elde edilmiş olup yeşil çayda olduğu gibi fermentasyona uğramamıştır. Fermentasyon sırasında çayda bulunan kateşin grubu polifenoller okside olabilmekte veya diğer polifenollere kondense olarak theaflavinler ve thearubiginler gibi diğer büyük moleküllü polifenolleri oluşturabilmektedirler. Oluşan bu okside yapıların sağlık üzerine ne gibi etkilerinin olduğu henüz tam olarak anlaşılmış değildir. Bu yapılara ek olarak polifenollere yapı olarak çok benzeyen ve uyarıcı etki yapabilen kafein maddesi çalışılan bu çaylarda bulunmamaktadır. Bitkisel çaylar bu özelliklerinden dolayı siyah çaya göre daha fazla tercih edilmekte olup hatta bazı rahatsızlıklarda tedavi amacıyla bebeklere bile rahatlıkla verilebilmektedir.

6. TARTIŞMA

Bu çalışmada yedi farklı bitkisel çay örneğindeki makro ve mikro düzeydeki 14 elementin ve bazı önemli polifenollerin tayinleri yapılmış olup, bu çayların element ve polifenol içeriklerinin yeşil çay ve siyah çayla karşılaştırıldığında daha düşük seviyede olduğu ortaya koyulmuştur.

Çay örneklerindeki makro ve mikro düzeydeki 14 elementin (Ca, Mg, Fe, Mn, Al, Cu, Zn, Sr, Ba, Cr, Ni, Co, Pb, Cd) tayini için iki farklı element analiz metodu uygulandı. Makro düzeydeki Ca ve Mg elementlerinin tayini için FAAS, mikro düzeydeki elementlerin tayini için ise ICP-AES teknikleri kullanıldı. Bu tekniklerden FAAS, makro düzeydeki elementlerin tayini için uygun bir teknik olup aynı zamanda oldukça ekonomiktir. Mikro düzeydeki elementlerin tayini için uygulanan ICP-AES tekniği ise özellikle gıda maddelerinde eser düzeyde bulunan Cd, Pb, Co ve Cr gibi toksik özellikteki elementlerin tayininde oldukça duyarlı ve tekrarlanır sonuçlar vermektedir.

Bu çalışmada çay örneklerinin önemli polifenol içeriklerinin tayini için geliştirilen gradient sistem RP-HPLC metodu ile en temel polifenolik yapı olan gallik asit ve insan vücudunda kanser oluşumunu engelleme gibi olumlu etkileri olduğu bilinen (-)-epikateşin, (-)-epigallokateşin, (-)-epikateşin gallat ve (-)-epigallokateşin gallat polifenolleri hızlı ve eş zamanlı olarak tayin edilmiştir. Geliştirilen bu metodun bir diğer avantajı ise oldukça ekonomik olmasıdır. Bu sebepten dolayı uygulanan bu analiz tekniğinin çalışmada kullanılan bitkisel çay örnekleri gibi gıda maddelerinin rutin kalite kontrolleri için oldukça uygun bir metot olduğu söylenebilir.

Yapılan bu çalışma sonucunda, bitkisel çay örneklerinin insan sağlığı açısından önem taşıyan birçok element ve yine insan sağlığı üzerinde olumlu etkileri olan polifenollerden bazılarını içerdikleri tespit edildi. Ancak yukarıda da belirtildiği gibi bu bitkiler her ne kadar insan sağlığı açısından faydalı bileşenleri içerseler de kullanılmadan önce mutlaka kalite kontrollerinin yapılarak içerikleri belirlenmelidir.

İlerideki çalışmalarda daha geniş kapsamlı olarak bu tip bitkisel örneklerdeki diğer element ve önemli diğer organik madde içeriklerinin ICP-MS, GC, GC-MS, LC-MS ve HPLC teknikleri yardımıyla analizleri amaçlanmaktadır.

