

60

TC
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇAY-SU EKSTRAKTLARINDA ALUMİNYUM SPESİYASYONU

SEMA BİLMEZ ERDEMOĞLU

DOKTORA TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

MALATYA
1998

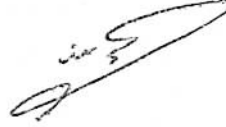
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne,

İş bu çalışma jürimiz tarafından Kimya Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

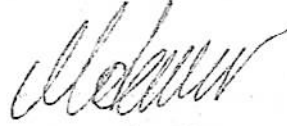
Başkan:

Prof.Dr.Şeref GÜÇER




Üye :

Prof.Dr.Mustafa DEMİR



Üye :

Prof.Dr.A.Ersin KARAGÖZLER

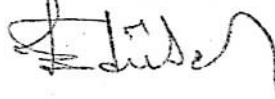


Onay

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım. .../.../1998

Prof.Dr.Eşref YÜKSEL

Enstitü Müdürü



TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın her aşamasında, değerli yardım, öneri ve yorumlarıyla bana yön veren danışman hocam Sayın Prof.Dr.Şeref GÜÇER'e,

Kimya Bölümü Başkanı Sayın Prof.Dr.A.Ersin KARAGÖZLER'e, iyon seçici elektrotlarla ilgili çalışmalarda bilgisi ve desteğini esirgemeyen Analitik Kimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Yrd.Doç.Dr.Haluk TÜRKDEMİR'e,

Reçinelerin hazırlanmasında bana yardımcı olan Fizikokimya Anabilim Dalından, Arş.Grv.Ahmet GÜLTEK'e ve çalışmalar boyunca bana destek olan Analitik Kimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd.Doç.Dr.Zehra KÜÇÜKBAY'a

ve

çalışmalarım sırasında katkısını esirgemeyip, göstermiş olduğu sabır ve hoşgörüden dolayı Maden Mühendisliği Bölümü öğretim üyesi, sevgili eşim Yrd.Doç.Dr.Murat ERDEMOĞLU'na

teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ	iv
TABLolar DİZİNİ	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
1. GİRİŞ	1
2. ALUMİNYUM SPESİASYONUNDA KAVRAMLAR VE UYGULAMALAR. 4	
2.1. Spesiasyon.....	4
2.1.1.Parçalama ve Absorbsiyon Süreçlerinde Kimyasal Türler ve Biyoyararlılık	12
2.1.2. Spesiasyon Teknikleri.....	13
2.2. Alüminyum	22
2.2.1.Fizyolojik açıdan önemli alüminyum bileşikleri.....	24
2.2.2. Alüminyumun başlıca alım kaynakları	29
2.2.3. Alüminyumun Biyoalınabilirliği	33
2.2.4. Alüminyum spesiasyonu için kullanılan teknikler	40
2.3. Çay ve Çay Bitkisinin Özellikleri	48
2.3.1. Çay bitkisinin kimyasal bileşimi	49
2.3.2. Çayda alüminyum.....	52
2.3.3. Çayda metal spesiasyonu	53
2.4. Çalışmada Kullanılan Yöntemler ve Teknikleri.....	55
2.4.1 Atomik Absorbsiyon Spektroskopisi.....	55
2.4.1.1 Girişimler	59
2.4.2. Florür Seçici Elektrot.....	62
2.4.3. Spesiasyon Çalışmalarında Kullanılan Reçineler.....	64
2.5. Analitik Verilerin Değerlendirilmesinde Temel Kavramlar	67
3. MATERYAL VE METOD	69
3.1. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Aletler	69

3.1.2. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Diğer Yardımcı Aletler	70
3.2. Spesiasyon İçin Kullanılan Reçineler ve Hazırlanışları	70
3.3. Deneysel Çalışmada Kullanılan Kimyasallar ve Çözeltilerin Hazırlanması ..	71
3.4. Metotlar.....	74
4. METOTLARIN UYGULANMASI VE BULGULAR.....	75
4.1. Alevli AAS ile Al Tayininde Standart Olarak Değişik Al Tuzlarının Kullanılması.....	75
4.2. Alevli AAS ile Al Tayininde Girişim Çalışmaları.....	76
4.3. Zamanla Çay-Su Ekstraktına Geçen Al Miktarının Tayini	81
4.4. Toz Çayda Al Analizi İçin İşlem Basamakları	82
4.5. Çay-Su Ekstraktına Geçen Al'un Tayini.....	83
4.6. Çeşitli Çay Örneklerinde Toz Çay ve Deme Geçen Al Miktarlarının Tayini.	85
4.7. Çay-Su Ekstraktlarında Aluminyum Spesiasyonu Çalışmaları	88
4.7.1. Membran Filtrelerle Çay-su Ekstraktlarında Çözülmüş ve Partiküle Aluminyumun Ayrılması ve Alevli AAS ile Tayini	88
4.7.2. Çay-Su Ekstraktlarında İyon Seçici Elektrotla Aluminyum Florür Türlerinin Tayini ve Aluminyum Spesiasyonu.....	89
4.7.3. Çay-Su Ekstraktlarında Polifenollere Bağlı Aluminyumun Protein Çöktürmesi İle Karakterizasyonu.....	101
4.7.4. Çay-Su Ekstraktlarında Organik Bağlı Aluminyum ve Katyonik Formdaki Aluminyumun Tayini	109
5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR.....	118
6. KAYNAKLAR	131

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Elementlerin çevresel ve biyolojik döngüleri.....	8
Şekil 2. Alüminyum türlerinin sulu çözeltilerdeki dağılımı.....	24
Şekil 3. Sulu çözeltilerde alüminyum florür türlerinin dağılımı.....	27
Şekil 4. İnsanda alüminyum dolaşımı.....	34
Şekil 5. Alüminyumun, diyaliz sıvısından taşınım mekanizması: a) düşük alüminyum derişiminde b) yüksek alüminyum derişiminde.....	35
Şekil 6. Doğal sularda alüminyum türlerinin ana grupları.....	38
Şekil 7. Çayın yapısında bulunan önemli polifenoller.....	50
Şekil 8. Alev absorpsiyon düzeneğinde oluşan temel olaylar.....	55
Şekil 9. Farklı Al tuzlarından hazırlanan Al standartlarının alevli AAS ile absorpsiyonlarının karşılaştırılması.....	76
Şekil 10. Alevli AAS ile Al'un absorpsiyon ölçümüne bazı katyonların etkisi.....	78
Şekil 11. Alevli AAS ile Al'un absorpsiyon ölçümüne bazı anyonların etkisi.....	78
Şekil 12. Yapay çay matriksi ve çay-su ekstraktı içerisinde hazırlanmış Al standartlarının absorpsiyon değerlerinin karşılaştırılması.....	79
Şekil 13. Al sinyali üzerine çeşitli asitlerin etkisi.....	80
Şekil 14. Farklı zamanlarda deme geçen Al miktarının izlenmesi için işlemler.....	81
Şekil 15. Zamanla deme geçen % A miktarı.....	81
Şekil 16. Toz çayda Al tayini için örnek hazırlama basamakları.....	82
Şekil 17. Çay-su ekstraktlarında alevli AAS ile Al tayini için farklı örnek hazırlama basamakları.....	84
Şekil 18. Toz çay ve çay-su ekstraktlarına geçen Al'un tayini için analiz şeması.....	86
Şekil 19. Çay su ekstraktlarının membran filtrelerden geçirilme işlemleri.....	88
Şekil 20. Potansiyometrik florür kalibrasyon grafiği.....	89
Şekil 21. pH'nin azalmasıyla serbest florür derişimindeki değişimler.....	90
Şekil 22. Artan Al ³⁺ derişimiyle serbest florür derişiminin değişimi.....	92
Şekil 23. Al-F kompleksine 2 mL ALCOA eklenmesiyle açığa çıkan serbest florür derişiminin zamanla değişimi.....	93
Şekil 24. Artan Fe ³⁺ değişikliğiyle serbest florür derişimindeki değişim.....	94
Şekil 25. Artan Fe ²⁺ derişimiyle F derişimindeki değişim.....	95
Şekil 26. Fe ³⁺ -F kompleksinin oluşumunda pH'nin etkisi.....	96
Şekil 27. Artan Mn ²⁺ derişimiyle florür derişimindeki değişiklikler.....	97
Şekil 28. Artan Mg ²⁺ derişimiyle florür derişimindeki değişim.....	97
Şekil 29. Çay-su ekstraktlarında florür bağlı Al tayini için uygulanan işlemler.....	98
Şekil 30. Al-F Kompleks türlerinin pF'nin fonksiyonu olarak dağılımı.....	99
Şekil 31. Alüminyum bağlı çeşitli polifenollerin alevli AAS ile tayininde Albumin çöktürmesine ilişkin analiz şeması.....	102
Şekil 32. Çöktürmede uygun pH'nin seçimi için analiz şeması.....	103
Şekil 33. Süzüntüde Al derişiminin pH ile değişim grafiği.....	104
Şekil 34. Değişik Albumin miktarlarıyla çöken polifenollere ilişkin analiz şeması.....	104
Şekil 35. Albumin hacmine bağlı olarak süzüntüdeki Al derişiminin değişimi.....	105
Şekil 36. Sulu ortamda ve albumin içerisinde hazırlanan Al standartlarının kalibrasyon grafiği.....	106
Şekil 37. Folin Denis yöntemiyle polifenollerin toplam analizine ait analiz şeması.....	107
Şekil 38. Çay-Su ekstraktlarının Albuminle çöktürülmesine ait analiz şeması.....	108
Şekil 39. Amberlite XAD-7 reçinesi ile doldurulmuş mini kolonda ayırma işlemi.....	109

Şekil 40. XAD-7 reçinesinde indiyum derişiminin optimizasyonu	110
Şekil 41. Reçine üzerinde tutulan katyonik Al derişiminin In derişimi ile değişim grafiği.	110
Şekil 42. Organik bağlı Al'un kolondan geri kazanma verimine reçine miktarının etkisi için analitik işlemler.....	111
Şekil 43. Kolonda alıkonan organik bağlı Al'un reçine miktarı ile değişim grafiği.	112
Şekil 44. Organik bağlı Al'un değişik pH'lardaki In çözeltisiyle muamele edilmiş XAD-7 reçinesi üzerinde alıkonması	113
Şekil 45. Al-Tannat ve Al-Gallat komplekslerinin kolonda sorpsiyon verimlerinin reçine pH'ı ile değişimi.	113
Şekil 46. Organik bağlı Al'un Chelex-100 reçinesiyle doldurulmuş kolondan geçirilmesi.....	115
Şekil 47. Katyonik Al formlarının Chelex-100 dolgulu kolondan ayrılması.....	116
Şekil 48. Organik bağlı Al ve katyonik formdaki Al'un ayrılmasına ait analitik işlemler.	117

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Çalışmada kullanılan çay örnekleri.....	69
Tablo 2. Alevli AAS ile ölçümlerde kullanılan optimizasyon parametreleri.....	69
Tablo 3. Çalışmada kullanılan asitlerin bazı özellikleri	71
Tablo 4. Girişim ve diğer çalışmalar için deneylerde kullanılan kimyasallar	73
Tablo 5. Çeşitli Al tuzlarından hazırlanan standartlar için okunan absorbanans değerleri.....	75
Tablo 6 . Çay-su ekstraktı için hazırlanan yapay matriksin bileşimi.....	77
Tablo 7 . Yapay matrikse eklenmiş Al'un geri kazanma verimi.....	79
Tablo 8 . Organik yapısı değişik şekillerde parçalanmış çay örneğindeki Al miktarları	83
Tablo 9 . Farklı şekillerde hazırlanan çay-su ekstraktlarındaki Al miktarları	85
Tablo 10 . Farklı toz çay örneklerinin organik yapısının parçalanmasına ait verimler	85
Tablo 11 . Farklı toz çay örneklerinde Al düzeyleri	87
Tablo 12 . Farklı çay-su ekstraktlarında Al düzeyleri.....	87
Tablo 13 . Filtrasyon işlemlerinden sonra çayda Al derişimleri	88
Tablo 14 . Florürün bazı katyonlarla kompleks oluşum sabitleri	91
Tablo 15 . Çay-su ekstraktlarında florüre bağlı alüminyum derişimleri	100
Tablo 16 . Polifenollere bağlı Al'un (20 mg/L) Albumin çöktürmesinden sonra süzüntüde kalan Al derişimleri	102
Tablo 17 . Değişen pH'lara karşı süzüntüde ölçülen Al derişimleri.....	103
Tablo 18 . Albumin miktarına karşı süzüntüde Al derişimleri	105
Tablo 19 . Çay-su ekstraktlarının ölçülen pH'ları	106
Tablo 20 . Çay örneklerindeki polifenollerin tannik asit cinsinden derişimleri.....	107
Tablo 21 . . Çay-su ekstraktlarında polifenollere bağlı Al'un albumin çöktürmesiyle karakterizasyonu sonuçları	108
Tablo 22 .Organik bağlı Al'un koşullandırılmış XAD-7 reçinesinden geri kazanımı	114
Tablo 23 .Organik bağlı Al'un Chelex-100 reçinesiyle doldurulmuş kolondan geçirilmesi.....	115
Tablo 24 . Chelex -100 reçinesinde bağlanan katyonik Al derişimleri.....	116
Tablo 25 . Çay-su ekstraktlarında organik bağlı ve katyonik formdaki Al miktarları	117

ÖZET

Çay-su ekstraktlarında alüminyum spesiasyonu

Doktora Tezi

Sema Bilmez ERDEMOĞLU

İnönü Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

1998

Danışman: Prof.Dr.Şeref GÜÇER

Bu tezde, Türkiye’de üretilen çaylardan hazırlanan çay-su ekstraktlarında toplam alüminyum ve her bir farklı alüminyum türü belirlenerek, alüminyum spesiasyonu çalışmalarının yapılması amaçlanmıştır.

Su ve toprak örneklerinde alüminyum spesiasyonu üzerine yapılan çalışmalar alüminyumun inorganik türlerinin organik türlerinden daha toksik olduğunu göstermiştir. Dolayısıyla alüminyumun biyoyararlılık ve toksitesinin anlaşılması için, toplam alüminyum derişimi yanında farklı alüminyum türlerinin verilmesi daha anlamlıdır. Alüminyumun önemli bir kısmı gıdalarla alınmaktadır. Bu açıdan günlük olarak çok tüketilen çay-su ekstraktları önemli bir alüminyum alım kaynağıdır ve bu yolla günlük olarak ortalama 1-5 mg/L düzeyinde alüminyum alınmaktadır. Son zamanlardaki çalışmalar alüminyum ile *Alzheimer hastalığı*, *Dialysis Dementia* ve *Dialysis Osteodystrophy* arasında yakın bağlar olduğunu göstermektedir.

Çalışmada: alevli AAS ile alüminyum tayini için, optimum ölçüm koşulları belirlendikten sonra girişim çalışmaları yapılmıştır. Çay-su ekstraktlarında toplam alüminyum derişimi yanında, çeşitli spesiasyon şemaları geliştirilerek farklı alüminyum türleri de belirlenmiştir. Organik ve katyonik bağlı alüminyum türleri Amberlite XAD ve Chelex 100 reçineleri kullanılarak ayrıldıktan sonra alevli AAS ile tayin edilmiştir. Florür bağlı alüminyum türleri florür iyon seçici elektrotu kullanılarak indirekt olarak tayin edilirken, hidrolize olabilen polifenollere bağlı alüminyum ise, protein çöktürmesi yöntemiyle ayrıldıktan sonra, yine alevli AAS ile tayin edilmiştir.

Anahtar kelimeler

Speciasion, Alüminyum, Çay, Alevli AAS, Alzheimer hastalığı

ABSTRACT

Aluminium speciation in tea infusions

Ph.D. Thesis

Sema Bilmez ERDEMOĞLU

İnönü University

Graduate School of Applied and Natural Sciences

Department of Chemistry

1998

Supervisor : Prof.Dr.Şeref GÜÇER

In this thesis, it is aimed to perform the speciation of aluminium (Al) by determining total aluminium and different species of it in tea infusions prepared by using the teas manufactured in Turkey.

Some investigations studying the speciation of aluminium in surface water and soil have shown that inorganic species of aluminium are more toxic than the organic ones. Therefore, in order to explain the bioavailability and toxicity of aluminium, it is better to give the concentration of each species in addition to that of aluminium.

It is well known that an important level of aluminium is taken via food. The tea consumed as a beverage in the form of infusion is an important source of aluminium. It is taken in the range of 1-5 mg per liter in a day by this way. Recent articles show that there is a close relationship between aluminium and *Alzheimer's Disease*, *Dialysis Dementia* and *Dialysis Osteodystrophy*.

In the study, in order to determine the aluminium in tea infusion by flame atomic absorption spectrophotometer (FAAS), interference of some cations and anions was investigated after the optimization of analysis conditions. In addition to the total concentration of aluminium, different species were determined by carrying out various analytical schemes: Organic and cationic species were determined by FAAS after the extraction using Amberlite XAD and Chelex 100 resins. Fluoride-bound species were analysed indirectly by ion selective electrode for fluoride. Aluminium with hydrolysed polyphenols was analysed by FAAS after the extraction via the method of precipitation with protein.

Keywords

Speciation, Aluminium, Tea, Flame AAS, Alzheimer's disease

1. GİRİŞ

İnsanoğlu, yerkabuğunda bulunan genellikle hızlı ve kolay alınan elementlerden ve biyokimyasallardan yararlanmaya çok uzun zaman önce başlamış ve yaşamın organik kimyasının belirli inorganik türler olmaksızın mümkün olmadığını görmüştür. Günümüzde elementlerin biyoyararlılıkları ve toksititelerinin anlaşılması için elementlerin toplam derişimlerini vermek yeterli değildir. Bu toplam derişimin yanında örnek içerisinde sözkonusu elementin herbir kimyasal türünün de belirlenmesi gereklidir.

Son yıllarda çevresel kirlilik ve bu kirliliğe sebep olan elementlerin toksik etkileri üzerine yapılan çalışmalar oldukça yoğunluk kazanmıştır. Çevredeki eser elementlerin bulunabilirliği, dağılımları, organizmada birikmeleri, biyoyararlılıkları ve bunların insanların da dahil olduğu tüm canlılar için toksikliklerinin belirlenmesi yalnızca eser element türlerinin anlaşılması yani spesiasyon çalışmaları ile mümkündür. Kimyasal türlerin canlı hayatındaki rolü ve öneminin anlaşılması için bunların ekosistemlerdeki taşınımına ve bu taşınım sırasında oluşan değişikliklere bakmak gerekir.

Aluminyum, biyolojik olarak gerekli eser elementler arasında yer almaz. Bununla birlikte aluminyum ve insan sağlığı arasındaki ilişkiyi inceleyen araştırmalar son yıllarda dikkat çekici biçimde artış göstermiştir. Yiyecekler yoluyla alınan 10 mg/kg aluminyum düzeyi nadiren aşılır ve bu düzey güvenilir görünmektedir. Ancak uzun dönemler süresince aluminyum alımı devam ettiğinde özellikle beyin dokusunda birikme söz konusu olmaktadır. 1970 den günümüze kadar böbrek yetmezliğinden şikayetçi hastaların kullandıkları diyaliz sıvılarındaki yüksek aluminyum düzeyi ile *Alzheimer* hastalığı arasında bir ilişki olduğu düşünölmektedir. Özellikle insan beyninde aluminyumun aşırı derişimlerinin *Dialysis Demantia* ve *Dialysis Osteodystropy* rahatsızlıkları sonucunda *Alzheimer* ve çeşitli kemik hastalıklarına yol açtığı konusunda görüşler bulunmaktadır.

Diyaliz sıvılarında aluminyum düzeyinin 0,4 $\mu\text{mol/L}$ 'den daha az, kan plazmasında ise 1 $\mu\text{mol/L}$ 'den az olması halinde, hastalara ancak minimum aluminyum transferi olabilmektedir. Bu taşınımın süresince birikme sözkonusu ise

yukarıda adı geçen hastalıklar oluşmaktadır (Alfrey ve ark. 1976). Normal plazmada olması gereken alüminyum düzeyi, $<1 \mu\text{mol/L}$ düzeyinde iken, hastalığa yakalanmış kişilerde bu düzey $12-14 \mu\text{mol/L}$ olarak bulunmuştur.

Alüminyum her yerde bulunabilen bir element olmasının yanında çevremizde özellikle sanayide oldukça geniş bir kullanım alanına sahiptir. Dünyada her yıl kişi başına $1-2$ gram alüminyum atılmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) yetişkinlerde tolere edilebilir alüminyum düzeyini haftalık 7 mg/kg olarak belirlemiştir. Alüminyum, çevre, beslenme, yiyecekler, içecekler eklenen koruyucu maddeler, sağlık ve tıbbi bakım ilaçları olmak üzere; insanlar tarafından çok değişik yollarla alınmaktadır. Ayrıca alüminyum tuzları eskiden beri su teknolojisinde koagülant olarak kullanılmaktadır. Günümüzde içme sularında bulunmasına izin verilen alüminyum derişimi, $0,2 \mu\text{g/L}$ olarak belirlenmiştir (Mohammad ve ark. 1992). Günlük gıdalarla $0,1-10 \text{ mg/kg}$ düzeyinde alüminyum alınmaktadır ve besinler içerisinde alüminyum alımı açısından en önemli kaynaklardan birisi çaydır. Çay su ekstraktlarıyla $1-5 \text{ mg/L}$ aralığında alüminyum alınmaktadır. Bu şekilde beslenme ile günlük olarak alınan alüminyum miktarının $1-10 \text{ mg}$ arasında değiştiği tahmin edilmektedir. Ancak antasit türü ilaçların kullanılmasıyla alınan alüminyum düzeyinin beslenme ile alımandan çok daha yüksek olduğu görülmüştür (Massey ve Taylor 1988).

Doğal sularda alüminyum, hekzaakua kompleksi veya Al^{3+} , hidrokso, floro, sülfat, karbonat, silikat, fosfat ve başta hümik asitler olmak üzere farklı kimyasal türlerle birlikte bulunabilir. Doğal sularda alüminyum derişiminin artmasıyla balıkların, alglerin ve okyanus bakterilerinin zehirlendiği ortaya çıkmıştır ve organik bağlı alüminyum türlerinin inorganik bağlı alüminyum türlerinden daha az toksik olduğu belirtilmektedir (Courtijn ve ark. 1990).

Pekçok farklı yollarla alınan alüminyumun biyoalınabilirliği ve toksisitesinin belirlenmesi için toplam element derişimini vermek yeterli değildir. Toplam derişimi oluşturan her bir türün belirlenmesi ise ancak spesiasyon çalışmaları ile mümkündür. Spesiasyon çalışmaları ise sağlık, biyoloji, çevre kimyası gibi farklı pek çok disiplinlerin ortaklaşa çalışmasını gerektirir.

Bu çalışmada, daha önce de belirtildiği gibi önemli bir alüminyum alım kaynağı olan ve günlük olarak çok tüketilen çay-su ekstraktlarında bulunan alüminyumun

farklı kimyasal türleri aydınlatılmaya çalışılmıştır. Çay-su ekstraktları gibi organik maddelerce zengin karmaşık bir matriks içerisinde, toplam alüminyum derişiminin yanında farklı her bir alüminyum türünün belirlenmesi, alüminyumun biyoalınabilirliği ve toksititesi açısından oldukça önemlidir. Çünkü alınan her bir alüminyum türünün bağırsakta absorpsiyonu ve taşınma mekanizması farklı olabilir.

Çalışmada çay-su ekstraktlarındaki alüminyumun toplam düzeyi alevli AAS ile tayin edildikten sonra; 0,25 µm membran filtrelerle çözülmüş alüminyum, florür iyon seçici elektrotla dolaylı olarak florür bağı alüminyum, protein çöktürmesiyle hidrolize olabilen polifenollere bağı alüminyum, Amberlite XAD-7 reçinesi kullanılarak organik bağı alüminyum ve Chelex 100 reçinesi kullanılarak da katyonik bağı alüminyum türleri ayrıldıktan sonra alevli AAS ile tayin edilmiştir.

Çalışmalar değerlendirildiğinde özellikle su ve toprak örneklerinde alüminyum spesiasyonu çalışmalarının ağırlık kazandığı, gıda örneklerinde ise toplam alüminyum derişiminin tayini dışında alüminyum spesiasyonu çalışmalarının fazla yapılmadığı görülmektedir. Aynı saptama çay için de geçerlidir. Çalışma bu açıdan önemlidir ve çay-su ekstraktlarında alüminyum spesiasyonu için model çalışmalar yapılarak, farklı spesiasyon şemaları geliştirilmiştir. Ancak yine de toplam alüminyum içerisinde bütün türler aydınlatılamamış sadece hidrolize olabilen polifenollere bağı alüminyum, florür bağı alüminyum, organik ve katyonik bağı alüminyum türleri tayin edilebilmiştir.

2. ALUMİNYUM SPESİASYONUNDA KAVRAMLAR VE UYGULAMALAR

2.1. Spesiasyon

Çevresel süreçlerin ve biyolojik taşınımın anlaşılması için; hipotezlerden deneysel çalışmalara; kaba birtakım yaklaşımlardan çok daha ileri bilimsel araştırmalara uzanan yönelmeler olmuştur. Elementlerin toplam derişimlerinin verilmesi oldukça yararlı bir yöntem olmasına rağmen, sözkonusu elementin farklı her bir fraksiyonunun tanımlanması ve derişimlerinin belirlenmesi biyoyararlılık ve toksite kavramları için daha anlamlı ve önemlidir. Bu ihtiyaçlardan dolayı, 1970'lerin sonunda toplam element derişiminin yanında, sözkonusu elementin her bir farklı türünün tanımlanmasını öngören *spesiasyon* kavramı gündeme gelmiştir. Spesiasyon kavramı tarihesinin yeni olması sürpriz değildir. Çünkü özellikle elektroanalitik teknikler ve dedeksiyon modunda iyileştirmelerle ppm'in (mg/L) de aşağısındaki derişimlerin tayin edilmesi ancak 1980'lerden sonra hız kazanmıştır. 1981 yılında "Yüzey Sularında Eser Element Spesiasyonu ve Bunların Ekolojik Önemi" konulu ilk spesiasyon sempozyumu İtalya'da yapılmış ve bunu daha sonra özellikle çevresel spesiasyon konulu pek çok toplantılar izlemiştir.

Türkçe karşılıkları ile "*tür*" ve "*türlendirme*" olarak tanımlanan "*species*" ve "*speciation*" kimyacıların biyologlardan aldıkları bir terimdir. Biyolojide "*tür*" organizma popülasyonlarının soydan gelen özelliklere sahip olması ve bunları koruması şeklinde tanımlanmaktadır. Kimyada kullanılan tür kavramı ise, element atomlarının veya farklı element atomlarından oluşmuş bir grubun moleküler formu (konfigürasyon) şeklinde tanımlanmaktadır. Biyolojide "*türlendirme*", evrim sırasında türlerin oluşum süreçlerini göstermektedir. Kimyacılar ise, spesiasyonu yani türlendirmeyi aşağıdaki kavramları içerisinde alacak şekilde kullanmaktadırlar:

- Bir örnekteki her bir türün tanımlanması ve derişimlerinin tayin edilmesi (tür analizi)
- Bir hacim içerisinde türlerin sayısal dağılımı (bulunabilirlik veya tür dağılımı)
- Verilen türlerin tepkime yetenekleri (tür reaktifliği)
- Bir türün başka bir türe dönüşümü (tür dönüşümü)

“Kimyasal tür” terimi, varolan ve düşünölen türler, matriks türleri, analit türleri gibi çeşitli şekillerde kullanılmaktadır. Türlerin bir kısmı farklı bir matriksle karşılaştıklarında matriksten gelen türlerle değişikliğe uğramadan kalabilirler ya da türlerin reaktiflikleri yani tepkinlikleri değişebilir. Bu değişikliğin olması halinde tür, artık bir matriks türü olacaktır. Kimyasal analiz sırasında ortamda varolan bir tür, yöntemin duyarlılığını artırmak için tek bir türe dönüştürölür ki, bu da analit türüdür.

Çevre örneklerinde inorganik eser maddelerin derişimlerinin ve bileşenlerinin tanımlanması için çoğunlukla element terimi kullanılmaktadır. Bu kullanım, elementlerin bir kısmının moleköler bileşimini de kapsar ki, elementler kovalent bağlı atom grupları, kompleksler ve diğer kimyasal türlere zayıf bağlı bileşikler halinde bulunabilirler. Her element en az birkaç kimyasal form da içerebilir. Koşullara bağlı olarak çevrede tek bir moleköler türden oluşabilir ya da elementin pek çok türü varsa, bunlardan bir tanesinin derişimi diğerlerinin derişiminden daha yüksek olabilir. Eğer elementin yalnızca bir türü çevrede bulunuyorsa, elementin toplam derişimi kantitasyon için yeterli olabilir. Ancak bu çok nadir karşılaşılan bir durumdur. Çünkü: elementlerin kimyasal davranışı var olan özel bir tür üzerine bağlıdır ve bu element türü de tek bir tepkime vermez. Günümüzde, elementlerin biyoyararlılıkları ve toksiteleri için elementlerin toplam derişimlerini vermenin bilgi açısından yeterli olmadığına işaret edilmektedir. Ne yazık ki, çevrede bulunan her bir element türünün tanımlanması ve bunların derişimlerinin tayininde hala güçlükler bulunmaktadır ve yalnızca kesin olarak var olan türlerin analizi mümkün olmaktadır. Çevrede bulunan pek çok element türü, derişimlerinin çok düşük olmasından dolayı, duyarlı ve spesifik olarak tayin edilememektedir. İleri düzeyde çevresel süreçlerin anlaşılmasında, kimyasal türlerin tanımlanması, kantitasyonu ve çevredeki kimyasal davranışlarının anlaşılması için uygun analitik yöntemlere ihtiyaç vardır. Kimyacılar, çevresel süreçlerde söz konusu elementin farklı moleköler formlarının önemini değerlendirmeye başladıkları zaman, bir elementin toplam

miktarı ile kimyasal formları arasında bir farklandırma yapmaya ihtiyaç duymuşlardır.

Biyolojide spesiasyon, tür evriminin bir sürecidir ve bu nedenle sadece kinetik bir çağrışım yapar. Oysa kimyacılar spesiasyonu, hem statik hem de kinetik kavramları içerecek şekilde kullanırlar. *Statik anlamda spesiasyon* terimi, bir elemente ait türlerin bulunabilirliğinin nitel ve nicel belirlenmesindeki işlem süreçlerini yani, bir örnek içerisinde varolan türlerin bulunabilirlik dağılımını kapsar.

Kinetik anlamda spesiasyon ise, bir örnek içerisinde varolan türlerin çeşitli etkilerle başka türlere dönüşümü kavramını içermektedir ve biyolojideki evrim teorisi ile benzer anlamda kullanılır. Verilen bir matriks içerisinde farklı element gruplarından oluşan bileşikler veya element atomlarının moleküler formu species "tür" olarak gösterilir. Örneğin, fosfat, difosfat, adenozintrifosfat, fosfor elementinin bazı türleridir. Bileşik teriminin kararlı türlerle eşanlamlı olduğu düşünülebilir. Ancak "tür" terimi çevresel örnekler içerisinde bulunması beklenen bir türün yapısı hakkında eksik bilgi bulunması halinde veya türün kesin olarak belirlenememesi durumlarında da kullanılmıştır. Farklı çevreler veya matriks içerisinde her bir tür karakteristik kimyasal tepkinliğe ve tepkime ömrüne sahiptir. Çoğu tür merkez atoma kuvvetlice bağlı ve diğer gruplara zayıfça bağlı bazı molekül gruplarına sahiptir. Matriks değiştiği zaman zayıfça bağlı gruplar yer değiştirebilir. Türlerin bir kısmı bu matriks dönüşümünde değişmeden kalır ve bu türler "*kaynak tür*" veya "düşünülen tür" olarak adlandırılır. Gerçekte çevrede varolan türler matriks türleridir. Analitik işlemlerle genellikle matriks türleri, kararlı türlere dönüştürülerek dedeksiyon yapılmaktadır. Dedekte edilen bu türler "*analit türleri*" olarak adlandırılır (Bernhard, Brinckman ve Irgolic 1986).

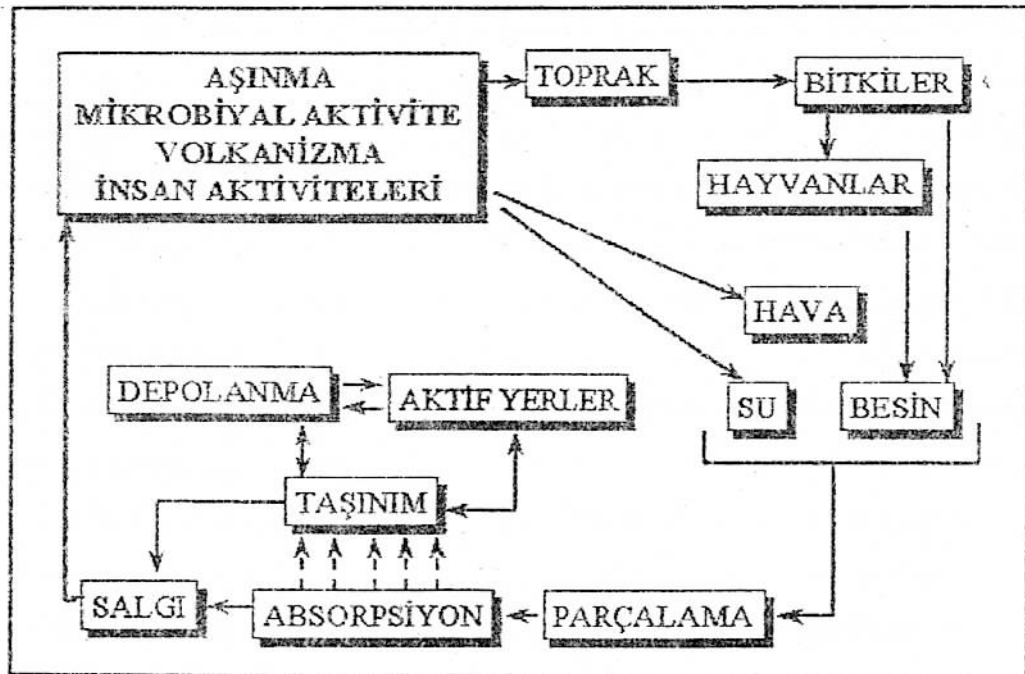
Çevresel süreçlerde türlerin rolü: Son yıllarda çevresel kirlilik ve bu kirliliğe sebep olan elementlerin toksik etkileri üzerine yapılan çalışmalar oldukça yoğunluk kazanmıştır. Radyoizotop maddelerin çevreye atılması sonucunda, ekosistem ve insanlar üzerinde eser elementlerin etkisinin değerlendirilmesine yönelik çalışmalar oldukça artmıştır. Çevredeki eser elementlerin bulunabilirliği ve dağılımlarının tayini, organizmada birikmeleri, biyoyararlılıkları ve bunların insanların da dahil olduğu akuatik (su ortamı) organizmalar ve terrestrial (kara ortamı) canlılar için

toksitelerinin belirlenmesi yalnızca eser element türlerinin anlaşılmasıyla mümkün olabilmektedir. Örneğin Minamata'daki metilciva sızıntısı gibi çevresel felaketler, toksik elementlerin biyokimyasal olarak birikmesi ve taşınmasının anlaşılmasını gerekli kılan ve eser element türlerinin önemini hatırlatan trajik çevresel bir olaydır. Bu olaydan bu güne kimyacıların çevresel süreçlere kaba yaklaşımlardan çok, araştırmalara ve bazı elementlerin çevredeki davranışlarını açıklayan ve daha iyi temellere dayanan deneysel hipotezlere aşamalı bir geçiş yaptıklarını görmekteyiz. Bunun en önemli sebebi ise, çok düşük derişimlerdeki elementlerin tayininde karşılaşılan analitik güçlüklerdir. Uzun bir süre mevcut analitik metotlarla ppm (mg/L ya da mg/kg) düzeyinin aşağısında tayin yapılamamıştır. Ayrıca önemli özellikleri olan, akut ve kronik toksiteyle ilgili bazı elementlerin tayini yapılmış ve bunlarla ilgili çalışmalar yayınlanmıştır. Daha sonraları analitik metotların duyarlılıklarının artmasıyla ppb ($\mu\text{g/L}$ veya $\mu\text{g/kg}$) eser elementlerin tayini yapılabilmiş ve bunların birikmesiyle ilgili araştırmalar yapıp eser element döngüleri ve biyokimyasal yolları çalışılmıştır.

Enzimler, DNA, RNA gibi biyolojik olarak önemli moleküler türlerle; eser elementlerin tepkimelerinin anlaşılması için daha duyarlı ve $1 \mu\text{g/L}$ 'nin altında derişimleri tayin edebilen analitik teknikler gereklidir. Bu ara tepkimelerin anlaşılması için ilgili tepkimelerin kinetik görünüşlerinin de göz önüne alınması gereklidir. Fakat bu konuda yapılan çalışmalarla bütün elementler için aynı gelişmeler sağlanamamıştır. Çevre ve canlı sağlığının korunması için eser elementlerle ilgili araştırmaların yoğun bir şekilde yapılmasına gereksinim vardır. Verilen bir elementi matriks türleri içerisinde değerlendirmek, moleküler yapısı veya topolojisini tayin etmek, fizikokimyasal ya da toksik özelliklerini belirlemek, çözünürlüğünü, oktan-su karışımındaki dağılım katsayısını bulmak, biyokimyasal olarak birikmesi ve kanserojen etkilerinin belirlenmesi çok daha ileri düzeyde, disiplinlerarası araştırmaları gerektirir. Elementler insan vücuduna girdiklerinde ya da doğal süreçlerde farklı türlerde bulunabilirler. Arsenik, civa ve selenyum gibi elementlerin çeşitli türlerinin atmosferik olaylar sırasında çevreye aktarıldığı ve canlılar tarafından alındığı gözlenmiştir. Ancak bunların bir kısmı canlılar tarafından elimine edilmekte (şayet atımları mümkün olabiliyorsa), sedimentlerde yer almakta ve tekrar doğal döngü içerisine taşınmaktadırlar. Hatta metal bileşenlerinin

izomerlerinin farklı farmakolojik özellikler gösterdiklerine de işaret edilmektedir. Örneğin günümüzde platin, antikanser ilaçların yapımında kullanılmaktadır (Bernhard, Brinckman ve Irgolic 1986).

Biyolojik sistemlerde kimyasal türlerin önemi: Yerkabuğunda bulunan, genellikle hızlı ve kolayca alınan elementler ve biyokimyasallar, insanlar tarafından çok uzun zaman önce kullanılmıştır. Biyolojik sistemlerde organik ve kimyasal türlerin sürekli indirgenmesi sentezi ve değişimleri sözkonusudur. Tüm bu işlemlerle, kimyasal bileşikler arasındaki tepkimeler sürer ve yaşam devam eder. Major organik elementler (C, H, N, O, S, P) pek çok yollarla birleşerek amino asitler, lipidler, karbonhidratlar ve nükleotitleri oluştururlar. Bu basit bileşikler birleşerek proteinler, enzimler, membranlar, yapısal dokular ve genetik materyalleri meydana getirirler. Biyolojik sistemlerin organik kimya bilgileri oldukça ileri düzeyde olmasına rağmen yaşamın organik kimyası, belirli inorganik türler olmaksızın mümkün olamamaktadır. Bu nedenle biyolojik sistemler üzerinde kimyasal türler olarak belirtilen inorganik kimyasal türlerin yararları ve zararlarının etkisi oldukça önemlidir.



Şekil 1. Elementlerin çevresel ve biyolojik döngüleri

Kimyasal türlerin rolü ve öneminin anlaşılması için bunların ekosistemdeki taşınmaları ve bu taşınma sırasında oluşan değişikliklerin de bilinmesi gereklidir. Kimyasal türler insan/hayvan sistemlerine yiyecek, su ve hava aracılığıyla girmektedir. Parçalama, absorpsiyon, taşınma, dağılım, aktif bölgelere girme, depolanma ve atım gibi işlevler, kimyasal türlerin biyolojik yararlılıklarında ve bunların hayvan/insan sistemlerine taşınmalarında önemlidir (Şekil 1).

Herhangi bir deneysel yaklaşım; kompleks matris içinde kimyasal türlerin derişimlerinin doğru ölçülmesine bağılı olarak bu kimyasal türlerin biyolojik rollerinin anlaşılmasına ilişkin soruları cevaplayacaktır (Wolf, Irgolic ve ark. 1986).

Gıdalarda kimyasal türlerin önemi: Klor, kalsiyum, magnezyum, potasyum ve sodyum gibi makromineral elementler iyonik bileşik formunda bulunurlar ve suda kolaylıkla çözünürler. Bu nedenle yiyeceklerde bulunan bu türler hakkında bilgiler gözönüne alındığında çok önemli olmayabilir. Yiyeceklerdeki toplam element derişimlerinin tayini bu durumda yeterlidir. Kalsiyum ve magnezyumun çözünmeyen bileşikleri organizmalar tarafından yararlı bir şekilde kullanılmaz. Eser elementler makromineral elementlerden çok daha zengin bir kimyaya sahiptir ve pek çok bileşik türleri vardır. Yiyeceklerdeki eser elementler hakkındaki bilgiler bu nedenle çok önemlidir. Arsenik, kobalt, krom, bakır, demir, civa, molibden, selenyum ve çinko gibi elementler ayrıntılı olarak çalışılmıştır. Bu element türlerinin metabolik önemleri hakkında bilgiler bulunmakta ve ayrıca bu türlerin bulunuşları hakkında bilgiler toplanmaktadır. Buna karşılık alüminyum, kadmiyum, florür, iyodür, mangan, nikel, silisyum ve vanadyum gibi elementlerin türleri hakkında sahip olunan bilgiler ve bu türlerin biyokimyasal rolleriyle ilgili edinilen sonuçlar oldukça azdır ve elde bulunan bilgilerin çoğu da kalitatifdir. Çok az türün yapısı ve bileşimi bilinmekte ve bunların yiyeceklerdeki derişimleri hakkında sınırlı sayıda sonuçlar bulunmaktadır. Ayrıca bu türler üzerine pişirmenin ve gıdasal işlemlerin etkileri fazla dikkate alınmamıştır. Toplam minor ve eser elementlerin tayini için analitik yöntemler arsenik, kadmiyum, kobalt, bakır, florür, demir, civa, molibden ve çinko için uygunken, krom, nikel, kurşun ve vanadyum için uygun değildir. Türlerin tayini için metodoloji arsenik, civa ve selenyum için hemen hemen uygun olmasına rağmen, diğer bütün element türlerinin analizinde sorunlar yaşanmaktadır. Analitik

işlemler sonucunda, (gıdalardan ekstraksiyon, kromatografi vb) ihtiyaç duyulan şartlar altında çoğu türlerin kararlılığı hakkında çok az bilgi mevcuttur. Gıdalarda kimyasal türlerin belirlenip derişimlerinin tayini için standart bir materyal bulunmamaktadır ancak, bir kaç homojen gıda örneği için laboratuvarlararası yapılan çalışmalar sonucunda kazanılan bilgiler bulunmaktadır (Wolf, Irgolic 1986).

Aktif yerlerde kimyasal türlerin rolü: Farklı pekçok molekül sadece sınırlı sayıda enzimatik tepkimelerle biyolojik sistemlerde sentezlenir. Bu sentetik çeşitlilik, moleküler yapı bloklarının birleşmesiyle (amino asitler, karbonhidratlar, doymuş asitler ve birkaç organik molekül) sağlanır ve çoğunlukla bu makromoleküller biyomoleküler elementlerin yalnızca birkaçını içerir. Oldukça sınırlı sayıda olan kofaktörler, koenzimler ve aminoasitlerin yan zincirleri grup transfer tepkimelerine katılmaktadır. Çinko enzimleri tepkimelerin hepsinde yer alırlar (Wolf 1986). Yüzden fazla çinko enzimi bilinmekte ve bunların yaklaşık otuz kadarı karakterize edilmiştir. Bunlardan DNA ve RNA'nın grup transferinde yararlanılmaktadır.

Kimyasal türlerin taşınması ve depolanması: Ekosistemden taşınan bir elementin bileşiminin bir kısmında değişiklikler olabilecektir. Özel bir bileşiğin tanımlanması, izolasyonu ve tayini bunların dokular içerisindeki derişimlerinin belirlenmesiyle mümkün olmaktadır. Türlerin alımı veya oluşum oranı, bunların metabolik dönüşüm oranlarında ve salgılanmalarından daha hızlıdır ve bu nedenle yüksek derişimlerde bulunacaklarından kolaylıkla tayin edilebilirler. Yağlı dokularda birikme eğiliminde olan lipofilik moleküller metabolik bozulmalardan korunurlar. Depolanan bu moleküller, metabolik elektron donörleriyle ara tepkimelerden dolayı yağların oksidatif yıkımlarını katalizleyerek veya membran fonksiyonlarını bozarak, membranda değişikliğe uğrayabilirler. Yağda çözülebilir eser element bileşiklerinin, potansiyel toksitelerinden dolayı karakterizasyonları ilginçtir. Buna rağmen bu alanda çok az çalışmalar yapılmıştır. Memeli canlı dokularından organik çözünenlerle ekstrakte edilebilir lipid-eser element bileşiklerinin yeterli karakterizasyonu henüz yapılamamaktadır. Beyinde bulunan yaşlanma pigmentlerinin bakır ve demir içerdikleri bulunmuştur. Metaloforfinler, fülvik ve hümik materyalleri, beyin, diş ve birleşik dokularda eser elementleri de alıkoyarlar. Bu materyallerin kararlılığı eser

element bileşiklerinin karakterizasyonuna yardımcı olması açısından önemlidir (Wolf, Irgolic 1986).

Eser element bileşiklerinin sağlığa etkisi: Eser elementler, bunların kimyasal formları ve her bir kimyasal türün derişiminin sağlıkla ilgili olduğuna dair kuvvetli kanıtlar vardır. Bu kanıtlara rağmen, insanların, hayvanların ve bitkilerin çevresel sağlık problemlerinin ulusal ve uluslararası çözümüne çalışılırken; sağlık üzerine bu türlerin etkisi fikri çok az uygulama bulmuştur.

Toprak, su, hava ve yiyeceklerden çevreye geçen bu türler hala çoğunlukla toplam element terimiyle ilişkilendirilmekte ve "element türü" terimi kullanılmamaktadır. Çinko kromat içerisindeki krom(VI), solunum yoluyla alınabilmekte ve kuvvetli kanserojen etki göstermektedir. Oysa krom(III) bileşikleri yiyecekler içerisinde bulunan ve gerekli olan eser elementlerden bir tanesidir.