7. KAYNAKLAR

- [1] T. Baytop, Türkiye'de Bitkilerle Tedavi, İstanbul, 1984, 122.
- [2] Anonim, Meryem Ana Şifalı Bitkilerle Tedavi Sitesi, 2004.
- [3] Anonim, Vega Naturel Ürünler Pazarlama Ltd., Şifalı Bitkiler ve Yararları, 2004.
- [4] E. Hohenberger E, Heilpflanzen die wirklich helfen, 1994, Germany.
- [5] L. Tuğrul, Sağlıklı Yaşam İçin, İstanbul, 2004, 9-11.
- [6] A. Alkan, Şifalı Bitkiler Sözlüğü, İstanbul, 2004, 201.
- [7] Anonim, Bitkisel Tedavi İnternet Sitesi, Şifalı Bitkiler ve Yararları, 2004.
- [8] World Health Organisation, Food Safety Reports, 1986-2004.
- [9] A. Baysal, Beslenme, Ankara, 1996, 110-130, 258-260.
- [10] B. Saldamlı, Gıda Kimyası, Ankara, 1998, 379-392.
- [11] A. Wilkie, C.H. Cordess, Ginseng: a root just like a carrot?, **J.R. Soc. Med.**, (1994), 87:594.
- [12] Mualla Çetin, Anemi Çeşitleri, Hacettepe Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Hematoloji Ünitesi, Ankara, 2005.
- [13] P.C.Onianwa, O. Adeyemo, E. Idowu, E. Ogabiela, Copper and Zinc contents of the Nigerian foods and estimate of adult dietary intakes, **Food Chemistry**, 72 (2001) 89-95.
- [14] Türk Tabipler Birliği Raporu, İnsan Sağlığını Etkileyen Faktörler, 2004.
- [15] H. Keskin, Besin Kimyası, İstanbul, 1987, 369-380.
- [16] S. Davies, A. Stewart, Nutritional Medicine, 1995, 84-86.
- [17] S. Davies, A. Stewart, Nutritional Medicine, 1995, 1995, 87.
- [18] Ç. Güler, Z. Çobanoğlu, Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi No: 43, T.C. Sağlık Bakanlığı Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı, Ankara, 1997, 77.
- [19] Ç. Güler, Z. Çobanoğlu, Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi No: 43, T.C. Sağlık Bakanlığı Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı, Ankara, 1997, 59.

- [20] Ç. Güler, Z. Çobanoğlu, Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi No: 43, T.C. Sağlık Bakanlığı Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı, Ankara, 1997, 56.
- [21] S. Davies, A. Stewart, Nutritional Medicine, 1995, 95-97.
- [22] L.K. Mahan and S. Stump, S. Krause's food, Nutrition and diet therapy, Philadelphia, Pennsylvania: Saunders Company, 1996.
- [23] J. Wollgast, E. Anklam, Polyphenols in chocolate: is there a contribution to human health?, **Food Research International**, 33 (2000) 449-459.
- [24] L. Tuğrul, Sağlıklı Yaşam İçin, İstanbul, 2004, 11-13.
- [25] Ji Hoon Jeong, Hyung Jun Kim, Tae Jin Lee, Mi Kyung Kim, Eon Sub Park and Byung Sun Choi, **Toxicology**, Volume 195, Issue 1, 15 (2004) 53-60.
- [26] A. Higuchi, K. Yonemitsu, A. Koreeda, S. Tsunenari, Inhibitory activity of epigallocatechin gallate (EGCg) in paraquat-induced microsomal lipid peroxidation-a mechanism of protective effects of EGCg against paraquat toxicity, **Toxicology**, Volume 183, Issues 1-3 (2003) 143-149.
- [27] M.D. Edzard Ernst, Harmless Herbs? A Review of the Recent Literature, **The American Journal of Medicine**, Volume 104, Issue 2, (1998) 170-178.
- [28] G.M. Gandolfo, G. Girrelli, L. Conti, Hemolytic anemia and thrombocytopenia induced by cyanidanol, **Acta Haematol.**, 88 (1992) 96-99.
- [29] H. Maechel, Diarrhe chronique secondaire au Cirkan. **Gastro. Clin. Biol.**, (1992) 16:373.
- [30] L. Lin, Y.S. Ho, Flavonoid-induced acute nephropathy. **American J. Kidney Dis.**, (1994) 23:433.
- [31] A. Castot, D. Larrey, Hepatites observes au cours d'un traitement par un medicament une tisane contenant de la Germandree petit-chene. **Gastro. Clin. Biology**, (1992) 16:916-922.
- [32] D. Larrey, T. Vial, A. Pauwels, Hepatitis after germander administration. **Ann Int. Med.**, (1992) 117:129-132.
- [33] N. Mostefa Kara, A. Pauwels, E. Pines, Fatal hepatitis after germander tea. **Lancet**, (1992) 340:674.
- [34] A. Mattei, T. Bizollon, D. Charles, Hepatitis and germander. **Gastro. Clin. Biology**, (1992) 16:798-800.
- [35] S.H. Caldwell, J.W. Feeley, ThF. Wieboldt, Acute hepatitis with use of over the counter herbal remedies, **Virginia Med. Q.**, (1994) 121:31-33.