Besinlerdeki toplam çinkonun uygun derişimi gerekli bir element olmasına rağmen, yiyeceklerde oldukça yüksek derişimlerde kalsiyum ve fitik asitin olması durumunda şiddetli bir çinko eksikliği söz konusu olmaktadır. Bunlar kimyasal türlerin derişimlerinin ve yapılarının sağlık üzerine etkilerini gösteren birkaç örnektir.

Genellikle eser element bileşikleri, kimyasal parçalanma sırasında değişikliğe uğrarlar. Yüksek molekül ağırlıklı türler küçük moleküllere parçalanabilirler. Sonuçta, oluşan türler organizmalar tarafından kullanılır ve yiyecekler içerisindeki uygun ligantların eldesiyle ve bağırsak salgılarının analiziyle tayin edilirler. Bağırsak duvarından taşınmayla bağırsak bölgesine bir türün absorpsiyonu ligantın derişimiyle ilişkilendirilmektedir. Öncelikle bir element uygun moleküler formda absorbe edilir ve yeni türlerden proteinlere dönüşerek, depolanma yerlerine ya da aktif oldukları yerlere taşınırlar. Bu proteinler normal düzeyde değillerse, yoklarsa ya da etkin derişimlerde bulunmuyorlarsa düzensizlikler ve rahatsızlıklar meydana gelmektedir. Bütün bu proteinlerin işlevlerinin nasıl olduğu ayrıntılı olarak bilinmemektedir. Kanda kimyasal türlerin tayininin yapıyor olması insan ve hayvanlardaki eser element düzeyinin belirlenmesine yardımcı olmaktadır. Çinko, bakır, demir ve molibden gibi elementlerin enzimlerin aktif yerlerindeki çevresel kimyası oldukça iyi bilinmektedir. Metaloenzimler üzerine yapılan çalışmalar,

enzimle bağlanan metalin artık metalik fonksiyonlarının kaybolduğunu göstermektedir.

Elementler organizmalardan uygun kimyasal formlarda idrar, ter, feçes ya da solunum yoluyla dışarı atılmaktadır. Atılan bu türler hakkında çok az bilgiler vardır. Türler dışarıya atılırken düzeylerinde değişiklikler olabilir. Örneğin selenyum almış hayvanlarda selenyum düzeyi fizyolojik olarak bulunması gereken miktarından çok daha yüksek düzeyde değildir. Çünkü selenyum vücuttan idrarla trimetil selenyum iyonu şeklinde dışarı atılmaktadır. Aynı miktarda arsenik alımında arsenik, arsenat formunda olduğu zaman toksik etkisi olmasına rağmen arsenobetain formunda olduğu zaman, toksik etkisi olmaksızın tolere edilebilmektedir (Wolf 1986).

2.1.1.Parçalama ve Absorbsiyon Süreçlerinde Kimyasal Türler ve Biyoyararlılık

Bağırsaklarda eser elementlerin absorpsiyonunda bağırsaklarda bulunan ligantların yapısı ve eser element bileşiklerinin kimyasal yapısında dahil olduğu pek çok faktör etkilidir. Spesiasyon için yapılan analizlerin amacı: çoğunlukla elementlerin biyoyararlılıkları hakkındaki bilgilerin gelişmesini sağlamaktır. **Biyoyararlılık** eser element türünün organizmanın fizyolojik ihtiyaçlarını karşılama yeteneğidir. Biyoyararlılık bağırsak absorpsiyonu veriminden, aktif yerlere türlerin taşınmasından ve aktif yerlerin bundan yararlanmasından etkilenir. Örneğin insanlarda demirin mide-bağırsakta absorpsiyonu, çözünürlükten, divalent demir, hemoglobine bağlı demir ve bağlı olmayan demir gibi demirin değişik formlarının absorplanabilirliğinden ve vücudun demiri depolama yeteneğinden etkilenir. Demir(II) kolayca absorbe olurken, demir (III) absorbe olmaz. Askorbik asit gibi bileşikler demirin absorpsiyonunu artırabilirler. Bakır, kurşun, kadmiyum, ve alüminyum gibi metallerin serbest iyonik formlarının genellikle akuatik canlılar için oldukça toksik türler olduğuna dair kanıtlar vardır ve nötral ligantlarla kompleksleşmeleri halinde bu metal iyonlarının toksiteleri azalmaktadır. Serbest bakır toksitesinin, nötral ligantların varlığında azaldığı gözlenmiştir (Lund 1990). Bununla birlikte metal türleri ve biyoyararlılıkları arasındaki ilişki oldukça karmaşıktır. Laigreid ve ark (1983) yeşil su yosunları çevresinde bulunan kadmiyumun toksik etki gösterdiğini bulmuşlardır. Winner (1984) ortama hümik

maddelerin eklenmesiyle kadmiyumun toksikliğinin arttığını fakat aynı zamanda bakırın toksikliğinin azaldığını gözlemlemiş ve hümik asitin diğer metallerin biyobirikmesi (bioaccumulation) üzerinde önemli bir etkisinin olmadığını göstermiştir. Florence (1984), lipid-çözülebilir bakır komplekslerinin serbest bakır iyonlarından çok daha toksik formdaki türler olduğunu göstermişlerdir. Toprak ve sediment örnekleri için su ve tuz çözeltileriyle ekstrakte edilen metal fraksiyonları, çoğunlukla bitkilerden alınan metal fraksiyonlarıyla karşılaştırıldı. Organometalik bileşiklerin, inorganik elementlerle kıyaslandıklarında genellikle çok daha toksik oldukları gözlemlendi. Civa, kurşun ve selenyum bu genel kurala uyarken, arsenik aykırı bir durum gösterir ve çoğu organoarsenik bileşiği, inorganik arsenik türlerinden daha az toksik özellik gösterir. Organometalik türlerin toksikliği, izlenen organizmayla değişir. Örneğin memeliler için trietilkalay; böcekler için trimetil kalay; balıklar, funguslar ve bakteriler için de tribütil kalay oldukça toksiktir. Eğer eser elementler partiküle maddelerle birleşmiş olarak bulunuyorsa bunların biyoyararlılıklarının anlaşılması oldukça zordur. Biyoyararlılık üzerine bağırsak ortamındaki ligantların yapısı, bu ligantlarla elementler arasındaki dağılım, günlük alınan gıdaların bileşimleri ve besinlerin parçalandığı ortamadaki değişiklikler (pH, redoks potansiyeli, iyonik şiddet vb.) gibi pek çok faktör etkilidir.

2.1.2. Spesiasyon Teknikleri

Florence (1982), tarafından *element spesiasyon analizi*, bir örnek içerisinde ilgili elementin toplam derişimini oluşturan her bir türün (fiziko-kimyasal) derişimlerinin tayini olarak tanımlanmıştır. Eğer bir tür kantitatif olarak belirlenecekse yapılacak ilk iş, tanımlanabilir bir türün oluşturulmasıdır. Toplam element derişimi, çevresel süreçleri etkin olarak açıklayamazsa da, var olan türlerin kantitatif tahmini için oldukça önemlidir. Analitik metotların çoğu kesin türün ya da tür gruplarının derişimlerini tayin eder. Bu nedenle var olan bütün türler uygun işlemlerle kantitatif ve tersinmez olarak bir türe dönüştürülmüşse ancak toplam element tayini yapılabilir ve uygulanan teknik, o tür için spesifik ve duyarlı olmalıdır. Toplam element içerisinde o elemente ait her bir türün derişiminin tayini ise çok daha zor bir iştir. Türlerin tayininde örneklerin kirlenmesi, yaygın olarak karşımıza çıksa da bu bir spesiasyon problemi değildir. Analitik işlemlerde örnekleme, toplama ve örneğin

analizi sırasında mevcut olan türde "tür dönüşümü" olabileceğinden, örneklemeden dedeksiyon moduna kadar geçen sürede, analiz edilen türden emin olmak için söz konusu türde bir değişiklik olmamalıdır ve bunun için gerekli önlemler alınmalıdır. Örnekte türün orijinal dağılımının korunması için genel olarak uygulanacak metotlar henüz bulunmamaktadır ve her bir örnek için uygulanacak işlemler de farklıdır. Spesiasyon analizlerinde, her bir türün ölçülmesi için uygun tekniğin seçimi dışında, karşılaşılan en büyük zorluklardan bir tanesi de element derişiminin oldukça düşük olmasıdır. Bu durumda toplam element derişiminin tayini dahi bir ön deriştirme işlemi olmaksızın mümkün olamamaktadır. Eser düzeyde bulunan türlerin tayininde dedeksiyon için ön deriştirmeyle duyarlılık artırılabilir. Bu nedenle orijinal matriks türlerinde ön deriştirme sırasında dönüşümler sözkonusu olmaktadır.

İdeal bir analitik metot, türleri doğrudan (in vivo) ve yerinde (in situ) tayin edebilen, türlerde bir tahribat olmaksızın tür dönüşümlerinin izlenmesine olanak sağlayan metottur. Ancak bütün bu olanakları sağlamak mümkün olmayabilir. Spesiasyon analizleri organometalik bileşikler dahil olmak üzere metaloidler ve metal türlerinin tayini şeklinde gösterilebilirler. Eğer metal iyonları yalnızca koordinatif bağlı formda ise, bu türlerin tanımlanması oldukça zordur. Metal iyonları hem inorganik hem de organik ligantlarla etkileşebilir ve kararsız koordinasyon bileşikleri oluşturabilirler ki, bunların doğrudan ayrımları ve analizleri mümkün değildir. Bu durumda denge sabitleri üzerine kurulu olan hesaplamalar, türlerin tanımlanmasında zaman zaman uygulanan bir yaklaşım olmaktadır (Jon, Loon ve Barefast 1992).

Spesiasyon analizleri ile ilgili yayınlar değerlendirildiğinde, modifiye analitik metotlardaki yeni gelişmelerin giderek arttığı görülmektedir. Bu nedenle analitik metotların doğruluğu ve kesinliği göz önüne alındığında yayınların çokluğu cesaret vericidir ve bu alanda iki ya da daha fazla metot arasında karşılaştırmalar dahi yapılabilmektedir. Analizlerde elektrokimyasal metotlar, sulu ortamda kararsız (labile) metal türlerin derişimlerinin ölçülmesinde önemli gelişmeler göstermiştir. Ayrıca türlerin analizinde kromatografi gibi bir ayırma tekniğinin yanında tekli veya çoklu dedektörlerin birlikte kullanıldığı "coupling" sistemler kullanılarak da büyük gelişmeler sağlanmıştır (Wolf 1986).

Element analizi için uygun olan enstrümental metotların birkaçı aynı zamanda her bir türün metal derişiminin doğrudan kantitatif tayini için de etkin bir seçicilik ve duyarlılığa sahiptir. Atomik absorpsiyon ve emisyon spektrometreleri (AAS ve AES) oldukça duyarlı bir teknik olarak genellikle örnek içerisindeki elementlerin yalnızca toplam derişimlerini tayin ederler. Bu nedenle her bir türün tanımlanabilmesi için önce kromatografik bir teknikle ya da diğer ayırma teknikleriyle birleştirilmiş (online) sistemlerin kullanılması gerekmektedir. Diğer spektroskopik metotların çoğu değişik alanlardaki spesiasyon çalışmalarına uygulanmış olmasına rağmen gerçek örneklerin doğrudan analizi için bunların pratik kullanımları, duyarlılığının az olması ve seçicilik nedeniyle, oldukça sınırlıdır.

Elektrokimyasal metotlar ise, çözelti içerisinde farklı kimyasal türler arasında bir ayırım için iyi bir potansiyele sahip olmalarına rağmen bu metotların kullanımlarında da birtakım sınırlamalar vardır. Spesiasyon analizlerinde, element spesifik dedektörlerle yüksek basınçlı sıvı kromatografisinin kullanımı yine önerilen metotlardan birisidir.

Bir element değişik örneklerde (su, biyolojik sıvılar, toprak vb.) aşağıda belirtilen değişik kimyasal türlerde olabilir.

- Partiküllerin yüzeyinde iyon değiştirme yerlerinde bulunabilirler,
- Yüzey üzerine adsorbe olmuş bir şekilde bulunabilirler,
- Belirli iyonlarla çökerek katı bir faz oluşturabilirler,
- Farklı türlerle birlikte çökebilirler. Özellikle ortamda demir ve mangan hidroksit varsa bunlarla birlikte çökebilirler
- Organik ve inorganik moleküllerle kompleks oluşturabilirler,
- Bir mineralin bileşiklerinden biri olabilirler.
- Serbest iyonik formda olabilirler.

Bütün bu farklı formdaki element türlerinin analizi için öncelikle etkin bir ayırma işlemi uygulanmalı ve daha sonra spesifik ve duyarlı bir dedeksiyon sistemi seçilmelidir (Jon, Loon ve Barefast 1992).

Çoğu spesiasyon şeması bir ya da daha fazla spesiasyon basamaklarının kullanımı üzerine kuruludur. Ayırma basamakları, seçici bir kimyasal oksidasyon basamağı, filtrasyon, diyaliz, boyut (size) fraksiyonu, iyon değiştirme ve ekstraksiyon gibi

işlemlerin kullanılmasıyla yapılmaktadır. Spesiasyon şemalarının çoğu metal fraksiyonlarına bağlı olarak geliştirilmektedir. Özel deneysel işlemlerin seçimi de yine bu türlere bağlıdır. Bu nedenle spesiasyon şemalarında seçilen işlem basamaklarının standartizasyonuna ihtiyaç vardır. Böylece farklı laboratuvarlardan ele geçen sonuçları karşılaştırma imkanı doğacaktır. Eser metal türlerinin analizi için uygulanan şemalar fazla karışık olmamalı, analiz için harcanan zaman en aza indirgenmeli; element kayıpları ve kirlenme riskinin en az olduğu işlem basamakları seçilmelidir. Ayrıca tayin edilen metal fraksiyonlarının mümkünse toksik etkilerinin giderilebiliyor olması gerekir.

Spesiasyon analizlerinde kullanılan başlıca ayırma işlemleri aşağıda kısaca verilmiştir:

Filtrasyon: Bu işlem özellikle sularda partiküle metal türlerini çözülmüş metal türlerinden ayırmak için kullanılır. Kolloidal ve makromoleküler maddeler çözülebilir metal türleri içerisinde yer alırlar. Filtrelerin gözenek boyutlarının (pore size) seçiciliğine ilişkin pek çok çalışmalar yapılmıştır. Fakat yalnızca Nucleopore polykarbonat filtrelerin verilen bir büyüklük için uygun olduğu görülmüştür. Ultrafiltrasyon tekniklerinde özellikle adsorpsiyondan dolayı bazı güçlükler sözkonusudur. Nucleopore polykarbonat filitreler 12-0,015 μm aralığında gözenek boyutuna sahiptirler. Genellikle 0,45 μm gözenek boyutu çözülmüş olan metal türlerini partiküle metal türlerinden ayırmak için kullanılmaktadır. Daha küçük partiküllerin ultrafiltrasyonla ayrılması için yüksek basınç gereklidir. Ultrafiltrasyon için kullanılan membran filtrelerin gözenek boyutları ise 14-1,1 nm arasında değişir (Mizuike 1987). Boyutları 1-10 nm'ye kadar olan türler çözülmüş türler; 10 nm'den 100 nm'ye kadar olan türler kolloidal türler ve 100 nm'den 1000 nm'ye kadar olan türlerde partiküle türler olarak sınıflandırılmaktadır (Mora ve Harrison 1983).

Diyaliz: Diyaliz tekniği, çözeltiliden çok küçük türleri, kolloidal türlerden ayırmak için kullanılır. Diyaliz tekniğinde geçirgenlik aralığı: 1-5 nm büyüklüğünde olan diyaliz membranları kullanılmaktadır. İdeal diyaliz membranları yalnızca serbest

metal katyonlarını geçirmelidir ve diyaliz tekniklerinde dengenin tamamlanması için uzun zamana ihtiyaç vardır (Mizuike 1987)

Jel Kromatografisi: Bu teknikle gözenekli bir polimerik jelle doldurulmuş kolondan tıpkı moleküler elekte olduğu gibi çözünenlerin elusyonu söz konusudur. Bu amaçla "Sephadex" dekstran jel tipi dolgu maddeleri kullanılmaktadır. Jel kromatografisi tekniğiyle sudaki hümitik asitlere bağlı eser elementler molekül büyüklüğüne göre veya moleküler ağırlıklarına göre ayrılmaktadır (Mizuike 1987 ve Hiraide 1985)

Santrifüjleme: Santrifüj işleminden, doğal sularda süspansiyon halindeki çözüldüden partiküllerin uzaklaştırılması amacıyla faydalanılmaktadır. Bu amaçla 30 000 ve 40 000 rpm'lik santrifüjleme hızı yeterli olmaktadır (Mizuike 1987).

Sıvı-sıvı ekstraksiyonu ve seçici ekstraksiyon: Sıvı-sıvı ekstraksiyonunda; bir örnekte bulunan farklı türdeki bileşiklerin, birbirinden farklı sıvı fazlardan birinde daha fazla çözünmesi ilkesinden yararlanılarak ayırma yapılmaktadır. Sudaki polar olmayan organik türler kloroform ve hegzan-bütanol karışımı gibi organik çözümlerle ekstrakte edildiklerinde bu çözümlere geçerler.

Deniz suyunun karbontetraklorür ve kloroform gibi çözümlerle ekstraksiyonunda organik bağlı bazı element formlarının ekstrakte geçtiği saptanmıştır. Deniz suyunun filtre edildikten sonra karbontetraklorür ile ekstraksiyonunda, toplam bakırın %10-60'nın organik faza geçtiği ve CCl_4 fazına geçen bakırın yüksüz organik bağlı bakır ve organik kolloidler üzerine adsorplanan bakır olduğu belirlenmiştir (Florence ve Batley 1980). Ayrıca örneklerdeki elementler bir kompleksleştirici ile kompleksleştirildikten sonra oluşan kompleks bir organik çözüme alındığında daha duyarlı olarak spektrofotometrik yöntemle tayin edilmekte ve ayrıca bu şekilde kompleks oluşturabilecek element düzeyleri belirlenmektedir. Bu amaçla kompleksleştirici olarak genellikle dietilditiyokarbomat, ditizon, 8-hidroksikinolin gibi organik kompleksleştiriciler kullanılmaktadır. Bu kompleksleştiriciler, organik maddelerin uzaklaştırılmasından önce ve sonra çözüme eklenerek ekstrakte edilebilen organik bağlı metal düzeyleri saptanmıştır (Florence ve Batley 1980).

İyon değitiriciler: Spesiasyon çalışmalarında kasyon ve anyon değitirici reçineler yaygın olarak kullanılmaktadır. İyon değitirici reçineler yardımıyla anyonik, kasyonik ve yüksüz türler belirlenebilmektedir. Ayrıca iyon değitirme reçinelerinin dışında sorpsiyon işlemiyle türlerin ayırımı sağlayan sentetik reçineler de yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu amaçla kullanılan reçinelerin başında Chelex 100 ve Amberlite tipi reçineler gelmektedir (Chakrabarti ve ark. 1993)

Spesiasyon analizlerinde kullanılan analitik teknikler ise aşağıda verilmiştir:

Spektroskopik teknikler: Birkaç inorganik tür, bazı istisnalar dışında, spektrofotometreyle doğrudan analizlenebilir. Örneğin magnezyum ve kromun oksi anyonları UV-görünür bölgede kuvvetli absorbands yaparlar. Bununla birlikte çoğu tür ancak renklendirici bir reaktifle renklendirildiklerinden sonra absorbands yapabilirler. Metal türlerinin bir renklendirici reaktifle seçici olarak kompleksleştirilip, moleküler absorbsiyon spektrometrisi ile tayini önceden beri uygulanan bir metottur. Metal spesiasyonu için kullanılan bu renklendirici reaktifler, metalin inert komplekslerinden çok; serbest metal türlerine karşı daha aktiftirler. Bununla birlikte renklendirici reaktif genellikle örnek içerisindeki doğal ligantlardan çok daha kuvvetli kompleks oluşturmalıdır. Bu nedenle metal iyonu formlarının farklandırılması doğal ligantla, eklenen renklendirici reaktifin değişebilirlik oranına ve ölçüm zamanı aralıklarına (time-scale) bağlıdır. Örneğin seçici bazı renklendirici reaktiflerle Fe(II)/Fe(III) ve Cr(III)/Cr(VI) gibi bazı elementlerin farklı oksidsayon basamakları arasında ayırım yapılabilmiiştir.

Atomik absorpsiyon spektrometrisi (AAS) ve indüktif coupled plazma atomik emisyon spektrometrisi (ICP-AES) yalnızca toplam element derişimini tayin eden analiz teknikleridir. Spesiasyon analizlerinde çoğunlukla bir ayırma tekniği ile birlikte kullanılırlar. Bununla birlikte atomik absorbsiyon spektrometresinin özel bir uyarlaması olan hidrit oluşum tekniği Sn, As, Sb, Bi, Se ve Te gibi metaloidlerin tayininde kullanılmaktadır. Bu metallerin organometalik veya inorganik türleri sodyum tetrahidroborat ile indirgen-diği zaman buharlaşan hidritleri oluşmakta ve bu türler daha sonra elektrotermal atomik absorbsiyon spektrometresi elektro termal atomik absorbsiyon spektrometresi (EAAS) veya ICP-AES ile tayin edilmektedir. Türlerin farklandırılması hidrürlerin buharlaşması veya elementlerin diğer bir

oksidasyon basamağına dönüştürülmesi ile yapılmaktadır. Civa da aynı teknikle tayin edilmektedir, ancak civa soğuk buhar tekniğiyle hidrürü yerine elementel civaya dönüştürülerek tayin edilmektedir. Hidrür tekniği Sb, Se ve Te iyonlarına ve yalnızca bunların Sb(III), Se(IV) ve Te(IV) gibi düşük oksidasyon basamaklı türlerine karşı duyarlıdır ve ön indirgenme toplam element tayini için gereklidir. Sb(III) ve Sb(IV) arasındaki farklıdırma indirgenme basamağının pH'a bağımlı olması ile sağlanmıştır. Organometalik hidrürlerin buharlaşmasındaki farklılık sıvı azot tuzağı içerisinde bunların toplanmasıyla sağlandı. Bu tuzak sabit sıcaklıkta ısıtıldığı zaman, türler atomlaşma hücrelerine ulaşırlar ve bütün bu işlemler organo metalik türlerin kaynama noktalarına göre uygulanır (Lund 1990; John 1992).

Elektroanalitik teknikler: Elektroanalitik metotlar şüphesiz türlerin seçici olarak dedeksiyonunda spektroskopik metotlardan daha başarılıdır. Çözelti içerisindeki serbest sulu iyonlara seçici olarak yanıt veren, iyon seçici elektrotlarla yapılan doğrudan potansiyometrik ölçümler, spesiasyon çalışmaları için oldukça uygundur. Bu elektrotlarla tayin edilebilen metal iyonlarının derişimleri Nernst Eşitliğine göre nanomolar düzeyinin de aşağısındadır ve yalnızca toplam metal derişimleri için mmol/L -µmol/L derişim aralığında doğruluk oldukça yüksektir. Bu elektrotların Cu, Pb ve Cd gibi eser elementlerin spesiasyon çalışmaları için kullanımlarında bazı sınırlamalar vardır. Böyle olmasına rağmen akuatik organizmalar için serbest bakır iyonlarının toksitesinin tayini çalışmaları için bakır seçici elektrotlardan faydalanılmıştır.

Polarografik ve Voltametrik metotlar spesiasyon çalışmaları için bazı uygunlukları ile dikkat çekicidirler. Diferansiyal Puls Polarografi (DPP) serbest metal iyonlarını metal komplekslerinden ayıran sinyaller ortaya çıkarmaktadır. Bu nedenle polarografik tekniklerle bazı elementlerin farklı oksidasyon basamakları ayırdedebilir. Örneğin Fe(II) ve Fe(III) klasik doğru akım polarografiyle tayin edilmektedir. Çünkü, aynı yarı dalga potansiyelinde Fe(II) yükseltgenirken, Fe(III) bir indirgenme ürününe dönüşür. DPP bu durumda Fe(II) ve Fe(III)'ün her ikisi için de tek bir pik verdiği için uygulanmaz. Polarografik teknikler bazı elementlerin özel bir oksidasyon basamağına daha seçicidir. Davison (1976) DPP'yi taze sularda Cr(VI) ve As(III)'de olduğu gibi Mn(II), Fe(II) ve S²⁻'yi tayin etmek için

kullanmıştır. Burada Mn(II) ve Fe(II); Mn(0) ve Fe(0)'a inerken oluşan pikler değerlendirilmiştir. S^{2-} ise HgS 'e dönüştürülerek tayin edilmiştir ve bu şekilde polarografik metotla metal olmayan (nonmetal) bazı türlerin tayini de mümkün olmuştur. Eser düzeyde türlerin tayininde Anodik Stripping Voltametri (ASV), DPP'nin yerine kullanılmaktadır. ASV, DPP'den çok daha duyarlıdır fakat bu metotla tayin edilen elementlerin sayısı oldukça sınırlıdır ve metal kompleksleri tayin edilemez. ASV, doğal ligantlarla kompleks oluşturan metal komplekslerinin varlığında, serbest metal iyonlarının derişimini seçici olarak tayin etmek için kullanılmıştır. ASV ile serbest metal iyonları için uzun süreli elektrolitik ön deriştirmeler yapılmakta ve bu basamakta metal kompleksleri de elektrot yüzeyinde kısmen ayrışabilmektedir. Sonuçta serbest metal iyonlarının derişimi tahmin edilenin üstünde çıkabilir. Bu nedenle adsorptif biriktirmeyle katodik sıyırma gibi elektrokimyasal stripping tekniklerin son uyarlamaları ve potansiyometrik stripping analizler spesiasyon çalışmalarında nadiren kullanılmıştır (Lund 1990; Chakrabarti ve ark.1993).

Kromatografik teknikler: Bu teknik, özellikle kimyasal türlerin tayininde oldukça yararlıdır. Bununla birlikte uygun dedeksiyon seçiminde bazı noktalara dikkat etmek gerekir. Çünkü gaz kromatografisi (GC) ve yüksek basınçlı sıvı kromatografisinde (HPLC) kullanılan standart dedektörler metal ve metaloidlerin tayininde çoğunlukla yetersizdir. Bu nedenle gaz kromatografisiyle birlikte elektrotermal veya alevli AAS, ve emisyon teknikleri (ICP-AES) kullanılmaktadır. Hatta elektron capture dedektörler organo civa bileşiklerinin tayini için başarıyla kullanılmıştır. Gaz kromatografisiyle türlerin analizi için türlerin etkin olarak buharlaşmasına ve elue olan türlerin termal kararlılığına ihtiyaç vardır. Bu teknik, özellikle civa, kalay ve kurşunun buharlaşan organometalik bileşiklerinin tayini için kullanılmıştır. Analizde, sodyum tetrahidroborat indirgenmesiyle buharlaşan hidrürlerin oluştuğu türlendirme basamağı kullanılmaktadır. Modern sıvı kromatografisi, gaz kromatografisine göre spesiasyon çalışmalarına daha genel olarak uygulanmaktadır. Özellikle uygun kolon seçimi ve etkin bir elusyon çözeltisiyle türler başarıyla ayrılmaktadır. Metotlar organometalik bileşiklere ek olarak katyonlar, anyonlar ve metal kompleksleri gibi pek çok inorganik türün ayrılması için de uygulanmaktadır. Metal içeren çoğu tür

yüklüdür ve bu türlerin tayininde iyon kromatografisinin bazı uygulamalarından faydalanılabilir. Özellikle "post column reagent" metoduyla kromatografik olarak ayrılan türler, spektrofotometrik olarak seçici ve duyarlı bir şekilde tayin edilmektedir. HPLC-ICP-MS kombinasyonu duyarlı dedeksiyon sistemi sağlaması açısından oldukça avantajlıdır. AAS ve ICP'de kullanılan nebulizörün etkinliğinin düşük olmasından dolayı bu avantaj önemlidir. GC-AAS oldukça duyarlı dedeksiyon sağlar, fakat kolonda ayrılan türlerin kolonun hemen çıkışında gerçek alikona zamanını da yansıtacak şekilde dedektöre bağlanması gereklidir. Bu amaçla interface'ler geliştirilmiştir ve böylece otomatik olarak kolon effluenti dedektöre verilmektedir. Bu sistemlerde oldukça düşük akış oranları kullanıldığından interface problemi olmamalıdır. Hidrür tekniği yine HPLC ile birlikte kullanılmıştır. Burada hidrür oluşumu on-line olarak post-kolon türlendirme ünitesinde oluşturulur. Fakat bütün bunlara rağmen adı geçen bu metotlar rutin analizler için fazla uygun değildir ve daha gelişmiş tekniklere ihtiyaç vardır (Lund 1990; Jon ve ark. 1992)

Diğer metotlar: Nükleer Magnetik Rezonans (NMR), son yıllarda oldukça hızlı gelişen metotlardan bir tanesidir. İlgili metalin inert kompleksleri sulu çözeltilerinden ayrılabilir ve eğer ligantın değişim oranı hızlı ise, NMR'a ilişkin zaman skalası, yalnızca ortalama tek bir pik şeklinde görülecektir. Ancak bu metotla dedeksiyon limiti en iyi koşullarda ppm düzeyindedir. Her bir alüminyum türünün tanımlanması için NMR'ın oldukça başarılı uygulamaları Bertsch (1986) tarafından gösterilmiştir. Yerinde kimyasal türlerin karakterizasyonu için multinükleer NMR metotları Sadler ve ark. (1986) tarafından gösterilmiştir.

Kütle spektrometresi (MS), kimyasal türlerin tayini için dolaylı olarak kullanılmıştır ve bu teknik vakum iyonizasyonu ve gaz fazı reaksiyonlarını içerir. Atomik spektroskopi teknikleri gibi MS de ancak bir ayırma tekniğiyle birlikte spesiasyon çalışmalarında kullanılır. Eşer elementlerin tayininde HPLC-ICP-MS kombinasyonu, ICP-MS'in oldukça düşük derişimleri dahi tayin edebilmesinden dolayı özellikle önerilmektedir.

Yüzeyde adsorbe olan türler için iyon kütle spektrometresi de kullanılmaktadır. X-Ray fotoelektron spektroskopi (ESCA) azot türlerinin analizinde özellikle

kullanılmıştır. Ancak bu tekniklerin en büyük dezavantajı oldukça yüksek vakumda çalışma zorunluluğudur.

Kimyasal türlerin tayininde enstrümental yaklaşımlardan ayrı olarak metal komplekslerinin oluşunu, çoğunlukla termodinamik denge sonuçlarından yola çıkılarak hesaplamalarla da tahmin edilebilir. Bununla birlikte bu yaklaşımın uygulamaları oldukça sınırlıdır. Doğal sistemler nadiren dengededirler ve gözönünde bulundurulması gereken pek çok kimyasal reaksiyon için bilgiler eksiktir. Bu nedenle kompleksleşme reaksiyonlarının çoğu için hesaplama üzerine kurulu olan bu metot diğer deneysel metotlara alternatif olamaz. Çünkü analitik metotlarla ele geçen sonuçlara doğrudan kanıt olamazlar. Termodinamik sonuçların oldukça başarılı olan kullanımı deniz suyunda inorganik türlerin tahmini için uygun olabilir. Çünkü bu ortamdaki bileşiklerin eşitlikleri gayet iyi bilinmektedir (Lund 1990).

2.2. Alüminyum

Alüminyum periyodik tablonun III A grubunda (bor grubu) yer alan hafif gümüş beyazlığında bir metaldir. Bu grup elementlerine toprak metalleri denir. Alüminyum periyodik çizelgede komşu elementlerine göre düşük sıcaklıkta ergir. Kristalleri yüzey merkezli kp şeklinindedir ve metalik özelliği gösterir. Alüminyum yumuşak bir metal olup, iyi bir iletkendir. Saf alüminyumun dayanıklılığı az olmakla beraber alaşımları çok dayanıklıdır. Elektron dizilişlerine bakıldığında grup III A elementlerinin çoğunlukla 3+ değerlikli olması gerektiği düşünülebilir. Soygaz elektron dizilişine benzemek için bu grup elementlerinin s yörüngesindeki 2 ve p yörüngesindeki 1 elektronu kolaylıkla verip 3+ değerlikli olması beklenir. Bu nedenle başka atomların elektronlarını ortaklaşa kullanarak bağ yaptıklarında toplam 6 elektron bağ yapımına katkıda bulunmuş olur. Ancak oktet kuralına göre bir atom çevresinde bağ yapan toplam elektron sayısının 8 olması gerektiğinden bu grup elementleri başka atomlardan iki elektron daha alabilirler. Böylece Lewis asiti özelliğini kazanırlar.

Grup III A elementlerinin katyonları sudaki O-H bağlarını kırarak hidroliz olabilirler. Katyonların bu özelliği iyon yarıçapı ile ters orantılıdır. İyon yarıçapı

bordan daha büyük olan alüminyum ve galyum iyonları daha az hidroliz olurlar. Bu nedenle alüminyum hidroksit ve alüminyum oksit amfoterik bileşiklerdir.

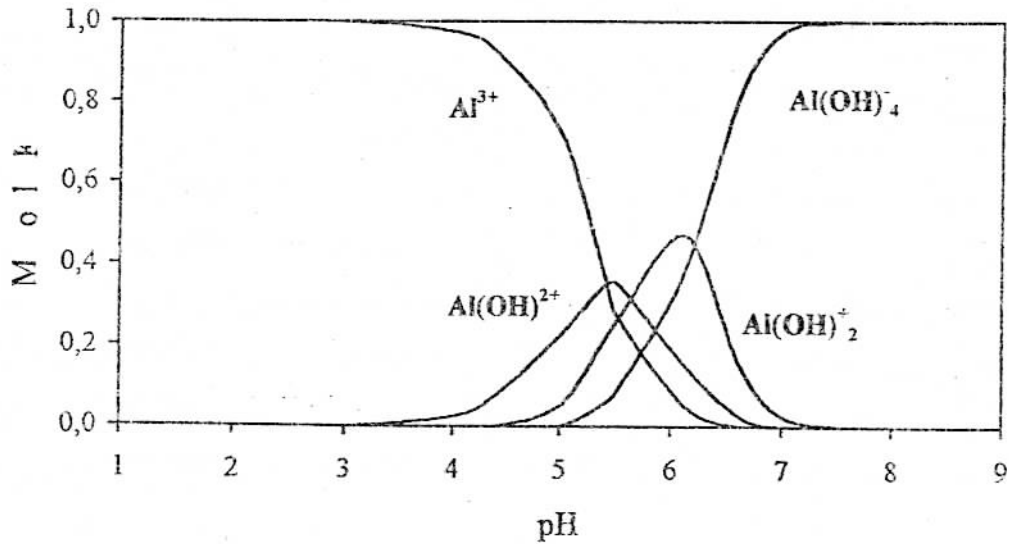
Alüminyum yer kabuğunda bol bulunan üçüncü elementtir ve kimyasal yapısından dolayı normal biyokimyasal ve metabolik süreçler dışında da etkindir. Litosferde alüminyumdan daha bol bulunan iki element oksijen ve silisyumdur. Böylece alüminyumun doğada silikatlara bağlı olarak bulunması sürpriz değildir. Oksitleri ve daha yaygın olarak kompleks alüminosilikatları şeklinde minerallerde ve toprakta var olan alüminyum, yer kabuğunda bu kadar bol bulunmasına rağmen yeryüzü sularında beklenenden daha az bulunmaktadır. Öyle ki, bu sulardaki Al^{3+} derişimi düşük olduğundan yakın zamana kadar kesin olarak ölçülememiştir. Okyanuslarda alüminyum 1 $\mu g/L$ derişiminin de aşağısında bulunmaktadır. Okyanuslarda derişimin bu kadar düşük olmasının en önemli sebebi kil minerallerinin alüminyum diatomları şeklinde biriktirmeleridir. Yüzey suları yeraltı ve okyanus sularından daha fazla Al^{3+} içermesine rağmen bazı volkanik bölgelerdeki doğal sular ve kaynak suları normal düzeylerinin de üzerinde Al^{3+} içerirler. Serbest Al^{3+} sedimentlerde hidroksitleri şeklinde derhal çökerek, bu formda birikirler. Asit yağmurlarının etkisiyle alüminyum da tıpkı civa ve kurşun gibi biriktikleri mineralden serbest hale geçerler ve çoğunlukla da yüzey sularında ortaya çıkarlar. Mineral ve topraktan alüminyumun serbest hale geçmesinde asit yağmurları oldukça etkin rol oynar. Alüminyumun balıklarda ve insanlarda zararlı etkileri asitliğin artmasıyla artar. Temiz su göllerinde Al^{3+} 'nin derişimi pH 6'nın altında belirgin bir şekilde artar ve bu göllerde yaşayan balıklar için önemli bir tehdit unsuru oluşturur. Balıklar dışında ayrıca Al^{3+} derişimi çevredeki yaban su kuşları için de toksik etki gösterir.

Alüminyumun birincil cevheri olan boksit tropik bölgelerde aşırı miktarda aşınmış kayalarda oksit karışımları halinde bulunmaktadır. Alüminyum ayrıca diğer elementlerle birlikte karışık oksitler, feldespat ve alüminyum silikatlar şeklinde bulunur. Metalik alüminyumun ticari üretimi için kullanılan kiryolit (Na_3AlF_6) önemli miktarda Grönland'da bulunuyordu fakat bu kaynağın tükenmesiyle alüminyum yapay olarak "Bayer Prosesi" ile elde edilmektedir (Martin 1988)

2.2.1. Fizyolojik açıdan önemli alüminyum bileşikleri

Alüminyum, metalik oksitleri ve kompleks alüminyum silikatları dışında çözeltilerinde değişik bileşikleri şeklinde bulunabilir. Fizyolojik açıdan önemli olan bu bileşiklerin bazıları aşağıda verilmiştir.

Serbest Al^{3+} : Alüminyumun bu formu, sulu çözeltilerinde ve alüminyumun canlı sisteme alınmasında önemlidir. Diğer ligantların varlığında ve farklı pH değerlerinde Al^{3+} türlerinin neler olduğunun anlaşılması istenir (şekil 2). Ancak çözeltilerin $pH < 5$ ise Al^{3+} oktahedral heksahidrat $Al(H_2O)_6^{3+}$ şeklinde bulunur ve bu da kısaltılarak Al^{3+} şeklinde gösterilir. Çözeltinin asitliği arttıkça $Al(OH)^{2+}$ ve $Al(OH)^+$ türleri oluşarak protonlar azalır. Nötral çözeltilerde $Al(OH)_3$ çöker ve bazik çözeltilerde tekrar çözünerek tetrahedral yapıdaki $Al(OH)_4^-$ bileşimini oluşturur. Polynükleer alüminyum türleri ise bu monomerlerin zamanla birleşmesi sonucu oluşur. Termodinamik denge hesaplamalarından $pH=7,4$ olan hücre dışı sıvılarda $Al(H_2O)_6^{3+}$ kompleksinin derişimi $10^{-11,5}$ M olarak bulunmuştur. Bu önemli sonuca göre kan plazmasının pH 'da, $Al(OH)_3$ çözünmesiyle serbest kalan en yüksek Al^{3+} derişimi $3,10^{-12}$ M dir (Martin 1988).



Şekil 2. Alüminyum türlerinin sulu çözeltilerdeki dağılımı.

İnorganik fosfata bağlı alüminyum bileşikleri: İnsanlarda pH=7,4 olan hücre dışı sıvılarda fosfat derişimi yaklaşık 2 mM dir. pH=6,6 olan hücre içi sıvılarda ise fosfat derişimi yaklaşık olarak 10 mM dir. Fosfatla Al^{3+} 'nin oluşturduğu tuzlar çoğunlukla çözünmezler ve $AlPO_4$ ya da çoğunlukla $AlPO_4 \cdot 2H_2O$ şeklinde gösterilir. H_3PO_4 0,16 M iyonik şiddette üçüncü asitliğine kadar iyonlaşabilir.

$H_3PO_4 \rightarrow H_2PO_4^- \rightarrow HPO_4^{2-} \rightarrow PO_4^{3-}$ şeklinde gösterilen iyonlaşmada pKa değerleri sırasıyla 2,0; 6,77 ve 11,6 dir. Bu şekilde PO_4^{3-} 'nin baskın olduğu pH değeri 11,6'dan büyüktür. Serbest Al^{3+} 'nin baskın olduğu pH değeri ise pH<5 dir. Bu şekilde hem Al^{3+} 'nin hemde PO_4^{3-} 'nin herhangi bir pH değerinde birleşmeleri söz konusu değildir. Ancak $H_2PO_4^-$ türünün baskın olduğu pH=2-6,8 ve $Al(OH)_2^+$ türünün baskın olduğu pH 5,5-6,6 arasında; nötral alüminyum fosfat kompleksleri oluşabilir ve bu da $AlPO_4 \cdot 2H_2O$ ve $Al(OH)_2 \cdot H_2PO_4$ şeklinde gösterilir. Ancak ortamda sitrat iyonları varsa alüminyumun fosfatları şeklinde çökmesine engel olurlar. Yine termodinamik hesaplamalar sonucunda 10 mM toplam fosfat içeren ve pH=6,6 olan hücre içi sıvılarda $pAl=12,5$ iken; 2 mM toplam fosfat içeren ve pH=7,4 olan hücre dışı sıvılarda $pAl=12$ dir. Bu değerler oldukça düşük maksimum serbest Al^{3+} derişimini gösterir. Aynı koşullarda kemik ve dişlerin yapı taşları olan hidroksiapatitin $[Ca_3(PO_4)_2 \cdot OH]$ sağlayabildiği serbest Ca^{2+} derişimi ise 10^8 kat daha büyüktür. Bu antasit türü ilaçların alımında alüminyumun fosfatla çökerek, daha az kalsiyum alımına sebep olması açısından önemlidir (Martin 1988).

Alüminyumun asetat ve laktat bileşikleri: Alüminyum asetat ve laktatla zayıf bağ yapar ve diğer organik ligantlarla da 3:1 nötral kompleks oluşturduğuna dair kesin bulgular yoktur. Asidik Al^{3+} 'nin asetatla oluşturduğu ve $Al(CH_3COO)_2OH$ şeklinde gösterilen kararsız bileşiği, boyacılıkta mordant olarak ve su geçirmez maddelerin yapımında kullanılmaktadır. Al^{3+} ile asetatın 1:1 kompleksinin $K_s=32$ dir ve $Al(CH_3COO)_2(OH)^+$ ile gösterilen hidroksi kompleksi şeklinde bulunur.

Potansiyometrik bir araştırmaya göre laktat Al^{3+} ile 1:1, 2:1 ve 3:1 kompleksi oluşturur. NMR spektrumları sonucunda pH=6'da 10 mM Al^{3+} ve 30 mM laktat varlığında ise 3:1 kompleksi oluşmaktadır (Martin 1988).

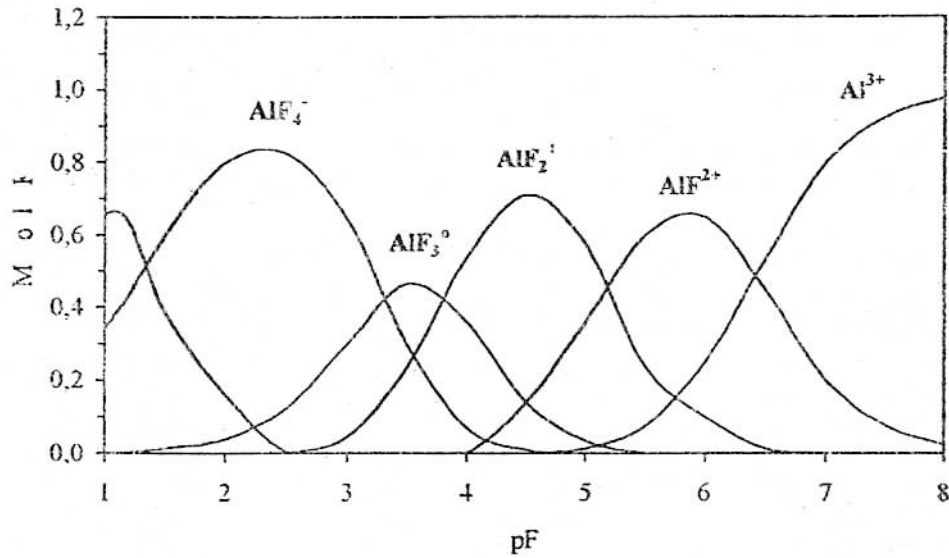
Aluminyumun sitrat bileşikleri: Sitrat kan plazmasında yaklaşık 0,1 mM düzeyinde bulunduğundan Al^{3+} 'yi kan plazmasına bağlayan ve Al^{3+} ile kuvvetli kompleks oluşturan bir bileşiktir. Sitrik asitin üç önmeli asitlik sabiti pKa sırasıyla; 3,0, 4,4 ve 5,8 dir. Bu nedenle sitrik asit, pH=7,4 olan plazmada, trikarboksilat anyonu şeklinde bulunur. Sitratla ilgili son çalışmalarda AlL° şeklinde gösterilen aluminyumun nötral kompleksleri $2 < pH < 5$ aralığında önemli bir mol fraksiyonuna sahiptir. Bu net sıfır yüklü kompleks önemlidir çünkü Al^{3+} 'nin membrandan geçmesini sağlar. Aluminyum, fosfatın bulunduğu ortamda sitrat ile çözünür kompleks oluşturmayı tercih eder. pH=2-5 aralığında Al^{3+} 'nin sitratla yaptığı kompleks Al^{3+} 'nin mide-bağırsak sisteminin üst kısımlarından absorpsiyonu için etkin bir yoldur ve kobay hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarla da bu gösterilmiştir. Sadece sitrik asit veya aluminyum sitratla beslenen deney hayvanlarının beyin ve kemiklerinde artan düzeyde Al^{3+} bulunmuştur. Ayrıca $Al(OH)_3$ içeren antasit türü ilaçları kullanan insanların kanlarındaki Al^{3+} seviyesinin, sitrat alımıyla arttığı bulunmuştur. Aluminyum fosfat ve aluminyum hidroksit çökmesinin sitrat iyonlarının varlığında sökonusu olmadığı ve oluşan aluminyum sitrat kompleksinin mide-bağırsak sistemindeki emiliminin gayet iyi olduğu hem termodinamik olarak hem de hayvan deneyleriyle gösterilmiştir. Bu nedenle antasit türü ilaçların gerek meyve sularıyla ve gerekse C vitamini içeren içeceklerle alınmaması önerilir. Sağlıklı kişiler Al^{3+} 'yi sistemlerinden atabilseler dahi; Al^{3+} 'nin aluminyumsitratın çözünürlüğü ile tekrar alınması sözkonusudur (Martin 1988).

Aluminyumun salisilat bileşikleri: Tamponlanmış bazı aspirin tabletleri, $Al(OH)_3$ ile kaplanmıştır. Böylece aspirin alındığında asetil salisilatın kuvvetli hidrolizi sonucunda ortamda Al^{3+} 'de oluşmaktadır. pH=7'de asetil salisilat ile Al^{3+} 'nin oluşturduğu kompleksin kararlılık sabiti $\log K=6,7$ dir. Salisilat μM düzeyinin aşağısında dahi olsa Al^{3+} ile kompleks oluşturmaktadır. Ancak plazma içerisinde salisilatın küçük miktarları; yine Al^{3+} ile kompleks oluşturan sitrat veya transferinle rekabet edemez (Martin 1988).

Aluminyum-protein bileşikleri: Genellikle plazmada bulunan albumin ve globulin proteinleri, Al^{3+} gibi metallere zayıfça bağlanabilirler, ancak bu bağlanmalar

spesifik değildir. Albumin plazmadaki diğer kompleksleştiricilere nazaran Al^{3+} 'yı zayıfça bağlar ve pH=7,4 olan plazmada Al^{3+} 'yı bağlamak için sitrat ve fosfatla rekabet edemez. Eğer plazmada Al^{3+} proteine bağlı olursa albuminden daha kuvvetli bir kompleksleştirici ile bağlanmalıdır. Muhtemelen alüminyumun plazmanın içinde, fakat kırmızı kan hücreleri olan alyuvarların dışında kalmasını, sitrat ve transferrin iyonlarının sağladığı düşünülmektedir. Alyuvarlar 4 mM 2,3-difosfogliserat içermektedir ve bu bileşiğin henüz kararlılık sabiti saptanamamış olsa da kuvvetli bir Al^{3+} bağlayıcısı olduğu düşünülmektedir. Eğer Al^{3+} , kırmızı kan hücresinde yeterince birikmişse difosfogliseratı bağlamak için hemoglobin ile yarışabilir (Martin 1988).

Alüminyumun florür bileşikleri: Alüminyum florür ile kuvvetli kompleks oluşturur. 25-37°C'de ve 0,16 iyonik şiddette Al^{3+} 'ya birden beşe kadar florür bağlanması halinde oluşan bileşiklerin kararlılık sabitlerinin logaritması sırasıyla 6,4; 5,2; 3,8; 3,3 ve 1,3'dür. Hemen hemen diğer bütün ligantların tersine Al^{3+} 'nın florür kompleksi Fe^{3+} 'ninkinden daha kuvvetlidir. Şekil 3.'de AlF komplekslerinin pF'nin fonksiyonu olarak dağılımı görülmektedir. Buradaki [F] kompleks oluşturmeyen serbest florür iyonlarının derişimini göstermektedir.



Şekil 3. Sulu çözeltilerde alüminyum florür türlerinin dağılımı.

İçme suyuna eklenen 1 ppm florür ortamdaki Al^{3+} ile kompleks oluşturur. 12 μM F^- eklenmesi halinde ise Al^{3+} 'nin balıklar üzerindeki toksik etkisinin azaldığı gözlenmiştir. Nispeten az $Al(OH)_3$ alımı insanlarda florürün bağırsaklarda emilimini azaltır. Böbrek hastalarının kullandıkları içme sularında Ca^{2+} ve F^- derişiminin düşük, Al^{3+} derişiminin ise yüksek olması halinde kırılmalar şeklinde kendini gösteren kemik hastalıkları ortaya çıkmaktadır. Florürün Al^{3+} ile bir başka şaşırtıcı bağlantısı Adenilat Syklaz enzim sisteminin florür aktivasyonu işlevinde kendini gösterir. Hatta Adenilat Syklaz fizyolojik olmayan bir aktivatör olarak florür tarafından aktive edilebilir. Daha sonraki deneyler florürün, guanin nükleotide bağlı düzenleyici olarak Mg^{2+} ve GTP gibi bir nükleotitin başlangıcında aktif rol oynadığını göstermiştir. Ticari olarak hazırlanan pek çok nükleotit preperatında, olası bir kirlilik florürden kaynaklanabilir. Hekzokinas kirliliği Al^{3+} içerir. Adenilat Syklaz sisteminde diğer metal iyonları ve florürün varlığında, Al^{3+} ile EDTA'nın kompleks oluşum oranlarının düşük olduğu gözlenmiştir. Ayrıca fosfodiesteraz tepkimesi başlatan ve bir ikinci GTP bağlayan proteinin, florür tarafından aktive edildiği bildirilmiştir ve bunun için iki mekanizma ileri sürülmüştür (Martin 1988).

Diğer alüminyum bileşikleri: Plazmanın tersine omurilik sıvısında transferrin bulunmaz ve yaklaşık 2 nM düzeyinde sitrat bulunur. Bu nedenle omurilik sıvısında serbest Al^{3+} derişimi plazmadakine göre daha yüksektir ve bu durum nöral dokularda Al^{3+} 'nin zararlı etkisinin daha çok artmasına yol açmaktadır. Plazmanın kuvvetlice bağ yapan sitrat ve transferrin bileşenlerini, ihmal edilebilir düzeyde içeren diğer sıvılarda, Al^{3+} 'yi bağlayabilecek bileşiklerden birisi katekolamin deriği ise nükleotitlerdir. Katekolaminlerde Al^{3+} bileşiğın katekol kısmından bağlanır. Katekolaminlerin önemli bileşiklerinden birisi Epinofrin deriği ise DOPA'dır ve her iki bileşikte beyin ve diğer dokularda nörotransmitter olarak görev yaparlar. Dolayısıyla bu dokularda muhtemelen bu bileşiklere bağlı olarak bulunan alüminyumun tayini oldukça önem taşımaktadır.

Desferrioksamin bir tür mikrobiyal demir taşınım maddesidir. Desferrioksamin ayrıca Al^{3+} 'yi kuvvetlice bağlar ve bu nedenle yüksek Al^{3+} 'ya maruz kalmış böbrek hastalarının tedavisinde yaygın olarak kullanılır. Desferrioksamin tedavisinin üstünlüğü altı bağ yapmış üç değerlikli metal iyonlarıyla diğer metallere göre daha

kuvvetli kompleks oluşturmasıdır. Desferrioksaminin Al^{3+} ile oluşturduğu kompleksin kararlılık sabiti $\log K_s=22$ iken Fe^{3+} ile oluşturduğu kompleksin kararlılık sabiti ise $\log K_s=31$ dir (Martin 1988).

2.2.2. Alüminyumun başlıca alım kaynakları

Alüminyum her yerde bulunan bir element olmasının dışında çevremizde özellikle sanayide oldukça geniş bir kullanım alanına sahiptir. Dünyada her yıl kişi başına 1-2 g alüminyumun atıldığı rapor edilmektedir. Alüminyum; çevre, beslenme, yiyecekler, içeceklerle eklenen koruyucu maddeler, sağlık ve tıbbi bakım ilaçları, antasit, antidiyaretik veya antifosfat gibi mide bağırsak bölgesinde kullanılan ilaçlar olmak üzere; çok değişik yollarla insanlar tarafından alınmaktadır (Duffield ve Williams 1988).

Alümina sanayide, yalıtıcıların, bujilerin yapımında kullanılır ve ısıtıldığında su buharının adsorplanmasını sağlayan gözenekli bir yapı kazandığından daha pek çok ürünün yapımında kullanılır. Koruyucu bir oksit tabakası ile kaplanan alüminyum pek çok mutfak ekipmanının yapımında da kullanılmaktadır. Ticari adı etkinleştirilmiş alümina olan alüminyum oksit, gazların ve bazı sıvıların suyunun alınmasında kullanılır ve çeşitli kimyasal tepkimelerde katalizör taşıyıcısı olarak görev yapar. $Al_2(SO_4)_3$ kağıt yapımında boya tutkalı ve yüzey astarı olarak yaygın bir şekilde kullanılır. Alüminyum tek değerlikli metallerin sülfatlarıyla birleşerek, şap olarak bilinen hidratlı çift tuzları oluşturur. En önemlisi potasyum çapı olan $[KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O]$ alüminyum çift tuzu ilaç, tekstil ve boya üretim sanayinde kullanılmaktadır. Eski Roma devrinden bu zamana alüminyum çift tuzlarının örneğin; $Al_2(SO_4)_3$ 'ün içme suyuna bulanıklığı gidermek için katıldığı bilinmektedir. $Al_2(SO_4)_3$ 'ün içme suyuna koagülant olarak katılmasıyla, $Al(OH)_3$ oluşur ve bulanıklık oluşturan maddeleri de adsorblayarak birlikte çöker.

Yine günümüzde alüminyum çift tuzları kağıt yapımında, dericilikte tabaklama işlemi için ve boyacılıkta kullanılmaktadır. Bu çift tuzlar ayrıca dondurulmuş çilek gibi bazı donmuş gıdalara, işlenmiş peynir ve biraya da eklenmektedir. Alüminyum şapları ayrıca pastalarda kullanılan kabartma tuzlarına da eklenmektedir (Martin 1988).

Eritilmiş alüminyumun, gaz halindeki klorla tepkimeye girmesi sonucunda oluşan alüminyum klorür; kovalent bir bileşiktir ve organik çözügenlerde aromatik ketonların ve aralarında antrakinon ve türevlerinde bulunduğu çok sayıda bileşiğin hazırlanmasında mükemmel bir Lewis asiti katalizörü olarak davranır. $AlCl_3$ 'ün terlemeyi engelleyici özelliği 1921'de kozmetik sanayinde bir patentin konusu olmuştur. Asitliği az olan alüminyum hidroksi klorürler, kumaşa az zarar verdikleri için terlemeyi önleyici formüllerde kullanılmış ve alüminyum kloro hidrat $[Al_{13}O_4(OH)_{24} \cdot 12H_2O]^{7+}$ terlemeyi engelleyici deodorantların yapımında yaygın olarak kullanılmıştır. Trietil alüminyum $[Al(C_2H_5)_3]$, doğala eşdeğer yapay kauçuk yapımındaki polimerizasyon tepkimelerinde Ziegler-Natta katalizörü olarak kullanılır ve bu açıdan da önemli bir sanayi maddesidir (Martin 1988).

İnsanlar tarafından tüketilen pek çok gıda örneği, alüminyumun alındığı önemli kaynakların başında gelir. Aralarında kabak, havuç, marul, pirinç, patates gibi pek çok sebze ve tahılın bulunduğu beslenme ürünlerinde alüminyum derişiminin 0,1-10 mg/kg aralığında değiştii bulunmuştur. Alüminyum derişiminin bu sınırların çok üstünde çıktığı örneklerde toprak kirliliğinden kaynaklanan alüminyum fazlalığının olduğu düşünölmüştür. Çünkü: toprakların alüminyum içerikleri ortalama 50 000 mg/kg (yaklaşık %5) düzeyindedir ve bunun çok az bir kısmı çözünmeyle bitki materyaline geçer ve yaklaşık olarak bitkilerde de 50 mg/kg olması beklenmektedir. Al^{3+} açısından zengin toprakların bitki büyümesini geciktirdiği bulunmuştur. Asidik topraklar ise alüminyum açısından oldukça zengindir. Arpa yetişen asidik topraklarda Al^{3+} 'nın zararlı etkisi tespit edilmiştir. Ancak fosfat eklenmesiyle bu bitkilerde büyümenin arttığı ve fosfat eklenmesiyle bitkilerde alüminyumun zararlı etkilerinin azaldığı bulunmuştur (Scherlok 1988).

Ayrıca yiyecekler alüminyum kaplarda pişiriliyorsa metalin çözülmesi söz konusu olmaktadır. Greger ve ark. (1985) domatesin alüminyum kaplarda pişirilmesi sonucunda 0,12 mg/kg olan Al içeriğinin 3,1 mg/kg'a yükseldiğini göstermişlerdir. Aynı şekilde Baxter ve ark.(1988) pH=4,4'de homojenize edilmiş domates örneklerini yine alüminyum kaplarda pişirdiklerinde 0,5 mg/kg olan alüminyum içeriğinin 3,3 mg/kg'a yükseldiğini bulmuşlardır. Alüminyum pişirme kaplarında özellikle asidik meyve suları hazırlanıyorsa kaynatmayla alüminyumun çözüldüğü görölmüştür. Alüminyum kaplara gıda sularının etkileri; pH'a, sıcaklığa, pişirme

süresine ve gıda örneklerinde bulunan diğer maddelere göre değişir. Sıcak asidik meyve sularının, şeker yokluğunda metal alüminyum kapları daha fazla aşındırdıkları bulunmuştur. Kaynayan asidik çözeltilerde 1 ppm F⁻ün olması halinde, alüminyum kaplardan çözültüye geçen Al³⁺'nin miktarını önemli miktarda azaldığı gözlenmiştir. Bu nedenle pişirme kaplarından pişirme esnasında ya da asidik meyve sularının bekletilmesi sırasında çözülmelerle alüminyum kayıplarını engellemek için kapların yüzeyi bir oksit tabakasıyla kaplanmaktadır.

Çay deminde, meyvelerde ve günlük olarak tüketilen et içerisinde alüminyum derişim aralığı 0,1-10 mg/kg olarak değişmektedir. Bu besinler arasında alüminyum alımı açısından en önemli kaynak çay demidir. Çay deminde 1-5 mg/L alüminyum bulunmuştur. Nature dergisinin son yayınlarında çay içerisindeki alüminyum değerleri ortalama 4 mg/kg olarak verilmiştir. Bu şekilde beslenmeyle alınan günlük alüminyum miktarının 1-10 mg arasında değişebileceğine işaret edilmiştir.

Alüminyum derişiminin, inek sütü, anne sütü ve bebek gıda maddelerinde birbirine çok yakın olduğu ve yaklaşık 0,1 mg/kg düzeyinde bulunduğu görülmüştür. Biberonla beslenen bebekler için kullanılan hazır gıdalarla alınan alüminyumun, anne sütüyle beslenen bebeklere göre daha fazla olduğu bulunmuştur. Bu çok önemlidir. Çünkü bebeklerde mide-bağırsak sistemi ve böbrek sistemi henüz gelişmemiş olduğundan alınan alüminyumun atımı düşük olabilmekte ve böylece kan-beyin bariyerinde birikme sözkonusu olmaktadır (Baxter 1988).

Ülkelere göre beslenme yoluyla alınan alüminyum miktarlarına bakıldığında 1985 yılında İngiltere'de kişi başına ortalama 8 mg/kg iken Amerika'da 27 mg/kg gibi oldukça yüksek bir değere ulaştığı görülmektedir. Başka bir çalışmaya göre yiyeceklerle alınan alüminyum derişimi 10 mg/kg'dan daha azdır ve İngiltere, Amerika, Finlandiya İsviçre ve Japonya'da kişi başına günlük ortalama 5 mg alüminyum alımı söz konusudur.

Alüminyumun alındığı diğer bir önemli kaynak antasit türü ilaçlardır ve tamponlanmış aspirinler de alüminyum içermektedir. İnsanlar tarafından, alüminyumun önemli bir miktarı bu antasit türü ilaçların kullanılmasıyla alınmaktadır. Antasit türü ilaçlarda günlük alım dozajı 800-5000 mg'a ulaşmaktadır. Bu ilaçlarla alınan alüminyuma bakıldığında yiyecek ve içeceklerle alınan alüminyum düzeyinin oldukça düşük kaldığı görülmektedir (Baxter 1988).

Aluminyumun yaygın olarak kullanıldığı ambalaj sanayinde aluminyum ya sıradan bir şekilde ya da dönüştürülmüş olarak kullanılır. Mutfak folyoları, folyo pişirme veya ısıtma kapları, çikolata ya da efferfersan ilaç tabletlerinin sarımsında kullanılan paket kağıtları aluminyumun sıradan ambalaj kağıdı olarak kullanıldığı başlıca malzemelerdir. Bu şekilde gıda örneklerinin korunması ve saklanması için kullanılan aluminyum folyolardan gıda örneklerine aluminyumun geçebilirliğini kontrol için yapılan çalışmalarda, pişirmeden önce ve sonra örneklerdeki aluminyum derişimleri bulunmuştur. Bu yolla alınan aluminyumun gıda örneklerinden alınan aluminyum yanında ihmal edilebileceği görülmüştür. Dönüştürülmüş aluminyum folyolarda ise, aluminyum gıdalarla doğrudan temas halinde değildir ve ara yüzeyde kağıt, plastik gibi maddeler bulunmaktadır. Bu şekilde hazırlanan folyolar özellikle konservelerin saklanmasında ve ısıtma kaplarının yapımında kullanılmaktadır. Günümüzde bu folyoların organik maddelerle kaplanarak yiyeceklerin korunması için kullanılmasında bir sakınca görülmemektedir. Fakat asidik meyve sularının bu ambalajlarda uzun süre bekletilmesi halinde çözeltiye geçen aluminyum miktarının arttığı bulunmuştur. Örneğin elma suyunda 1,3 mg/L olan aluminyum düzeyinin, 22 ay sonra 5,2 mg/L düzeyine yükseldiği bulunmuştur (Severus 1988).

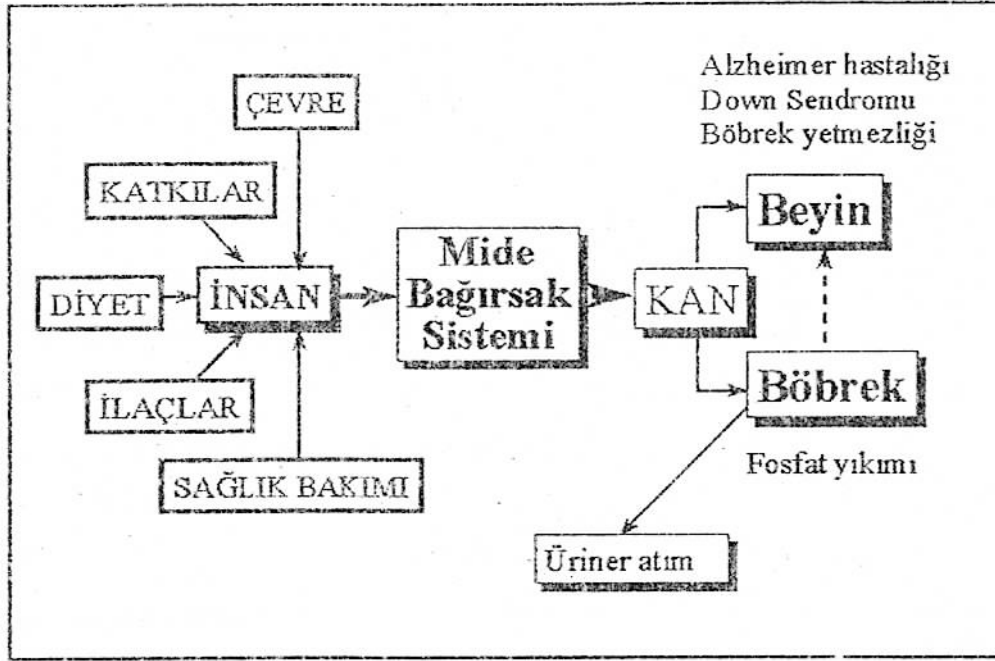
Günümüzde aluminyum bileşikleri, özellikle şapları, gıda maddelerine katkı maddesi olarak da katılmaktadır. $Al_2(SO_4)_3$, ayırma, filtrasyon, gibi işlemlerde pH ve renk kontrolünde; sodyum aluminyum fosfat; bazik ve asidik ortamda stabilizatör olarak ve hamur mayalarında; sodyum aluminyum silikat, nem kontrolünde ve görüntünün korunmasında kullanılan ve aluminyum içeren bir kaç gıda katkı maddesidir (Severus 1988). Bu konudaki çalışmalara bakıldığında Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) yetişkinlerde tolere edilebilir aluminyum düzeyinin haftalık olarak 7 mg/kg olarak belirlediği görülmektedir (Almedia ve Bastos 1992).

Yukarıda anlatıldığı gibi pek çok şekilde alınan aluminyumun biyoalınabilirliği ve toksitesinin belirlenmesi için toplam element derişimini vermek yeterli değildir. Bu toplam derişimi oluşturan her bir türün belirlenmesi ise ancak spesiasyon çalışmalarıyla mümkündür. Spesiasyon sadece analitik kimyayı değil çevre mühendisliği, tıp, biyokimya gibi pek çok alanı ilgilendiren diğer bir deyişle multidisipliner çalışmayı gerektiren kapsamlı bir araştırma alanıdır.

2.2.3. Alüminyumun Biyoyarınabilirliği

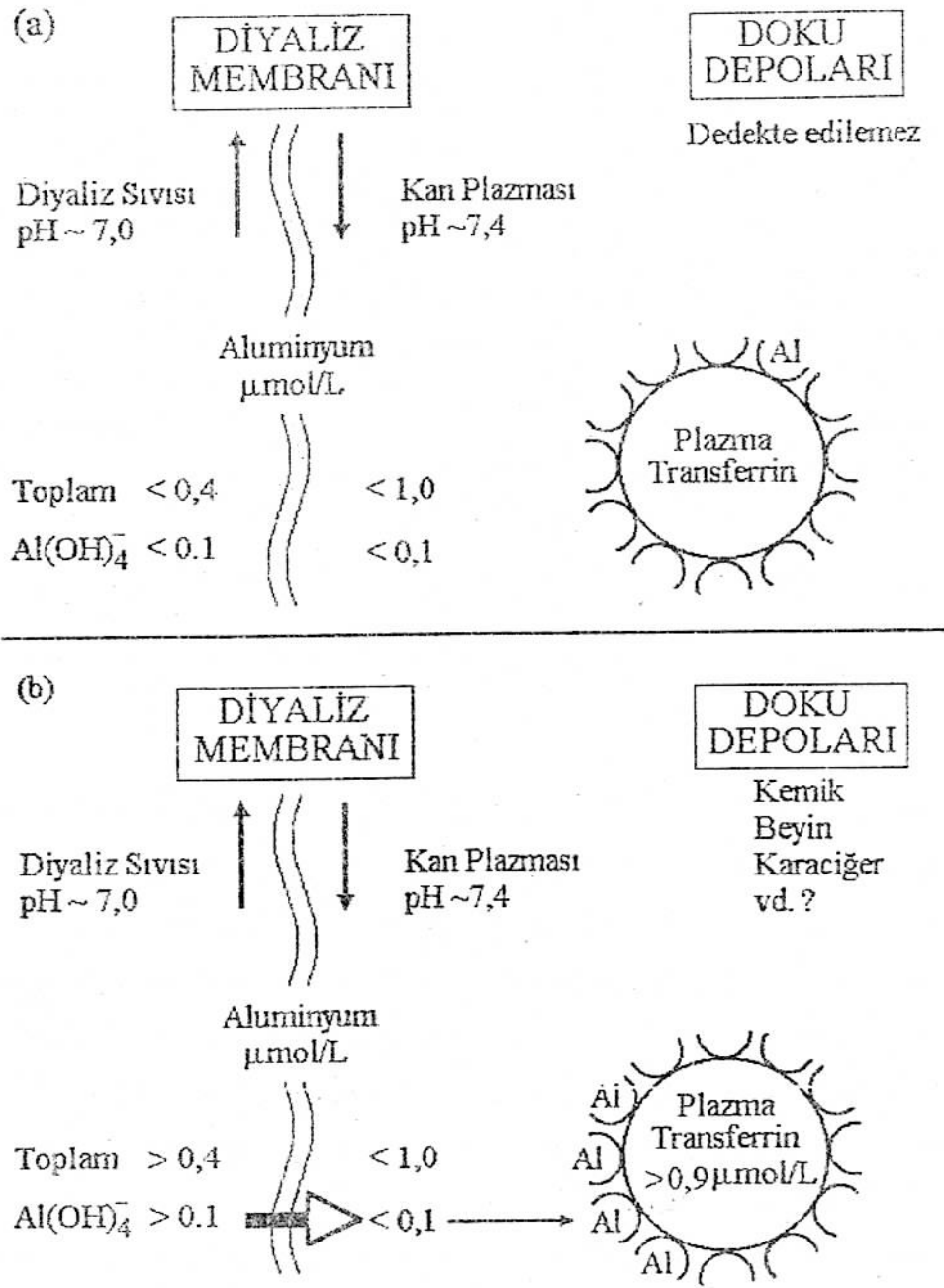
Alüminyum, biyolojik olarak gerekli eser elementler arasında yer almaz. Çünkü; enzim aktivasyonu için pek çok eser element bulunmasına rağmen, katalitik olarak alüminyum gerektiren hiçbir enzim aktivesi bulunamamıştır. Alüminyum derişiminin çok yüksek olduğu çevre içerisinde, yiyecek ve içecek gibi çeşitli yollarla alınan mikro derişimlerdeki alüminyumun doğru ölçülmesindeki zorluklardan dolayı, sağlık açısından bir tehlike oluşturduğunun geç farkına varılmıştır. 1970'lerden bu yana böbrek hastalarının kullandıkları diyaliz sıvılarındaki yüksek alüminyum düzeyi ile Alzheimer hastalığı arasında bir ilişki olduğuna dikkat çekilmiş ve çalışmalar bu konuda yoğunlaştırılmıştır.

Alüminyum iyonları, duodenal mukozanın lipid-protein membranına geçmeyen suyla çevrili iyonlar şeklinde ince bağırsaktan tamamıyla emilmezler ve bu nedenle kan dolaşımına katılırlar. Katyonik formda bulunmayan bu metal iyonları düşük moleköl ağırlığına sahip karboksilik asit veya amino asitler gibi anyonik formdaki ligantlarla kompleks oluşturabilirler. Böylece alınan alüminyumun küçük miktarları alıkonabilecekleri veya normal biyokimyayı değiştirebilecekleri dokulardan kana geçme eğiliminde değillerdir. İşte buradaki kimyasal spesiasyon çalışmaları fizyolojik şartlar altında çözünürlük ve yük dağılımlarının belirlenmesi açısından önemlidir. Yiyecekler yoluyla alınan 10 mg/kg alüminyum düzeyi nadiren aşılr ve bu da muhtemelen güvenilir bir seviyedir. Fakat uzun periyotlar boyunca alüminyum alımı düşünöldüğünde bazı riskler oluşabilir. Alüminyum alımı ve atımı arasındaki farklılıklar yine ancak spesiasyon çalışmalarıyla aydınlatılabilir. Şekil 4.'de çeşitli yollarla vücuda alınan alüminyumun dolaşımı gösterilmiştir.



Şekil 4. İnsanda alüminyum dolaşımı.

Diyaliz sıvılarında alüminyum düzeyinin $0,4 \mu\text{mol/L}$ 'den, kan plazmasında ise $1 \mu\text{mol/L}$ 'den daha az olması halinde ancak hastalara minimum alüminyum transferi olabilmektedir. Tuz, bikarbonat ve diğer bileşikler içeren diyaliz sıvısının pH'nda alüminyumun moleküler formu klinikçiler için oldukça karmaşıktır. Bununla beraber eğer diyaliz sıvısının alüminyum derişimi $0,4 \mu\text{mol/L}$ 'den daha fazla ise diyaliz sıvısından hastaya sürekli olarak taşınmayla alüminyum geçecektir. Her diyaliz seansınca bu engellenemez. Çünkü, alüminyum kanın yapısında bulunan transferrin gibi taşıyıcı bir proteinle hızlı ve özgül olarak bağ yapar ve bu şekilde membrandan geçer ve kanla daha içerilere doğru diffüzenir. Hasta bu nedenle her diyaliz sonrasında tekrar tekrar yüklü bir alüminyum almış olur. Sonuçta plazma transferi giderek artan miktarda alüminyum ile doygun hale gelir ve toplam plazmada alüminyum derişimi o kadar artar ki, transferrinle birlikte dokudaki depo yerlerine taşınır. İşte bu şekilde alınarak biriken alüminyumun "Dialysis Dementia Syndrome" olarak adlandırılan Alzheimer hastalığına yol açtığına dair kuvvetli kanıtlar vardır. Şekil 5'te, diyaliz hastalarının kullandıkları diyaliz sıvısından alüminyumun, kan plazmasına geçisi gösterilmiştir.



Şekil 5. Aluminyumun, diyaliz sıvısından taşınım mekanizması: a) düşük aluminyum derişiminde b) yüksek aluminyum derişiminde

Başlangıçta Alzheimer hastalığı yüz bozukluğu, konuşma zorluğu, el ve ayaklarda düzensiz titremelerle kendisini gösterir. Daha sonra epilepsi benzeri nöbetler gelişir ve ilerleyen hastalık 12 ay içerisinde etkilenen herkese sanal olarak ölmüş izlenimi verir. Dialysis Dementia Syndromu yeni bir hastalık olarak tanımlanmış ve 1976 yılında Alfrey ve ark. (1976) tarafından, beyinde aluminyum birikmesiyle ilgili

olduğu öne sürülmüştür. Aynı yıl Avrupa’da yapılan bir araştırmada böyle 150 vaka olduğu ortaya çıkmıştır. Amerikalı araştırmacılar 8 yılda 1380 diyaliz hastasının 55’nde Dialysis Dementia Syndromu belirtileri tespit etmişlerdir. Bilim adamları hem Amerika hem de Avrupa’daki diyaliz merkezlerinin diyaliz sıvılarının çok yüksek düzeyde alüminyum içerdiğini belirlemişlerdir. Scotland Glasgow Sağlık merkezinde diyalize giren hiçbir hastada “Dialysis Dementia” bulunamamış, ancak bu merkezin dışında 13 vaka tespit edilmiştir. Bu Glasgow dışındaki çeşme sularının yüksek düzeyde alüminyum içermesiyle açıklanmıştır. Dundee’de içme suyundaki alüminyum düzeyi oldukça düşük olmasına rağmen yalnızca bir kişi de Alzheimer görülmüş ve bu kişinin de oral yolla alüminyum aldığı ortaya çıkmıştır. Normal plazmada bulunması gereken alüminyum düzeyi <1 $\mu\text{mol/L}$ düzeyinde iken hastalığa maruz kalmış kişilerin plazmasında 12-14 $\mu\text{mol/L}$ olarak bulunmuştur. Omurilik sıvılarında yüksek alüminyum düzeyleri bulunmuş ve beyin otopsileri sonucunda normalde olması gereken en üst alüminyum limiti; kuru ağırlık cinsinden <4 $\mu\text{g/g}$ olmasına rağmen; hastalanan kişilerde 9-34 $\mu\text{g/g}$ olarak belirlenmiştir.

Kronik böbrek hastalarının diyaliz ile tedavisinde Alzheimer hastalığının dışında belirgin bir kemik erimesi olduğu da gözlenmiştir. Dialysis Dementia hastalıklı her üç hastanın ikisinde, kendiliğinden kemik kırılması kemik eğilmesi şeklinde kendini gösteren kemik hastalıklarının olduğu farkedilmiştir. Tedavisi D vitamini ile mümkün olmayan bu hastalığın, alüminyumdan kaynaklanan “Osteomalacia”nın özel bir türü olduğu görülmüştür. Günümüzde Osteomalacia’nın bu özel şeklinin dokularda alüminyum birikmesinden kaynaklandığı düşünölmektedir. Görünöşte iyi olan Dundee’deki diyaliz hastalarından alınan kemik biyopsilerinin hem NAA hem de AAS ile yapılan alüminyum analizleri normal kişilerinki ile karşılaştırıldıklarında hiç bir klinik belirti olmaksızın dahi yüksek alüminyum düzeyleri bulunmuştur (Stewart 1988).

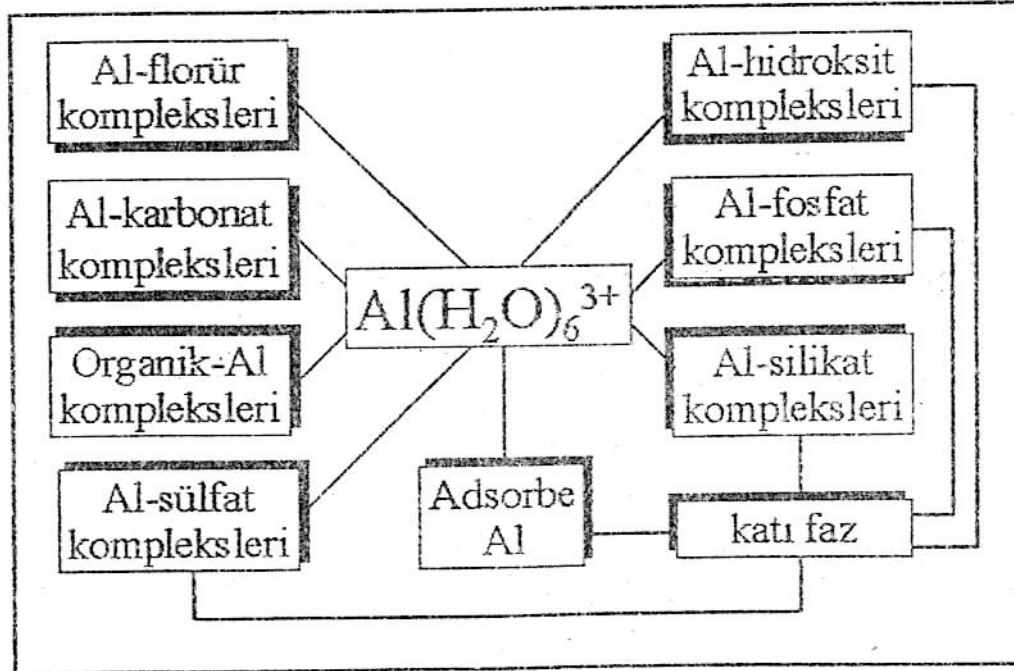
Bütün bu sebeplerden dolayı günümüzde diyaliz sıvılarından alınan alüminyumu hiç değilse minimuma indirmek için ayrıca işlemler yapılmaktadır. Aynı çaba içme suları için de gösterilmektedir. İdealde üretilen bir diyaliz sıvısının alüminyum içeriği asla 30 $\mu\text{g/L}$ ’yi geçmemeli ve ideal olarak 10 $\mu\text{g/L}$ ’den düşük olmalıdır.

Berlyne (1970), yalnızca diyaliz sıvısı ile değil oral yolla alınan alüminyumunda absorbe olabileceğini ve potansiyel toksik olduğuna inandığını söylemiştir.

Normal koşullarda nispeten az miktarda bir alüminyum ağızdan alınır ve büyük çoğunluğu sindirim sistemine geçerek, adsorbe olmadan feçes ile atılır. Mekanizması çok iyi bilinmeyen ve adsorbe olan az bir kısım normal yolla böbreklerden atılır. Terapatik problem dolaylı olarak ortaya çıkar. Çünkü ileri böbrek yetmezliği hastalığına sahip hastalarda kalsiyum fosfatın istenmeyen depolanmasına bağlı olarak iç yumuşak dokularda, damarlarda eklem yerlerinde ve korneada kireçlenmeler görülür. Proteinlerin oksidasyonu sonucunda ortaya çıkan fosfat bileşikleri beslenme kaynağıdır. Kalsiyum fosfatın bu depolanmasından olabildiğince kaçınmak gerekir. Bu amaçla bağırsaktan fosfat emilimini azaltmak için ticari olarak hazırlanan ve $Al(OH)_3$ içeren ilaçlar kullanılır. Bu yolla fosfat absorpsiyonunun azaltılmasına 1941 yılında başlandı. Böylece bağırsak boşluğu içerisinde gıdalarla alınan fosfatın etkisi kompleksleştirilerek dolaylı olarak giderilir. Sonradan bu kompleks feçesle atılır. $Al(OH)_3$ ayrıca peptik ülserle iyi gelen ve müzmin ülserin tedavisinde kullanılan antasitlerle yaygın olarak alınmaktadır. Bu tedaviye serumdaki fosfat düzeyi normal düzeye ininceye kadar devam edilir. Ancak bu şekilde fosfat problemi çözülürken, bir alüminyum sorunu ortaya çıkmaktadır. Bağırsağın anatomik yapısı boyunca ortamın pH'na bağlı olarak alüminyum bileşiklerinin çözünürlüğü ve kimyasal yapısı değişir ve bağırsak boşluğunda alüminat oluşur. Asidik pH'da alüminyum çözünerek Al^{3+} ya dönüşmüş olabilir. pH=5-6'da çözünürlüğü en az düzeydedir ancak çözünür kısım çeşitli hidrat formlarında olabilir. Terapatik olarak alınan alüminyumun bir kısmının adsorbe olduğu kesindir ancak tam olarak nerede ve hangi moleküler formda adsorbe edildiği belirsizdir (Stewart 1988).

İnsanlar sitrat içeren meyve sularını bol miktarda tüketmektedirler. Bununla birlikte dokularda alüminyum derişiminin alüminyum sitratın alınından sonra arttığı gözlenmiştir. Bu gözlem kapsamında sitrat gibi düşük moleköl ağırlıklı ligantların alüminyumun dokularda birikmesinde anahtar rol oynadığı görülmüştür. Normal plazmada sitrat derişimini 100 μM dir ve bu düzeyin artmasıyla alüminyum alımının arttığı klinik çalışmalarla gösterilmiştir. Alüminyum sitrat hızlıca adsorbe edilirken hücrelerarası bölmeler arasında hızlıca denge kurulduğu, fakat bileşiğin kan-beyin bariyerinden hemen nüfuz etmediği bulunmuştur (Quartley 1993; Datta 1990).

Doğal sularda alüminyum, hekzaakua alüminyum iyonları ($Al(H_2O)_6^{3+}$ veya Al^{3+}), hidroksit, florit, sülfat, karbonat, silikat, fosfat ve başta humik asitler olmak üzere organik kompleksleri de dahil pek çok farklı kimyasal türde bulunabilirler (Şekil 6). Alüminyumun çözünürlüğü pH'nın azalmasıyla artar. Bu nedenle asidik sular doğal sulardan daha fazla alüminyum içerirler. Doğal sularda alüminyum derişiminin artması halinde balıkların, okyanus bakterilerinin ve alglerin zehirlendiği gözlenmiştir (Clarke, Danielsson 1991). Balık solungaçlarında $Al(OH)_3$ 'ün çöktüğü bulunmuştur. Asidik çökmeye topraktan alüminyumun taşınmasının sebep olduğu; ancak suda yaşayan canlılar için gerçek zehirlenmenin alüminyumun farklı kimyasal türlerine bağlı olduğu görülmüştür (Alonso ve ark. 1989). Alüminyumun toksisitesi çoğunlukla alüminyumun spesiasyonuna ve bu türlerin derişimine bağlıdır. Alüminyumun inorganik komplekslerinin organik komplekslerinden daha toksik olduğu bulunmuştur (Driscoll ve McAvoy 1992).



Şekil 6. Doğal sularda alüminyum türlerinin ana grupları.

Benschoten ve ark. (1990) New York sularında; sularının işlenmesi sırasında koagülant olarak ortama katılan alüminyum sülfattan dolayı; işlenmiş sularda alüminyumun %70-80'ninin çözülmüş formda olduğunu bulmuştur. Diğer alüminyumun ise pH'nın etkisiyle koagüle olduğu sonucuna varılmıştır. Alüminyum tuzları, yaygın olarak endüstride işlenen sularda koagülant olarak kullanılmaktadır. Bu amaçla sodyum alüminat, alüminyum klorür, polyalüminyum klorit, alüminyumun çeşitli tuz karışımları ve polyelektrolitler kullanılır ve bu tuzlar bulanıklığın ve çözülmüş organik karbonun giderilmesinde etkindirler. Burada alüminyumun ve alüminyum türlerinin derişimi hem sağlık hem de hidrolik kapasitenin azalmaması açısından önemlidir. İçme sularında alüminyum için halen bir standart yoktur ve sık sık belirli aralıklarla ölçümler yapılmamıştır. Bununla birlikte "US Environmental Protection Agency" maksimum alüminyum düzeyini 0,05 mg/L olarak belirlemiştir. Günümüzde içme sularında izin verilen maksimum alüminyum düzeyi ise 0,2 µg/mL olarak belirlenmiştir (Mohammad ve Ure 1992).

Alüminyum florür ve çözülmüş organik karbonla kuvvetli kompleks oluştururken, sülfatla zayıf kompleks oluşturur. Alüminyum, hidroksit, fosfat veya organik katı faz şeklinde çökebilir. Florür ve sülfat gibi inorganik ligantlara bağlı alüminyum ve çeşitli monomerik alüminyum komplekslerinin de dahil olduğu alüminyum türleri topluca inorganik monomerik alüminyum kompleksleri olarak adlandırılır (Benschoten ve Edzwaid 1990). Courtijn (1990), Belçika'da asidik sularda farklı çözülmüş alüminyum türlerini ayırmaya çalışmıştır. Sularda alüminyum derişiminin 0,1-0,2 mg/L olması halinde balıklar ve diğer akuatik organizmalar için toksik olduğu bulunmuştur. Bu toksik etki alüminyum türlerine ve her bir türün derişimine bağlıdır. Alüminyumun hidrolize türlerinin oldukça toksik olduğu, inorganik ve organik kompleks türlerinin ise birkaçının toksik etki gösterdiği bulunmuştur. Bu nedenle serbest ve hidrolize alüminyum türlerinin belirlenmesi ve ayrımlarının yapılması oldukça önemlidir. Yüksek alüminyum derişimlerinde ortamda hümik asit ve florür varsa, oldukça toksik türler olan hidrolize türlerin derişimlerinin düştüğü görülmüştür. Çünkü alüminyumun önemli bir fraksiyonu bu iyonlarla kompleks oluşturur. Kaynağı toprak olan hümik asitlerin katyonlarla yüksek oranda kompleks oluşturma kapasitesi vardır. Bataklıklarda florür derişimi atmosferik birikimden

kaynaklanır ve düşük derişimde bulunduğundan alüminyumla yalnızca AlF^{2+} kompleksi oluşturur.

Noller ve ark.(1985), Kuzey Amerika'nın asidik göllerinde yaptıkları çalışmalarda 425-768 $\mu g/g$ düzeyinde alüminyum olduğu ve bu düzeyin balıklar için öldürücü olduğu belirlenmiştir. Nitekim ölen balıkların solungaçlarında 25 $\mu g/g$ düzeyinde alüminyum bulunmuştur. Özellikle labile alüminyum türlerinin akuatik organizmalar için toksik olduğu gösterilmiştir.

2.2.4. Alüminyum spesiasyonu için kullanılan teknikler

Alüminyum kationunun etkileri, asidik topraklar, göller ve akarsulardaki hayvanlar ve bitkiler üzerinde toksite ve biyoalınabilirlik açısından oldukça önemlidir. Bundan dolayı toplam alüminyum derişiminin yanında her bir alüminyum türünün belirlenip ayrılması ve tayini için pek çok metot geliştirilmeye çalışılmıştır. Alüminyumun tüm kimyasal türleri toksik olmadığı için spesiasyon çalışmalarının önemi artmıştır. Bu konudaki çalışmaları içeren kaynaklara bakıldığında, alüminyum spesiasyonu çalışmalarının daha çok su ve toprak örneklerinde yoğunlaştığı görülmektedir. Doğal sularda alüminyum spesiasyonu üzerine yapılan çalışmaların çoğunda ise Drischoll teknikleri uygulanmıştır (Jones ve Paul 1992). Asidik topraklardaki alüminyum türlerinin tayini de oldukça önemlidir ve bu minerallerin çözülmesi veya oluşumuyla ilgilidir Alüminyum spesiasyonunun yapılacağı örneklere herhangi bir işlem uygulandığında örnekte değişiklikler olur, böylece kimyasal türler arasındaki dengeler bozulur ve spesiasyon zor bir işlem haline alır.

Hodges'in (1987), sınıflandırma kapsamında alüminyum spesiasyonu şu ilkeler üzerine kurulmuştur:

- Toplam alüminyum tayini,
- Membran filtrelerle partiküle ve çözülmüş alüminyumun ayrılması ve tayini,
- Oksin, pyrokatekol viyole veya ferron gibi seçici bir organik kompleksleştirici ile Al^{3+} 'nin reaksiyon oranı,
- Kation değıştirici reçineler üzerinde türlerin sorpsiyonu ile yüklü türlerin taşınması ve tayini,

- İyon kromatografisi ile farklı alüminyum türlerinin ayrılması,
- Filtrasyon veya diyaliz ile büyük moleküllü türlerin ayrılması (size exclusion),
- Florür seçici elektrotlarla, alüminyum ile kompleks oluşturan florür üzerinden dolaylı olarak alüminyumun ölçülmesi,
- Bir elektriksel alanda iyonların mobilizasyonu ile yüklü alüminyum türlerinin belirlenmesi,

Düşük derişimlerdeki alüminyumun analizi oldukça karmaşıktır ve doğal sularda genellikle düşük derişimlerde alüminyum bulunur. Bu nedenle asidik doğal sular hariç, alüminyum tayini için; dedeksiyon limiti 10 µg/L veya daha düşük olan analitik tekniklere ihtiyaç vardır. Ayrıca düşük alüminyum derişimlerinde örnekleme ve örneğin saklanması da temel problemlerden bir tanesidir. Doğal sular gibi alüminyum derişiminin düşük olduğu örneklerde, örneğin kirlenmesi önemli bir analitik sorundur. Bu nedenle kullanılacak olan malzemelerin asitle yıkanması teflon kaplar kullanılması veya 6 g/L EDTA çözeltisiyle yıkanmış polietilen kaplar kullanılması şarttır. Doğal su örnekleri genellikle askıda katı madde içerirler ve pH değerindeki değişiklikler mikrobiyolojik aktiviteden dolayı, çözülmüş CO₂'in azalmasına ve alüminyum kimyasında önemli değişikliklere yol açar. pH değerinin artmasıyla alüminyum, askıda kalan katı maddelerle adsorbsiyona uğrar ve bulunduğu kabın çeperlerinde veya kabın alt kısmında Al(OH)₃ şeklinde çöker. pH değerinin değişmesinden dolayı CO₂ kaybından oluşan problem, toprak çözeltilerinin örnekleme sırasında da oldukça sorun yaratır.

Toplam alüminyum tayini için uygulanan analitik teknikler aşağıda kısaca verilmiştir.