- [36] J.L. Vanherweghem, M. Depierreux, C.H. Tielmans, Rapidly progressive renal fibrosis in young women: association slimming regimen including Chinese herbs, **Lancet**, (1993) 341:387-391.
- [37] M. Vanhaelen, R. Vanhaelen, P. But, Identification aristolochic acid in Chinese Herbs, **Lancet**, (1994) 343:174.
- [38] WF. Kao, D.Z Hung, K.P. Lin, Podophyllotoxin intoxication: toxic effect of Bajiaolian in herbal therapeutics, **Hum Exp. Toxicology**, (1992) 11:480-487.
- [39] S. Itoh, K. Marutani, T. Nishijima, Liver injuries induced by herbal medicine, syo-saikoto-to, **Dig. Dis. Sci.**, (1995) 40:1845-1848.
- [40] A. Wilkie, C.H. Cordess, Ginseng: a root just like a carrot? **J.R. Soc. Med.** (1994) 87:595.
- [41] JC. Gonzales-Seijo, YM. Kamos, Manic episode and ginseng. Report of a possible case, **J. Clin. Psychopharmacology**, (1995) 15:447-448.
- [42] Y.T. Tai, PPH. But, K. Young, Herb-induced aconitine poisoning, **Lancet**, (1993) 341-343.
- [43] D.J. Cahill, R.Fox, P.G.Wadle, Multiple follicular development associated with herbal medicine, **Hum. Reprod.**, (1994) 9:1469-1470.
- [44] CP Siegers., E. Von Hertzberg-Lottin, M. Otte, Anthranoid laxative abuse: a risk of colo-rectal cancer? **Gut**. 1993;34:1099-1101.
- [45] Y.J. Surh, S.S. Lee, Capsaicin in hot chilli pepper: carcinogen, co-carcinogen or anticarcinogen, **Fed Chem. Toxicology**, (1996) 34:313-316.
- [46] D.W. Dunbabin, G.A. Tallis, PY. Poplewell, Lead poisoning from Indian herbal Medicine, **Med. Journal Austr.**, (1992) 157: 835-836.
- [47] G.R. Bayly, R.A. Braithwaite, T.M.T. Sheehan, Lead poisoning from Asian traditional remedies in West Midlands, **Hum. Exp. Toxicol.**,(1995) 14:24-28.
- [48] Anonim, Bitki.org, Bitkisel Tedavi İnternet Sitesi, 2005.
- [49] A. Niel, C.H. Silagy, Garlic, its cardioprotective effects, **Current Opin. Libidol.**, (1994) 5:6-10.
- [50] P.M Gy, Sampling of particulate materials, Theory and Practice, **Elsevier**, Amsterdam, 1982.
- [51] R. Simith, G. James, The sampling of bulk materials, **The Royal Society of Chemistry**, London, 1981.
- [52] M. Stoeppler, Sampling and Sample Preparation, **Springer**, Berlin,1997.

- [53] R. Bock, Handbook of Decomposition Methods in Anal. Chem., New York: **Wiley**,1979.
- [54] S. Erdoğan. “Çeşitli bakliyat ürünlerinde bazı metallerin (Cu, Zn, Mn, Fe) spektroskopik tekniklerle analizleri”, Yüksek lisans tezi, İnönü Üniversitesi, Malatya, 2002.
- [55] Cho Yan Zou, Ming Keong Wong, Lip Lin Koh, Yeow Chin Wee, Microwave-assisted dilute acid extraction of trace metals from biological samples for AAS determination, **Journal of Analytical Atomic Spectroscopy**, 11: (1996); 585-590.
- [56] R. Bock, Handbook of Decomposition Methods in Anal. Chem. New York: Wiley, 1979.
- [57] M. Burgera, J.L. Burgera, Microwave assisted sample decomposition in flow analysis. **Analytical Chimica Acta**, (1998) 366:63-80.
- [58] Eskilsson C., Bjorklund E., Analytical Scale microwave assisted extraction, **Journal of Chromatography A**, (2000) 227-250.
- [59] D. Gutwerk, Berghof Products + Instruments GmbH, Germany.
- [60] M. Kolb, P. Rach, J. Schaefer, A. Wild, **Fresenius J. Anal. Chem**, 342 (1992) 341.
- [61] Pier Luigi Buldini, Loretta Ricci and Jawahar Lal Sharma, Recent applications of sample preparation techniques in food, **Journal of Chromatography A**, (2002) 975:1 47-70.
- [62] B.E. Richter, B.A. Jones, J.L. Ezzell, N.L. Porter, N. Avdalovic, C. Pohl, **Anal. Chem.**, 68 (1996) 1033.
- [63] M. Varcacel, M.T. Tena, **Fresenius J. Anal. Chem.**, 358 (1997) 561.
- [64] C.S. Eskilsson, E. Bjorklung, **Journal of Chromatography A**, 902 (2000), 227.
- [65] A. Robertson, N. Patel, J.G. Sergeant, Immunofluorescence Detection of Mould-An Ald The Howard Mould Counting Technique, **Food Microbiology**, (1988) 5:33-42.
- [66] F. Lanza, B. Sellergen, **Chromatographia**, 53 (2001) 599.
- [67] R.E. Majors, LC / GC, (1986) 4:972.
- [68] Bernardo Moreno Cordero, José Luis Pérez Pavón, Carmelo García Pinto, M^a Esther Fernández Laespada, Rita Carabias Martínez and Encarnación Rodríguez Gonzalo Analytical applications of membrane extraction in chromatography and electrophoresis, **Journal of Chromatography A**, 902 (2000) 195-204.