Alüminyumun doğrudan spektrofotometrik tayininde uygulanan yöntemlerin başında *atomik absorpsiyon ve atomik emisyon* metotları gelmektedir. Bu metotlarla çoğu alüminyum bileşiği ve kompleksi termal olarak parçalanır ve böylece toplam alüminyumun analizi çözünürleştirme dışında bir ön işleme gerek kalmaksızın mümkün olur. Çoğu doğal sular için bir ön derişirme işlemi olmaksızın bu metotla analiz mümkün olamamaktadır. En duyar rezonans çizgisi olan 309,3 nm dalga boyunda, duyarlılık 1 mg/L olduğundan alevli AAS pratikte doğal sularda alüminyum analizi için nadiren kullanılmıştır. Son yıllarda Flow Injection Atomic Absorption sistemi ile organik bir kompleksleştirici kullanılarak katyon değiştirici

kolonda bir ön deriştirme işleminden sonra AAS'de alüminyum tayini yapılmıştır. Hsu ve Pipes (1972) 1L su örneğindeki alüminyumun 8-hidroksikinolin ile kompleksleştirilip, benzen içerisine ekstraksiyondan sonra, alevli AAS ile tayininde duyarlılığın 100 kat arttığını bulmuşlardır. Fishman (1972) ise ekstraksiyon için MIBK kullanarak karşılaştırılabilir bir duyarlılığa ulaşmıştır.

Barnes (1975), 8-hidroksikinolin ilavesinden sonra her bir örneğin pH'nı 8,3'e ayarladıktan sonra organik faza ekstraksiyon yapmıştır. Bu şekilde florür ve fosfattan kaynaklanan girişim etkisi azaltılmıştır. Bakırdan gelen girişim etkisi ise alevli AAS kullanılarak giderilmiştir. Alevli AAS'nin dışında *grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektrometresi (GFAAS)* MIBK fazının tayininde, hem duyarlılık artırılır hem de düşük örnek hacimleriyle çalışmak mümkün olur. GFAAS ile alüminyum tayini çok daha duyardır. Bu metotla Slavin (1982) dedeksiyon limitinin yaklaşık 0,1 µg/L yani 1 ppb düzeyinde olduğunu belirtmiştir. Craney ve ark.(1986) bu duyarlılığa Al(NO₃)₃ çözeltisi ile ulaşamazken; Mc Artur (1976), deniz suyunda alüminyum için duyarlılığın 50 µg/L olduğunu belirtmiştir. GFAAS ile alüminyum tayininde potansiyel girişimleri azaltmak için yeni ve pyrolitik kaplı grafit küvetler kullanılırken, matriksten gelen girişimleri önlemek için matriks modifayrlar kullanılmıştır. GFAAS'de girişimlerin önlenmesinde diğer bir metot L'vov platformu denilen ve küvetin içerisine küçük bir örnek platformunun yerleştirilmesiyle sağlanır. Platform grafit duvardan ısıyla bir radyasyon yayılmasına engel olur. Bu nedenle örneğin buharlaşması çok az da olsa gecikir ve gaz çevresinde kararlı bir sıcaklığın oluşmasından sonra buharlaşma olur.

Sulu örnek içerisindeki alüminyumun ölçülmesinde genellikle *indüktif coupled plazma (ICP)* kullanılır. Düşük duyarlılığından dolayı alev emisyonu nadiren kullanılmaktadır. ICP ile alüminyum tayininde 396,15 nm ve 308,21 nm dalga boylarında dedeksiyon limiti 10 µg/L olarak belirlenmiştir. Bu duyarlılık doğal su örneklerinin çoğu için uygun görülmektedir. Ancak Roura ve ark.(1982) kalsiyum ve manganın ICP ile alüminyum tayininde girişim yaptıklarını bulmuştur Janssens ve ark.(1982) doğal sularda 70-160 µg/L olan alüminyum derişimini ICP ve GFAAS ile tayin etmişlerdir. Bu çalışmada zemin sinyalinin yüksek olmasından dolayı, standart sapmanın diğer metallere göre daha fazla olduğunu bulmuşlardır. Bu nedenle alüminyum analizi için background correction mutlaka yapılmalıdır.

Matriks modifiyasyonlarının kullanılmasıyla daha çok tekrarlanır sonuçlar alınmıştır. Bazı araştırmacılar vakum UV bölgede 167,1 nm dalga boyunda alüminyumun çok daha duyarlı sonuçlar verdiğini gösterdiler.

Alüminyumun *UV görünür bölge spektrometrisi* ile analizi, organik bir kompleksleştirici reaktifin kullanılmasıyla yapılmaktadır. Bu amaçla 10'dan fazla kompleksleştirici reaktif belirlenmiştir. Bu amaçla seçilen reaktifin yeterince duyarlı, basit, ucuz ve kısa zamanda kompleks oluşturması istenir. Eriochrome Cyanine R, alüminyum için oldukça duyarlıdır. Atık su analizleri için su standartlarında alevli AAS'ye alternatif gösterilmiştir. Bununla birlikte fosfat ve florür girişim yarattığından alevli AAS tercih edilmektedir. Pyrokatekol metodu düşük alüminyum derişimi içeren örnekler için tekrarlanır sonuçlar verir, ancak demir önemli bir girişim kaynağıdır. Bu da ancak hidroksil aminle Fe(III)'ün Fe(II)'ye indirgenmesiyle giderilmektedir. Pyrokatekol metodu ile kompleks oluşumunun oda sıcaklığında gerçekleşmesi ve çözgen ekstraksiyonuna gerek kalmamasından dolayı Eriochrome Cyanine R metoduna göre daha fazla önerilmektedir. Dolayısıyla Flow Injection analizleri için de uygundur (Dougan ve ark. 1974).

Son zamanlarda çok daha duyarlı bir metot olan 8-hidroksikinolin (Oksin) ile alüminyum kompleksirildikten sonra oluşan kompleksin kloroform, MIBK gibi organik bir faza ekstraksiyonu ile yapılan analizler daha yaygın olarak kullanılmaktadır. Kompleks pH=4,5-6,5 veya 8,3'de oluşturulmaktadır. pH=8,3'ün seçilmesiyle florür ve fosfat gibi girişim yapan bazı iyonların etkileri azaltılır. Bakır ve demir iyonları her iki pH değerinde de girişim yaparken, mangan pH=5'te girişim yapmaz. Polimerik ve çöken alüminyum her iki pH değerinde de ekstrakte edilemez. Bloom ve ark. (1978) ekstraktın oda sıcaklığında 24 saat bekletilse dahi absoransında bir değişiklik olmadığını gösterdiler. Organik maddelerden kaynaklanan girişim önceden asitlendirmeye, oksidasyonla ya da UV lamba altında parçalanarak büyük ölçüde azaltılmaktadır. Spektrometrik ölçümlerdeki en büyük sınırlama girişim problemleridir.

Fluorimetrik metotlar, alüminyum tayini için oldukça duyarlı metotlardır ve bu teknikte 0,27 µg/L'nin de aşağısında dedeksiyon limitine ulaşılır. Bununla birlikte Fluorometri oldukça dikkatli laboratuvar koşullarını gerektirir. Duyarlılıktan dolayı çevreden kaynaklanan alüminyum kirliliği önemli bir problemdir. Saklama

işlemlerinde cam kapların kullanılmaması ve analitik saflıkta kimyasal madde kullanılması önerilmektedir. Alüminyum için kullanılan en genel reaktif lumogalliondur. Kompleks oluşumu için 90 dk ısıtma yapılır. Triton X-100 gibi noniyonik bir deterjanın kullanılmasıyla dedeksiyon limiti daha da düşmektedir. Florür ve fosfat yine girişim oluşturan iyonlardır. Demir fluoresent kompleks oluşturmaz ancak, lumogallion derişimini düşürerek alüminyum için alınacak sinyali azaltır. O-fenontrolin kullanılarak demir girişimi giderilebilir (Howard ve ark.1986; Suziki ve ark. 1989).

Nötron aktivasyonu(NAA), doğal sulardaki alüminyumu ölçmek için oldukça duyarlı bir metottur. Salbu ve arkadaşları su içerisindeki 0,2 µg/L düzeyindeki alüminyumu tayin edebilmişlerdir (Salbu ve ark. 1975).

Buharlaşabilen kompleksleştiricilerle *gaz kromatografisinde* alüminyum analizi duyarlı olarak yapılmıştır. Trifloroaseton kompleksleştirici reaktif olarak kullanıldığı zaman dedeksiyon limiti 3 µg/L'den daha düşük olabilmıştır. Ele geçen sonuçlar fluometrik metotla yapılan analiz sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir (Lee ve Burrel 1973).

Sıvı kromatografisiyle alüminyum analizinde bir post kolon reaksiyonundan faydalanılarak; alüminyum yine organik bir reaktifle kompleksleştirildikten sonra spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir. Bu amaçla kullanılan kompleksleştiricilerin başında 8-hidroksikinolin-5-sülfonat (HQS) gelmektedir. Kompleks oldukça hızlı oluşur ve böylece otomasyona olanak sağlar. Ancak bu analizlerde çinko, demir ve magnezyumun girişimi sözkonusu olmuştur. Tipik olarak 0,1 mol/L K₂SO₄ çözeltisi elüsyon amacıyla kullanılmıştır (Soroko 1987). Willet (1987) pyrokatekol violet kullanarak alüminyumu 50 µg/L düzeyinde tayin edebilmiştir.

Doğal sulardaki alüminyum *florür seçici elektrotlarla* florür titrasyonu ile tayin edilebilmiştir. Bu teknikte dedeksiyon limiti 100 µg/L olarak bulunmuştur. Bu teknik daha sonra flow injection analizlerine uygulanmıştır (Trojanowicz ve Hulanicki 1981).

Toplam alüminyum analizi yapıldıktan sonra, alüminyumun her bir türünün analizlenmesi için öncelikle bu türün uygun bir analitik işlemle ayrılması gerekir. Eğer monomerik inorganik türler kimyasal veya fiziksel yolla ayrılabilirse inorganik alüminyum komplekslerinin derişimlerinin hesaplanması ile basit bir şekilde

spesiasyon yapılabilir. Doğal sular içerisinde önemli kompleksleştirici ligantlar OH^- , F^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} dir. $\text{pH}=6,5$ 'ten daha düşük ise PO_4^{3-} problem değildir. Çünkü; kompleksleşme yüksek pH değerlerinde daha önemlidir.

Hidrolize olmuş alüminyum çözeltilerinde monomerik alüminyum türlerini, polimerik hidroksi türlerinden ayırmak için, öncelikle renkli organik ligantlarla reaksiyon oranı üzerine kurulu olan spesiasyon işlemleri kullanılmıştır (Okuro ve Turner 1969). James (1983) $\text{pH}=5$ 'te florür ve sitrat içeren çözeltilerde alüminyumun, 8-hidroksikinolin ile reaksiyon oranına baktılar. 15 sn zaman süresinde serbest Al^{3+} 'ların hepsinin monomerik hidroksi komplekslerinin reaksiyona girdiğini fakat florür ve sitratla kompleks oluşturan alüminyumun ise küçük bir fraksiyonunu tayin edebildiler. Kerven ve ark.(1989), laboratuvarlarda hazırladıkları alüminyum-fülvik asit komplekslerini 15 sn reaksiyon zamanı ile tepkimeye soktuklarında kompleks alüminyumun ancak %40-46'nı tayin edebildiler. Barnes (1975), 8-hidroksikinolin ile alüminyumun $\text{pH}=5,0$ ve $\text{pH}=8,3$ 'te reaksiyon zamanı 30 sn olacak şekilde tepkimeye soktuktan sonra, oluşan kompleksi MIBK fazına alıp AAS ile tayinini yapmışlardır. Bu işlemle "hızlıca reaksiyona giren alüminyum"u tayin etmişlerdir.

Lalende ve Hendrshot (1986), $\text{pH}=8,3$ 'te 15 sn reaksiyon zamanı ile 8-hidroksikinolin kullanarak alüminyum komplekslerinin %60'dan daha fazlasını tayin etmişlerdir. Seip ve ark.(1984), 4 dk reaksiyon zamanını kullanarak ferron metoduyla pyrokatekol metodunu karşılaştırmışlar ve bu şekilde tayin edilen alüminyum fraksiyonunu "toplam monomerik alüminyum" olarak adlandırmışlardır. Asidik yüzey sularının analizinde her iki metotla da aynı sonucu bulmuşlardır. Son çalışmalarda fülvik asitle kompleks oluşturan alüminyumun büyük bir kısmının ferron ile tepkimeye girdiği gözlenmiştir. Seip ve ark. (1984), pyrokatekol metodunu, girişim etkileri daha az olduğu için tercih etmişlerdir.

Evans ve Zelazny (1986), alüminyumun spesiasyonu için dibenzo-18-taç eter (DB18C6) ile alüminyumun seçici olarak tayinini araştırdıklarında, 2 dk sonra 273 nm dalga boyunda absorbans gözlemişlerdir. Taç eterlerin alüminyum için seçici olduğunu ve demirin, kalsiyumun ve magnezyumun girişim yapmadığını buldular. Taç eterler sülfat ve florür kompleksleri ile hızlıca tepkimeye girdikleri halde, sitrat okzalit ve EDTA kompleksleri ile tepkimeye girmezler.

Diyaliz ve ultrafiltrasyon işlemleri kolloidal, mineral, hümük ve fülvik asitlere makromoleküler yapıda bağlı olan aluminyumu, çözülebilir aluminyumdan fiziksel olarak ayırmak için kullanılmıştır. Membranlar inorganik ve organik kirlilik içerebilirler. Bu nedenle kullanılmadan önce asidik çözeltilerle yıkanmalıdırlar (Florence ve Batley 1980).

Çoğu doğal sularda florürün önemli bir kısmı aluminyuma bağlıdır. Sulu Al^{3+} 'nin aktivitesini ölçmek için toplam aluminyum derişimi ve bağlı florür derişimi tayin edilebilir. Bu amaçla *florür iyon seçici elektrotlar* kullanılmaktadır (LaZerte 1984).

Aluminyum spesiasyonunda *iyon seçici reçinelerin* kullanılması yaygın olarak uygulanan yöntemlerin başında gelir. Reaktif türler katyon değiştirici reçine kullanılarak daha az reaktif türlerden ayrılabilir. Bu çeletlayıcı reçinelerden kısa süreli batch tepkimeleri ya da kolon tekniği kullanılarak faydalanılmıştır. Kolon teknikleriyle iki tür ayırmalar yapılabilmıştır. İlk uygulamalarda 1980 yılında Drischoll'ün geliştirdiği metot uygulanmıştır. Bu metotla ticari olarak sağlanan kolona asidik reçine doldurulmuştur ve reçine reaktif monomerik aluminyumun ayrılması için kullanılmıştır. Son zamanlarda reaktif inorganik türlerin doğrudan tayini, fluorometri veya absorpsiyon spektrometreleriyle post kolon dedeksiyonu kullanılarak iyon kromatografisiyle yapılmaya çalışılmıştır. Böylece florür ve monomerik organik ligantların katyonik kompleksleri doğrudan tayin edilebilmiştir. Bu amaçla kullanılan reçinelerin başında Chelex 100 gelir. Reçinenin gözenek çapı küçük olduğundan küçük katyonların reçineyle sorpsiyonu sınırlandırılmıştır. Eğer sodyum ve hidrojene doygun reçine kullanılıyorsa pH değerindeki değişikliklerden kaçınmak gerekir. Reçine monomerik inorganik aluminyumun 30 dk'da %85'den fazlasıyla tepkimeye girerken, 60 dk'da hemen hemen hepsiyle tepkimeye girer. Kaynaklara bakıldığında bütün spesiasyon şemalarında çözülebilir aluminyumun üç sınıfa ayrıldığı görölmektedir:

- Asit reaktif aluminyum,
- Monomerik aluminyum,
- Monomerik inorganik aluminyum

Toplam reaktif aluminyum HCl ile asitlendirmeden sonra 0,1-0,4 μ m arasında filtre edilen örneklerin tayiniyle belirlenir. Drischoll (1984) bunu pH=1'de 1 saat olarak belirlemiştir. Bu toplam reaktif aluminyumun tayininde uygulanan genel bir

2.3. ay ve ay Bitkisinin zellikleri

ay bitkisi botanikte *Angiospermea* iek aanlar bölümünden: *Dicotyledonea* sınıfından ve *Theaceae* ya da *Camellia* familyasındandır. Botanikiler tarafından genellikle kabul edilen çay bitkisinin adı *Camellia Sinensis* dir (Kacar 1984).

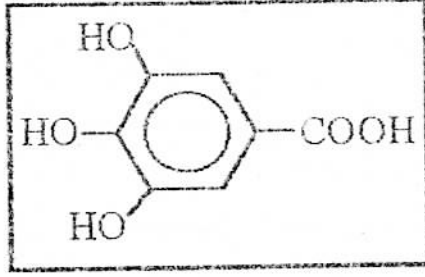
Dünyada en popüler içeceklerden birisi olan çayın morfolojik ayrımlar gösteren üç çeşidi bulunmaktadır. Bunlar: in ayı, Assam ayı ve Cambodia ayıdır. in ve Japonya'da yeşil çay tüketimi oldukça fazla iken Avrupa ve Hindistan'da çoğunlukla siyah çay tüketilir. ay bitkisi doğada büyümeye bırakıldığı zaman bir ağaç görünümünü alır, yaprağını dkmez ve oldukça uzun ömürlü bir bitkidir. ay bitkisinin yaprakları genellikle elips şeklindedir ve yaşıllı yaprakları periyodik olarak dökülür. iek açma zamanı çayın çeşidine ve gelişme ortamına göre değiştir. Sıcak iklime sahip olan ülkelerde hemen hemen yıla her ayında bitki üzerinde iek bulunur. Çayda iek tomurcuklarının oluşması ve aması, çay yapraklarında aroma maddelerinin toplanmasına yol açmaktadır. Bu nedenle çiçeklenme zamanı alınan yapraklar nitelikli çay üretimi için oldukça önemlidir.

ay bitkisi bol yağışlı ve sıcak olan her yerde yetişebilir. Ancak dünyada çay üretimi için elverişli ve ekonomik şekilde çay bitkisinin yetiştirildiği yerler sınırlıdır. Hindistan, in, Sri Lanka, Bangladeş, Japonya ve Türkiye ay bitkisinin yetiştirildiği ve çay üretiminin yapıldığı başlıca ülkelerdir. ay bitkisinin sağlıklı bir şekilde yetiştirilmesinde nitelikli ve bol ürün alınmasında evre koşulları oldukça önemlidir. ay bitkisinin yetişmesine etki eden iki önemli faktör vardır. Bunlar: iklim ve topraktır. ay bitkisi kumdan kil'e kadar değişen yapıdaki asit tepkimeli topraklarda yetişebilir. Bir metre derinliğe kadar karbonat içermeyen, ıslak veya sert killi topraklar , normal toprak ıslahına tabi tutulmamış mor topraklar ve humus horizonları yitmiş topraklar, çay yetiştirmeye uygun olan topraklardır. Ayrıca toprağın pH'ı 4,5-6 arasında olmalıdır. Toprak pH'ı asidik veya bazik yöne doğru değiştikçe çay bitkisinde gelişme olumsuz yönde etkilenir (zdemir 1992).

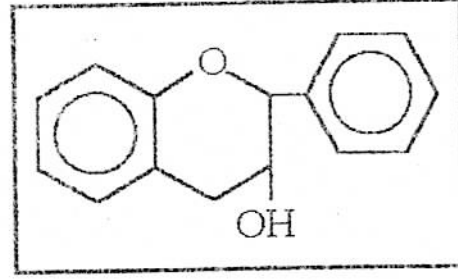
2.3.1. Çay bitkisinin kimyasal bileşimi

Siyah çayın yapısında bulunan organik ve inorganik bileşenler aşağıdaki şekilde özetlenebilir.

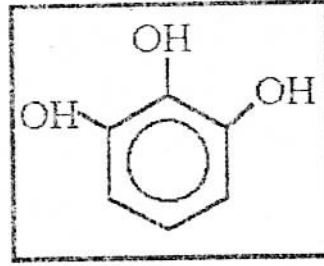
Polifenoller: Çay yaprağının en önemli organik bileşenlerinden biridir. (Spiro ve Price 1986). Siyah çayın yapısında ağırlıkça %15 oranında çözünen polifenoller bulunmaktadır. Çayın polifenol kapsamı, jeolojik, çevre ve iklim koşullarına bağlıdır. Siyah çayın fermentasyonu esnasında polifenol oksidaz enzimi yardımıyla polifenoller bir çok bileşene dönüşmektedir. İşlenmiş siyah çayda flavonoller (kateşin ve gallokateşin) ağırlıkça %17-30 oranında bulunurlar. Yine siyah çayın önemli polifenol bileşenlerinden olan tiflavin ağırlıkça %1-2 tribuginler ise %1-5 arasında bulunur. Tiflavin ve tribugin çay deminin kalitesini belirlediklerinden oldukça önemli bileşenlerdir. Tiflavin ve tribugin miktarları değişik şekillerde yapılan hasat yöntemlerine, farklı sürgün dönemlerindeki hasat zamanlarına ve fermentasyon süresine bağlıdır. Genç yapraklardaki polifenol düzeyleri daha yüksektir. Çay bitkisinde bulunan polifenoller genel olarak tannenler olarak da gösterilmektedir. Bu bileşikler azotsuz polifenollerdir ve birden fazla bileşiğin birleşmesiyle oluşurlar. Su, etanol ve asetonda çözünürken, eter ve kloroformda az çözünürler. Çayın buruk tadı bu bileşenlerden kaynaklanmaktadır. Tannenler, hidrolize olan tannenler (gallo tannenler ve elaji tannenler) ve kondanse tannenler (kateşik tannenler) olmak üzere ikiye ayrılırlar. Tannenler fenolik bileşenlerin belli oranlarda karışmasıyla oluşurlar ve molekül ağırlıkları 500-5000 g arasında değişir. Hidrolize olabilen tannenler Fe(III) ile mavi, kateşik tannenler ise yeşil renk verirler. (Finger ve ark 1992). Çayın yapısında bulunan bazı önemli polifenollerin genel kimyasal yapıları şekil 7'de verilmiştir. Burada verilen kateşik polifenoller hidrolize olamayan polifenollerdir.



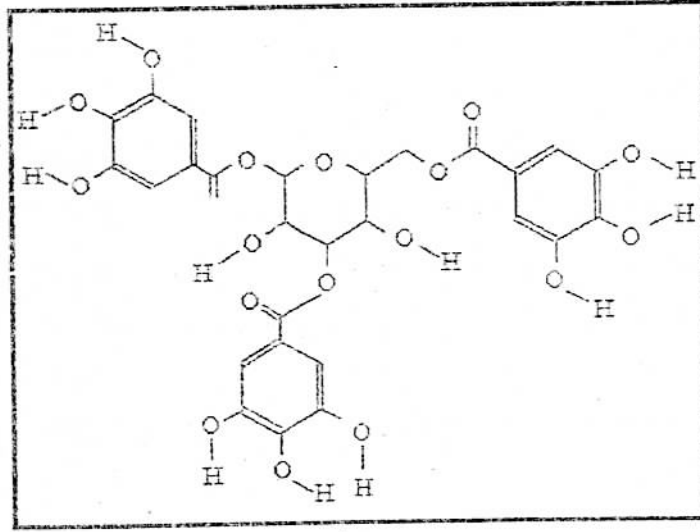
Pyrogallol



Katesin



Gallik Asit



Tannik Asit

Şekil 7. Çayın yapısında bulunan önemli polifenoller.

Alkaloidler: Metilksantin bileşikleri veya pürin bazları olan bu bileşikler, siyah çayın en önemli bileşenlerindedir. Siyah çayda %1,5-4 kafein, %0,2-0,4 theobromin ve %0,02 düzeylerinde theofilin bulunur. Siyah çayın en önemli bileşenlerinden olan kafeinin %80'i su ekstraktına geçmektedir. Çay bitkisinin alkaloid kapsamı büyük

ölçüde toprak koşullarına bağlıdır ve genç yapraktan yaşlı yaprağa doğru kafein azalmaktadır. Türk çaylarında kuru ağırlık cinsinden kafein miktarları %2,7-5,1 arasında değişmektedir (Finger ve ark 1992).

Protein ve amino asitler: Siyah çayda ağırlıkça kuru madde cinsinden %15-23 oranında protein bulunmaktadır. Çayın işlenmesi sırasında, proteinler tannenlerle reaksiyona girerek suda çözünmeyen bileşikler oluştururlar. Bundan dolayı ancak %2'den de az miktarı suda çözünmektedir. Siyah çayda aspartik asit, lösin, glutamik asit, fenialanin, valin, alanin, serin, asparagin, trozin, arjinin gibi bazı aminoasitlerin olduğu bazı araştırmacılar tarafından saptanmıştır (Özdemir 1992).

Karbonhidratlar: Siyah çayda bulunan karbonhidratların yalnızca %4-5'i sıcak su ile ekstrakte edilebilmektedir. Japon araştırmacılar yaptıkları araştırmalarda çay yapraklarında serbest glikoz, fruktoz, sakkaroz ve iki oligosakkarit ile glikozit bileşenleri bulmuşlardır. Siyah çayda kuru ağırlık cinsinden %1,4-5 şeker, %3,8-7,6 arasında pektin vardır. Yeşil çay yaprağının işlenmesi sırasında sakkaroz miktarının azalmasına karşın glikoz ve fruktoz gibi bazı monosakkaritlerin miktarının arttığı bulunmuştur (Kacar 1991).

Vitaminler: Çay yaprağı C ve B vitamini bakımından oldukça zengin olmasına rağmen C vitamini çayın işlenmesi esnasında büyük ölçüde parçalandığından çay-su ekstarktına çok az geçebilmektedir. Çay yaprağında ve yeşil çayda C vitamini limondaki C vitaminine eşdeğer bulunmaktadır. Siyah çayda C vitamini ise oldukça azdır. B vitaminininin %90 kadarı ekstrakte geçmektedir. E ve K vitaminleri siyah çayın yağ fraksiyonlarında bulunmaktadır. A vitamini ise çay yaprağında fazla olmasına rağmen çayın işlenmesi esnasında %30-50 oranında kayıplara uğramaktadır (Kacar 1984).

Diğer organik bileşenler: Çaya aroma ve tat veren pek çok uçucu bileşen tayin edilmiştir. Siyah çayda beşyüze yakın farklı aroma bileşiği tayin edilmiştir. Bunlar arasında hidrokarbonlar, alkoller, ketonlar, esterler, laktonlar, çeşitli furanlar yer almaktadır (Finger ve ark.1992). Çayın bir diğer organik bileşeni çaya renk veren organik pigmentlerdir. Yeşil çayda bulunan klorofil çayın işlenmesi sırasında %20-25 oranında azalır.

Çayda bulunan önemli mineraller: Çay bitkisinde bulunan mineraller çeşitli etmenlere bağlı olarak değişmektedir. Bu etmenler arasında yaprağın özelliği, çay

bitkisinin çeşidi, iklim, yaprağın bitkideki konumu ve örnek alma zamanı olarak sınırlanabilir. Çeşitli kaynaklardan çay bitkisinin mineral içeriklerine bakıldığında şu dağılımlar sözkonusudur. K miktarı azottan sonra gelir ve yabancı çaylarda %0,9-3,4 arasında iken, Türk çaylarında %1,76-1,89 arasında değişir ve bu oranın büyük bir kısmı su ekstraktına geçmektedir. Siyah çaylarda Ca, %0,14-1,0; Mg, %0,12-0,34 (su ekstraktına %14,7-56,75 oranında geçer); Na,%8,3-12; Mn, 1053-1619 ppm (su ekstraktına %65-85 oranında geçer); Fe, 58-617 ppm (su ekstraktına %6,2 oranında geçer); Cu, 4,7-36,5 ppm; Zn,33-45 ppm ; B, 12,1-27,7 ppm .

Çay bitkisi fazla miktarda florür ve klorür içeren bitkilerden biridir. Klorür 148-241 ppm rasında değişir ve su ekstraktına %97'i geçer. Florür ise 3,2-260 ppm arasında değişir ve su ekstraktına %95 oranında geçer (Kacar ve ark. 1991).

Çayın kimyasal analizinin üç önemli amacı vardır:

- Çayın bileşenlerinin veya bir grup bileşenlerinin bulunmasıyla çay kalitesinin belirlenmesi.
- Çay teknolojisinde işlenme koşullarının optimizasyonu.
- Belirli çay bileşenleriyle çayın insan sağlığına etkilerinin ilişkilendirilmesi.

Çayın kimyasal bileşenlerinin analizinde pek çok analitik teknik kullanılmaktadır. Organik bileşenlerinin analizinde özellikle HPLC ve UV-görünür bölge spektrometrisi kullanılırken, mineral analizlerinde genellikle AAS ve AES teknikleri kullanılmaktadır (Finger ve ark.1992).

2.3.2. Çayda alüminyum

Çay bitkisi alüminyum biriktiren bitkilerden birisidir ve asit tepkimeli topraklarda çözünebilir şekilde bulunan alüminyum, çay bitkisi Al^{3+} şeklinde absorbe eder ve metabolik olarak aktif olmayan kısımlarında depolar. Çay bitkisinin alüminyum kapsamı üzerine, yaprağın yaşı, çay bitkisinin yaşı, genetik yapı, yağış miktarı, yörenin denizden yüksekliği ve toprağın alüminyum içeriği gibi pek çok faktör etki etmektedir (Owuor ve ark. 1989). Çaykur çaylarında alüminyum miktarı 990-2260 ppm olmasına rağmen, yabancı kökenli çaylarda ise 440-2910 ppm arasında değişmektedir. Türk çaylarının yabancı kökenli çaylara göre %77 daha fazla alüminyum içermesi, çayın işlenmesi sırasında alüminyumun bulaşmasından

kaynaklandığı saptanmıştır. Aynı araştırmacılar siyah çayın alüminyum içeriğinin yeşil çaya göre %120 artış gösterdiğini de belirlemişlerdir (Kacar ve ark 1991).

Klaus ve ark. (1989) değişik ülkelerin siyah çaylarında alüminyumun 434-1009 ppm arasında değiştiğini ve 500 mg çay yaprağının 45 mL su ile ekstrakte edilmesi halinde 0.9-3.2 ppb oranında demeye alüminyum geçtiğini bulmuşlardır. Gillard ve ark. (1986) çay-su ekstraktlarına geçen alüminyum düzeylerinin 2,7-6 mg/L arasında değiştiğini bulmuşlardır. Fairwether-Tait ve ark. (1987) çay yapraklarının sıcak su ile demlenme sonucunda alüminyumun çay-su ekstraktlarına %26-39 oranlarında geçtiğini ve bunun da yaklaşık olarak 2,7-4,9 mg/L alüminyum olduğunu bulmuşlardır.

Çay deminden meyvelerden, tahıllardan ve et ürünlerinden günlük olarak tüketilen alüminyumun 0,1-10 mg/kg aralığında olduğu ve bunlar arasından 1-5 mg/L'lik kısmın çay ile alındığı belirlenmiştir (Sherlock 1988). Günlük beslenmeyle alınan alüminyumun, önemli bir kısmının çok tüketilen bir içecek olan çaydan alındığı görülmektedir. Dolayısıyla çay-su ekstraktlarında alüminyum ve alüminyum türlerinin tayini ve bu türlerin biyoalınabilirliği oldukça önemlidir. Çayın çeşitli şekillerde hazırlanarak içilmesiyle alüminyumun alınabilirliği değişebilmektedir. Ticari çaylarda bir bardak çayda ortalama 100 ppm alüminyumun varlığı bildirilmiştir. Kesin olmayan bu değer, çaya süt ilavesiyle, Al^{3+} 'nin zararlı etkisinin, çözünmeyen alüminyum fosfatın oluşması sonucunda giderilmesine karşın, limon eklenmesiyle, alüminyum sitrat kompleksinin oluştuğu ve bunu da alüminyum alımını arttırdığı rapor edilmiştir (Martin 1988).

2.3.3. Çayda metal spesiasyonu

Kromatografik anlamda metal spesiasyonu araştırmalarının nedeni, çay polifenollerinin bağırsakta demir, çinko ve kalsiyum absorpsiyonunu azalttıkları yönünde ileri sürülen görüşlerdir. Disler ve ark.'nın (1975), hayvanlarla yaptıkları çalışmalar çaydaki tanninlerin, muhtemelen bağırsak lumeni içerisinde demir ile absorplanmayan kompleksler oluşturarak gıdasal olarak alınan demir ve tıbbi demirin absorpsiyonunu engellediğini göstermiştir. Brown ve ark. (1989), yine hayvanlarla yaptıkları bir çalışmada içeceklerin (kahve, siyah çay, kakao) demirin biyoalınabilirliğini %31-45 oranında azalttığı (^{59}Fe) belirtilmektedir. Tek tek

polifenollerin (epikateşin, gallik, tannik ve kafeik asitler) demirin biyoalınabilirliğini %2-30 oranında azalttıklarını bulmuşlardır. Kafeik asit ve tannik asit daha fazla engelleyicidirler. Diğer araştırmacılar ise 100 mg askorbik asit ya da 200 g süt eklenmesinin demirin absorpsiyonu konusunda çayın engelleyici etkisini tamamıyla etkisiz hale getirdiğini belirtmektedirler. Demir dünya çapında marjinal konumda olan elemnetlerden birisi olduğu için bu konudaki in vivo ve in vitro çalışmalar devam etmektedir. Bakır, çinko ve demir organik bileşiklere bağlanarak kompleks oluşturdukları için çay ve diğer içecekler araştırılmaktadır.

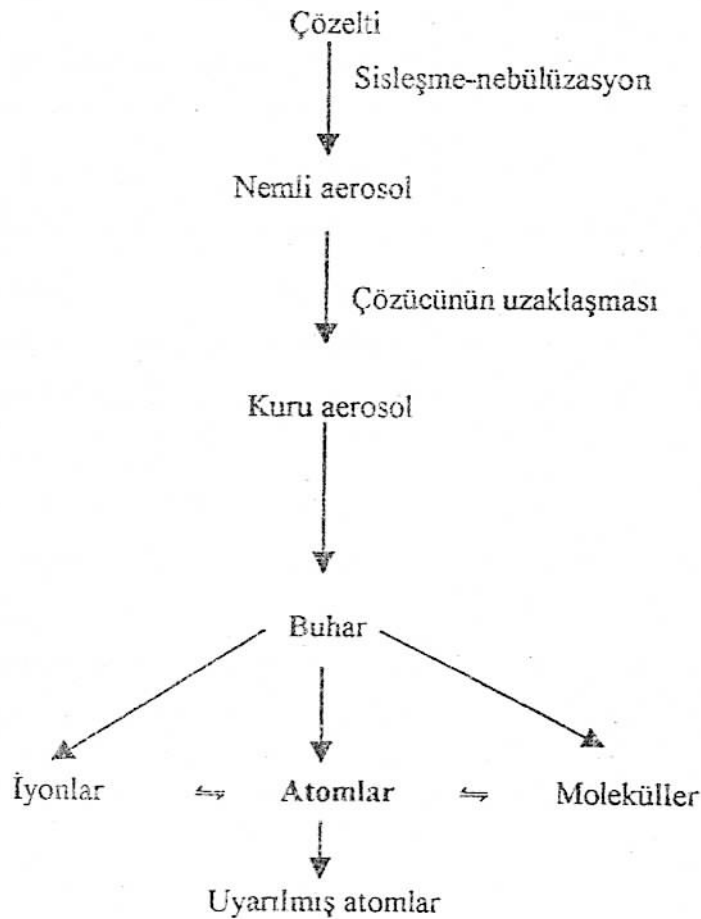
Organik olarak kompleksleştirilmiş metaller etil asetat kullanılarak ekstrakte edilmiş ve daha sonra UV-görünür bölge dedeksiyonlarıyla RP-HPLC ve diğer spesifik aletler kullanılarak analiz edilmiştir. Her bir metalin çözeltideki toplam miktarı ve dağılımları HPLC ve AAS'nin birleştirildiği teknikle tayin edilmiştir. Sonuçlar polifenolik bileşiklerin özellikle flavonoidlerin metalleri bağlama konusunda önemli olduklarını göstermiştir. Çaydaki demir ve nikelin bağlanma uçlarını saptamak için ayrıca ince tabaka kromatografisi kullanılmıştır. Bu amaçla bir çay örneğine ⁶³Ni ve ⁵⁹Fe eklenmiş; daha sonra etil asetatla ekstraksiyon yapılmıştır. Silika jel [etil asetat veya etil asetat:metil etil keton:formik asit:su (50:30:10:10)] ya da RP-18 kolonu ve [metanol:su (70:30)] sistemleriyle TLC ve radiometrik dedeksiyonlar kullanılarak yapılan analizler eklenen metal iyonlarının çayda doğal olarak bulunan demir ve nikel gibi aynı bileşiklere bağlandığını ve bağlanmada hidroksi gruplarından dolayı kuvvetli polar polifenollerin anahtar rol oynadıklarını göstermiştir.

Flavonoid standartlarının ve çaydan izole edilen flavonoidlerin kromatografik davranışları HPLC-elektrokimyasal ve AAS dedeksiyonları kullanılarak analiz edilmiştir. Burada bakır, demir ve alüminyumun vicinal OH içeren flavonoidlerle kompleksleştikleri bulunmuştur (Weber 1988). Bundan dolayı çaydaki yüksek alüminyum içeriği de oldukça dikkat çekmektedir (Finger 1992).

2.4. Çalışmada Kullanılan Yöntemler ve Teknikleri

2.4.1 Atomik Absorbsiyon Spektroskopisi

Atomik absorpsiyon spektroskopisi (AAS), monokromatik ışık kaynağından çıkan elektromagnetik dalganın gaz halindeki atomlar tarafından absorpsiyonu sonucunda ışığın şiddetindeki azalmanın ölçülmesi ilkesine dayanır. Kuramsal bilgileri 19. yüzyıldan beri bilinmesine rağmen AAS'nin özellikle eser miktarlardaki metallerin nicel analizleri için çok güçlü bir yöntem haline gelmesi 1955 yılında olmuştur. Nicel analizde Beer-Lambert yasası uygulanır yani ortama giren ışımaya şiddetinin ortamdaki ışımaya şiddetine oranının logaritması olan absorpsiyon ilgilenilen elementin derişimiyle doğru orantılıdır.



Şekil 8. Alev absorpsiyon düzeneginde oluşan temel olaylar.

Işığın absorplayan atomlar temel enerji düzeyinden kararsız uyarılmış enerji düzeylerine geçerler ve absorpsiyon miktarı temel düzeydeki atom sayısına bağlıdır. Dengede bulunan bir sistemde uyarılmış durumdaki atom sayısının temel düzeydeki atom sayısına oranı Boltzman eşitliği ile verilir. AAS'nin en önemli bileşenleri: analiz elementinin absorplayacağı ışığı yayan *ışık kaynağı*, örnek çözeltisinin atomik buhar haline getirildiği *atomlaştırıcı*, çalışılan dalga boyunun diğer dalga boylarından ayrıldığı *monokromatör* ve ışık şiddetinin ölçüldüğü *dedektördür* (Pinta 1975).

Oyuk katot lambaları: kuramsal olarak, analiz elementi hattında belli bir ışık şiddetinde elektromagnetik dalga yayımlayan sürekli spektrumlu veya hat spektrumlu ışık kaynakları kullanılabilir. Fakat atomik hatların çok dar ve her atoma özgü olması nedeniyle sadece iki tür spektrumlu lamba yaygın kullanım alanı bulmuştur. Bunlardan birisi oyuk katot lambaları (Hallow Cathode Lamp HCL) diğeri ise elektrodsuz boşalım lambasıdır. Oyuk katot lambaları, şiddeti fazla fakat hat genişliği dar olan yayılma spektrumu verir. Uçucu elementlerin oyuk katot lambaları katottaki tozlaşma nedeni ile kısa ömürlüdür. Bu nedenle uçuculukları az olduğu için bu elementlerin alaşımları kullanılmaktadır. Oyuk katot lambaları olarak bilinen ışık kaynakları düşük basınçta neon veya argon gibi bir asal gazla doldurulmuş silindir biçiminde lambalardır. Bunlarda kullanılan katot oyuk bir silindir şeklindedir ve analiz elementlerinden yapılmıştır. Anot ise tungsten veya nikelden yapılmış bir teldir. Anot ile katot arasında 100-400 voltluk bir gerilim uygulandığında lamba içindeki asal gaz atomları iyonlaşarak katoda çarpar ve yüzeydeki metal atomlarını iyonlaştırır. Uyarılan atomlar temel enerji düzeylerine dönerlerken katot elementine özgü dalga boyunda ışık yayarlar. Oyuk katot lambalarının katodu bir kaç elementin karışımı veya alaşımı şeklinde yapılırsa katotta bulunan tüm elementlerin AAS'de analizi için kullanılabilir ve çoklu oyuk katot lambası olarak adlandırılır. Ancak bu lambada spektral girişim yapan elementlerin bir arada bulunmaması gerekir.

Oyuk katot lambalarının ömrü, uygulanan maksimum akım şiddetine çok bağlıdır. Buna karşılık ışık şiddetinde belli bir akımdan sonra artma olmaz. Lambanın ömrünü uzatmak için firmaca önerilen maksimum akımın altında bir değerde çalışmalıdır. Oyuk katot lambaları doğru akım veya alternatif akımla

çalışabilir. Doğru akımda maksimum 50 mA, alternatif akımda ise 10 mA'lık akım çekilir. Lamba ömrü dolgu gazına, oldukça bağlıdır. Oyuk katot lambasının dış kısmı kuvars camdan yapılmalıdır ve ön kısımlara elle dokunulmamalıdır.

As, Se, Sb gibi uçucu ve küçük dalga boylarında (<200 nm) absorpsiyon veya emisyon yapan elementler için daha uzun ömürlü ve ışık şiddeti yüksek olan elektrotsuz boşalım lambası kullanılmaktadır. Bu lambalar radyo frekansı veya mikro dalga ile uyarılma ilkesine göre çalışır. Bu lambalar da yine düşük basınçta asal gaz atmosferinde tutulur. 6-10 wattlık güç kaynakları ile beslenir (Ebdon 1982).

Atomlaştırıcılar: Absorpsiyon hücresi olarak adlandırılan atomlaştırıcının görevi, örnekteki iyonlardan ve moleküllerden, analizi yapılacak olan elementin temel düzeydeki atom buharını oluşturmaktır. AAS'de analizin başarısı atomlaştırmanın etkinliğine bağlı olduğundan düzeneğin en önemli bileşeni atomlaştırıcıdır. Atomlaştırıcılar, *alevli* ve *alevsiz* olmak üzere ikiye ayrılırlar. Alevli atomlaştırıcılarda örnek çözeltisi aleve havalı pnömatik bir sisleştirci ile püskürtülür. Çözelti aleve püskürtüldüğü zaman çözücü kuruyarak buharlaşır. Buharlaşma hızı damlacıkların büyüklüğüne ve çözücü türüne bağlıdır. Buharlaşma sonucu oluşan katı parçacıklar, alev sıcaklığının etkisi ile değişikliğe uğrarlar. Organik bileşikler yüksek sıcaklıkta yanarken, inorganik maddeler buharlaşır veya birbirleriyle veya alev gazları ile tepkimelere girerler. Bu nedenle alev ortamında analiz elementinin atomlarından başka CO₂, CO, C, H₂O, O₂, H₂, OH, NO, N₂ gibi pek çok yanma ürünleri de oluşur. Çözeltide taneciklerin buharlaşmasından sonra oluşan gaz molekülleri ısısal ayrışma ile atomlarına ayrılırlar.

Alevli atomik absorpsiyon spektroskopisinde alevin oluşturulduğu iki tür yakıcı kullanılır. *Ön karıştırmasız tür yakıcılarda*, örnek çözeltisi, yanıcı ve yakıcı gazlar, birbirleriyle temas etmeden ayrı ayrı taşınarak yakıcı başlığının hemen çıkışında karışırlar. *Ön karıştırmalı yakıcılarda* ise, örnek çözeltisi yakıcı gaz akımı ile beraber bir boşluğun içine taşınır ve burada yanıcı gazla karışır. Böylece bir aerosol oluşur ve bu aerosol yolu üzerindeki lehvalara çarparak çeşitli büyüklüklerdeki damlacıklara dönüşür. Uygun büyüklükteki damlacıklar aleve taşınırken daha büyük damlacıklar sistemden dışarı atılır. Bakır, kurşun, çinko ve kadmiyum gibi kolay atomlaşan elementler için düşük sıcaklığa sahip alevler örneğin doğal gaz/hava alevi, toprak

alkali metaller gibi kararlı oksitler oluşturan elementler için asetilen/hava alevi ile duyarlı sonuçlar alınmaktadır. Alüminyum, berilyum, silisyum, vanadyum ve nadir toprak elementleri ise çok kararlı oksitler oluşturdıklarından bunların atomlaşması için yüksek sıcaklığa sahip asetilen/protoksit veya asetilen/oksijen alevlerinin kullanılması gereklidir.

Genellikle atomlaştırıcı olarak alev kullanıldığında örnek aleve sürekli gönderilir ve her bir element analizi için 0,3-1,0 mL çözelti kullanılır. Çözelti miktarını azaltmak için kesikli yöntemler geliştirilmiştir. Mikropipetlerle 50-100 µL çözelti bir defada kapiler boruya enjekte edilmekte ve sinyal maksimumu ölçülmektedir. Biyolojik sıvılarda analiz için *Delves kabı denilen* tantalyum küvete yerleştirilen 20-50 µL çözelti aleve daldırılarak analiz yapma olanağı sağlanmıştır. Benzer bir yöntemde platin halka sistemidir. Yöntemde çözelti suyu ve kısmen organik matrisi aleve daldırılmadan önce ısıtılarak uzaklaştırılmaktadır (Shafiqul ve ark 1976).

Atomik absorpsiyon spektrometresinde atomlaştırıcı olarak alev dışında sistemler de geliştirilmiştir. Bunların en önemlisi *elektrotermal atomlaştırıcı* olarak da adlandırılan *grafit fırınlarıdır*. Elektrotermal atomlaştırıcılar, ısıtılmaları için ayrı bir güç kaynağı gerektirirler ve daha pahalı sistemlerdir. Ancak alevli sistemlere göre pek çok üstünlüğe sahiptir. Bu tür atomlaştırıcılarla çok küçük örnek hacimlerinde (5-50 µL) çalışılabilir, bunların kullanımı ile aleve püskürtülmesi zor olan viskozitesi yüksek sıvıların da çalışılabilir. Atomik buharın ışık yolunda kalma süresinin daha uzun olmasından dolayı duyarlılık alevli sisteme göre daha yüksektir. Ayrıca rezonans hatları vakum ultraviyole (<200 nm) bölgeye düşen elementlerin analizleri oksijenin bu dalga boyundaki şiddetli absorpsiyonu nedeniyle alevde mümkün değilken asal gaz atmosferi içinde çalışan elektrotermal atomlaştırıcıların kullanılması ile gerçekleştirilebilir. Grafit küvetler 10 cm uzunluğunda ve iç duvarları difüzyonla olabilecek kayıpların engellenmesi ve daha uzun ömürlü olması için tantalla kaplanarak politik karbondan hazırlanır. İlk kez L'vov tarafından önerildiği için L'vov grafit küveti denilen bu sistemde, örnek çözeltisinin fırına yerleştirilmesinden sonra fırın elektriksel dirençle ısıtılarak atomlaşma sağlanır (L'vov 1987). Tüm düzenek argon gazı atmosferinde tutularak grafitin yüksek sıcaklıklarda yanmasının önüne geçilir. En çok kullanılan elektrotermal atomlaştırıcı türü Massman grafit fırınıdır (Massman 1986).

Massman tipi grafit fırınlarda sistemin içinden ve dışından sürekli azot ve argon gazı geçirilerek oksijenin etkisi engellenir. Tüp ortasında bulunan küçük bir delikten örnek enjekte edilir. Güç kaynağından 10-15 V'luk sabit gerilim ve 0-500 amperlik değişen akım uygulanarak grafit ısıtılır. Bu ısıtma işlemi kademeli yapılır. Birinci kademedede düşük sıcaklık uygulanarak çözeltili süyunun uçması sağlanır. İkinci basamakta organik veya uçucu matriks uzaklaştırılır. Üçüncü kademedede ise analiz elementinin uzaklaşması için yüksek sıcaklığa ulaşılır. Grafitli sistemlerde 2700 °C'ye kadar çıkmak mümkündür. İstenilen sıcaklık ve her bir kademedede tutma süresi, güç kaynakları üzerindeki programlama sistemi ile sağlanır. Grafit atomlaştırıcıların en büyük sorunu, zemin soğurum sinyalinin yüksek olması ve çalışma koşullarından kaynaklanan kirliliktir. Ayrıca tekrarlanır sonuçlar için kişisel hatalar olabildiğince azaltılmalıdır. Pek pratik olmasa da homojen katı örneklerin analizini yapmak amacıyla tantalum kayıkçıklar geliştirilmiştir. Organik matriksi fazla olan biyolojik katılar çözünürleştirilmeden bu küvet içerisine konulur ve organik matriksin tamamının yanması için yanma süresi uzun tutulur. Atomlaşmanın daha düzgün olmasını sağlamak ve zemin sinyalini azaltmak için platform teknikleri kullanılmaktadır.

2.4.1.1 Girişimler

Diğer analitik yöntemlerde olduğu gibi atomik absorpsiyon spektrometresinde de analizi yapılacak örneğin özelliklerine bağlı olarak pek çok girişimler olabilir. Numune kabından atomlaştırıcıya kadar olan işlemlerde, çözeltilinin fiziksel özelliği ve atomlaşma esnasında ortamın kimyasal ve fiziksel özellikleri, analiz elementinin soğurma sinyalini pozitif veya negatif yönde etkiler ve bu şekilde sonucu etkileyen bütün etkenler *girişim* olarak adlandırılır. Atomlaştırıcı türüne bağlı olarak girişim olayındaki fiziksel ve kimyasal özellikler farklılık gösterirse de matriks, kimyasal, iyonlaşma ve spektral girişimler olarak sınıflandırılabilir.

Matriks Girişimi: Analiz çözeltilisinin vizkositesi, yüzey gerilimi gibi fiziksel özellikleri, standart çözeltiliyle aynı değilse atom oluşum hızlarında farklılıklar gözlenir. Daha çok alevli atomlaştırıcılarda görülen bu girişim türünün nedeni analiz

çözeltilerinden ve standarttan oluşan sis taneciklerinin çaplarının farklı olmasına, dolayısıyla yanıcı-yakıcı gaz karışımı ile alev başına ulaşan çözelti oranları arasındaki değişiklikten kaynaklanır. Asitli, %5'den fazla katı içeren veya yoğunluğu yüksek çözeltilerde bu etki belirgin bir şekilde gözlenir.

Matriks girişimini önlemek için çözelti seyreltilir veya serum analizinde olduğu gibi yüzey gerilimini azaltıcı saponin (Triton X) gibi maddeler eklenir. Bu eklenen maddeden standart çözeltilerine de aynı oranda eklenmelidir.

Grafit atomlaştırıcılarda, bu tür girişim çözeltinin atomlaştırıcıya enjeksiyonu sırasında görülür. Kullanılan mikro pipette bir miktar çözelti kalır. Saponin türü yüzey gerilimini azaltıcı maddelerin eklenmesi çözeltinin tamamının atomlaştırıcıya enjeksiyonunu sağlar. Organik çözen kullanıldığında, viskozite ve yüzey gerilimi suya göre daha az olduğu için aleve ulaşan sis oranında artış dolayısıyla sinyallerde artış gözlenir. Organik bileşikler alev ortamında denge bileşenlerini değiştirdiği gibi alev sıcaklığını da kısmen artırmaktadırlar (Barnett 1972).

Kimyasal girişim: Analiz elementinin atomlaşma ortamında anyon, katyon, radikallerden biri veya birkaçı ile birleşerek atomlaşması daha zor veya daha kolay bileşikler oluşturması kimyasal girişim olarak adlandırılır. Örneğin kalsiyum analizinde, fosfat anyonunun veya alüminyum katyonunun, sinyali azaltıcı etkisi, atomlaşmanın kalsiyum fosfat veya kalsiyum alüminat üzerinden ve atomlaşma oranının bu kararlı bileşiklerde az olmasına bağlanır. Bu tür girişimler atomlaşma oranını artıran sıcaklıkların (azot protoksit/asetilen alevi) kullanılmasıyla veya anyonlarla veya katyonlarla daha kuvvetli bileşikler oluşturan lantanyum gibi bir elementin ilave edilmesiyle azaltılabilir.

Grafit atomlaştırıcılarda çözeltilerden atom buharı oluşumuna kadar olan işlemler alevdeki olaylardan farklıdır. Dolayısıyla kimyasal girişimler de farklı sebeplerden kaynaklanabilir. Kararlı karbür oluşturan elementler grafit fırın içinde birikerek analizi imkansızlaştırır. Bu tür girişimler elementle grafitin teması kesilerek giderilebilir. Uçucu bileşenlerin analizinde ise bazı katyon ve anyon ilave edilerek uçuculuğu önlenir veya kütleme basamağında kayıplar azaltılabilir. Bu yöntemle matriks değiştirme yöntemi denir ve As, Se, Sb gibi uçucu elementlerin analizinde Ni'in sinyali artırıcı etkisi buna örnek gösterilebilir (Kunç 1992).

İyonlaşma girişimleri: İyonlaşma potansiyeli küçük olan sodyum, potasyum, sezyum gibi elementler atomlaşma sıcaklığında $M \leftrightarrow M^+ + e$ tepkimesine göre kısmen iyonlaşırlar. Bu tür elementlerin sinyallerinde ortamdaki atom sayılarının iyonlaşmasıyla azalmasından dolayı düşüşler olmaktadır. Bu tür girişimi önlemek için ya daha düşük sıcaklıkta atomlaşma sağlanır yada analiz elementinden daha kolay iyonlaşabilen bir element ilave edilerek ortamda elektronun derişimi artırılır ve iyonlaşması azaltılır (Zortka 1978).

Spektral girişim: Analiz elementi hattı, örnekte bulunan diğer bir elementin rezonans veya başka bir hattına yakın ise, normal soğurumdan fazla ölçülür. Buna atomik spektral girişim denir ve bu AAS'de fazla gözlenmese de bazı örnekleri vardır. Bu tür girişimler ancak analiz elementinin ikinci bir hattında çalışılarak giderilir. Analiz elementi hattı, atomlaştırıcı ortamında bulunan molekül ve radikalın soğurum bantı ile çakışyorsa moleküler soğurum spektral girişimi denilir ve ölçülen soğurum atomik ile moleküler soğurum değerlerinin toplamına eşittir. Grafit atomlaştırıcılarda özellikle büyük sorun olan bu girişim analiz elementi matriksine çok bağlıdır. Bu tür girişimleri engellemek için analiz elementi matriksten uzaklaştırılarak, örnek seyreltilerek girişim yapan molekülün derişimi düşürülebilir veya zemin düzeltici sistemler kullanılabilir (Güçer 1972).

Zemin düzeltici sistemler ölçüm yapılan dalga boyunda atomlaştırıcıda var olabilecek molekül ve radikallerin absorpsiyon yaparak spesifik olmayan ışık kayıplarına neden olması ve atomik buhardaki küçük parçacıkların ışığı saçmasıdır. Işık saçılması alevde tamamen buharlaşmamış aerosol veya kararlı partiküller tarafında meydana getirilir. Işık saçılması moleküler absorpsiyon tarafından meydana getirilir ve tayini istenen elementlere spesifik olmayan kayıplara yol açar. Bu ise zemin absorpsiyonu olarak tanımlanır. Bu girişimlerin giderilmesinde zemin düzeltme yöntemleri kullanılmaktadır. Bütün zemin düzelticiler toplam absorbans değerinin ölçülüp, girişimden doğan absorbansın toplam absorbanstan çıkarılmasına göre çalışırlar. Bu tür girişimleri yok etmek için 1970 yılından beri zemin düzeltici lambalar kullanılmaktadır. Bu amaçla sürekli spektrum veren hidrojen veya döteryum lambası kullanılmaktadır. Döteryum lambası ışık şiddetinin dalga boyu

ile çok değişmesi ve zemin soğurumunun fazla olduğu zaman yeterince etkili olamayabilir. Bundan dolayı 1975 yılından beri Zeeman düzeltmeli aletler kullanılmaktadır.

Zemin soğurumunu yok etmek için uygulanan diğer bir yöntem, tayin elemntinin analiz hattına çok yakın (bir kaç nm de) ve rezonans hattı olmayan diğer bir lamba kullanarak zemin soğurumunun ölçümü ilkesine dayanır (Kunç 1986).

2.4.2. Florür Seçici Elektrot

Katı hal membran elektrodu olan florür elektrodunun uç kısmında seçici membran olarak ince tek kristal bir LaF_3 katmanı veya membran direncini azaltmak için EuF_2 içine gömülmüş LaF_3 kristallerinden oluşmuş camsı bir katman bulunur. Elektrodun içinde 1 M NaCl ve 10^{-2} - 10^{-3} M F çözeltisi dolu olup bu iç çözelti ile temas halinde bir Ag/AgCl elektrodu bulunmaktadır. Yarı geçirgen membranın her iki tarafındaki florür derişimlerinin olmasından kaynaklanan derişim pilinin emk'sı yüksek empedanslı bir voltmetre ile veya pH Metre yardımıyla ölçülebilir. Örneğin, iç çözelti 10^{-3} M F içeriyorsa, dış çözeltinin de 10^{-3} M F içerdiği durumlarda membran üzerinde oluşacak elektrot potansiyeli 0,0 V olacaktır. Ölçülen bu potansiyel,

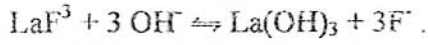
$$E = E^\circ - (R.T/F) \ln aF^- = E^\circ + 0,059pF \quad (25^\circ\text{C için})$$

şeklindeki genel Nerst Denklemi uyarınca ortamdaki serbest F derişiminin aktifliğine logaritmik olarak bağlıdır (Cammann 1979).

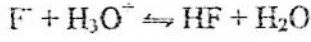
Raf ömrü 2 yıl olarak belirtilen bu elektrotların kullanım sıklıkları ve yüksek pH ortamlarında kullanımları bu süreyi daha da kısaltabilmektedir. Pek çok ticari firma tarafından üretilmekte olan Florür elektrotlarının $1-10^{-6}$ M derişim aralığında kullanılabilceği belirtiliyor olsa da çoğu kez 10^{-5} M derişimin altında kalibrasyon doğrusunun eğrildiği ve 55-59 mV olan Nerst eğiminin ve ölçümlerin güvenilirliğinin azaldığı görülmüştür (TS4234).

Florür iyonu derişiminin potansiyometrik yöntemle ölçümüne girişim yapan başlıca tür OH^- dir. Bu iyon elektrot membranındaki LaF_3 ile etkileşerek aşağıdaki

tepkimeye göre çözünürlüğü yüksek La(OH)_3 'e dönüştürdüğü için hem elektrot tahribatına yol açarken, hem de ortamın Florür derişiminin artmasına yol açar:



Ölçüm ortamında pH nin 5,5' in altına düşmesi halinde ise,



dengesi önemli ölçüde sağa kayacağından serbest F- derişimi azalacaktır. Genellikle çalışma ortamında pH aralığı olarak 5,5-8,0 önerilmektedir (Cammann 1979).

Çalışma ortamında bulunabilen Al^{3+} , Fe^{3+} ve La^{3+} gibi florür ile kuvvetli kompleksler oluşturabilen katyonlar da serbest florür derişimini değiştirdikleri için bozucu etkiye bulunmaktadır. Bu tür katyonları koordine etmek üzere ortamın tuz etkisini düzenlemek amacıyla kullanılan iyon şiddeti tamponlama çözeltisi içerisinde (TISAB) asetat, sitrat gibi ligantlar da katılmaktadır. Gerçekte 1-3 sn olan elektrot yanıt süresi, bu tür ligant değişim tepkimelerinin yavaşlığı nedeniyle 15 dakikaya kadar uzayabilmektedir. Bu sürenin kısa olması amacıyla ölçüm ortamının sürekli ve sabit hızla karıştırılıyor olması önerilmektedir. Özellikle düşük derişimlerde karıştırma daha da önem kazanmaktadır (Midgley ve Torrance 1978).

Florür ölçümlerinde doğrudan ölçüm, standart ekleme gibi genel yöntemlerin yanı sıra $\text{La(NO}_3)_3$ çözeltisi yardımıyla potansiyometrik titrasyon yöntemini kullanmak da mümkündür. Florür elektrodu uygulamalarında çoğu kez tek temaslı (single junction) Ag/AgCl elektrot kullanılması önerilmektedir. Özellikle yüksek florür derişimlerinin cam üzerindeki aşındırıcı etkisi gözönüne alınarak elektrot gövdelerinin ve kullanılan laboratuvar kaplarının PVC, teflon, polietilen gibi plastiklerden olması yararlı olacaktır (TS4234).

2.4.3. Spesiasyon Çalışmalarında Kullanılan Reçineler

Bu çalışmada çay-su ekstraktlarında organik bağlı Al'un tayini için Amberlite XAD-7 reçinesi kullanılırken, katyonik formdaki Al'un tayini için ise Chelex-100 reçinesi kullanılmıştır. Bu reçinelerin genel özellikleri ve uygulama alanları aşağıda verilmiştir.

Organik esaslı sentetik Amberlite reçineleri elde edilişleri ve kullanışları bakımından iyon değiştirici ve adsorban olarak iki ana gruba ayrılırlar. Adsorban özelliğe sahip olan reçineler arasında Amberlit XAD-1, XAD-2, XAD-4, XAD-7, XAD-16, XAD-1180 vb. sayılabilir. Amberlit reçineleri geniş yüzey alanlı, büyük ve homojen dağılımlı gözeneğe sahip, çarpraz bağlı kopolimerlerdir. Asidik ve bazik ortamlarda, organik çözücülere karşı kararlı olmalarından dolayı adsorban olarak kullanılan silikajelle karşılaştırılabilirler. Amberlite XAD-4 ve XAD-1180 reçineleri polisitiren divinilbenzen kopolimerleridir. Geniş yüzey alanı ve uygun gözenek karakterlerine sahip olmalarından dolayı diğer XAD reçinelerine göre daha büyük adsorban karakterine sahiptirler.

Amberlite XAD türü reçineler organik bileşikleri, halojeno ve tiyosiyanat ligantlarının bir çok anorganik kompleksini adsorplama özelliğine sahiptir. Organik maddeleri adsorplamalarından dolayı, bu reçinelerle yapılan ilk çalışmalar, organik esaslı maddelerin toplanması şeklinde başlanmış olup bu çalışmalar günümüzde de devam etmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, metal şelatlarının bu reçineler üzerinde tutunması şeklinde yoğunlaşmıştır. Bu tür çalışmaların başlangıcında metal şelatları immobilizasyon tekniği ile reçine üzerinde oluşturulmuştur. Bu teknikte şelat yapıcılar, reçine ile muamele edilerek reçine üzerinde önceden tutturulur ve reçine üzerinde metal şelatlarının oluşması sağlanır. Uygun elüsyon çözeltileri kullanılarak reçine üzerinde oluşan metal şelatlarının elüsyonu sağlanır. Ancak bu şekilde uygulanan immobilizasyon tekniği ile kolonun çok sayıda deney için kullanımı mümkün olamamaktadır. Çünkü elüsyon ile ligantlar kolondan zamanla ayrılmaktadır. Bu sebeble Amberlite XAD reçinelerinin dolgu maddesi ile kolona yerleştirilmesi ve kolondan daha önceden oluşturulmuş metal şelatlarını içeren çözeltilerin geçirilmesi tekniği üzerindeki çalışmalar daha yaygın hale gelmeye başlamıştır (Elçi 1992).

Bu çalışmalarda Amberlite XAD reçineleri metal şelatlarının adsorplanması şeklinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Yine bu reçinelerin değişik ortamlardan eser elementlerin halojeno, tiyosiyano, oksin gibi çeşitli komplekslerini tutma özelliğinden yararlanılarak bir çok çalışma yapılmıştır. Doğal sulardaki eser metal iyonlarının Amberlite XAD reçineleri üzerindeki adsorpsiyonu ile ilgili bir çok çalışma vardır. Plantz ve arkadaşları aşırı tuz içeren bir ortamda eser elementlerin zenginleştirilmesinde Amberlite XAD-4 reçinesi içeren dolgulu mini kolonlar kullanmışlardır. Mikro kolonu otomatik numune verme sistemi ile birleştirerek deniz suyu numunelerinde bazı eser metal iyonlarını tayin etmişlerdir.

Dayanıklı bir poroziteye sahip olan Amberlite XAD kopolimerleri geniş yüzey alanları ile kromatografik kolonların doldurulmasında ve ayrıca toz reçine halinde kullanılmaktadır. Organik moleküllerle kopolimerler arasındaki arareaksiyon; pH, elüsyon için kullanılan organik çözgenin suyla karışma oranı veya diğer organik çözgenler, ayrılan organik molekülün yapısındaki süstitüentlerin durumu, sayısı ve çeşidi gibi değişkenlerden etkilenir. Amberlite XAD tipi reçineler geniş yüzey alanı ve dayanıklılığa sahip oldukları için, ve hemen hemen hiç değişmez poroz yapılarıyla organik bileşiklerin adsorpsiyonunda uygulamalar açısından oldukça iyi görülmektedirler. Şeker, et ürünleri ve su içerisindeki safsızlıkların taşınmasında, kan ve idrardan steroidlerin, karotenoidlerin ve toksik ilaçlarla diğer önemli biyolojik bileşiklerin ayrılmasında bu reçinelerin kullanımlarına ait pekçok uygulamalara literatürde rastlanmaktadır (Pletrzyk ve Chu 1977).

Çalışmada organik bağlı Al³⁺u ayırmak için kullanılan ve iyonik olmayan, makroretiküler Amberlite XAD-7 reçinesi ise hidrofobik veya hidrofilik ara reaksiyonlarla ilgili iyonik türlerin adsorpsiyonunu sağlar ve genellikle isokrotik şartlar altında kullanılır. Amberlite XAD-7 reçinesi orta polarlıkta akrilik asit esteri olup, ortalama yüzey alanı 450 m²/g olup ortalama gözenek çapı 90Å dur.

Amberlite XAD-7 reçinesi ile benzer özellikler gösteren XAD-2 reçinesi düşük enerjili fiziksel sorpsiyon ile hümik maddelerin ayrılması ve deniz suyundan eser metallerin organik türlerinin ayrılması için kullanılmaktadır. Bununla birlikte ağır metal katyonlarının önemli bir miktarı reçine üzerinde sorpsiyona uğrayabilir. Bu olay katyon değiştirme kapasitesine sahip oksidasyon ürünüyle polar safsızlıklardan kaynaklanabilir. Bu nedenle sadece organik bağlı ağır metallerin bağlanması

amaçlanıyorsa reçine üzerinde katyon değiştirme yerlerinin doğgun hale getirilmesi gerekmektedir. Böylece katyon değiştirme yerleri kapatılmış olmaktadır. Bu amaçla Mizuike ve ark. (1989), Amberlite XAD-2 reçinesi için indiyum ozeltisi kullanmışlardır. İndiyum ozeltisinin seçilme nedenleri ise şoye sıralanabilir;

- Trivalent indiyum iyonları univalent ya da divalent iyonlardan daha çok katyon değiştirme yerlerinde kuvvetlice sorpsiyona uğrarlar.
- İndiyum ayırma işlemlerinden sonra girişim etkisi göstermez.
- Yüksek saflıkta indiyum metalini (%99,9) ticari olarak bulmak mümkündür.

İndiyumla koşullandırıldıktan sonra metal iyonları, metal EDTA kompleksleri ve kolloidal metal hidrat iyonları reçine üzerinde alıkonmazlar. Reçine üzerinde hümik metal komplekslerinin, bu hümik maddelerle benzer şekilde adsorpsiyon yapacakları beklenmektedir (Mizuike ve ark., 1989).

Çalışmada katyonik Al formlarını tutmak üzere kullanılan Chelex-100 reçinesi sitiren divinilbenzen ko-polimeri üzerine imino-diasetat fonksiyonel grubunun bağlı olduğu zayıf asidik katyon değiştirici özellik gösteren sodyum formunda bir reçinedir. %1 çarpraz bağlıdır. Zayıf asidik katyon değiştirici pH>2 olduğu zaman Al'u kuvvetlice bağlar.

2.5. Analitik Verilerin Değerlendirilmesinde Temel Kavramlar

Kesinlik : Ölçümlerin tekrarlanabilirliğini yani tamamen aynı yolla elde edilen sonuçların yakınlığını gösterir. Genel olarak bir ölçümün kesinliği ölçümlerin tekrarlanması ile kolayca tayin edilebilir.

Doğruluk : Ölçümlerin gerçek veya kabul edilen değere yakınlığını belirtir. Doğruluk ve kesinlik arasında temel bir farklılık vardır. Doğruluk bir sonuç ile gerçek değer arasındaki yakınlığı ölçer. Kesinlik ise aynı yolla ölçülen birçok sonuç arasındaki yakınlığı açıklar. Kesinlik bir ölçmenin basit olarak tekrarlanması ile tayin edilir. Diğer taraftan bir büyüklüğün gerçek değeri hiçbir zaman tam olarak bilinmediğinden doğruluk tam olarak tayin edilemez. Doğru değer yerine doğru kabul edilen değer kullanılmalıdır. Doğruluk “mutlak” ya da “bağlı hata” terimleri ile ifade edilir.

Mutlak Hata : Bir X_i büyüklüğünün ölçümündeki mutlak hata

$$E = X_i - X_t$$

eşitliği ile verilir. Burada X_t , söz konusu büyüklüğün gerçek değer kabul edilen değeridir. Mutlak hatanın bir işareti vardır.

Bağlı Hata : Genellikle mutlak hatadan daha faydalı bir büyüklüktür. % bağlı hata şu eşitlikle ifade edilir:

$$E = (X_i - X_t) / X_t \cdot 100$$

Standart Sapma : Çok sayıda verinin kesinliğinin bir ölçüsü olan standart sapma şu eşitlikle verilir:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (X_i - \mu)^2}{N - 1}}$$

Ortalama Değerin Güvenirliği : Genel olarak laboratuvar koşullarında sonuçlar az sayıda analiz yapılarak elde edilir. Bu durumda elde edilen ortalama değer gerçek değerden oldukça farklı olabilir. Verilen sonuç değerinin hangi güvenirlilik seviyesinde

verilen hata sınırları içerisinde kabul edilebileceğinin belirtilmesi gerekir. Güvenirlik sınırları yüzde kaç olasılıkla, verilen ortalama değerin belirtilen standart sapma değerleri arasında olduğunu gösterir. Genelde kullanılan güvenirlilik seviyesi % 95 tir ve buna karşı gelen hata sınırları $\pm 1,96 S$ dir.

Duyarlılık : Derişim (C)'ye karşı sinyal (I) değişiminin eğimi DC/DI değeri duyarlılık olarak tanımlanır. AAS için duyarlılık "1/Eğim" olarak alınır ve geneide 0,0044 Absorbans veren derişim duyarlılık olarak tanımlanır.

Gözlenebilme Sınırı : Bir analitik yöntemin başarısı genellikle gözlenebilme sınırı ile ölçülür. Gözlenebilme sınırı derişim birimleri ile verilir ve analitik kör örnekten istatiksels olan ve tayin edilebilen en düşük derişim olarak verilir. Pratikte gözlenebilme sınırı kör veya köre yakın derişimdeki bir çözelti için standart sapmanın iki veya üç katının derişim eşdeğeri olarak alınır. Tekrarlanabilirliğin iyi ve duyarlılığın yüksek olması daha düşük gözlenebilme sınırının elde edilmesine neden olmaktadır.

Tayin Sınırı ve Dinamik Aralık : Gözlenebilme sınırı 3S ile verilse dahi çok düşük olduğundan gerçek tayinler için sınır standart sapma değerinin eşdeğer derişimin bazan 5 veya 10 katı olarak alınır ki, bu değer tayin sınırı olarak tanımlanır. Sinyalin derişimle doğrusal olarak değiştii aralığa dinamik aralık denir. Genel olarak sinyal-derişim eğrisi yüksek derişimlerde doğrusallıktan sapor ve eğim azalır. Pekçok yöntem için dinamik aralık tayin sınırı ile bükülmenin başladığı nokta arası olarak kabul edilir.

Sinyal/Gürültü Oranı : Yapılan ölçümlerin tekrarlanabilirliği sinyal/gürültü olarak (S/N) oranının yüksek olmasına bağlıdır. S/N oranı azalırsa % Bağıl Standart Sapma artar ve tekrarlanabilirlik azalır. S/N oranı cihazın özelliklerine, kullanım ömrüne ve örneklemedeki başarıya bağlıdır (Skoog, West ve Holler 1996).

3. MATERYAL VE METOD

Çalışmada kullanılan çay örnekleri Türkiye’de üretilen ve piyasadan ticari olarak sağlanan paketlenmiş siyah çaylardır. Bu çay örnekleri halkalı değirmende öğütülüp toz edildikten sonra kapaklı PVC kavanozlar içerisinde, deneysel çalışmalarda kullanılmak üzere saklanmışlardır.

Tablo 1. Çalışmada kullanılan çay örnekleri.

Çay Örneği	Paketleme Yılı
Çaykur Filiz	9.12.1995
Çaykur Rize Turist	27.7.1995
Çaykur Çay Çiçeği	21.8.1995
Çaykur Kamelya	18.7.1995

3.1. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Aletler

1) Çalışmalar süresince element analizleri için, döteryum düzeltmeli ve verilerin değerlendirilmesinde kullanılan bilgisayar programlı **Philips PU911X Software** (Part No: 9423391/79416) alevli atomik absorpsiyon spektrofotometresi kullanılmıştır. Al oyuk katot lambasının kullanıldığı ölçümlerde diğer optimizasyon koşulları Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 2. Alevli AAS ile ölçümlerde kullanılan optimizasyon parametreleri.

Lamba akımı, (mA)	10
Dalga boyu, (nm)	309,1
Bant genişliği, (nm)	0,5
Örnek verme hızı, (mL/dk)	5
N ₂ O ₂ akış hızı,(L/dk)	2,0
Hava akış hızı, (L/dk)	4,0
Asetilen akış hızı(L/dk)	5,2

2) Spektrofotometrik taramalar ve organik ölçümler için Jenway P105 UV/VIS model ve Shimadzu 2000S UV/VIS spektrofotometreler kullanılmıştır.

3) Alüminyum florür kompleksinin tayini için AGB-3001 pH/Ion Meter'a bağlı florür seçici elektrot LABTECH (Design and Marketing) LTD

3.1.2. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Diğer Yardımcı Aletler

- Deiyonize suyun elde edilmesinde; FISTREEM Water Purification System (Sanyo Gallenkamp PLC, Leicester LE3 2DL, UK)
- AGB-3001 pH/Ion Meter'a bağlı pH metere
- Doymuş kalomel elektrot
- Sanorax marka ultrasonik banyo
- VOLAC marka mikropipet (John Poulten Ltd., 77-83 Tanner Street, Barking, Essex, IG11 8QD, UK) ve polietilen uçlar
- Elektro-Mag marka zaman ayarlı çalkalayıcı
- Soxhlet ekstraktör cihazı
- 0,45 ve 0,2 µm gözenek çaplı disposable mikromembran filtreler (Scheleicher Schueli)
- Chiltren marka magnetik karıştırıcı ısıtıcı

3.2. Spesiasyon İçin Kullanılan Reçineler ve Hazırlanışları

Amberlite XAD-7 Reçinesi (Aldrich 21, 649-6) non-iyonik makroretiküler reçinedir ve hidrofobik veya hidrofilik ara reaksiyonlarla ilgili iyonik türlerin adsorbsiyonunu sağlar. Genellikle iskrotik çözgen koşullarında kullanılır. Amberlite XAD-7 20-60 mesh'lik orta polarlıkta akrilik esterdir. Ortalama yüzey alanı 450 m²/g dir. Ortalama gözenek çapı ise 90 Å dur.

Çalışmada organik bağlı alüminyum türlerini ayırmak için reçine birtakım işlemlerden geçirilmiştir. Bu işlemler sırasıyla şunlardır:

- Tartılan Amberlite XAD-7 110 °C'de kurutulan reçineden belli bir miktar tartım alındıktan sonra metanolle ultrasonik banyoda yıkanmıştır..
- 2 M HNO₃ ile yıkandıktan sonra saf sudan geçirilmiştir.

- pH'ı 5 olan indiyum çözeltisi içinde bir gece bekletilerek katyon bağlama yerleri doygun hale getirilmiştir. Bu şekilde hazırlanan reçine çapları 1 cm olan polietilen kolonlara doldurulmuştur (Hiraide 1989).

Chelex 100 (Bio-Rad C-7901) bir iminodiasetik asit çelatlayıcı reçinedir. %1 çarpraz bağlı olan bu reçine, 50-100 kuru meshe sahiptir. Çalışmada katyonik alüminyumun ayrılması için kullanılan reçine, kullanılmadan önce bir takım ön işlemlerden geçirilmiştir. Na⁻ formu Chelex 100 reçinesinden 0,5 g tartılıp, 20 mL potasyum biftalat tampon çözeltisinde süspanse edildikten sonra 0,1 M HCl ve 0,1 M NaOH ile pH=4-5 olacak şekilde örnek pH'na getirilmiş ve daha sonra iç çapı 0,5 cm olan polietilen kolonlara doldurulmuştur. Kolon doldurulduktan sonra tekrar tampon çözeltiyle yıkanmıştır (Courtijn ve ark. 1990)

Sephadex G-10 (Aldrich 1240) Size exclusion mekanizmasına göre hazırlanmış olan bu reçineler belli moleküler büyüklükleri ayırmak için kullanılır. Reçine kullanılmadan önce potasyum biftalat tamponu ile pH=4-5 olacak şekilde süspanسیون haline getirilmiş ve iç çapı 1 cm olan polietilen tüplere doldurulmuştur.

3.3. Deneysel Çalışmada Kullanılan Kimyasallar ve Çözeltilerin Hazırlanması

Tablo 3. Çalışmada kullanılan asitlerin bazı özellikleri.

Asit	İçerik (%)	d (kg/L)	Molekül ağırlığı (mol/g)	Merck No
HNO ₃	65	1,40	63,01	2500
HClO ₄	60	1,53	100,46	30754
H ₂ O ₂	33	1,12	34,00	Teknik
HCl	37	1,18	36,50	314
H ₂ SO ₄	95-98	1,84	98	542
H ₃ PO ₄	88	1,75	131	185
HF	40-45	1,14	20	164

Çalışmada kullanılan çözeltiler ve hazırlanışları aşağıda verilmiştir. Standart çözeltiler stok çözeltilerin uygun hacimlerde deiyonize suyla seyreltilmesiyle hazırlanmıştır.

Stok Alüminyum çözeltisi : Analitik saflıktaki 8,792 g $KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ (Merck 1047) deiyonize suda çözülerek 1,5 mL derişik HNO_3 ilavesinden sonra deiyonize su ile litreye tamamlanmıştır. Bu şekilde hazırlanan stok çözelti polietilen şişelerde saklanmıştır.

Stok Florür çözeltisi: Etüvde $105^\circ C$ 'de kurutulan NaF'den, 2,104 g tartılıp deiyonize suda çözülerek toplam hacim daha sonra litreye tamamlanmış ve polietilen şişelerde saklanmıştır.

Çay-su ekstraktlarında polifenollerin, spektrofotometrik analizi için hazırlanan çözeltiler ve hazırlanışları aşağıda verilmiştir.

Folin-Denis Ayıracı. 10,0 mg sodyum tungustat $Na_2WO_4 \cdot 2H_2O$ (Merck 6672) 2,0 g fosfomolibdik asit $[H_3P(Mo_{13}O_{14})_4H_2O]$ (Merck 532) ve 5 mL fosforik asit H_3PO_4 (Merck 563) 250 mL'lik ağız rodajlı bir balon içerisine konulmuş ve üzerine 75 mL deiyonize su eklendikten sonra iyice karıştırılıp, geri soğutucu altında iki saat kaynatılmıştır. Daha sonra soğutulan çözelti 100 mL'ye tamamlanmıştır.

Doğun sodyum karbonat çözeltisi: 35 g susuz sodyum karbonat (Merck 6395) 100 mL su içerisinde hafifçe ısıtılarak iyice çözüldükten sonra bir gece kendi haline bırakılıp cam pamuktan süzöldükten sonra 100 mL'ye tamamlanmıştır.

Stok tannik asit çözeltisi: 1,000g tannik asit (Merck 773) 100 mL deiyonize su içerisinde çözüldükten sonra yine deiyonize su ile litreye tamamlanmıştır.

Stok gallik asit çözeltisi: 1,000g gallik asit (Merck 341) 100 mL deiyonize su içerisinde çözüldükten sonra yine deiyonize su ile litreye tamamlanmıştır.

Stok pyrogallol çözeltisi: 1,000 g pyrogallol (Merck 372) 100 mL deiyonize su içerisinde çözüldükten sonra yine deiyonize su ile litreye tamamlanmıştır.

Çalışmada kullanılan tampon çözeltiler ve hazırlanışları ise aşağıda verilmiştir.

Potasyum biftalat tamponu: 5,00 g potasyum biftalatın (Merck 4876) deiyonize su ile 1 L'ye seyreltilmesiyle hazırlanmıştır. Bu tamponun pH'ı istenilen pH'ya 1 M NaOH ve 1M HCl ile getirilmiştir.

ALCOA Tamponu: 60,0 g sitrik asit, 210 g sodyum sitrat ($Na_3Sit \cdot 2H_2O$) 53,5 g NH_4Cl 500 mL deiyonize su içerisinde çözölüp, 67 mL NH_3 eklendikten sonra toplam hacim L'ye tamamlanmıştır.

CORNING TISAB Tamponu: 58,5 g NaCl (1 M), 61,52 g NaAcO (0,75 M), 0,2941 g Na₃Sit 2H₂O (0,001 M) ve 14, 35 mL der. HAcO (0,25 M) olacak şekilde 1L deiyonize su içerisinde çözülerek hazırlanmıştır.

Tablo 4. Girişim ve diğer çalışmalar için deneylerde kullanılan kimyasallar .

Element	Kullanılan tuzu	Molekül ağırlığı (mol/g)	Merck No
Katyonlar			
Ca	CaCl ₂	110,99	2385
Al	Al(NO ₃). 9H ₂ O	375,13	1086
Fe	Fe(NO ₃). 9H ₂ O	404,0	12336
Zn	Zn(NO ₃). 6H ₂ O	297,47	8836
Al	KAl(SO ₄) ₂ . 12H ₂ O	474,34	1047
Al	AlCl ₃	133,34	2004
Anyonlar			
PO ₄ ³⁻	Na ₂ HPO ₄ . 2H ₂ O	177,99	2385
SO ₄ ³⁻	Na ₂ SO ₄	142,04	314-8
F ⁻	NaF	42,0	242
F ⁻	KF	58,092	1052
Cl ⁻	KCl	74,555	278
Cl ⁻	NaCl	58,50	114
SO ₄ ³⁻	K ₂ SO ₄	174,27	2135
PO ₄ ³⁻	K ₂ HPO ₄ . 12H ₂ O	358,14	2110

3.4. Metotlar

Çeşitli çay örnekleri kullanılarak hazırlanan çay-su ekstraktlarına geçen alüminyumun, farklı kimyasal formlarının tayini (spesiasyonu) için uygulanan yöntemler aşağıda kısaca verilmiştir.

- Alevli AAS ile alüminyum tayini için uygun alüminyum standartının seçimi
- Alevli AAS ile alüminyum tayininde çay matriksinden kaynaklanabilecek çeşitli girişim etkilerinin incelenmesi
- Toz çayda alüminyum tayini için farklı örnek hazırlama basamaklarının kontrolü
- Alevli AAS ile toz çaydan, çay-su ekstraktlarına geçen alüminyumun tayini
- 0,25 µm ve 0,45 µm çapına sahip mikromembran filtrelerin kullanılmasıyla çay-su ekstraktlarına geçen çözülmüş ve partiküle alüminyumun alevli AAS ile tayini
- Florür iyon seçici elektrotuyla, çay-su ekstraktına geçen alüminyum florür kompleksinin oluşumunun incelenmesi ve florür bağlı alüminyumun tayini
- Çay- su ekstraktlarına geçen polifenollere bağlı alüminyumun bir fraksiyonunun (kateşik yani hidroliz olmayan polifenollere bağlı alüminyum), protein (bovine serum albumin) çöktürmesiyle karakterizasyonu
- Amberlite XAD-7 non-iyonik reçinesiyle deme geçen organik bağlı alüminyum ve Chelex 100 reçinesi kullanılarak deme geçen katyonik alüminyum formlarının ayrılması ve alevli AAS ile bu türlerdeki alüminyumun tayini

Aşağıda Bölüm 4'te bu deneylerin uygulamaları ve uygulamalar sonucundaki bulgular verilmiştir.

4. METOTLARIN UYGULANMASI VE BULGULAR

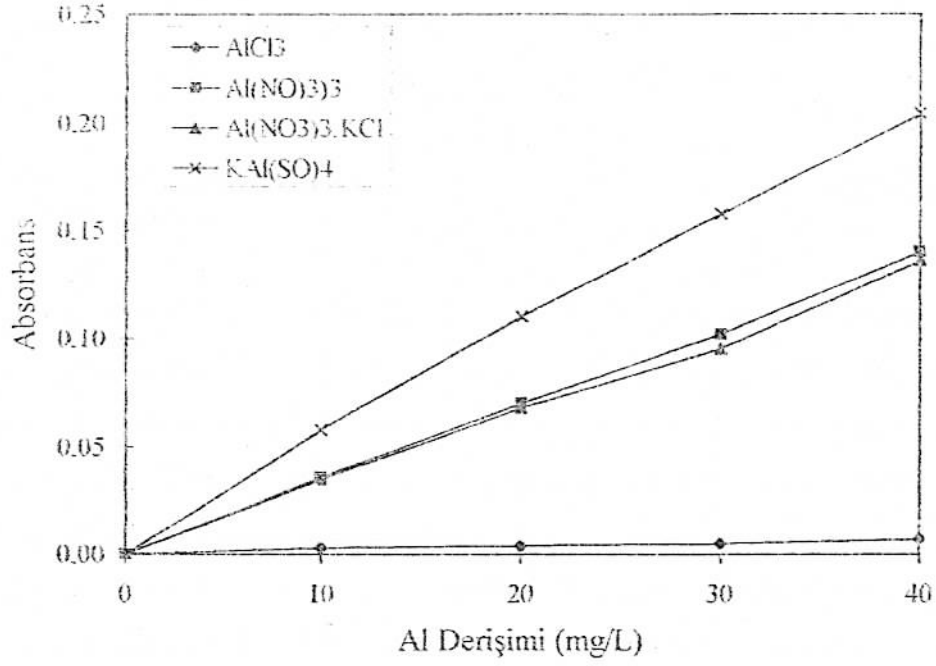
4.1. Alevli AAS ile Al Tayininde Standart Olarak Değişik Al Tuzlarının Kullanılması

Al standart çözeltileri, genellikle Al metalinin veya Al_2O_3 'ün asitte çözülmesiyle hazırlanan stok çözeltinin uygun derişimlerde seyreltilmesiyle hazırlanmaktadır. Fakat bu şekilde hazırlanan stok çözeltide, fazla miktarda asit kullanımından dolayı safsızlıklar olabilir, ayrıca bu safıkta Al metali bulmak gerekir. Bu nedenle çalışmalarda, Al standartlarını hazırlamak için, kolaylıkla suda çözülebilen ve çok az asit gerektiren çözünür Al tuzları kullanılmıştır. Bu amaçla üç farklı Al tuzundan hazırlanan 1000 mg Al/L derişimindeki stok çözeltilerden hazırlanan, Al standartları kullanılarak kalibrasyon grafikleri çizilmiştir. Aynı ölçüm koşullarında bu tuzlardan hazırlanan standartlara ait absorbens sonuçları ve grafik aşağıda verilmiştir.

Tablo 5. Çeşitli Al tuzlarından hazırlanan standartlar için okunan absorbens değerleri.

Derişim (mg/L)	KAl(SO ₄) ₂	Al(NO ₃) ₃	Absorbans	
			Al(NO ₃) ₃ *	AlCl ₃
10,0	0,058	0,036	0,035	0,003
20,0	0,110	0,070	0,068	0,004
30,0	0,158	0,102	0,095	0,005
40,0	0,204	0,140	0,136	0,007

* (% 0, 2 lik KCl içinde)



Şekil 9. Farklı Al tuzlarından hazırlanan Al standartlarının alevli AAS ile absorbanslarının karşılaştırılması.

4.2. Alevli AAS ile Al Tayininde Girişim Çalışmaları

Çalışmada materyal olarak kullanılan çay örnekleri, makro bileşenler açısından oldukça zengindir. Bu nedenle alevli AAS ile toz çay ve çay-su ekstraktlarına geçen Al düzeyleri tayin edilirken, bu bileşenlerin etkilerinin araştırılması gerekir. Bu amaçla çay matriksinin aydınlatılmasına yönelik daha önceki çalışmalarımız ve çeşitli kaynaklar dikkate alınarak çay-su ekstraktına geçen bileşenleri temsil etmek üzere yapay çay matriksi hazırlanmıştır. Tablo 6'da verilen bu bileşenler deiyonize suda çözülerek toplam hacim 250 mL'ye tamamlanmıştır. Bu yapay matriks 5,0 g toz çayın 250 mL deiyonize suda 15 dk demlenmesiyle elde edilen bileşenleri temsil etmektedir (Özdemir 1992).

Tablo 6 . Çay-su ekstraktı için hazırlanan yapay matriksin bileşimi.

Bileşen	Tartılan Miktar, (mg)
NaCl	255,0
K ₂ SO ₄	619,0
K ₂ HPO ₄	277,0
KF	100,0
CaF ₂	50,0
Tannik Asit	2340
Kafein	1340

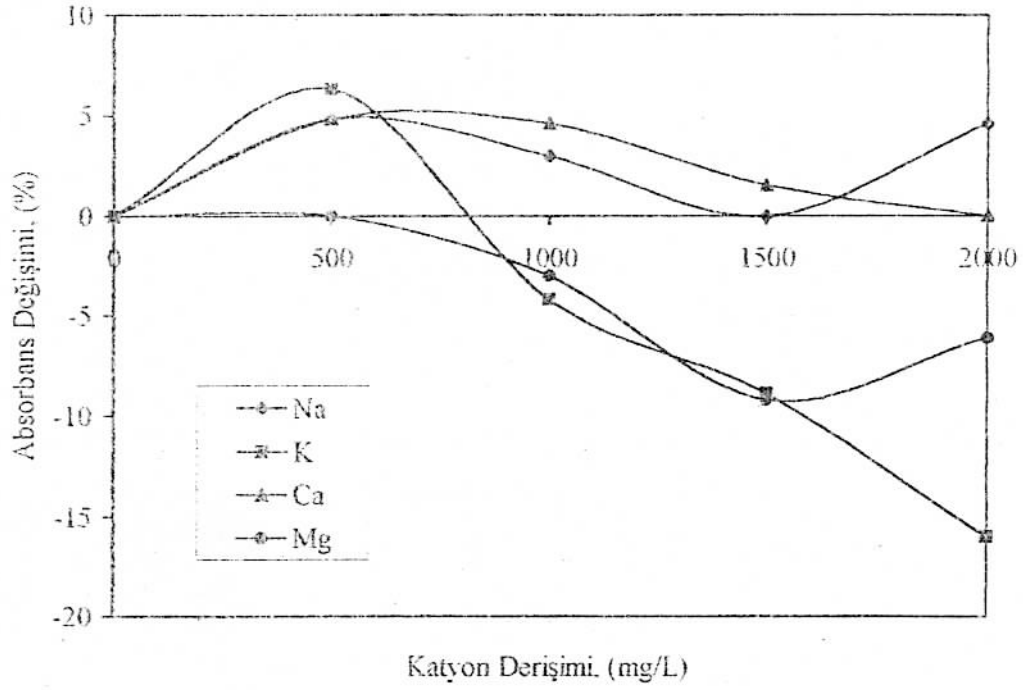
Çay-su ekstraktlarına geçen Al'un alevli AAS ile tayini için ortam bileşenlerinin girişim etkileri incelenirken aşağıdaki işlemler yapılmıştır:

1) Çay-su ekstraktına geçen makro düzeydeki katyon ve anyonların girişim etkilerinin incelenmesi için; sulu Al standartının alevli AAS ile apsorbans(Abs), değeri ölçüldükten sonra, aynı ölçüm koşullarında bu kez standartlara; 500, 1000, 1500 ve 2000 mg/L katyon ve 200, 400, 600, 800 mg/L anyon ilave edilmiş ve tekrar alevli AAS ile Abs değerleri ölçülmüştür.