- [69] Pier Luigi Buldini, Anna Mevoli and Angelo Quirini, On-line microdialysis–ion chromatographic determination of inorganic anions in olive-oil mill wastewater, **Journal of Chromatography A**, 882 (2000) 321-328.
- [70] L. Bovanová and E. Brandsteterová, Direct analysis of food samples by high-performance liquid chromatography, **Journal of Chromatography A**, 880 (2000) 149-168.
- [71] B. Welz, Atomic Absorbtion Spectrometry, 2nd Ed. New York: VCH Publishers, 1985.
- [72] D.A. Skoog, F.J. Holler, A. Nieman, Principles of Instrumental Analysis, Sounders Publishing, 1998, 207.
- [73] C.W. Foller, Electrothermal atomization for atomic absorbtion spectroscopy, The Chemical Society, 1978.
- [74] Akihiro Matsumoto, Toshitsugu Kobata and Taketoshi Nakahara, Determination of cadmium in polyethylene by analytical atomic spectrometry with gas-phase sample introduction technique, **Microchemical Journal**, 76:1-2 (2004) 43-51.
- [75] J. Dedina and D.L. Tsalev, Hydride generation atomic absorption spectrometry, Wiley, Chichester (UK), 1995, **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 51:5 (1996) 549.
- [76] S.M. Harnly, Encyclopedia of Analytical Chemistry, 1986, 58, 933A.
- [77] S. Caroli, Improved hollow cathode lamps for atomic spektroskopy, New York: Wiley, 1985.
- [78] E. Kılıç, F. Köseoğlu, H. Yılmaz, Enstrümental Analiz, Ankara, 1993.
- [79] W.B. Barnet, J.W. Vollmer, S.M. Denuzzo, Atomic absorbtion, **Newslett.** 1976; 15-33.
- [80] S. Erdoğan. “Çeşitli bakliyat ürünlerinde bazı metallerin spektroskopik tekniklerle analizleri”, Yüksek lisans tezi. 2002; 36-38, İnönü Üniversitesi, Malatya, 2002.
- [81] Store and H.L. Kahn, American Laboratory, 11-100, 1982.
- [82] D.A. Skoog, F.J. Holler, A. Nieman, Principles of Instrumental Analysis, Sounders Publishing, Philadelphia, 1998; 9C, 219.
- [83] İzmir İleri teknoloji enstitüsü, Araştırma laboratuarları, Atomik Spektroskopi Lab. ICP-AES çalışma notları, İzmir, 2004.
- [84] R.F. Browner, A.W. Boorn, Analytical Chemistry, 1984, 56, 787A, 875A.