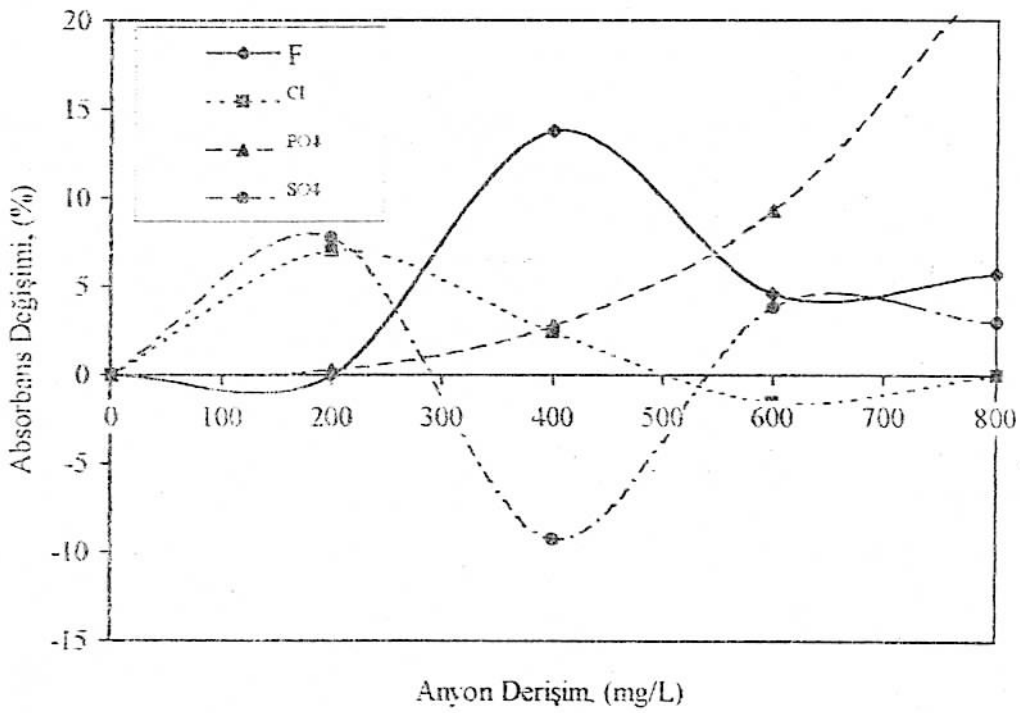
Aşağıdaki formül kullanılarak,

$$\Delta \text{Abs} = \left(\frac{\text{Abs (sulu standart)} - \text{Abs (katyon ve anyon ilavesi)}}{\text{Abs (sulu standart)}} \right) \times 100$$

%Abs değişimleri hesaplandıktan sonra ilave edilen her bir katyon ve anyon için sonuçlar şekil 10 ve şekil 11'de verilmiştir.

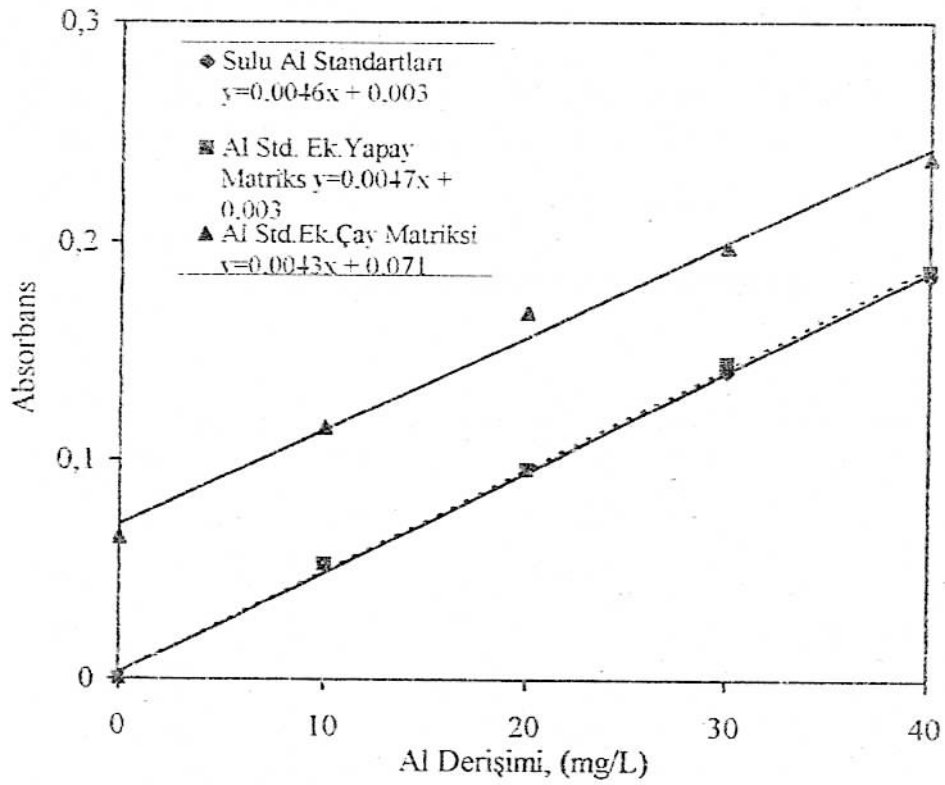


Şekil 10 . Alevli AAS ile Al³⁺'un absorbans ölçümüne bazı katyonların etkisi.



Şekil 11. Alevli AAS ile Al³⁺'un absorbans ölçümüne bazı anyonların etkisi.

2) Çay-su ekstraktına geçen bileşenleri temsil etmek üzere içeriği tablo 6'da verilen bileşimde yapay çay matriksi hazırlanmış, ve 100 kat seyreltilen bu yapay matriks içerisinde Al standartları hazırlanarak absorbans değerleri ölçülmüştür. Ayrıca 2,50 g toz çayın 250 mL saf su içerisinde demlenmesiyle hazırlanan çay-su ekstraktı içerisindeki Al standartlarının da absorbans değerleri ölçülerek grafiğe geçirilmiştir. Bu şekilde elde edilen ölçüm sonuçları aşağıda şekil 12'de görülmektedir.



Şekil 12. Yapay çay matriksi ve çay-su ekstraktı içerisinde hazırlanmış Al standartlarının absorbans değerlerinin karşılaştırılması

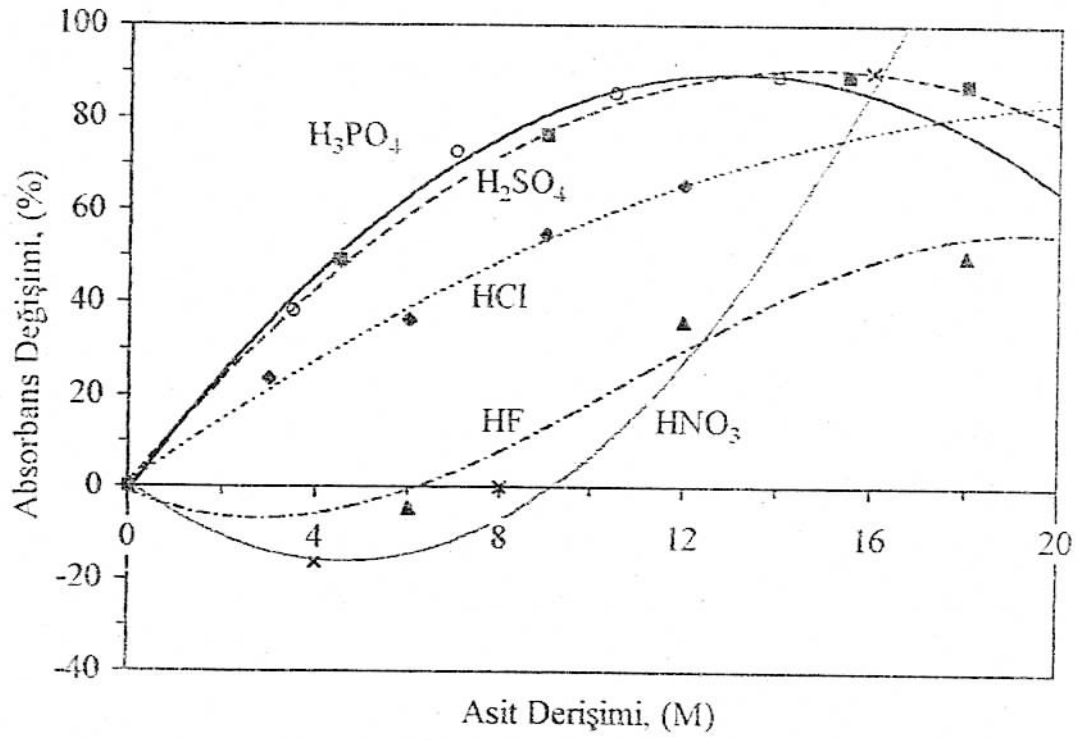
Bu çalışmanın dışında yapay çay matriksine belirli derişimde Al ilave edilerek % geri kazanma verimi hesaplanmıştır. Bu çalışmaya ilişkin sonuçlar tablo 7'de görülmektedir.

Tablo 7. Yapay matrikse eklenmiş Al'un geri kazanma verimi.

Eklenen Al (mg/L)	Bulunan (mg/L) \bar{X}	%Verim
20,0	20,80±0,38 X	104,0±1,90

3) Çalışmada toz çayın parçalanması ve organik yapının giderilmesinde çeşitli asitlerle, parçalama işlemlerinin kullanılacağı düşünülerek bu asitlerin alevli AAS ile Al tayinine etkileri araştırılmıştır.

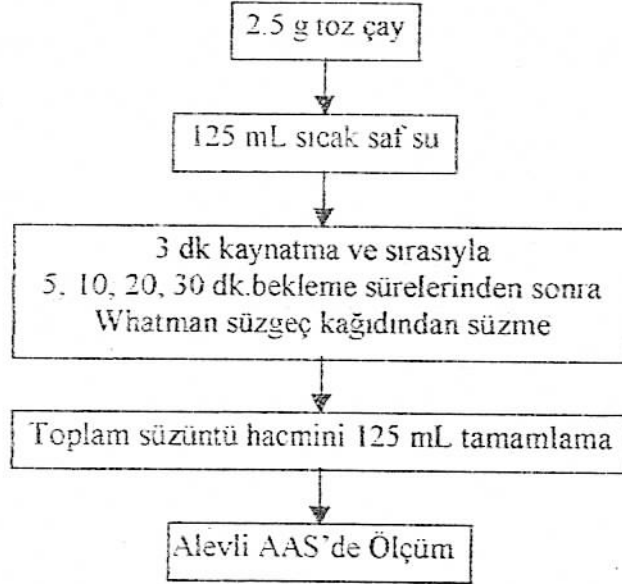
Bu amaçla Al standartlarına artan derişimlerde HCl, HNO₃, H₂SO₄, HF ve H₃PO₄ asitlerinden ilave edilmiş ve % absorbands değışimlerine karşı asit derişimleri grafiğe geçirilmiştir. Bu değerlere ilişkin grafik şekil 13'te görülmektedir.



Şekil 13. Al sinyali üzerine çeşitli asitlerin etkisi.

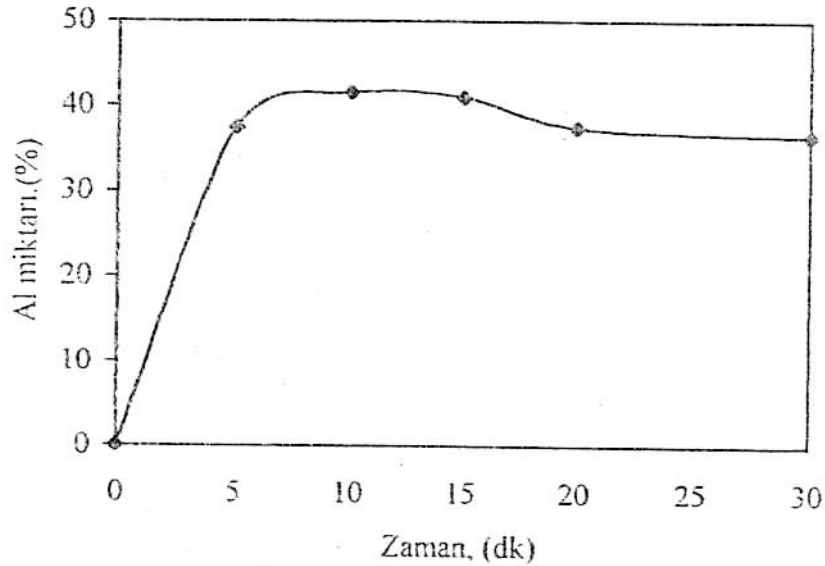
4.3. Zamanla Çay-Su Ekstraktına Geçen Al Miktarının Tayini

Zamanla deme geçen Al miktarının kontrolü ve ideal demlenme süresi için aşağıdaki analitik şemada gösterilen işlemler yapılmıştır.



Şekil 14. Farklı zamanlarda deme geçen Al miktarının izlenmesi için işlemler

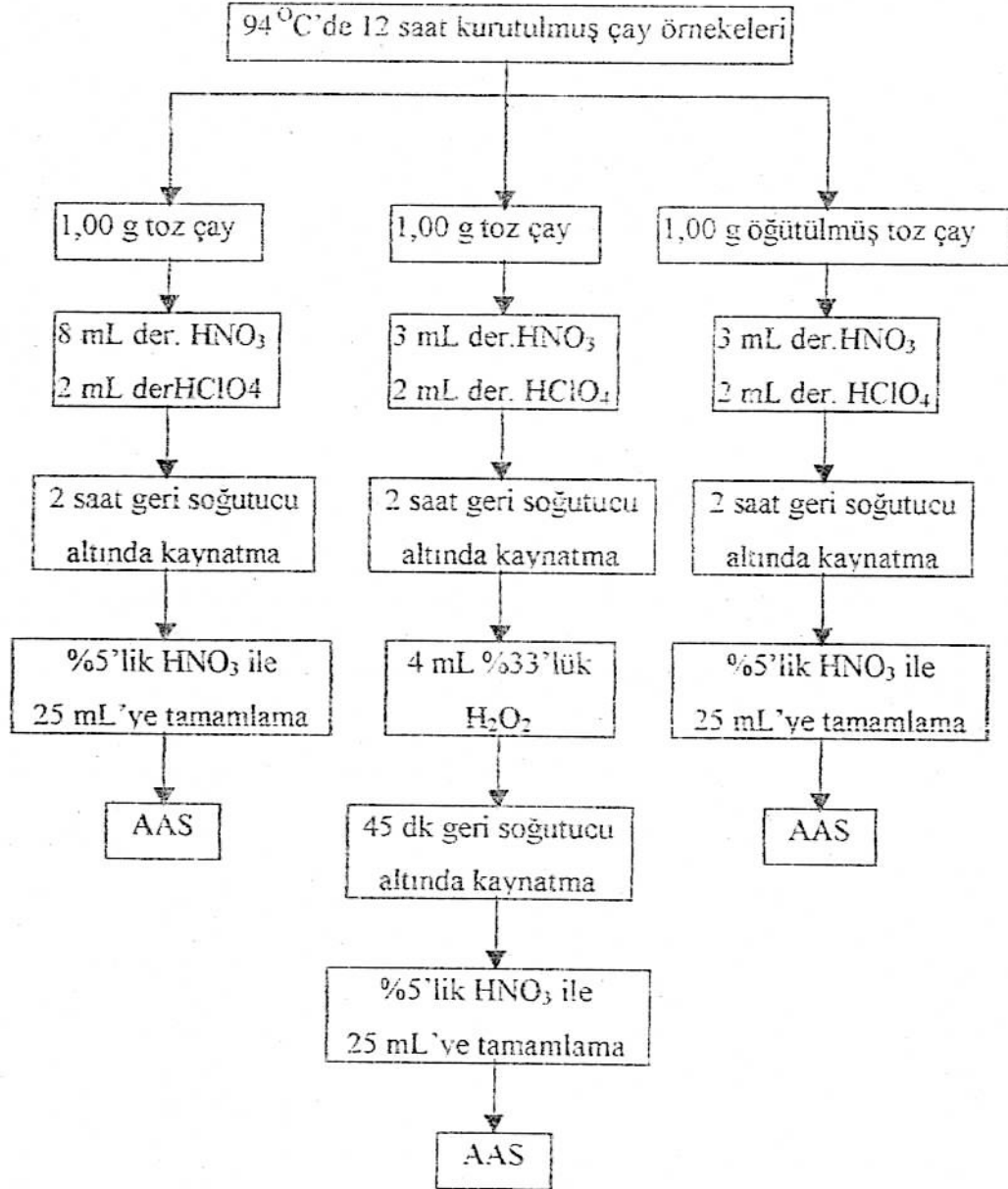
Bu işlemler sonucunda zamanla deme geçen Al miktarı aşağıdaki şekilde verilmiştir.



Şekil 15. Zamanla deme geçen % Al miktarı.

4.4. Toz Çayda Al Analizi İçin İşlem Basamakları

Doğrudan toz çayda ve öğütülmüş toz çayda organik yapı değişik şekillerde parçalandıktan sonra alevli AAS ile Al tayini yapılmıştır. Aynı çay örneği için uygulanan değişik örnek hazırlama basamaklarını gösteren analitik şema aşağıda şekil 16'da görülmektedir.



Şekil 16. Toz çayda Al tayini için örnek hazırlama basamakları.

Bu şekilde organik yapısı parçalandıktan sonra Al tayini yapılan örneklerdeki Al içerikleri örnek hazırlama şekillerine göre tablo 8'de verilmiştir. Aynı çay örneği her bir işlem için 3 kez hazırlanmış ve ölçüm alınmıştır.

Tablo 8 . Organik yapısı değişik şekillerde parçalanmış çay örneğindeki Al miktarları

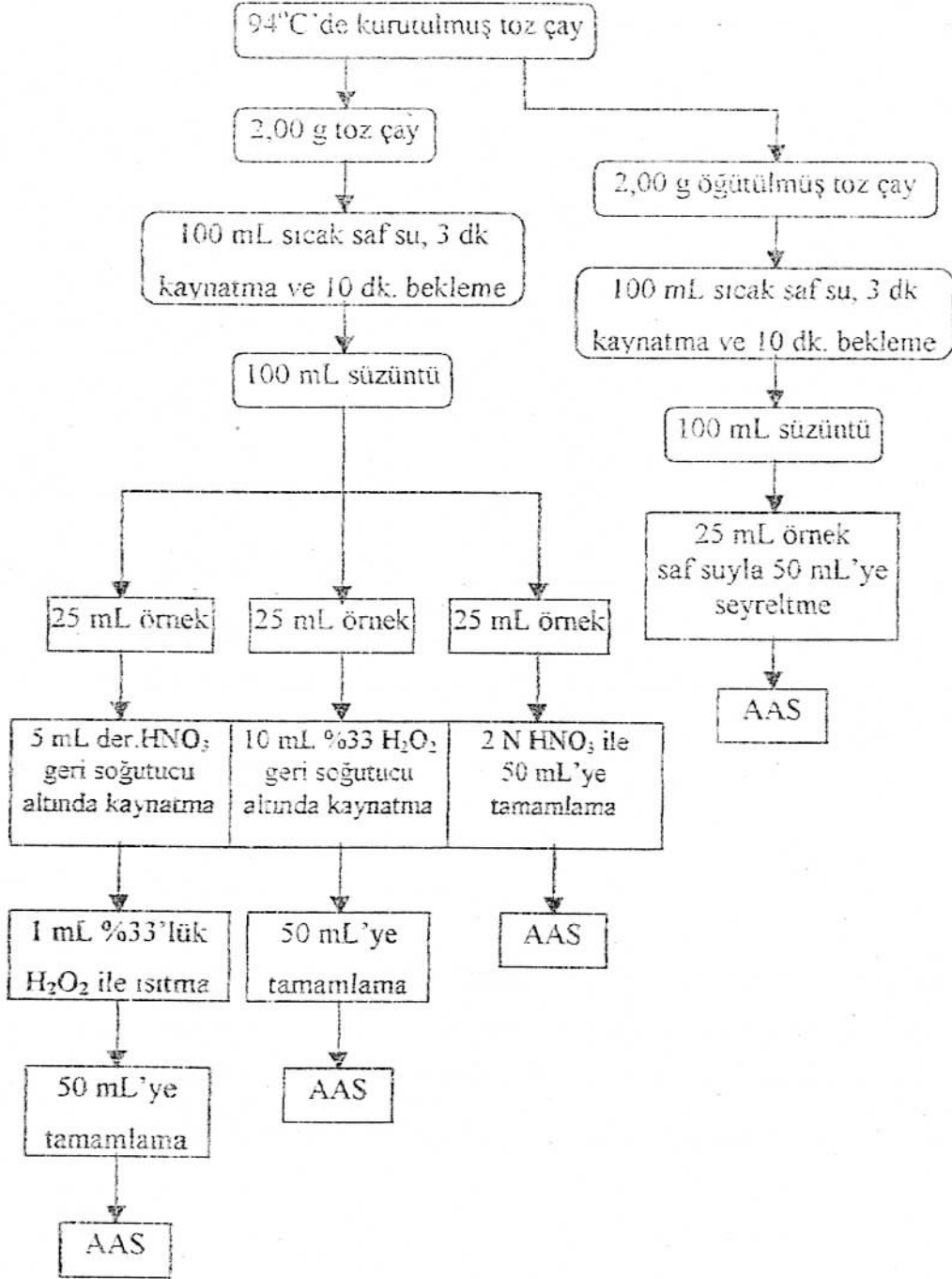
Örnek hazırlama şekli	Al miktarları, mg Al/kg örnek
Toz çay ($\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$)	1202,5±8,7
Öğütülmüş toz çay ($\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$)	1196,8±7,9
Toz çay ($\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$)	1206,8±10,5

n=3

Organik yapı parçalandıktan sonra bu işlemlere asitin fazlasını uzaklaştırmak için kuruluğa kadar buharlaştırma basamağı eklenip; Al tekrar %5'lik HNO_3 ile çözelti fazına alındığında, alevli AAS ile yapılan analizlerde Al'un %73,62'nin kaybolduğu gözlenmiştir. Bu nedenle kuruluğa kadar buharlaştırma işlemi uygulanmamıştır.

4.5. Çay-Su Ekstraktına Geçen Al'un Tayini

Toz çay ve öğütülmüş toz çaydan deme geçen Al'un tayini için, çay-su ekstraktına geçen organik yapının giderilmesi için de farklı örnek hazırlama basamakları uygulanmıştır. Aşağıda şekil 17'de aynı çay örneğine uygulanan değişik örnek hazırlama şekillerine ait işlem basamakları görülmektedir.



Şekil 17. Çay-su ekstraktlarında alevli AAS ile Al tayini için farklı örnek hazırlama basamakları

Yukarıda verilen işlemler sonucunda aynı çay örneğinin farklı şekillerde hazırlanmasıyla alevli AAS'de tayin edilen Al miktarları aşağıda tablo 9'da görülmektedir.

Tablo 9 . Farklı şekillerde hazırlanan çay-su ekstraktlarındaki Al miktarları (n=3)

Örnekler	mg Al/L çay-su	mg Al/kg toz çay
Doğrudan çay-su ekstraktı	7,60±0,66	380,0±12,1
Doğrudan öğütülmüş çay-su ekstraktı	9,24±0,64	462,0±14,7
HNO ₃ +H ₂ O ₂ ile çay-su ekstraktı	7,81±0,69	390,1±12,2
H ₂ O ₂ ile çay-su ekstraktı	7,88±0,63	394,0±12,4
2 N HNO ₃ ile çay-su ekstraktı	7,68±0,62	340,2±10,5

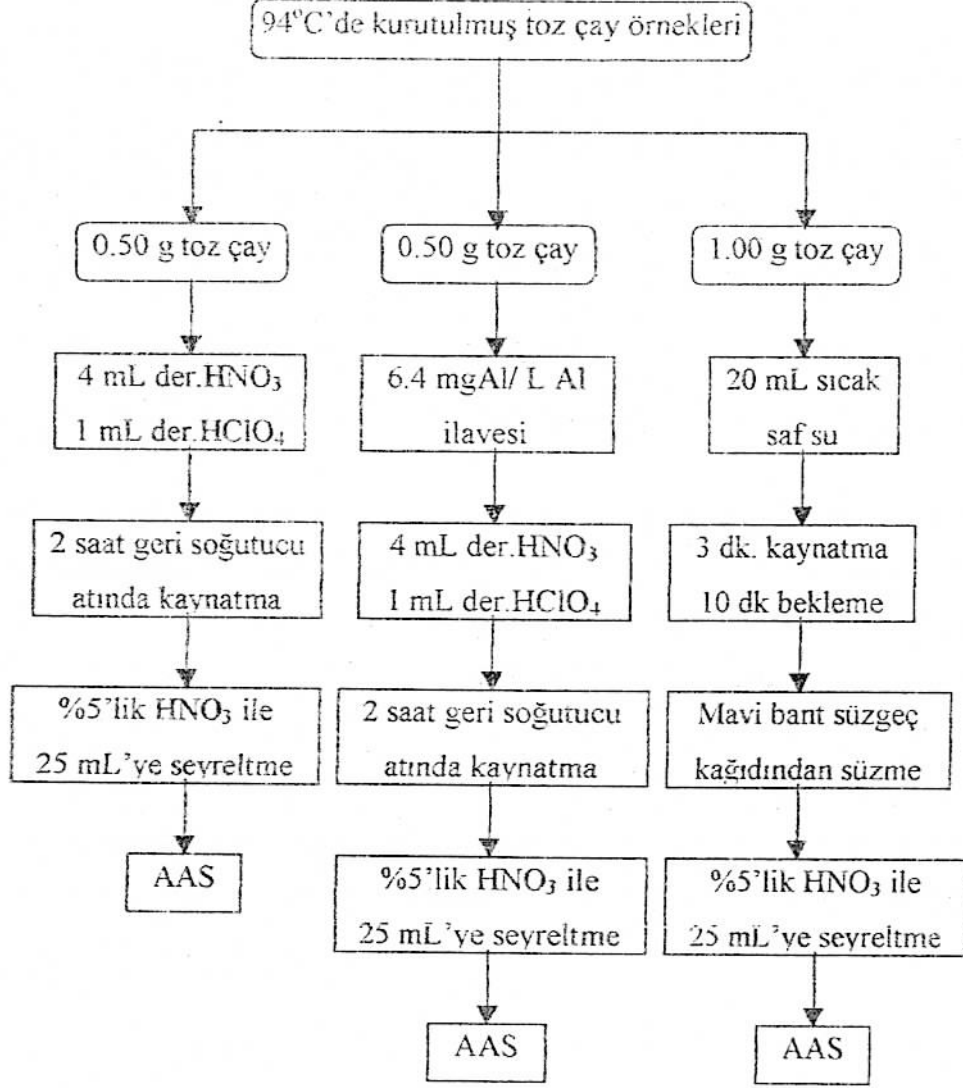
4.6. Çeşitli Çay Örneklerinde Toz Çay ve Deme Geçen Al Miktarlarının Tayini

Bu bölümde yukarıda bahsedilen toz çay ve çay-su ekstraktlarına geçen organik yapının parçalanmasına ilişkin optimizasyon çalışmalarından sonra, farklı çay örneklerinde toz çaya ve deme geçen Al miktarlarının tayini amaçlanmıştır. Ayrıca toz çaya uygulanan yaş yakma yönteminin % verimini kontrol etmek için toz çay örneklerine 6.4 mg Al/L Al ilave edilip, organik yapısı parçalandıktan sonra her bir örnekteki alüminyum alevli AAS ile tayini edilmiş ve % geri kazanma verimleri hesaplanmıştır. Bu işlemlerin sonuçları tablo 10'da mg Al/L üzerinden; tablo 11'de ise mg Al/kg çay cinsinden verilmiştir. Tablolardan da görüldüğü gibi % verimler oldukça başarılıdır.

Tablo 10 . Farklı toz çay örneklerinin organik yapısının parçalanmasına ait verimler (n=3)

Örnek	Al (mg/L)	Eklene Al (mg/L)	Bulunan (mg/L)	Verim (%)
Çay1	21,00	6,40	28,40±2,10	102,16
Çay2	16,70	6,40	25,40±1,80	109,96
Çay3	20,00	6,40	26,10±2,24	98,90
Çay4	26,60	6,40	32,00±2,50	96,97

Bu % verimler dikkate alınarak toz çaylar ve bu çaylara ait su ekstraktlarında alevli AAS ile alüminyum tayini yapılmıştır. Örneklere uygulanan işlemler aşağıda şekil 18’de verilmiştir.



Şekil 18. Toz çay ve çay-su ekstraktlarına geçen Al'un tayini için analiz şeması

Bu işlemler sonucunda farklı toz çaylar ve bu çaylara ait su ekstraktlarında bulunan alüminyum derişimleri aşağıda tablo 11 ve tablo 12’de verilmiştir.

Tablo 11 . Farklı toz çay örneklerinde Al düzeyleri (n=3)

Örnek	mg Al/kg çay	Verim, (%)
Çay1	1050,0±13,2	115,0
Çay2	835,0±11,2	135,0
Çay3	1000,0±11,8	96,2
Çay4	1330,2±17,9	85,1
Ortalama	1054,0±13,6	107,7

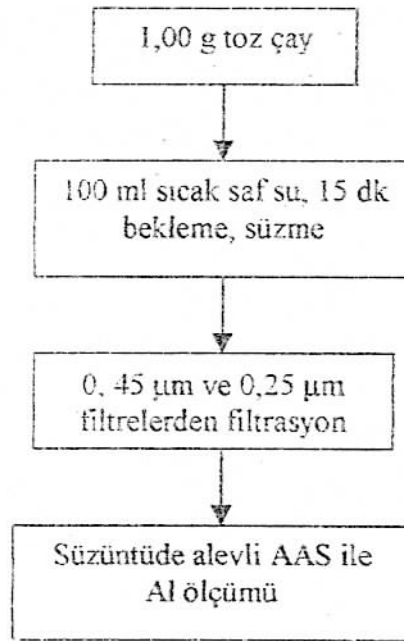
Tablo 12 . Farklı çay-su ekstraktlarında Al düzeyleri (n=3)

Örnek	Çay-Su ekstraktlarında Al (mg Al/kg çay)	Toplam Al (mg Al/ kg çay)	Deme geçen Al (%)
Çay1	342,5±10,8	1050,0±13,2	32,62
Çay2	315,0±10,9	835,0±11,2	37,72
Çay3	317,5±11,3	1000,0±11,8	31,75
Çay4	402,0±18,4	1330,2±17,9	30,23
Ortalama	345,0±12,9	1054,0±13,6	32,73

4.7. Çay-Su Ekstraktlarında Alüminyum Spesiasyonu Çalışmaları

4.7.1. Membran Filtrelerle Çay-su Ekstraktlarında Çözülmüş ve Partiküle Alüminyumun Ayrılması ve Alevli AAS ile Tayini

Çay-su ekstraktlarına geçen alüminyum, çözülmüş veya partiküle formda bulunabilir. Bu türlerin ayrılması için çalışmada 0,45 µm ve 0,25 µm gözenek çaplı membran filtreler saf suyla yıkayıp, kurutulduktan sonra kullanılmıştır. İşlem basamakları aşağıda şekil 19'da verilmiştir.



Şekil 19. Çay su ekstraktlarının membran filtrelerden geçirilme işlemleri

İşlemler sonucunda çay-su ekstraktlarında başlangıçta ve filtrasyon işlemlerinden sonra tayin edilen alüminyum derişimleri aşağıda tablo 13'de verilmiştir.

Tablo 13 . Filtrasyon işlemlerinden sonra çayda Al derişimleri (n=3)

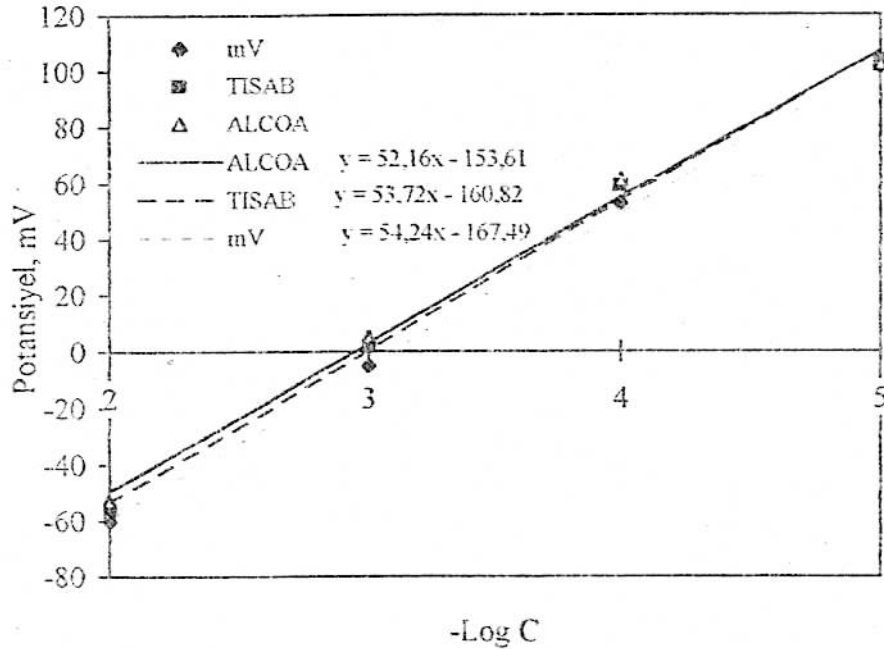
Örnek	Çay-su ekst.doğrudan (mg/L)	0,45 µm (mg/L)	0,25 µm (mg/L)
Çay1	12,00±0,79	11,78±0,62	11,30±0,78
Çay2	13,42±0,64	12,90±0,54	12,24±0,85
Çay3	11,01±0,81	10,80±0,69	10,50±0,67
Çay4	12,50±0,72	12,30±0,71	11,61±0,62

4.7.2. Çay-Su Ekstraktlarında İyon Seçici Elektrotla Alüminyum Florür Türlerinin Tayini ve Alüminyum Spesiasyonu

Çay-su ekstraktlarına geçen önemli bileşenlerden birisi olan florür, Al ile oldukça yüksek kompleks oluşum sabitine sahiptir. Bu bölümde florür iyon seçici elektrotu kullanılarak çay-su ekstraktına geçen toplam florür ve Al ile kompleks oluşturan florürün hesaplanmasıyla, florür bağlı Al spesiasyonunun yapılması amaçlanmıştır.

Florür iyon seçici elektrotuyla çalışırken, ortamın iyon şiddetini ayarlamak üzere Corning Tisab tamponu kullanılırken, florürü bütün komplekslerinden kurtarmak ve toplam florür derişimini tayin etmek için ALCOA tamponu kullanılmıştır. Doymuş kalomel elektrot ise referans elektrot olarak kullanılmıştır. Çay-su ekstraktlarına geçen serbest florür ve toplam florür derişimleri ölçülmeden önce, aşağıda belirtilen deneysel işlemler ve model çalışmaları yapılmıştır:

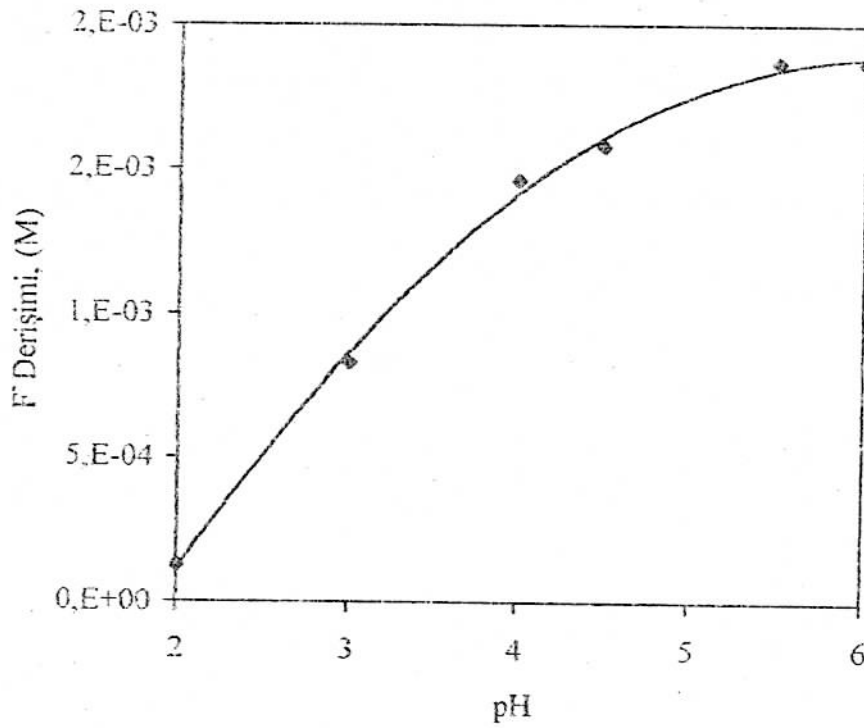
Çalışma Grafiğinin Hazırlanması: 1×10^{-1} mol/L stok florür çözeltisinden 1×10^{-5} - 1×10^{-2} mol/L arasında olacak şekilde standart çözeltiler hazırlanarak bu standart çözeltilerin doğrudan, 2 mL TISAB tamponu ve 2 mL ALCOA tamponu ilave edildikten sonra potansiyel ölçümleri yapılmış ve Nernst eşitliğine göre, molar derişimlerin $-\log$ 'na karşı mV ölçümleri grafiğe geçirilmiştir (şekil 20).



Şekil 20. Potansiyometrik florür kalibrasyon grafiği.

Şekil 20'de olduğu gibi standart florür çözeltileri için hazırlanan bu çalışma grafiği her çalışma öncesinde yeniden hazırlanmış ve lineer çalışma aralıkları belirlenerek, hesaplamalar bu grafik doğrultusunda yapılmıştır.

Ölçümlere pH'nin etkisi: Florür iyonu derişiminin potansiyometrik ölçümünde ortam pH'ı oldukça önemli bir parametredir. Ortam pH'nın 5,5'in altına düşmesiyle serbest florür derişiminde azalmalar olmaktadır. İşte çalışmalarda ortam pH'nın etkisini göstermek amacıyla: başlangıçta florür derişimi, $1,87 \times 10^{-3}$ mol/L olacak şekilde hazırlanıp, pH 6'dan başlayarak daha düşük pH'lara düşülmesi halinde florür derişiminin nasıl değiştiği araştırılmıştır. Bu değişime ait grafik aşağıda şekil 21'de görülmektedir.



Şekil 21. pH'nin azalmasıyla serbest florür derişimindeki değişimler (başlangıç florür derişimi $1,87 \times 10^{-3}$ mol/Ldir.)

Girişim çalışmaları: Çay-su ekstraktlarına Al iyonları dışında Fe, Mn, ve Mg iyonları da geçmektedir. Bunlardan özellikle Mn ve Mg derişiminin yüksek olduğu belirtilmektedir (Özdemir 1992). Florür iyonunu Al dışında bu iyonlarla da kompleks

oluşturmaktadır. Bunlara ait kompleks oluşum sabitleri tablo 14'de görülmektedir. Dolayısıyla toplam florürün tayininde, ALCOA tamponu ilave edildiğinde sadece Al-F kompleksinden gelen florür değil, diğer florür komplekslerinin bozulması sonucunda oluşan florür de ortarda bulunacaktır. Bu nedenle çay-su matrisi ve bu matrisin pH'ı (çay-su ekstraktlarının pH sı 4-5 arasında değişmektedir) dikkate alınarak model girişim çalışmaları yapılmıştır.

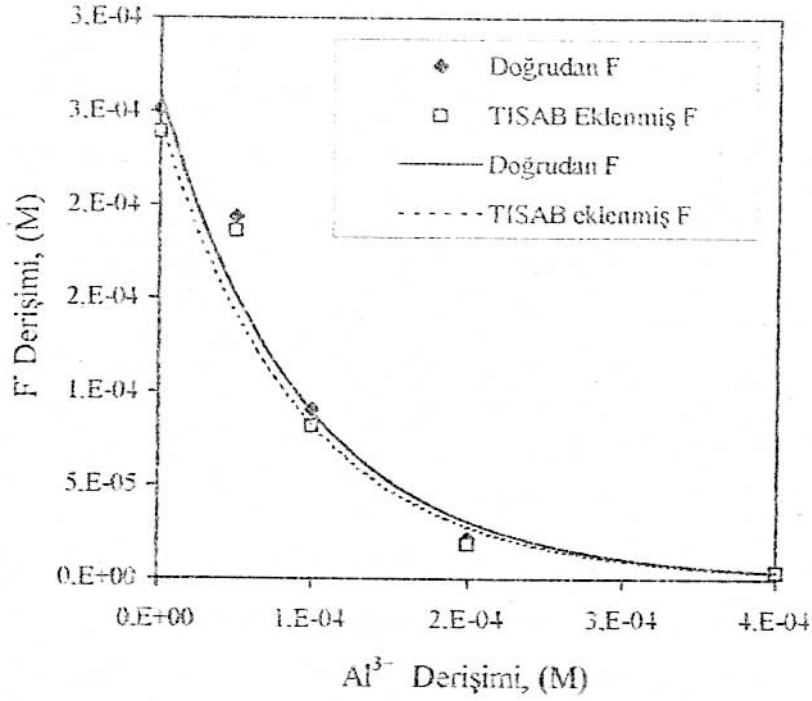
Tablo 14 . Florürün bazı katyonlarla kompleks oluşum sabitleri

Florür	log K1	log K2
Al(III)	6,10	11,15
Fe(III)	5,28	9,30
Mg(II)	1,30	-
Mn(II)	5,48	-

(Kaynak: Handbook of Chemistry, Dean)

Model girişim çalışmalarında uygulanan işlem basamakları sırasıyla aşağıda verilmiştir.

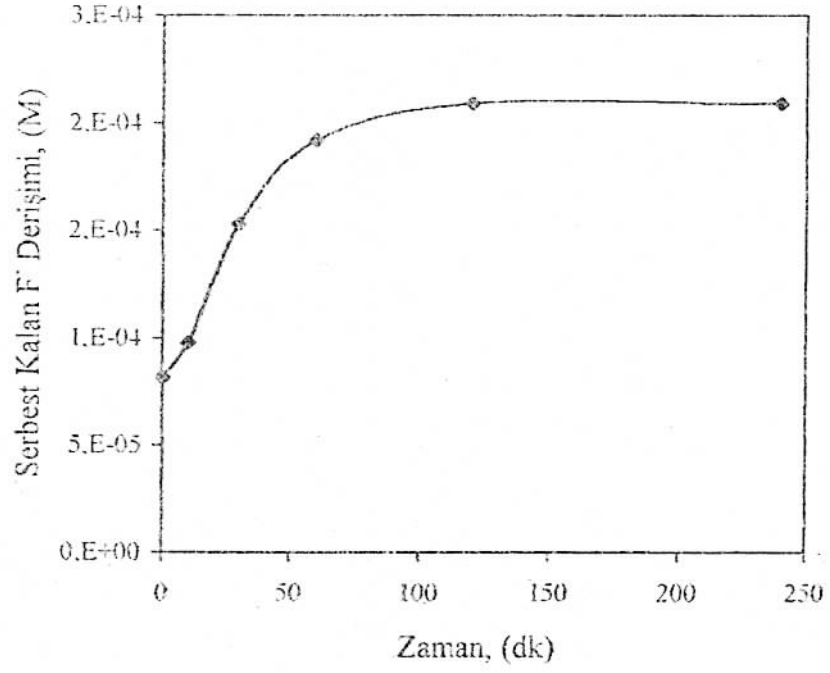
a) Öncelikle artan Al derişimiyle serbest florür derişiminde nasıl bir değişikliğin olacağı belirlenmeye çalışılmıştır. Bunu için çay matrisindeki alüminyum ve florür derişimlerine benzer derişimler seçilmiştir. Başlangıç florür derişimi 2.63×10^{-4} mol/L alınarak, artan derişimlerde (5×10^{-5} - 4×10^{-4} mol/L arasında) Al ilave edilmiştir. Bu şekilde hazırlanan model çözeltilerin ortam pH'ı yaklaşık 5 olacak şekilde ayarlandıktan sonra, potansiyometrik ölçümleri alınarak, serbest florür derişiminin nasıl değiştiği grafiksel olarak gösterilmiştir (şekil 22).



Şekil 22. Artan Al³⁺ derişimiyle serbest florür derişiminin değişimi.
(başlangıç florür derişimi 2.51x10⁻⁴ mol/Lve pH=5)

b) Al-F kompleksi ALCOA tamponunun ilave edilmesiyle bozulmaktadır ve tekrar serbest florür açığa çıkmaktadır. ALCOA ilavesiyle serbest florürün tekrar oluşumunda zaman önemli bir parametredir. Bu nedenle oluşan Al-F kompleksine 2 mL ALCOA tamponu ilave edilerek, belli zaman aralıklarında açığa çıkan florür derişimi ölçülmüş ve başlangıçtaki serbest florür derişimine dönülen zaman dikkate alınarak, örnek çözeltilerine uygulanmıştır.

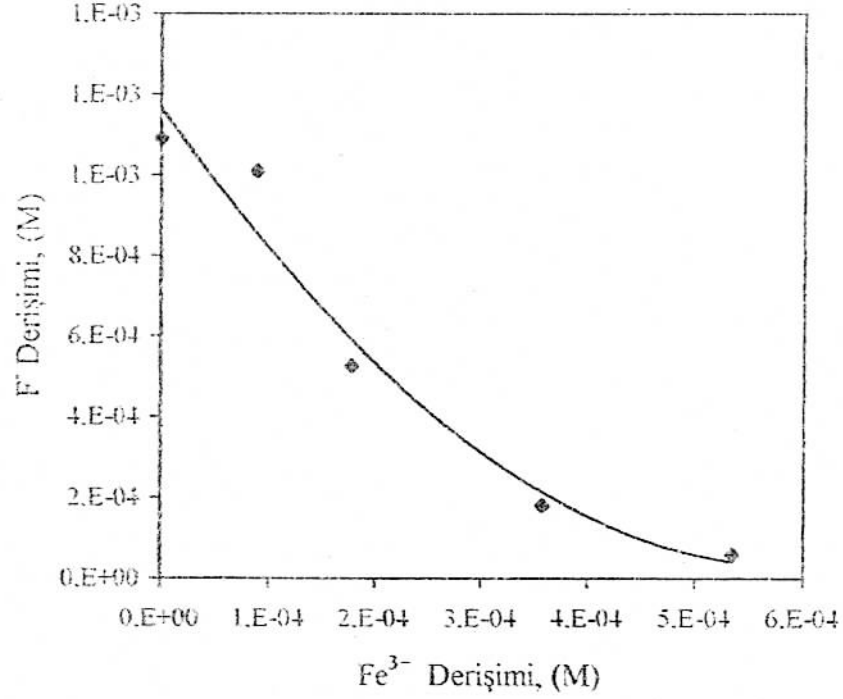
2.1x10⁻⁴ mol/L florür üzerine 1x10⁻⁴ mol/L Al³⁺ ilave edilmiş ve ortam pH'ı 5'e ayarlanarak ALCO tamponunun ilavesiyle ölçülen serbest florür derişimleri grafiğe geirilmifitir (şekil 23).



Şekil 23. Al-F kompleksine 2 mL ALCOA eklenmesiyle açığa çıkan serbest florür derişiminin zamanla değişimi.

c) Çay-su ekstraktına geçen demir iyonları da florür ile kompleks oluşturmaktadır. Fakat çay-su ekstraktlarında demir spesiasyonuna ilişkin bir çalışma yapılmadığı için toplam demir içerisinde yer alan, hem Fe^{3-} hem de Fe^{2-} iyonları florür ile kompleks oluşturabilirler.

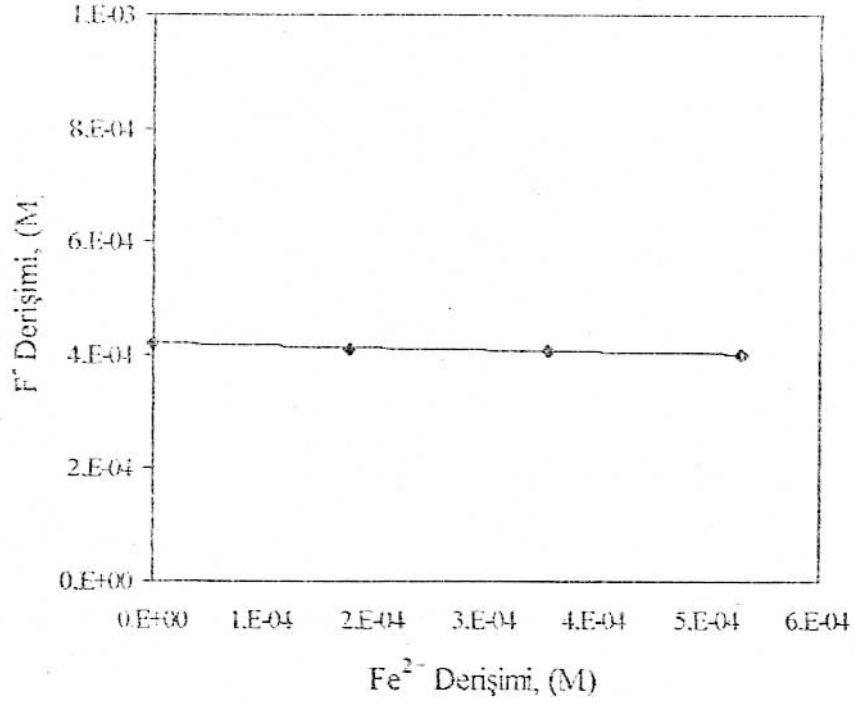
Bu amaçla 1.052×10^{-3} mol/L florür üzerine artan derişimlerde (8.92×10^{-5} - 5.35×10^{-4} mol/L) Fe^{3-} iyonları ilave edilerek florür derişiminin nasıl değiştiğine bakılmıştır. Bu işleme ait grafik aşağıda şekil 24'te görülmektedir.



Şekil 24. Artan Fe³⁺ değışikliğiyle serbest florür derişimindeki değışim.
(başlangıç florür derişimi 1.052×10⁻³ mol/L)

d) Florür iyonları Fe²⁺ ile de kompleks oluşturabilirler. Bunun kontrolü için 4.21×10⁻⁴ mol/L florür üzerine artan derişimlerde (1.78×10⁻⁴- 5.3×10⁻⁴ mol/L) arasında Fe²⁺ ilave edilmiş ve örnek pH'ı 5'ayarılanarak florür derişimindeki değışiklik ölçülmüştür. Bu işlemlere ait grafik aşağıda şekil 25'de görülmektedir.

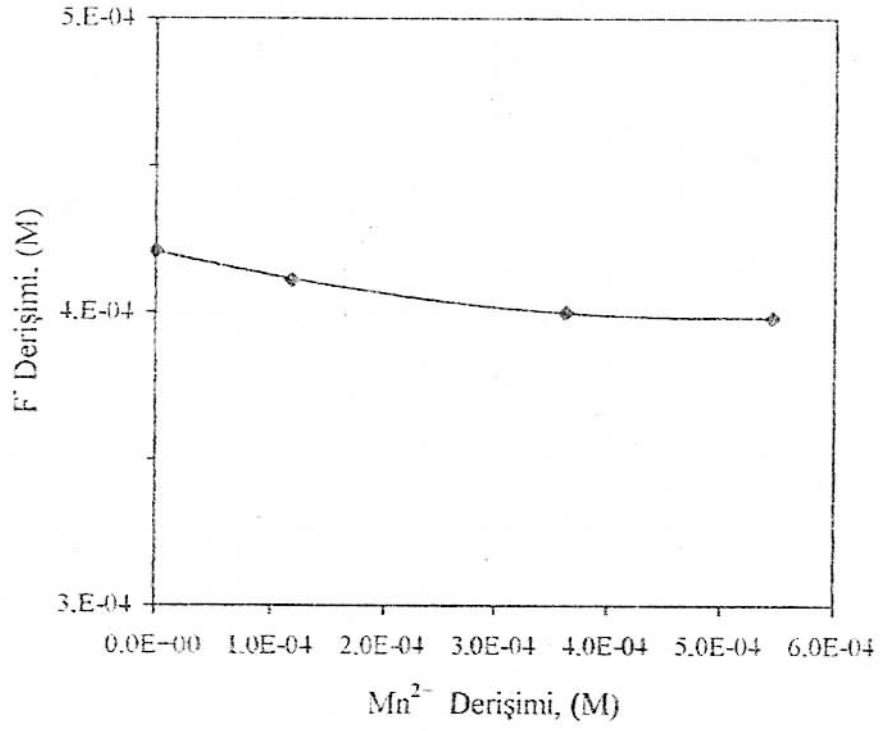
Grafikten de görüldüğü gibi örneği temsil eden bu model çalışmalarda Fe²⁺ derişiminin artışıyla florür derişimindeki azalmalar çok azdır.



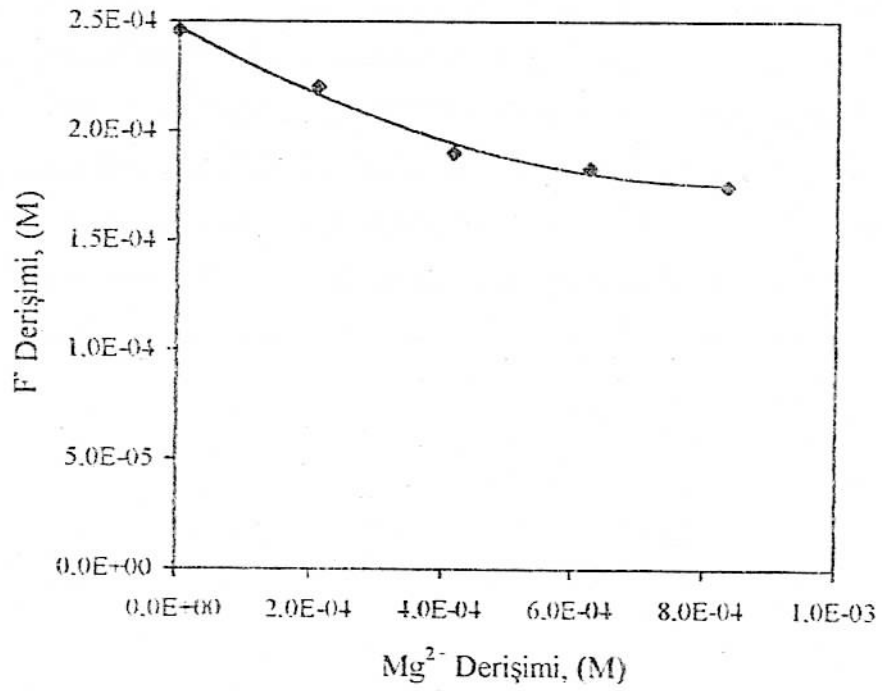
Şekil 25. Artan Fe²⁺ derişimiyle F derişimindeki değişim.
(başlangıç F derişimi 4.21*10⁻⁴ mol/L, pH=5)

e) Fe³⁺-F kompleksinin oluşumu yine ortam pH'sıyla yakından ilgilidir. 2.1x10⁻³ mol/L florür üzerine 8.95x10⁻⁵ mol/L Fe³⁺ ilave edilerek ve ortamın pH'ı 5.5'ten itibaren azalılarak serbest florür derişimindeki değişiklikler ölçülmüş ve aşağıdaki grafik (şekil 26) elde edilmiştir.

Şekil 26'da, pH'nın düşmesiyle serbest florür derişimindeki azama florürün Fe³⁺ ile kompleks oluşturduğunu göstermektedir. Grafikten de görüldüğü gibi pH=2'de başlangıçtaki florür derişiminin neredeyse yarısına ulaşılmıştır.



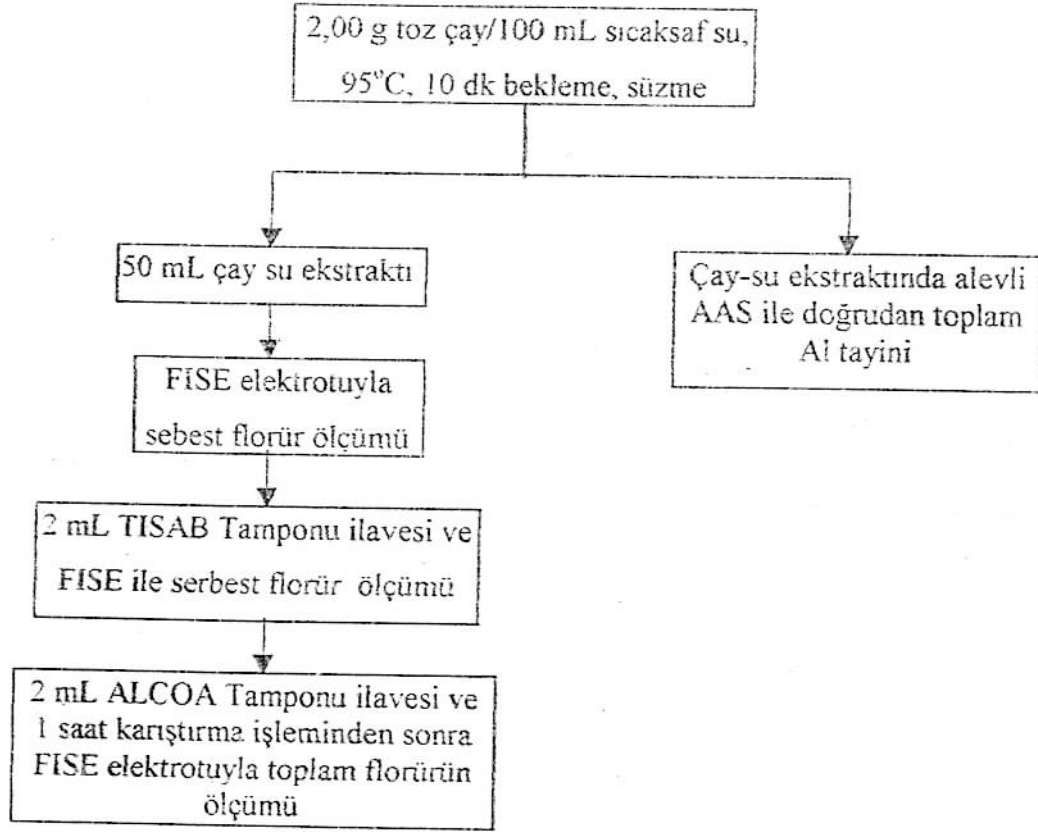
Şekil 27. Artan Mn²⁺ derişimiyle florür derişimindeki değişiklikler (başlangıç florür derişimi=4.21×10⁻⁴ mol/L ve pH=5)



Şekil 28. Artan Mg²⁺ derişimiyle florür derişimindeki değişim. (başlangıç florür derişimi 2.46×10⁻⁴ mol/L ve pH=5)

Florür seçici elektrotla çay-su ekstraktlarında florür bağlı Al'un tayini işlemleri

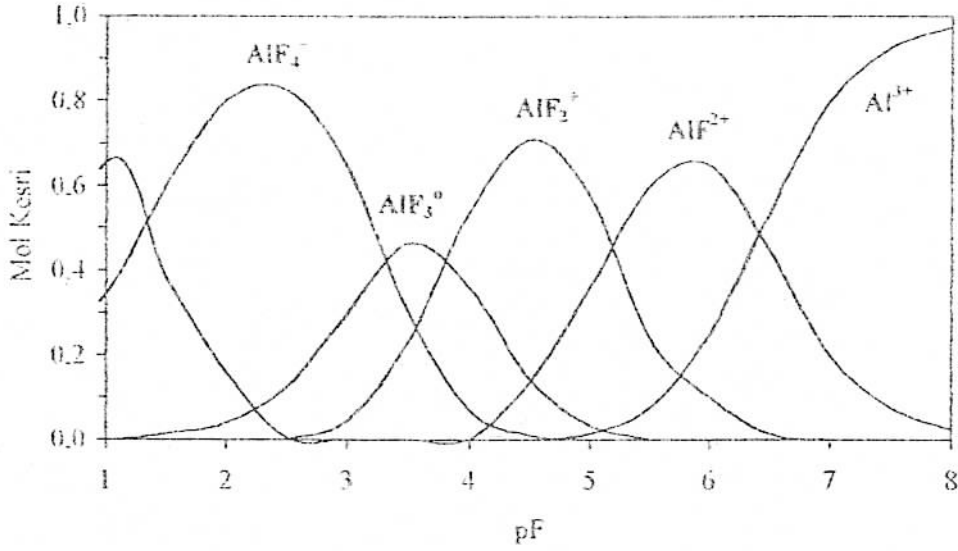
Çay-su ekstraktlarına uygulanan işlem basamakları aşağıda şekil 29'da verilmiştir. Serbest florür derişiminin pF değerine karşı ortamda bulunması muhtemel Al-F kompleksleri ve bunların mol fraksiyonları ise şekil 30'da görülmektedir.



Şekil 29. Çay-su ekstraktlarında florür bağlı Al tayini için uygulanan işlemler.

Çay-su ekstraktlarına yukarıda uygulanan işlemler sonucunda başlangıçta ortamda ölçülen serbest florür ve ALCOA tamponu ilavesinden sonra ölçülen toplam florür derişimlerinden bağlı florür derişimi rahatlıkla hesaplanabilir.

Serbest florür derişimi kullanılarak şekil 30'da görülen pF-Mol kesri diyagramından; Al-F türleri ve bunların mol kesirlerinden yola çıkılarak çay-su ekstraktlarında florür bağlı alüminyum derişimleri hesaplanmıştır.



Şekil 30. Al-F Kompleks türlerinin pF'nin fonksiyonu olarak dağılımı. Burada pF= -log[F] serbest florürün derişimidir. Bu diyagram yalnızca asidik pH değerleri için uygulanır [Kaynak:Martin R.B, Clin.Chem.,32,1797 (1986)]

Bu diyagramın kullanılmasıyla, florüre bağı Al derişiminin hesaplanmasında uygulanan işlem basamakları aşağıda bir örnekle gösterilmiştir. .

Çay2 örneği için deneysel işlemlerle serbest florür ve toplam florür derişimleri arasındaki farktan bağı florür derişimi bulunur. Sebest florürün derişimi $3,36 \times 10^{-5}$ M olarak belirlenmiştir ve sebest florür derişiminin pF=4,47 dir. Yukarıdaki diyagramdan 4,47 değeri için alüminyum florür türlerinin mol fraksiyonlarına bakıldığında:

$$Al^{3+}=0$$

$$AlF^{2+}=0,13$$

$$AlF_2^+=0,70$$

$$AlF_3=0,13$$

$AlF_4^-=0,01$ bulunmuştur. Bu veriler kullanılarak; florüre bağı alüminyum fraksiyonu

$$\text{Bağı florür} = [AlF_3] \times 3 + [AlF_2^+] \times 2 + [AlF^{2+}] \times 1$$

formülünden her bir örnek için ayrı ayrı hesaplanmıştır. Örnekler için sonuçlar tablo 15'te verilmiştir.

Tablo 15 . Çay-su ekstraktlarında florüre bağı aluminyum derişimleri (n=3)

Çay örneği	Çay-su ekst.toplam Al mg Al/L ekst.	Florür bağı Al mg Al/L ekst.
Çay1	12,0±0,89	1,19±0,17
Çay2	13,0±0,94	1,07±0,14
Çay3	12,0±0,81	1,01±0,11
Çay4	11,0±0,78	1,24±0,18

4.7.3. ay-Su Ekstraktlarında Polifenollere Bağlı Alüminyumun Protein öktürmesi İle Karakterizasyonu

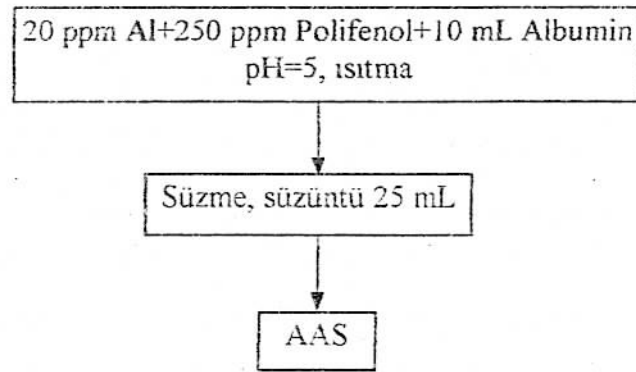
Bu bölümde çay-su ekstraktlarında hidrolize olabilen polifenollere bağlı alüminyumun, bir proteinle (Bovine Serum Albumin) öktürülerek karakterizasyonu amaçlanmıştır. ay-su ekstraktlarında bulunan polifenollerin analizi için uygulanan başlıca yöntemler aşağıda kısaca verilmiştir.

- Bakır asetat, Al, Zn, Pb ve Cu tuzları gibi inorganik reaktiflerle öktürme,
- Alkali ortamda Folin Denis yöntemi ile spektrofotometrik olarak tayin etme,
- Formaldehit, jelatin gibi organik reaktiflerle öktürme,
- Volumetrik olarak ferrisiyanür ve permanganat oksidasyonu ile,
- Protein öktürmesiyle,

Proteinle öktürme işleminde, hidrolize olabilen polifenoller tayin edilirken, hidrolize olamayan kateşik tanninler çökmeden ortamda kalmaktadır (Harinder 1989). İşte bu çalışmada, hidrolize olabilen ve proteinle çöken polifenollere bağlı alüminyumun, alevli AAS ile tayini düşünülerek; polifenollere bağlı alüminyum türlerinin karakterizasyonu amaçlanmıştır. Çalışmada öncelikle optimizasyon çalışmaları yapılmış ve model çözeltilerle aşağıdaki işlemler yapılmıştır.

- Polifenolleri temsil etmek üzere uygun standartın belirlenmesi: Bu amaçla tannik asit, pyrogallol ve gallik asit kullanılmıştır,
- Polifenollere bağlı Al'un albuminle öktürülmesinde uygun pH'nın seçimi,
- Yeterli öktürme için albumin miktarının belirlenmesi,
- Alevli AAS ile Al tayini için Al'un sulu standartları ve Al'un Albumin içinde hazırlanmış standartlarına göre kalibrasyon grafiklerinin karşılaştırılması,
- ay-su ekstraktlarının başlangıç pH'larının ölçümü,
- ay-su ekstraktlarında Folin-Denis yöntemiyle toplam polifenollerin bulunması.
- ay-su ekstraktlarında Albumin öktürmesiyle polifenollere bağlı Al'un karakterizasyonu,

Uygun polifenol standartının seçimi: Albumin çöktürmesi deneylerinin optimizasyonu ve polifenollerin toplam tayini için, polifenoller temsil etmek üzere uygun bir standart seçilmesi gerekir. Bu amaçla Pyrogallol, Gallik asit ve Tannik asit kullanılmıştır. Al bağlı herbir polifenolün albumin çöktürmesi sonucunda süzüntüde kalan Al değerleri alevli AAS ile tayin edilerek, çökmenin en fazla olduğu polifenol seçilmiştir. Elde edilen sonuçlar Albumin çöktürmesi ile Al bağlı polifenollerin de kendi aralarında karakterize edilebileceğini göstermektedir. Yapılan işlemlere ait analitik şema şekil 31’de; süzüntüde alevli AAS ile yapılan Al tayini sonuçları ise tablo 16’da verilmiştir.



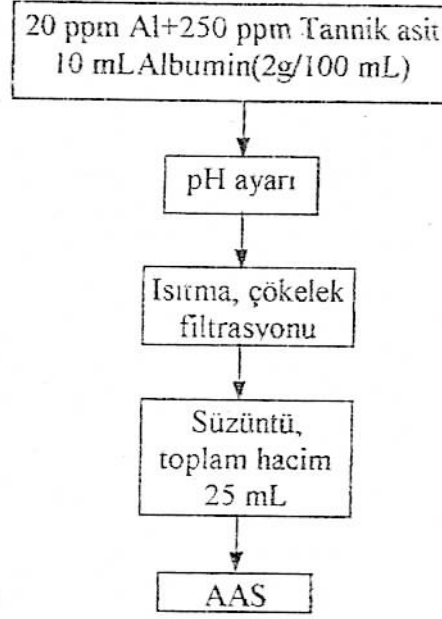
Şekil 31. Alüminyum bağlı çeşitli polifenollerin alevli AAS ile tayininde Albumin çöktürmesine ilişkin analiz şeması.

Tablo 16 . Polifenollere bağlı Al’un (20 mg/L) Albumin çöktürmesinden sonra süzüntüde kalan Al derişimleri (n=3)

Al bağlı Polifenol Türü	Süzüntüde Kalan Al (mg/L)	Süzüntüde Kalan Al (%)
Pyrogallol	22,10 ± 1,85	110,50 ± 9,26
Gallik Asit	19,47 ± 0,55	97,35 ± 2,75
Tannik Asit	1,10 ± 0,26	5,50 ± 1,30

Tablo 16'da görüldüğü gibi albuminle en iyi çöken polifenol Tannik asittir. Dolayısıyla Tannik asit-Al kompleksi hem optimizasyon çalışmalarında hem de toplam polifenol analizinde, polifenolleri karakterize etmesi açısından en uygun standarttır.

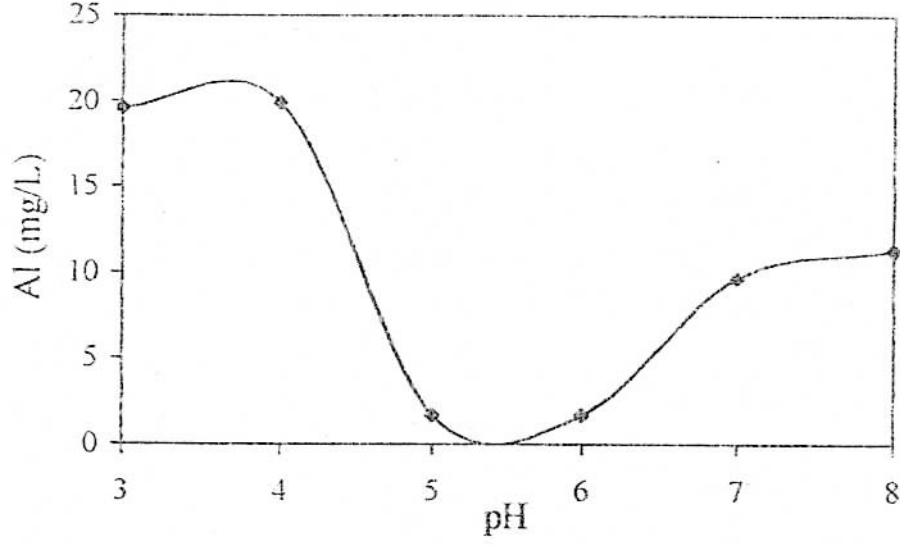
Polifenollere Bağlı Al'un Albuminle Çöktürülmesinde Uygun pH'nun Seçimi



Şekil 32. Çöktürmede uygun pH'nın seçimi için analiz şeması.

Tablo 17 . Değişen pH'lara karşı süzüntüde ölçülen Al derişimleri

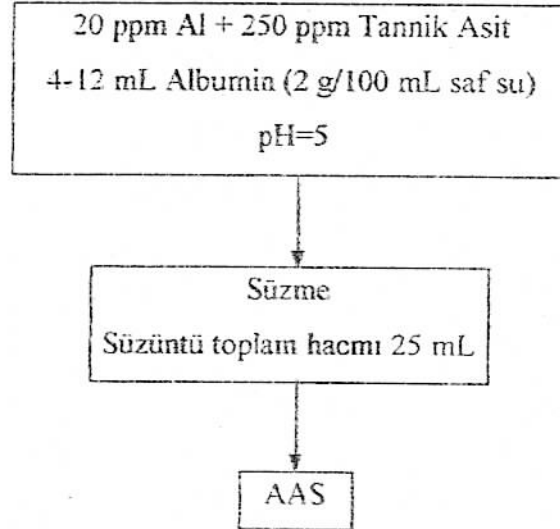
pH	Al (mg/L)
3	19,60
4	19,90
5	0,70
6	1,00
7	9,70
8	11,30



Şekil 33. Süzüntüde Al derişiminin pH ile değişim grafiği.

Grafikten de (şekil 33) görüldüğü gibi çöktürme için en uygun pH 5-6 arasında olmaktadır. Çalışmada kullanılan çay-su ekstraktlarının orijinal pH'ları 4-5 arasında değiştiği için örnekte ayrıca bir pH ayarına gerek kalmamıştır.

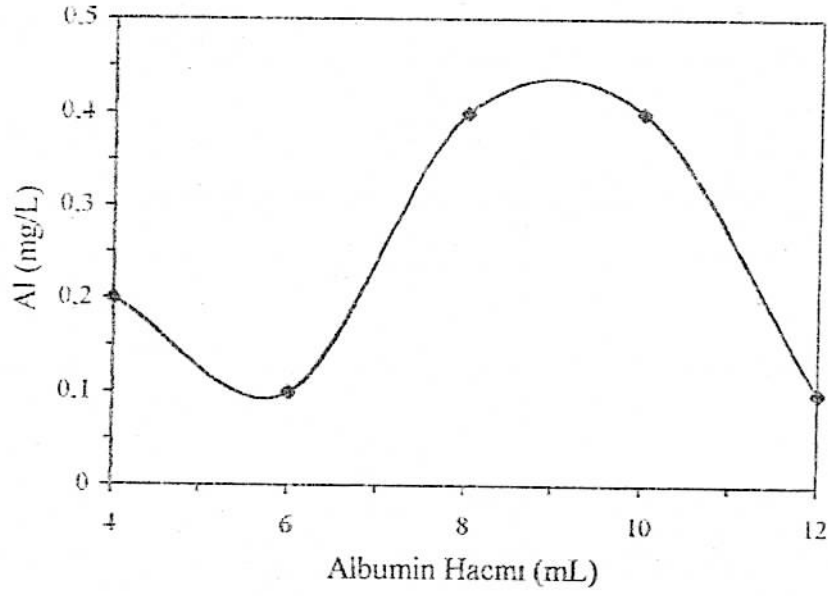
Çöktürme İçin Gerekli Albumin Miktarının Belirlenmesi



Şekil 34. Değişik Albumin miktarlarıyla çöken polifenollere ilişkin analiz şeması.

Tablo 18 . Albumin miktarına karşı süzöntüde Al derişimleri.

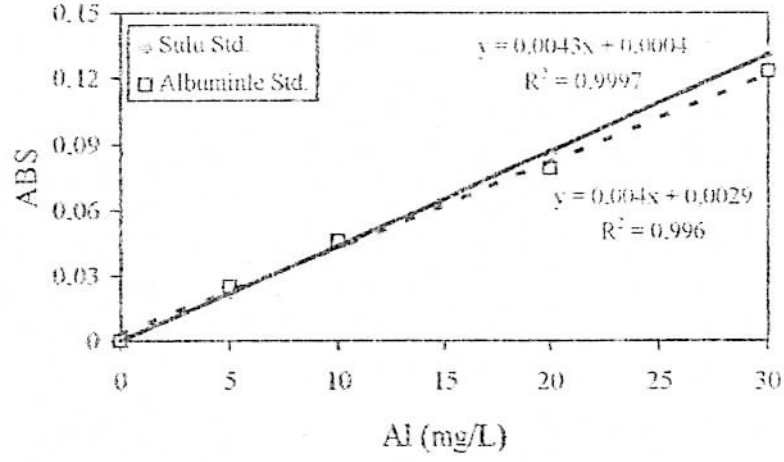
Albumin Hacmi (mL)	Süzöntüde Al (mg/L)
4	0,2
6	0,1
8	0,4
10	0,4
12	0,1



Şekil 35. Albumin hacmine bağı olarak süzöntüdeki Al derişiminin değışimi.

Grafikten (şekil 35)' de görüldüğü gibi 6 mL albumin hacmi, çöktürme için yeterli olmaktadır.

Aleyli AAS ile Al Tayini İçin Kalibrasyon Grafiklerinin Hazırlanması



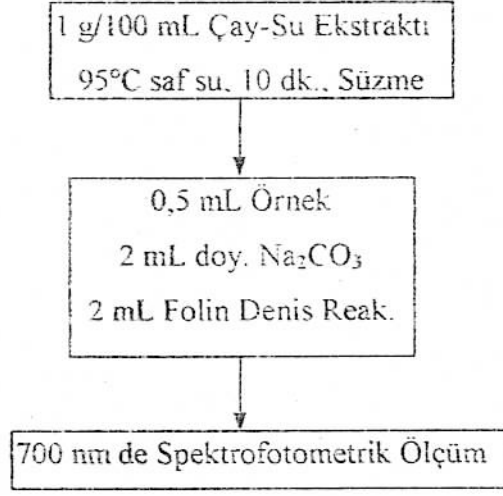
Şekil 36. Sulu ortamda ve albumin içerisinde hazırlanan Al standartlarının kalibrasyon grafiği.

Çalışılan çay-su ekstraktlarının başlangıç pH'ları

Tablo 19 . Çay-su ekstraktlarının ölçülen pH'ları

Çay-Su Ekstraktı	pH
Çay1	4,53
Çay2	4,52
Çay3	4,70
Çay4	4,80
Sulu Albumin çözeltisi	6,35

Folin Denis yöntemiyle örneklerde Toplam polifenollerin bulunması

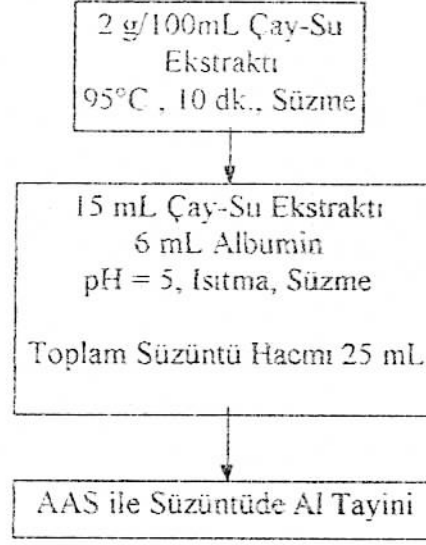


Şekil 37. Folin Denis yöntemiyle polifenollerin toplam analizine ait analiz şeması.

Tablo 20 . Çay örneklerindeki polifenollerin tannik asit cinsinden derişimleri.

Çay Örneği	Tannik Asit (mg/L)	Tannik Asit (mM)
Çay1	317,62 ± 1,20	0,19
Çay2	372,88 ± 1,52	0,22
Çay3	355,93 ± 2,51	0,20
Çay4	300,55 ± 1,24	0,18

Albumin Çöktürmesiyle Örneklerde Polifenollere Bağlı Al'un Karakterizasyonu



Şekil 38. Çay-Su ekstraktlarının Albuminle çöktürülmesine ait analiz şeması.

Tablo 21 . Çay-su ekstraktlarında polifenollere bağlı Al'un albumin çöktürmesiyle karakterizasyonu sonuçları (n=5)

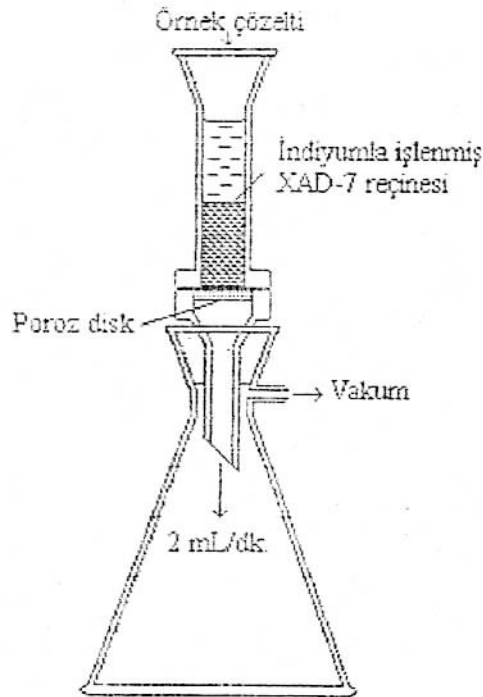
Çay Örneği	Toplam Al (mg/L)	Süzüntüde Al (mg/L)	Çökelekte Al (mg/L)	Çökelekte Al (mM x 10 ⁻¹)
Çay1	11,80	8,44 ± 1,02	3,37 ± 0,98	1,24x10 ⁻¹ ± 0,040
Çay2	7,90	4,46 ± 0,58	3,40 ± 0,47	1,25x10 ⁻¹ ± 0,020
Çay3	9,80	7,28 ± 0,26	2,52 ± 0,26	9,34x10 ⁻² ± 0,009
Çay4	8,60	5,28 ± 0,86	3,32 ± 0,49	1,20x10 ⁻¹ ± 0,021

4.7.4. ay-Su Ekstraktlarında Organik Bağlı Alüminyum ve Katyonik Formdaki Alüminyumun Tayini

Bu bölümde çay-su ekstraktlarında organik bağlı Al'un ayrılması için Amberlite XAD-7 reçinesi kullanılırken, katyonik formdaki Al'un ayrılması için ise Chelex-100 reçinesi kullanılmış ve daha sonra alevli AAS ile her bir fraksiyonda alüminyum tayini yapılmıştır.

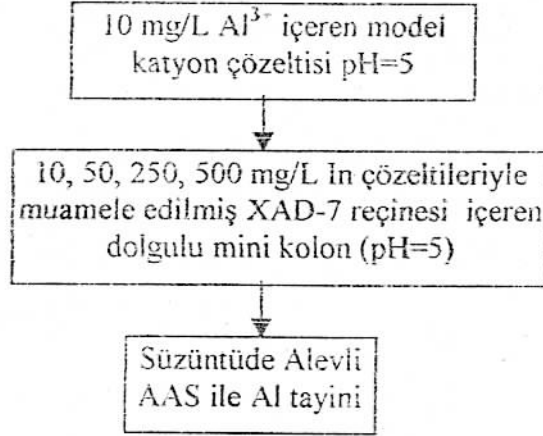
Organik bağlı Al'un ayrılması için Amberlite XAD-7 dolgululu mini kolonun hazırlanması ve optimizasyon koşulları

Amberlite XAD-7 reçinesinin çapı 20-60 mesh olduğu için ayrıca bir öğütme işlemi uygulanmamıştır. Reçinenin koşullandırılması ve kolonlara doldurulması bölüm 3.2.'de materyal ve metotta anlatılmıştır

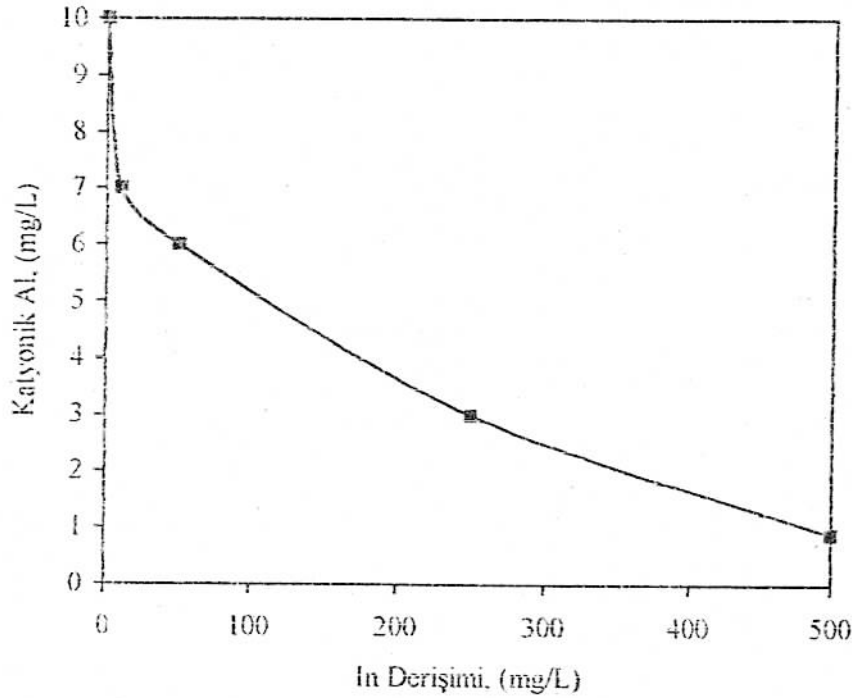


şekil 39. Amberlite XAD-7 reçinesi ile doldurulmuş mini kolonda ayırma işlemi.

Katyonik Al'un kolonda tutulmasına indiyum derişiminin etkisi: Optimizasyon çalışmalarında öncelikle katyonik Al'un reçinede tutulmaması için reçine ile muamele edilecek uygun indiyum derişimi bulunmaya çalışılmıştır. Farklı derişimlerde indiyum çözeltisiyle muamele edilmiş reçinelerle doldurulan kolonlardan geçen süzöntüde Al derişimi ise alevli AAS ile tayin edilmiştir.



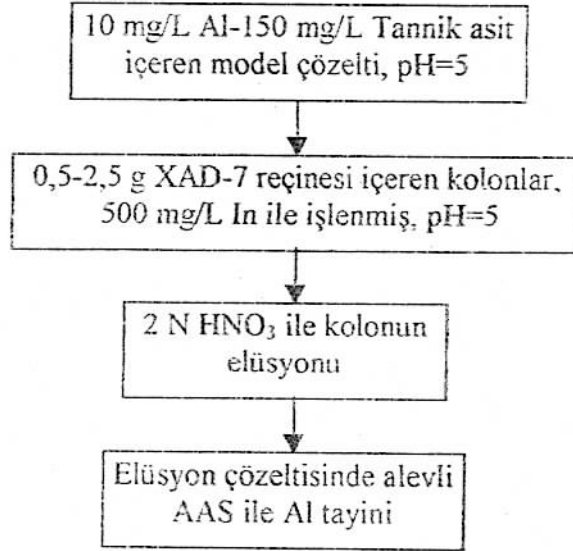
Şekil 40. XAD-7 reçinesinde indiyum derişiminin optimizasyonu.



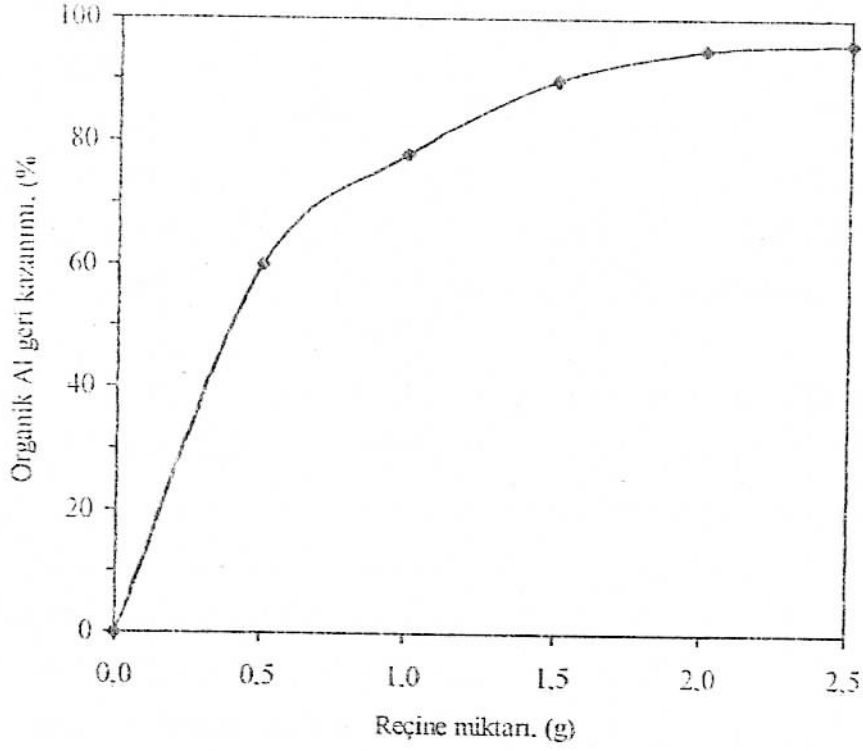
Şekil 41. Reçine üzerinde tutulan katyonik Al derişiminin In derişimi ile değişim grafiği.

Grafikten (Şekil 41) de görüldüğü gibi başlangıçta 10 mg/L olan Al^3 kolondan geçirildiğinde, kolonda alıkonan katyon derişimi, In derişiminin artmasıyla azalmaktadır. 500 mg/L indiyum çözeltisi ile reçine muamele edildiğinde başlangıçtaki katyonik Al'un sadece %9'u kolonda alıkonmaktadır. Bu dikkate alınarak çalışmalar boyunca katyonik Al'un alıkonmaması için; XAD-7 reçinesi 500 mg/L indiyum çözeltisi ile 1 gece muamele edilerek kullanılmıştır.

Organik bağlı Al'un kolonda tutulmasına reçine miktarının etkisi: Polifenoller temsil etmek üzere daha önceki çalışmalarımızda tannik asit ve gallik asit seçilmişti. Al ile kompleks oluşturduğu spektrofotometrik taramalarla da gösterilen bu polifenoller kullanılarak model çözeltiler hazırlanmıştır. 10 mg/L Al-150 mg/L Tannik asit içeren model çözelti 500 mg/L indiyum ile işlenmiş farklı miktarlardaki XAD-7 reçinesi içeren polietilen kolonlardan, 2 mL/dk akış hızı ile geçirildikten sonra kolonda alıkonan organik bağlı Al, 2 N HNO_3 çözeltisi ile elue edilip, elüsyondaki Al, alevli AAS ile tayin edilmiştir. Bu işlemleri gösteren analitik şema aşağıda verilmiştir.



Şekil 42. Organik bağlı Al'un kolondan geri kazanma verimine reçine miktarının etkisi için analitik işlemler.

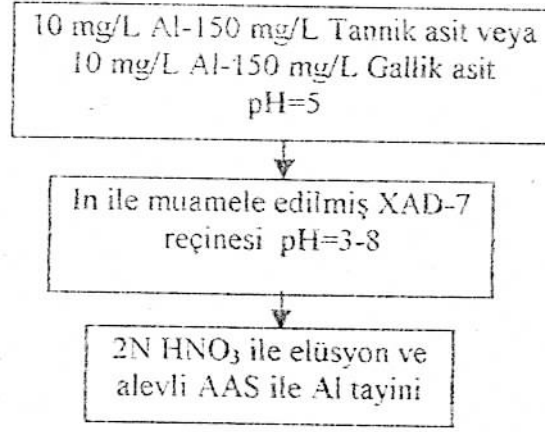


Şekil 43. Kolonda alıkonan organik bağlı Al'un reçine miktarı ile değişim grafiği.

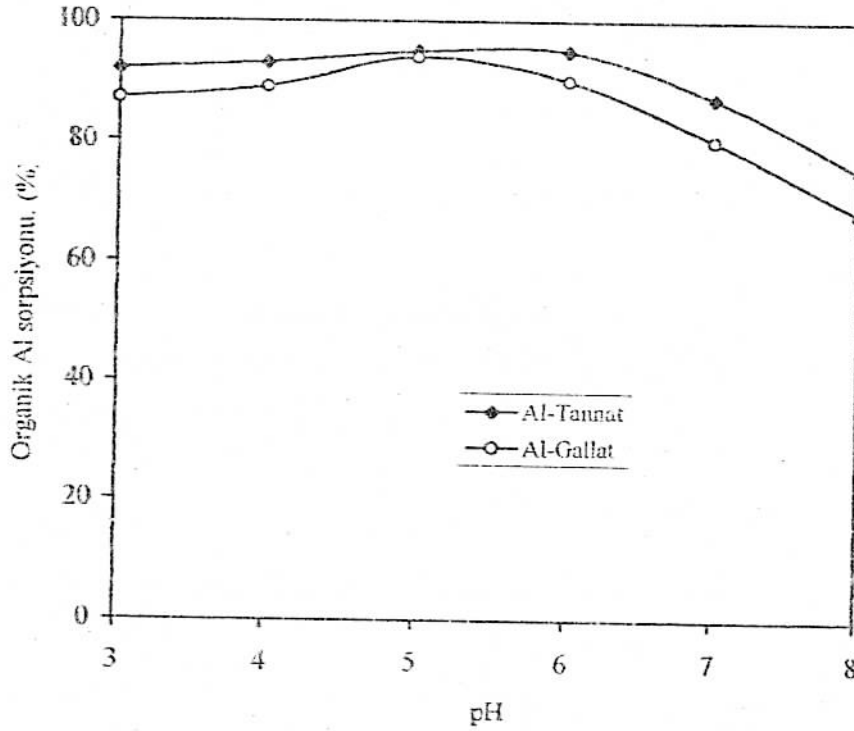
Grafikten (şekil 43)'de görüldüğü gibi, 2,00 g XAD-7 reçine miktarında kolonda alıkonan organik bağlı Al miktarı %95'e ulaşmakta ve reçine miktarının artırılması bu verimi etkilememektedir. Bu nedenle denemelerde 2,00 g reçine miktarı ile çalışılmıştır.

Kolonda alıkonan organik bağlı Al'un pH ile değişiminin optimizasyonu:

Çalışmalar boyunca kullanılan model çözeltilerin pH'ları çay-su ekstraktlarının orjinal pH'ları dikkate alınarak pH=4-5 olacak şekilde hazırlanmıştır. Kolonda alıkonan organik bağlı Al'un pH ile değişiminin izlenmesi için örnek pH'ı dikkate alınarak hazırlanan Al-Tannat ve Al-Gallat kompleks çözeltilerinden oluşan model çözeltileri, değişik pH'larda hazırlanmış ve 500 mg/L indiyum çözeltisi ile koşullandırılan 2,0 g XAD-7 reçinesi ile doldurulmuş kolondan, 2 mL/dk akış hızıyla geçirilmiş ve daha sonra 2 N HNO₃ ile elüe edildikten sonra her bir elüsyon çözeltisi içindeki Al alevli AAS ile tayin edilmiştir.