- [85] A. Varma, CRC Handbook of Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy, CRC Press, Boca Raton, 1990.
- [86] B.E. Richter, J.L. Ezzell, D. Felix, American Laboratory, 1995; 27(4):24-28.
- [87] K. Levine, K.A. Wagner, B.T. Jones, Low-Cost modular electrothermal vaporization system for ICP-AES, **Appl. Spectroscopy**, 52:9 (1998) 1165-1171.
- [88] T.S. Conner, J. Yang, J.A. Koropchak, New developments in thermospray sample introduction for atomic spectroscopy, **Spectrochim. Acta Review**, 52B (1997) 1087-1104.
- [89] V. Karanassios, G. Holick, Direct sample insertion devices for ICP spectrometry, **Spectrochim. Acta Review**, 13:2 (1990) 89-166.
- [90] L. Moenke-Blankenburg, Laser-ICP spectrometry, **Spectrochim. Acta Review**, 15:1 (1993) 1-38.
- [91] F.E. Lichte, S.R. Korrtyohann, Introduction coupled plasma emission a different angle, **Federation of Analytical Chem. and Spectroscopy Society**, (1976) paper 26.
- [92] D.R. Demers, Evaluation of axially viewed inductively coupled argon plasma source for AES, **Appl. Spectroscopy**, 33:6 (1979) 584-591.
- [93] R.A. Meyers, ICP-OES. Encyclopedia of Analytical Chem., Wiley, 1998, 9468-9483.
- [94] M. Thompson, J.N. Walsh, Handbook of Inductively Coupled Plasma Spectroscopy, Chapman & Hall, New York, 1989.
- [95] D.A. Skoog, F.J. Holler, A. Nieman, Principle of Instrumental Analysis, Sounders Publishing, Philadelphia, 1998; 232.
- [96] Baltic University, Environmental Sciences, 2003, Chapter 12.
- [97] K.E. Jarvis, A.L. Gray and R.S. Houk, Handbook Of ICP-MS. New York Chapman and Hall, 1992.
- [98] A. Yıldız, Ö. Genç, Enstrümental Analiz, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, A-64, 1993, ISBN : 975-491-028-6, 215.
- [99] R. Jenkins, X-Ray Fluorescence Spectrometry. 1998; Wiley, New York.
- [100] W.D. Ehmann and D.E. Vance, Radiochemistry and Nuclear Methods Of Analysis. New York: Wiley, 1991.
- [101] V.L. Singleton, R. Orthofer and R.M. Lamuela-Raventos, In Analysis of total phenolic by means of Folin-Ciocalteu reagent Methods in Enzymology,

- Oxidants and Antioxidants, Part A, Lester Packer (ed) (1999) 299:152-178. Academic Press, San Diego.
- [102] A. Yıldız, Ö. Genç, Enstrümental Analiz, Hacettepe Üniversitesi Yayınları A-64, 1993, ISBN : 975-491-028-6, 421-438.
- [103] D.A. Skoog, F.J. Holler, A. Nieman, Principle of Instrumental Analysis, Sounders Publishing, Philadelphia, 1998, 729.
- [104] L.R. Snyder, J.L. Glajch, J.J. Kirkland, Practical HPLC method development, John Wiley & Sons, 1988, ISBN 0-471-62782-8, 1-13.
- [105] J.H. Knox, and B. Kauer, High Performance Liquid Chromatography, Brown. P.R. and Hartwick, R.A. Eds.; Wiley Interscience, New York, 1989, Chapter 4.
- [106] P. Brown, K. DeAntonis, High Performance Liquid Chromatography, University of Rhode Island Department of Chemistry.
- [107] R.P.W. Scott, Liquid Chromatographic Detectors, Amsterdam, Elsevier, 1986.
- [108] E.S. Yeung and R.E. Synovec, Anal. Chem., 1986, 58, 1237A.
- [109] C.A. Dorschel, J.L. Ekmanis, J.E. Oberholtzer, F.V. Jr. Warren, B.A. Bidlingmeyer, Analytical Chemistry, 1989, Vol. 61, pp. 952.
- [110] İstanbul Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı, Kromatografik Analiz Lab. Çalışma Notları, 2004.
- [111] D.B. Rorabacher, Analytical Chem., 1991, 63, 139.
- [112] D.A. Skoog, F.J. Holler, D.M. West, Fundamentals of Analytical Chemistry, Sounders Publishing, Orlando, Florida, 1991, 56.
- [113] PL. Fernandez, F. Pablos, MJ. Martin, AG. Gonzales, Multi-element analysis of tea beverages by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, **Food Chem.**, (2002) 76:483– 9.
- [114] A. Lozak, K. Soytyk, P. Ostapczuk, Z. Fijayek, Determination of selected trace elements in herbs and their infusions, **Science of The Total Environment**, 289 (2002), 33–40.
- [115] M. Muller, M. Anke, H. Illigunther, Aluminium in foodstuffs, **Food Chemistry**, 61 (1998) 419– 28.
- [116] Y. Zuo, H. Chen, Y. Deng, Simultaneous determination of catechins, caffeine and gallic acids in green, Oolong, black and pu-erh teas using HPLC with a photodiode array detector, **Talanta**, 57 (2002) 307-316.

ÖZGEÇMİŞ

25.08.1980 yılında Malatya'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Malatya'da tamamladıktan sonra 1998 yılında İnönü Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünü kazandı ve 2002 yılında buradan mezun oldu. Aynı yılın eylül ayında İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalında yüksek lisans öğrenimine başladı. Yüksek lisans öğrenimi devam ederken 2004 yılı şubat ayında İnönü Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünde araştırma görevlisi olarak göreve başladı. Halen 2002 yılında başlamış olduğu yüksek lisans çalışmalarını sürdürmektedir.