Şekil 44. Organik bağlı Al'un değişik pH'lardaki In çözeltisiyle muamele edilmiş XAD-7 reçinesi üzerinde alıkonması.



Şekil 45. Al-Tannat ve Al-Gallat komplekslerinin kolonda sorpsiyon verimlerinin reçine pH'ı ile değişimi.

Grafik (Şekil 45) değerlendirildiğinde; düşük pH'larda polifenollere bağlı Al kompleksinin bir kısmının bozulacağı, yüksek pH'larda verimin düşmesinde ise; yüksek pH'nın polifenollere bağlı Al'u hidrolize uğratarak kompleksi bozduğu ve böylece sorpsiyon etkinliğini azalttığı düşünülebilir.

Yukarıdaki optimizasyon koşulları dikkate alınarak pH'ı 5 olan indiyum çözeltisiyle 1 gece muamele edilerek şartlandırılan, 2,0 g Amberlite XAD-7 reçinesiyle doldurulmuş kolondan 2 mL/dk akış hızıyla geçirilen organik bağlı alüminyuma ait geri kazanım değerleri Tablo 22'de verilmiştir.

Tablo 22. Organik bağlı Al'un koşullandırılmış XAD-7 reçinesinden geri kazanımı (n=3)

Al-polifenol kompleksi	XAD-7 kolonundan 2 N HNO ₃ ile elüe olan Al miktarı (mg/L)
10,0 mg/L Al-150 mg/L Tannik asit	9,40±0,72
10,0 mg/L Al-150 mg/L Gallik asit	9,10±0,54

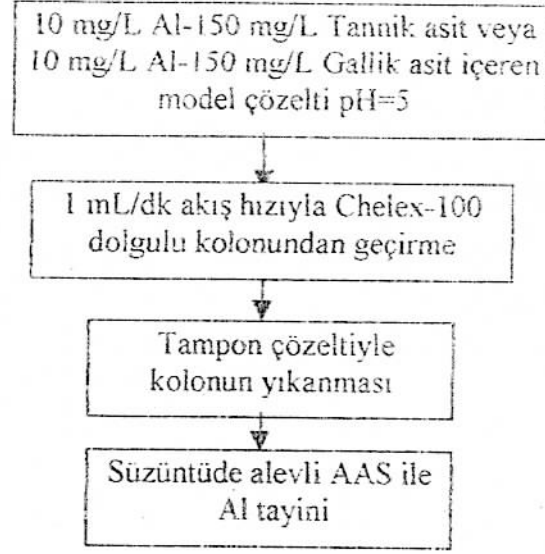
Katyonik Al'un Chelex-100 reçinesinden ayrılması ve alevli AAS ile tayini

Çeşitli su örneklerinde Al spesiasyonu ile ilgili çalışmalara bakıldığında Chelex-100 reçinesinin uygulamalarına ait pek çok örnek görülmektedir. Courtijn ve ark. (1990), yüzey sularında Al spesiasyonu ile ilgili çalışmalarında, potasyum biftalat tampon çözeltisiyle muamele edilmiş ve pH'ı 3,4-6 arasında ayarlanmış Chelex-100 reçinesinin organik bağlı, özellikle hümik asit bağlı alüminyum komplekslerini bağlamadan doğrudan geçirdiği belirtilmiş ve farklı pH'lardaki Chelex-100 reçinesiyle hümik asitlere bağlı Al dışında AlF^{2-} ve Al^{3-} gibi Al'un farklı formları da tayin edilmiştir.

Oysa bu çalışmada çay-su ekstraktları dikkate alınarak hazırlanan model çözeltilerde, polifenollere bağlı alüminyumun aynı şekilde koşullandırılan Chelex-kolonunda alıkonduğunu görülmüştür.

Na^+ formulu Chelex 100 reçinesinin şartlandırılması ve mini kolonların hazırlanması Bölüm 3.2'de materyal ve metotta verilmiştir. Bu şekilde hazırlanan kolonlarla yapılan çalışmalara ait bulgular aşağıda verilmiştir.

Organik bağılı alüminyumun Chelex 100 kolonunda ayrılması

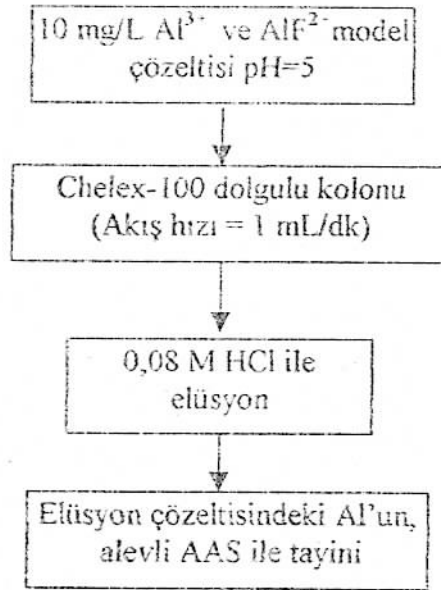


Şekil 46. Organik bağılı Al'un Chelex-100 reçinesiyle doldurulmuş kolondan geçirilmesi.

Tablo 23. Organik bağılı Al'un Chelex-100 reçinesiyle doldurulmuş kolondan geçirilmesi.

Al-polifenol Kompleksi	Süzüntüde Al derişimi, (mg/L)
10,0 mg/L Al-150 mg/L Tannik asit	2,40±0,42
10,0 mg/L Al-150 mg/L Gallik asit	3,10±0,51

Katyonik Al formlarının Chelex-100 dolgulu kolondan ayrılması



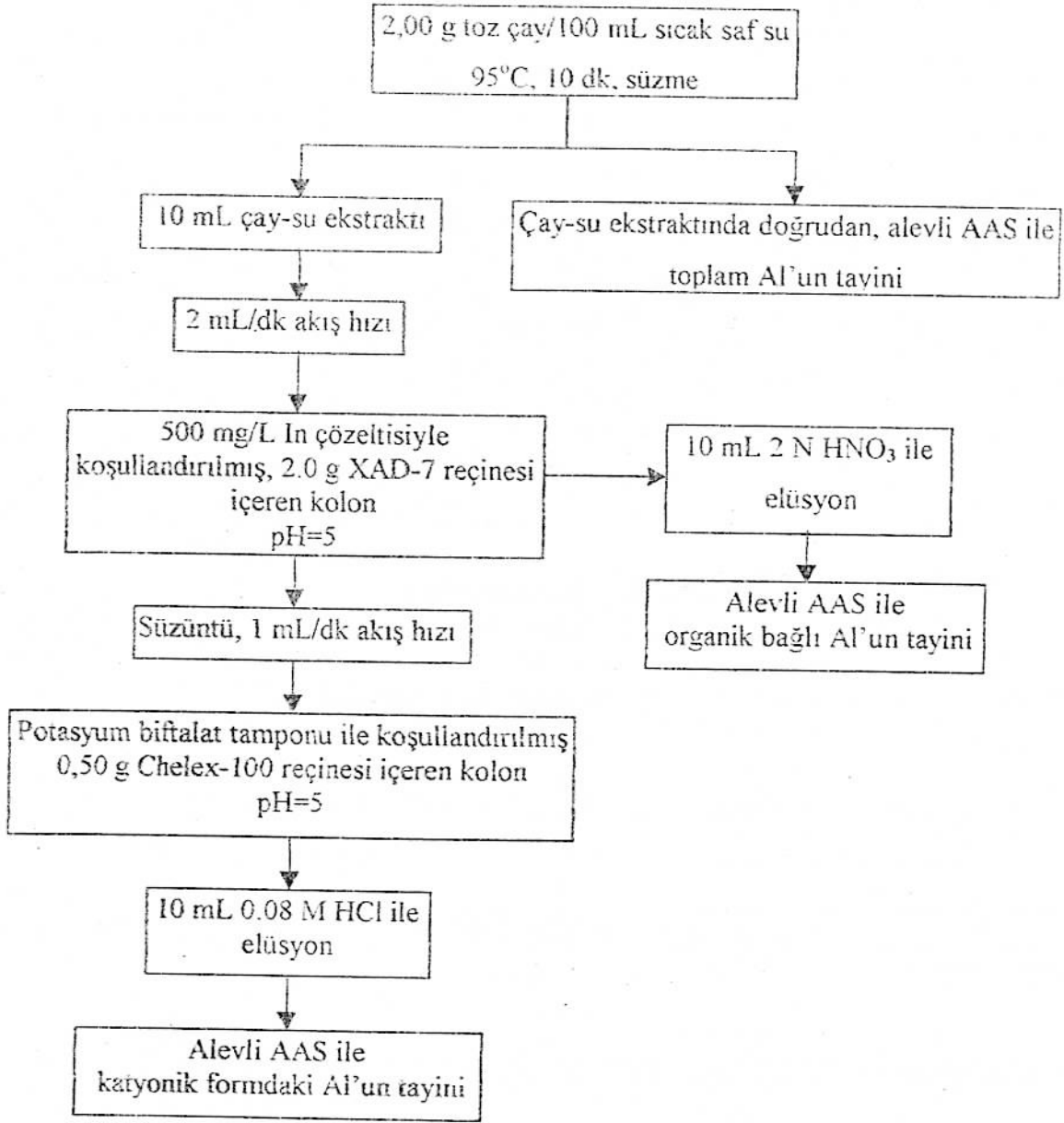
Şekil 47. Katyonik Al formlarının Chelex-100 dolgulu kolondan ayrılması

Tablo 24. Chelex -100 reçinesinde bağlanan katyonik Al derişimleri (n=3).

Bağlanan Al formu	Elüsyon çözeltisinde Al derişimi (mg/L)
10,0 mg/L Al ³⁺ ve 10,0 mg/L AlF ²⁺	9,20 ± 0,41

Çay-Su Ekstraktlarında Organik Bağlı Al ve Katyonik Formdaki Al'un Spesiasyonu İşlemleri

Çay-su ekstraktlarında organik bağlı Al'un ayrılması için; çay-su ekstraktları, uygun koşullarda hazırlanmış olan Amberlit XAD-7 reçinesinden geçirilmiştir. Organik bağlı form ayrıldıktan sonra; süzüntüdeki katyonik bağlı Al yine uygun koşullarda hazırlanıp, mini kolonlara doldurulan Chelex-100 reçinesinden geçirilmiş ve her bir fraksiyondaki alüminyum alevli AAS ile tayin edilmiştir. Örnekler için uygulanan işlemler aşağıdaki şemada (Şekil 48) verilmiştir.



Şekil 48. Organik bağlı Al ve katyonik formdaki Al'un ayrılmasına ait analitik işlemler.

Tablo 25 . Çay-su ekstraktlarında organik bağlı ve katyonik formdaki Al miktarları (n=4).

Örnek	Toplam Al mg Al/L çay-su ekst.	Organik bağlı Al mg Al/L çay-su ekst.	Katyonik Al mg Al/L çay-su ekst.
Çay1	12,0±0,89	3,40±0,28	1,20±0,18
Çay2	13,0±0,94	4,21±0,17	2,41±0,15
Çay3	12,0±0,81	3,54±0,34	1,53±0,16
Çay4	11,0±0,78	3,27±0,22	1,85±0,21

5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Bölüm 4.de “Metotların Uygulanması ve Bulgular” başlığı altında, ayrıntıları anlatılan işlemler ve bu denemelere ait bulgular sonucunda çay-su ekstraktlarında alüminyum spesiasyonu üzerine yapılan çalışmalardan şu sonuçlara varılmıştır:

1) Alevli AAS ile alüminyum tayininde lineer kalibrasyon grafiğinin hazırlanması için farklı alüminyum tuzlarının kullanılmasıyla hazırlanan standart çözeltilerin alevli AAS ile absorban ölçümleri sonucunda **en uygun kalibrasyon grafiği (eğimi bire yakın) $KAl(SO_4) \cdot 2H_2O$ tuzunun** kullanılmasıyla elde edilen kalibrasyon grafiği olmuştur (şekil 9). Aynı koşullarda $Al(NO_3)_3$ tuzunun kullanılmasıyla alevli AAS’de elde edilen sinyaller $KAl(SO_4)_2$ tuzunun kullanılmasıyla elde edilen sinyaller kadar yüksek değildir. İyonlaşmadan dolayı atomlaşma veriminin azalabileceği düşünülerek ortama %02’lik iyonlaşma tamponu eklenmiş fakat sinyallerde bir iyileşme görülmemiştir. $AlCl_3$ tuzunun kullanılmasıyla hazırlanan standartlarda Abs sinyalinin çok düşük olması, $AlCl_3$ tuzunun oldukça kararlı olmasına ve $AlCl_3$ tuzunun atomlaşsa dahi yüksek sıcaklıkta klor gazı ile tekrar birleşerek atomlaşma verimini düşürmesine bağlanabilir. Alüminyumun sanayiideki uygulamalarına bakıldığında, $AlCl_3$ ’ün alüminyumun yüksek sıcaklıkta klor gazı ile tepkimeye girmesiyle elde edildiği görülmektedir. Benzer yaklaşımla, N_2O /asetilen alevinin sağladığı yüksek sıcaklıkta $AlCl_3$ ’ün tekrar oluşmasıyla, atomlaşma veriminin azalmasından dolayı düşük sinyallerin alınması beklenebilir.

2) Çalışmada materyal olarak kullanılan çay ve çay-su ekstraktları makro bileşenler açısından oldukça zengindir ve bunların önemli bir kısmı çay-su ekstraktlarına geçmektedir. Alevli AAS ile Al tayinine bu bileşenlerin girişim etkileri, katyon ve anyon etkisi olarak ayrı ayrı incelenmiştir. Bu girişim çalışmaları sonucunda:

$$\Delta Abs = \left(\frac{Abs (sulu standart) - Abs (katyon ve anyon ilavesi)}{Abs (sulu standart)} \right) \times 100$$

formülüyle hesaplanan % absorbanans değişimini (ΔAbs) ilave edilen kation ve anyonların derişimine karşı garfiğe geçirilmiştir. Sonuçlar Şekil 10 ve Şekil 11'de görülmektedir.

Bu grafiklerden de görüldüğü gibi Mg ilavesi Al absorbanansını belirli bir derişimden sonra, artırma ytnde etkili olmaktadır. Grafit fırınla ilgili yayınlara bakıldığında MgO'in matriks modifayır olarak kullanıldığı görülmektedir. Dolayısıyla bu etki beklenen bir sonuçtur. K da benzer Şekilde belli bir derişimden sonra sinyali artırmaktadır. Na ve Ca'un sinyali artırıcı değil azaltıcı etkileri grlmştr. Fiziksel koşulların değişmesinden dolayı, zeltinin aleve taşınmasındaki değişikliklerin buna yol açtığı düşünülebilir.

Anyonların girişim etkisine bakıldığında, florürün Al sinyallerini azalttığı, klorürün belli bir derişimden sonra sinyalleri çok az da olsa artırdığı, fosfatın ise azalttığı görülmektedir (Şekil 11). Alev ortamında sülfatın bulunmasıyla daha karışık atomlaşma basamaklarının olduğu dşnlmektedir.

Kation interferensleri iyonlaşma ve kimyasal (kondenze faz) girişimi türünden araştırıldığında çalışılan koşullarda iyonlaşma girişimi açısından etkili olmadığı ancak kondenze faz kimyasal girişimlerinin anyonların da etkisiyle kompleks bir yapıya dönüştüğü görülmektedir.

3) ay ve çay-su ekstraktları organik maddeler açısından da oldukça zengin bir matrikse sahiptir. Alevli AAS ile element analizlerinde, katı örneğin znrleştirilmesi ve organik matriksin giderilmesi gerekir. Çünkü: organik matriks ölüm basamağında pek çok problem yaratmaktadır. Bu amaçla, kl etme, yaş yakma ve fotodekompozisyon gibi farklı örnek hazırlama işlemleri uygulanmaktadır. *Kl etme tekniğinde* rneğin uygun kaplarda, belirli bir sıcaklıkta ve belirli bir sürede tutularak organik maddelerin uzaklaştırılması ve elde edilen kalıntının inorganik bir asit içerisinde çözülerek analiz edilmesi işlemleri uygulanır. Organik maddenin parçalanmasında öyle uygun sıcaklık seçilmeli ki, organik madde parçalanırken, elementlerde kayıplar sözkonusu olmamalıdır. Kl etme basamağından sonra kalıntının zetiye alınmasında genellikle nitrik asit ve hidroklorik asit kullanılır. Bu asitler bitkinin bünyesinde bulunan silisyumu zmedikleri gibi, bir çok elementle tepkimeye de girmezler.

Yaş yakma yönteminde, örnek asit ve asit karışımlarıyla muamele edilerek, organik madde parçalanır. Bu teknikte genellikle asit ve yükseltgeyici madde karışımları kullanılmaktadır. Nitrik-sülfürik asit karışımı ile parçalamada, örneklerin yapısında bulunan kalsiyumun kalsiyum sülfat şeklinde çökmesi ve oluşan çökelek ile birlikte eser elementlerin birlikte çökmesinden dolayı kayıplar sözkonusu olduğundan, tercih edilmez. Ayrıca analizlenecek elementlerle çözünmeyen sülfat bileşikleri oluşturması açısından dezavantajlıdır. Nitrik-perklorik asit karışımı, organik yapının parçalanmasında en yaygın kullanılan karışımdır. Organik maddeler perklorik asitle yüksek sıcaklıkta kolaylıkla yükseltgenebilirler. Element kayıplarının olmaması için yaş yakma yöntemi genellikle geri soğutucu altında yapılmaktadır. *Fotodekompozisyon* tekniği de, günümüzde organik maddelerin parçalanması için uygulanan yöntemlerden birisidir. Ancak organik maddenin parçalanması için örneğin uzun süre UV ışık altında kalması gerekebilir ve özel düzenekler gereklidir. Ancak kimyasallardan gelebilecek kirlilikler olmadığı için avantajlıdır.

Bu çalışmada, çay matrisi içerisindeki organik yapı, yaş yakma yöntemi kullanılarak, ($\text{HNO}_3:\text{HClO}_4:\text{H}_2\text{O}_2$) asit karışımıyla parçalanmıştır. Dolayısıyla bu asitlerin kullanılmasıyla, asit kirliliklerinden kaynaklanan girişimler olabileceği düşünülmüştür. Bu amaçla yapılan denemeler sonucunda ΔAbs ; ilave edilen asit derişimlerine karşı grafiğe geçirilmiştir (şekil 13).

Artan HCl derişimine karşı artan bir sinyalden sonra, gaz fazında yüksek sıcaklıkta fazla miktarda AlCl_3 oluşması ve bunun da kararlı bir bileşik olmasından dolayı atomlaşma veriminde azalmalar olabilir. KCl'ün kullanılmasıyla klorürün anyon girişimi etkisine bakıldığında; ancak çok yüksek klorür derişimleri sinyalde artışlara neden olmaktadır. HF asitinin ilave edilmesiyle düşük florür derişiminde çok az bir artış olmuş fakat florür derişiminin artmasıyla sinyalde azalmalar tespit edilmiştir. Bu, AlF_3 'ün dissosiyasyon enerjisinin (664 kJ/mol), Al_2O_3 'in dissosiyasyon enerjisinden (512 kJ/mol) yüksek olması ile açıklanabilir. Anyonlarla ilgili girişim çalışmalarında da florürün benzer etkisi sözkonusudur. Sülfürik asit ve fosforik asitin Al sinyalini azaltıcı etkileri gözlenmiştir. Nitrik asitte düşük derişimlerinde Al sinyalini artırırken, derişimin artmasıyla sinyalde azalmalar olmaktadır (şekil 13).

4) Çay-su ekstraktında matriks bileşenlerinin etkisini göstermek için, başka bir girişim çalışması, alüminyumun sulu standart çözeltileri dışında, yapay çay matriksi ve çay-su ekstraktı içerisinde hazırlanan standart çözeltilerinin, alevli AAS ile ölçümleri alınarak yapılmıştır. Her üç durum için kalibrasyon grafikleri çizildiğinde doğruların eğimlerinin aynı bulunması (şekil 12) bu etkilerin önemli olmadığını ve sulu standart çözeltilerle çalışılabileceğini göstermiştir. Bu nedenle çalışmalar süresince alüminyumun sulu standart çözeltileri kullanılmıştır. Ayrıca alevli AAS ile standart katma tekniği kullanılarak bulunan alüminyum derişimi, sulu standartların kullanılmasıyla, doğrudan çay-su ekstraktlarında bulunan alüminyum derişimleriyle hemen hemen aynı bulunmuştur.

5) Çeşitli zaman aralıklarıyla çay-su ekstraktlarına geçen Al düzeylerine bakıldığında, zamanla deme geçen alüminyum miktarlarının arttığı, fakat 10.dk'dan sonra fazla bir değişikliğin olmadığı görülmüştür (şekil 15). Bu nedenle çalışmalar sırasında çay-su ekstraktları 10 dk. süreyle demlendikten sonra mavi bant süzgeç kağıdından süzülerek hazırlanmıştır.

6) Toz çayda alevli AAS ile alüminyumun analizinde organik yapının parçalanmasında yaş yakma yöntemi uygulanmıştır. Asit karışımı ile birlikte peroksit eklenmesiyle bulunan Al derişimi, sadece asit karışımının kullanılmasıyla bulunan derişimden farklı değildir. Toz çay örneklerinde ortalama $1202 \pm 9,1$ mg/kg Al bulunmuştur (tablo 8). Toz çayın öğütülmesiyle çay-su ekstraktına geçen Al düzeyinin ise yaklaşık %21 oranında arttığı bulunmuştur.

Çay-su ekstraktına geçen Al'un alevli AAS ile tayininde yine farklı asit bileşimleriyle organik yapı parçalandıktan sonra ve doğrudan çay-su ekstraktları aleve verilerek ölçümler alınmıştır. Her iki şekilde bulunan Al derişimlerinde önemli bir farklılık bulunmamıştır. Bu nedenle çay-su ekstraktlarına geçen Al düzeyleri bulunurken örnek doğrudan aleve verilmiştir. Bu durum N_2O /Asetilen aleviyle sağlanan yüksek sıcaklığın organik yapıyı etkin bir şekilde parçaladığını göstermektedir.

Öğütülmüş toz çaydan hazırlanan çay-su ekstraktlarının doğrudan aleve verilmesiyle bulunan Al derişimi ortalama $8,10 \pm 0,65$ mg/L dir (tablo 9).

Farklı toz çay örneklerinin organik yapısının parçalanması işlemlerinde geri kazanma verimleri araştırılmıştır. Bu amaçla toz çay örneklerine 6,4 mg/L Al'un eklenmesi ve daha sonra asitle organik yapısının parçalanması ve alevli AAS ile Al tayinleri sonucunda verim %102 olarak bulunmuştur. Bu verimin yüksek olması uygulanan yaş yakma yönteminin başarılı olduğunu göstermektedir (tablo 10).

Öğütülmüş toz çayın $\text{HClO}_4:\text{HNO}_3:\text{H}_2\text{O}_2$ ile parçalanması ve çay-su ekstraktlarının doğrudan alevli AAS ile analizleri sonucunda Al'un %32'nin çay-su ekstraktlarına geçtiği bulunmuştur (tablo 12).

7) Çay-su ekstraktlarında alüminyum spesiasyonu üzerine yapılan çalışmalarda öncelikle çay-su ekstraktına geçen alüminyumun çözülmüş ve partiküle formlarını ayırt etmek için: 0,45 μm ve 0,25 μm filtreler kullanılmış ve sonuçta çay-su ekstraktlarında Al'un %91'nin çözülmüş alüminyum formunda olduğu bulunmuştur (tablo 13).

8) Çay-su ekstraktlarında alüminyum spesiasyonu üzerine yapılan çalışmalarda: florüre bağlı alüminyumun tayini, florür iyon seçici elektrotun kullanılmasıyla dolaylı olarak gerçekleştirilmiştir. Çalışma için kullanılan kalibrasyon grafiği her çalışma öncesinde tekrar hazırlanmış ve hesaplamalar yeni hazırlanan grafiklere göre değerlendirilmiştir (şekil 20).

Florür iyonunun potansiyometrik ölçümünde ortam pH'ı oldukça önemli bir parametredir. Ortam pH'nın 5,5'in altına düşmesiyle serbest florür derişiminde azalmalar olmaktadır. Ortam pH'nın etkisini göstermek için yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlar şekil 21'de gösterilmiştir. Grafikten de görüldüğü gibi pH=2'de başlangıçtaki florür derişiminin yaklaşık %7'i serbest kalmakta, %93'ü ise HF formunda bulunmaktadır. Oluşan HF'in dissosiyasyon derecesi düşük olduğu için serbest florür derişimi de azalmaktadır. Bu sonuç, düşük pH değerlerinde potansiyometrik florür ölçümlerinde hataların olabileceğini göstermesi açısından önemlidir.

9) Öncelikle Al-F kompleksinin oluşumu potansiyometrik ölçümlerle izlenerek, artan alüminyum derişimiyle florür derişiminde nasıl bir değişikliğin olacağı

belirlenmeye çalışılmıştır. $2,63 \times 10^{-4}$ M sabit derişimdeki florür çözeltilisine, artan derişimlerde Al eklendiği ve ortam pH'nun 5 olduğu koşullarda, serbest florür derişimi azalmakta, hatta 4×10^{-4} M alüminyum derişiminde nerdeyse bütün florürün, alüminyuma bağlandığı görölmektedir (şekil 22).

Oluşan Al-F kompleksi ortam pH'na ve florür derişimine bağlı olarak belli kimyasal formlarda bulunabilir. Bu her bir form belli bir mol kesri ile ifade edilmektedir (şekil 30).

10) Al-F kompleksleri ALCOA tamponunun ilave edilmesiyle bozulmakta ve serbest florür açığa çıkmaktadır. ALCOA ilavesiyle serbest florürün tekrar oluşumunda zaman önmeli bir parametredir. Bu nedenle sabit ALCOA hacminde zamanla açığa çıkan florür derişimleri ölçüldüğünde 2 saat bekledikten sonra tekrar başlangıctaki florür derişimine dönülebildiği gözlenmiştir (şekil 23). Örnekle ilgili çalışmalarda da bu süre dikkate alınmıştır.

11) Florür iyonları, alüminyumun dışında Fe, Mn ve Mg iyonlarıyla da kompleks oluştururlar. Çay-su ekstraktına geçen bu bileşenlerle florürün kompleks oluşumları incelenmiştir. Bu iyonlara ait kompleks oluşum sabitleri **tablo 14**'de verilmiştir. Dolayısıyla örneklere ALCOA tamponu ilave edildiğinde sadece Al-F kompleksinin bozulmasıyla açığa çıkan florür değil, bu komplekslere bağlı bütün florürler serbest kalacaktır. Bu nedenle girişim çalışmaları yapılmış ve alüminyum dışındaki bu iyonlarla florürün kompleks oluşumları, model çözeltilerle gösterilmeye çalışılmıştır. Çay-su ekstraktlarında bulunan Fe(III) veya Fe(II) iyonları ile florürün kompleks oluşum koşulları incelendiğinde; sabit florür derişiminde artan, Fe(III) iyonları ilave edildiğinde, florürün Fe(III) ile kompleks oluşturduğu gözlenmiştir (şekil 24).

Ortamın iyon şiddetini ayarlamak üzere kullanılan Corning TISAB tamponu içerisinde, çok düşük derişimde sitrat bulunmasına rağmen, Fe(III)-F kompleksini bozduğu görölmüştür. Fe(III)-F kompleksi üzerine TISAB tamponunun eklenmesiyle, florür derişimindeki artışlar deneysel olarak da gözlenmiştir. Sitratsız hazırlanan TISAB tamponunun, Fe(III)-F kompleksini bozmadığı yine yapılan denemelerle gözlenmiştir.

Sabit florür derişiminde ortama Fe(II) iyonlarının eklenmesiyle florür derişiminde neredeyse hiç değişiklik olmamıştır (şekil 25). Dolayısıyla girişim açısından etkin olan Fe(III) iyonlarıdır.

Fe(III)-F kompleksinin oluşumu yine ortamı pH'ı ile yakından ilgilidir. Sabit florür derişimi üzerine pH=5,5'ten başlayarak, artan derişimlerde Fe(III) iyonları eklendiğinde, ortamdaki florür derişimindeki değişiklikler grafiğe geçirilmiştir (şekil 26). pH'nın düşmesiyle serbest florürün derişimindeki azalma florürün Fe(III) ile kompleks oluşturduğunu göstermektedir. Grafikten de görüldüğü gibi pH=2'de başlangıçtaki florür derişiminin neredeyse yarısına ulaşılmıştır. Bu azalma Fe(III) iyonlarının ancak düşük pH'larda florür ile kompleks oluşturduğunu göstermektedir. Oysa pH=5,5 artan derişimlerde Fe(III) ilavesine rağmen neredeyse başlangıçtaki florür derişimi aynı kalmaktadır.

Bu sonuç, girişim çalışmaları açısından oldukça önemlidir. Çünkü çay-su ekstraktlarının pH'ı 4-5 arasında değişmekte ve alevli AAS ile Fe derişimi 2×10^{-5} mol/L olarak ölçülmüştür. Dolayısıyla çay-su ekstraktlarında F(III)'ün florür ile kompleks oluşturması için şartlar uygun görünmemektedir.

Spektrofotometrik çalışmalarda Fe(II)'ten gelen girişim etkilerini gidermek için hidroksil amonyum kullanılarak Fe(III), Fe(II)'ye indirgenmektedir. Bu çalışmada olası bir Fe(III) girişimi için indirgeyici olarak $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ kullanılmış ve başarılı sonuçlar alınmıştır.

Girişimle ilgili aynı model çalışmaları çay-su ekstraktlarına geçen Mn^{2+} ve Mg^{2+} iyonları için de yapılmış ve yine çay-su ekstraktlarının pH değerleri dikkate alınarak pH=5'te artan kation derişimleriyle, başlangıç florür derişimlerinde fazla bir değişiklik olmadığı gözlenmiştir. Bu denemelere ilişkin sonuçları gösteren grafikler (şekil 27 ve şekil 28)'de verilmiştir. Dolayısıyla çalışılan koşullarda Mg^{2+} ve Mn^{2+} 'nin önemli bir girişim etkisi söz konusu değildir.

12) Çay-su ekstraktlarında florür bağlı alüminyum için uygulanan analitik şema (şekil 29)'da verilmiştir. Ayrıca bu bölümde hesaplamalara ilişkin ayrıntılar da verilmiştir. Bu işlemler sonucunda hesaplanan florür bağlı alüminyum derişimleri (tablo 15)'de verilmiştir. Çay-su ekstraktlarında toplam alüminyumun, %9,92'i florüre bağlı alüminyum şeklinde bulunmuştur.

Florür iyon seçici elektroduyla yapılan çalışmalarda, Nernst eşitliği 10^{-6} M'in aşağısında lineerdir ve 2×10^{-10} M'a kadar nadiren ölçüm alınır. Ayrıca iyon seçici elektrotlarla çalışılırken sıcaklık kontrolünün ve zaman ayarlamasının yapılması gerekir. Çok düşük derişimlerde kararlı sinyal için 1 saat beklemek gerekebilir.

13) Çay-su ekstraktlarında polifenollere bağlı Al'un karakterizasyonunda bu çalışmada "Protein Çöktürmesi" yöntemi kullanılmış ve proteinlerin, hidrolize olabilen polifenollerin önemli bir fraksiyonunu oluşturan tannen grubu bileşikleri çöktürmesi ilkesinden yararlanılmıştır. Polifenollerin tayininde kullanılan pek çok yöntem Folin Denis yönteminde olduğu gibi toplam polifenollerini ölçer. Oysa protein çöktürmesi yöntemi, sadece hidrolize olabilen polifenolleri çöktürmektedir (Harinder 1989). Dolayısıyla çöktürmeyle oluşan fraksiyon içerisindeki alüminyumun alevli AAS ile tayini, hidrolize olabilen polifenollere bağlı alüminyumunu verecektir.

Çalışmada ilk olarak hidrolize olan polifenolleri temsil etmek üzere uygun polifenol standart çözeltisinin seçilmesi için, **şekil 31**'de görülen işlem basamakları yapılmıştır. Albumin çöktürmesiyle çöken polifenolün süzütüsünde alevli AAS ile tayin edilen alüminyum derişimlerine bakıldığında **tablo 16**'da görüldüğü gibi **alüminyum bağlı polifenollerden tannik asit, en iyi verimle çökmüştür ve başlangıçtaki alüminyumun ancak %5,50'i süzütüde kalmıştır**. Tannik asite göre çok daha küçük molekülü polifenoller olan gallik asit ve pyrogallol ele geçen sonuçlar proteinle çökmelerinin oldukça zayıf olduğunu göstermiştir. Çökeleğin sodyum dodesil sülfat ile çözünürleştirilmesinden sonra alevli AAS ile yapılan alüminyum tayinlerinde tekrarlanır sonuçlar elde edilememiştir. Ayrıca sodyum dodesil sülfat çözeltisinin alev verilmesiyle alev profili çok fazla değişmiştir. Bu nedenle yapılan ölçümlerde, proteinle çöktürme işlemlerinden sonra çökelekteki Al değil de süzütüde kalan alüminyumun derişimleri ölçülmüş ve buna göre hesaplamalar yapılmıştır.

14) Polifenollere bağlı alüminyumun çöktürülmesinde uygun pH'nın seçilmesi için yapılan işlemlerden sonra **çökme için en uygun pH'nın 5-6 arasında olduğu** görülmüştür (**şekil 32**). Çalışmada kullanılan çay-su ekstraktlarının orijinal pH'ları da 4-5 olduğundan ayrıca bir pH ayarlamasına gerek kalmamıştır.

15) Hidrolize olan polifenollerini çöktürme için gerekli olan albumin (Bovine Serum Albumin) miktarının optimizasyonu için yapılan çalışma sonucunda çöktürme için 6 mL albumin hacminin yeterli olduğu görülmüştür (şekil 34).

16) Alüminyumun hem sulu standart çözeltileri hem de albumin içerisinde hazırlanmış standart çözeltileri alevli AAS ile ölçülmüş ve kalibrasyon grafiğindeki doğruların eğimleri neredeyse aynı çıkmıştır. Bu albuminin alüminyum ile çökmeyeceğini veya etkileşmediğini gösterir ki, bu proteinle çöktürme işlemleri için istenilen bir sonuçtur (şekil 35).

17) Çay-su ekstraktlarında Folin Denis Yöntemiyle (şekil 36), spektrofotometrik yapılan toplam polifenol analizlerinde tannik asit cinsinden ortalama 357 mg/L polifenol bulunmuştur (tablo 20).

18) Çay-su ekstraktlarına uygulanan proteinle çöktürme işlemlerinde polifenollere bağlı alüminyumun karakterizasyonu işlemleri sonucunda toplam alüminyumun yaklaşık %3,20'nin hidrolize olan polifenollere bağlı alüminyum olduğu bulunmuştur (şekil 37 ve tablo 21).

19) Çay-su ekstraktlarında organik bağlı alüminyumun ayrılması için Amberlit XAD-7; kationik bağlı alüminyumun ayrılması için ise Chelex 100 reçinesi kullanılmış ve daha sonra alevli AAS ile ölçümler alınmıştır.

Optimizasyon çalışmalarında öncelikle kationik alüminyumun reçinede tutulmaması için reçine ile muamele edilecek uygun indiyum derişimi bulunmaya çalışılmış ve farklı derişimdeki indiyum derişimiyle muamele edilmiş reçinelerden geçen elüsyon çözeltilerindeki Al derişimi ise alevli AAS ile tayin edilmiştir. Bu işlemler sonucunda şekil 40'ta görüldüğü gibi, kolonda alıkonan Al^{3+} kationlarının derişimi, In derişiminin artmasıyla azalmaktadır. 500 mg/L indiyum çözeltilisi ile muamele edilen kolonda kationik alüminyumun sadece %9'u alıkonmuştur. Bu dikkate alınarak çalışma boyunca kationik alüminyumun

alıkonmaması için Amberlite XAD-7 reçinesi 500mg/L In çözeltisiyle bir gece muamele edildikten sonra kolonlara doldurulmuştur.

20) Organik bağlı alüminyumun Amberlite XAD-7 üzerinde tutulmasına reçine miktarının etkisi araştırılmıştır. Şekil 42'de görüldüğü gibi 2,0 g XAD-7 reçinesi ile doldurulmuş kolonda alıkonan organik bağlı Al miktarı %95'e ulaşmakta ve reçine miktarının artırılması bu verimi etkilememektedir. Bu nedenle kolonlar 2, 0 g Amberlite XAD-7 reçinesi ile doldurulmuştur.

21) Çalışma süresince kullanılan model çözeltilerin pH'ları çay-su ekstraktlarının orjinal pH'ları dikkate alınarak hazırlanmıştır. Değişik pH'larda hazırlanan XAD-7 reçinesi ile doldurulmuş kolonlarda, polifenol-Al bileşiklerinin alıkonduğu en uygun pH, 5-6 arasında değişmektedir. Şekil 45 değerlendirildiğinde düşük pH'larda polifenollere bağlı alüminyum kompleksinin bir kısmının bozulacağı, yüksek pH'larda ise yüksek pH'nın polifenollerini hidrolize uğratarak bileşiği bozduğu veya $Al(OH)_3$ 'ün çökmesinden dolayı kolon üzerinde sorpsiyon etkinliğini azalttığı düşünülebilir.

22) Optimizasyon koşullarında hazırlanmış XAD-7 reçinesi ile doldurulmuş kolonda tannik asit ve gallik asite bağlanmış Al'un ortalama %93'ü 2 N HNO_3 ile başarıyla elüe edilmiştir (tablo 22).

23) Koşullandırılmış Chelex 100 reçinesi, kolonlara doldurulduktan sonra, organik bağlı alüminyumun, Amberlite XAD-7 reçinesinden 2 N HNO_3 ile elüsyonu yapılmış ve bu elüsyon çözeltisi daha sonra Chelex 100 kolonundan geçirilerek katyonik bağlı alüminyum tayin edilmiştir. Daha öncede belirtildiği gibi Chelex 100 reçinesiyle yapılan çalışmalarda su örneklerinde organik yapının alıkonmadan geçtiğini gösteren model çalışmalar yapılmadan doğrudan örneklerle uygulanmıştır. Oysa çay-su ekstraktlarındaki organik yapıyı temsil etmek üzere seçilen tannik asit, gallik asit gibi polifenollerle oluşturulan organik alüminyum türlerinin Chelex 100 kolonunda alıkonduğu gözlenmiştir. Tablo 23'te görüldüğü gibi organik bağlı alüminyumların %73'ü kolonda alıkonmaktadır. Kolondan geçerken organik

bağlı alüminyumun parçalanarak serbest kalan alüminyum türlerinin kolona bağlanmasından dolayı organik yapı alıkonabilir. Al'un polifenollere kompleks oluşturduğu spektrofotometrik taramalarla da gösterilmiştir.

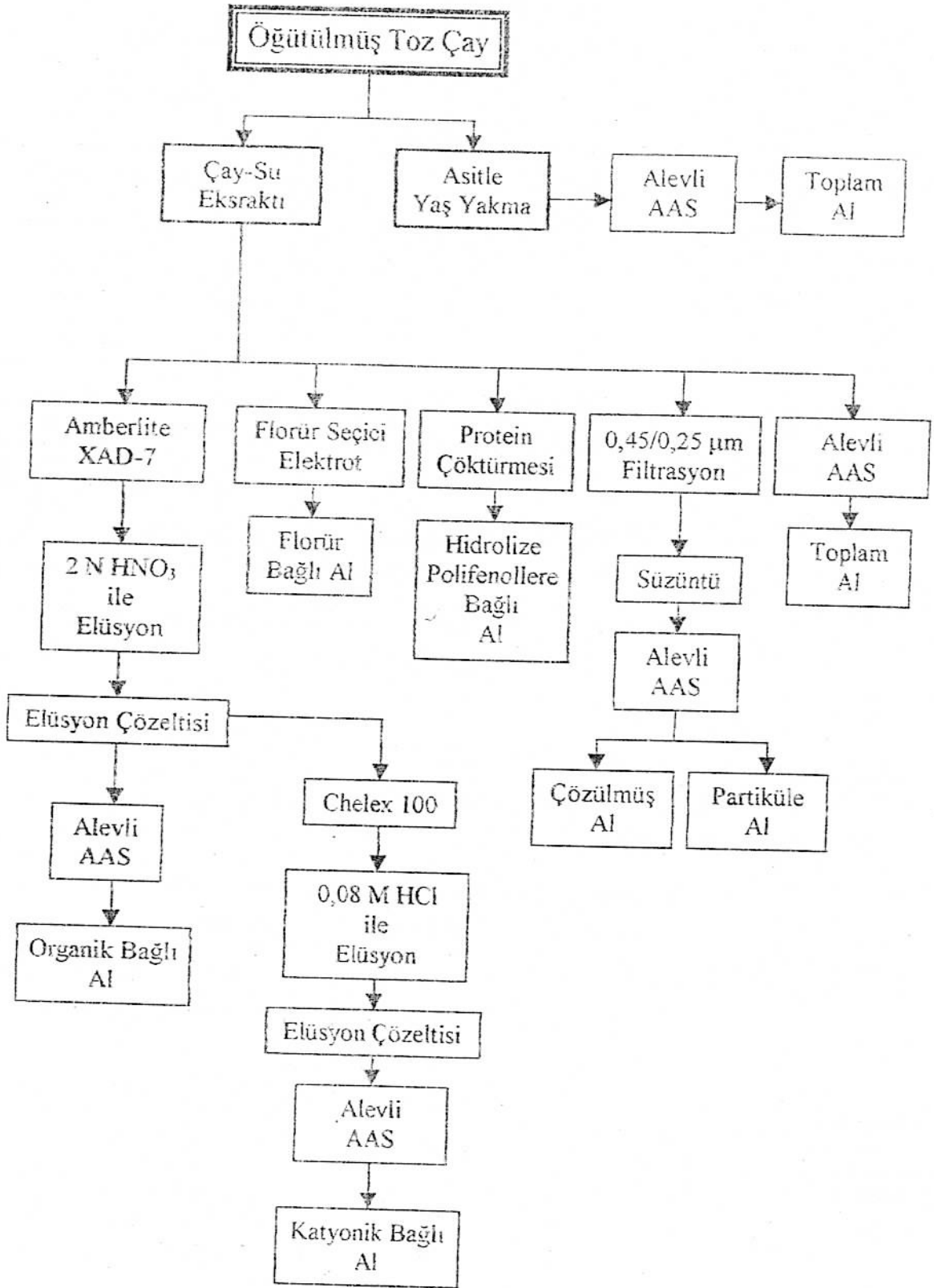
24) Tablo 24'te görüldüğü gibi başlangıçtaki katyonik Al derişiminin %92'i Chelex-100 reçinesi içeren kolona bağlanmakta ve 0,08 M HCl ile başarıyla elüe edilmektedir. Dolayısıyla katyonik formdaki Al'un spesiasyonunda Chelex-100 reçinesinin kullanılabilceğı görülmektedir. Bu işlemlerde kolon pH'ı örnek pH'nı temsil edecek şekilde ayarlanmıştır.

Çay-su ekstraktlarında organik bağlı ve katyonik bağlı alüminyumun ayrılması için uygulanan işlem basamakları şekil 48'de görülmektedir. Analiz sonuçları ise tablo 25'te verilmiştir. Böylece çay-su ekstraktlarında %30,5 organik bağlı alüminyum, %15 de katyonik bağlı alüminyum olduğu bulunmuştur.

Bu çalışma sonucunda çay-su ekstraktlarında alüminyum spesiasyonu için önerilen şema şekil 49'da, işlem sonuçları ise tablo 26'da verilmiştir.

25) Çay-su ekstraktlarına geçen labile (kararsız) ve non labile (kararlı) alüminyum türlerinin tayini için spektrofotometrik ölçümler üzerine kurulu kinetik çalışmalar da yapılmıştır. Bu amaçla Oksin kullanılarak belli zaman aralıklarında Al-Oksin kompleks oluşumları incelenmeye çalışılmıştır. Serbest alüminyumun dışında polifenollere bağlı ve florüre bağlı alüminyum için oksinle kompleks oluşum mekanizmaları incelendiğinde tekrarlanabilir sonuçlar elde edilememiştir. Ancak bu konudaki çalışmalar devam etmektedir.

Ayrıca sıvı kromatografisi-alevli AAS kombinasyonu kullanılarak, organik bağlı alüminyumun on line olarak analizleri amaçlanmış ve bu konudaki ön çalışmalar devam etmektedir.



Şekil 49. Çay-su ekstraktlarında alüminyum spesiasyon şeması

Tablo26. ay-su ekstraktlarında Alüminyum spesiasyonu çalışması sonuçları.

Örnek	özölmüş Al ³⁺	Florür Bağlı Al	Hidrolize	Organik Bağlı Al	Katyonik Bağlı Al
			Polifenollere Bağlı Al		
			%		
ay1	98	10,0	29	29	10
ay2	96	8,3	43	33	19
ay3	95	8,4	26	30	13
ay4	93	12	39	30	17

a : 0,25 µm membran filtre

6. KAYNAKLAR

- Alfrey, A.C., LeGrende, G.R., Kaehny, W.D. *New Engl. Jour. Med.*, 294:184 (1976).
- Almedia, A.A., Bastos, M.L. *Jour. Anal. Atom. Spect.*, 7:1281-1285 (1992).
- Alonso, J.I.G., Garcia, A.L. *Analytica Chimica Acta*, 225:339-350 (1989).
- Barnes, R.B. *Chem. Geol.*, 15:177 (1975).
- Barnett, B.W. *Anal. Chem.*, 44(4):695-98 (1972).
- Baxter, M.J., Burrell, J.A., Massey, R.C. *Food Additives and Contaminants*, 5:651-656 (1988).
- Baxter, M.J. *Aluminium in Food and the Environment*, Eds: R.Massey- D.taylor, Royal Society of Chemistry, London, s.77-87 (1988).
- Berlyne, G.M. *Lancet*, 2:494 (1970).
- Bernhard, M., Brickman, F.E., Irgolic, K.J. *The Importance of Chemical "Speciation in Environmental Processes*. Eds. M.Bernhard, F.E.Brickman, P.J. Sadler. Dahlem Konferenzen. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg. s.7-14 (1986).
- Bertsch, P.M., Barnhisel, R.I. *Anal. Chem.*, 58:2583 (1986).
- Benschoten, J.E., Edzwald, J.K. *Jour. Am. Water Works Assoc.*, 5:71-78(1990).
- Bloom, P.R., Weaver, R.M., McBride, M.B. *Soil Sci. Soc. Am. Jour.*, 42:713 (1978).
- Brown, R., Klein, A., Hurrell, R.F. *Spect. Publ. R.Soc.Chem.*, 72:152 (1989).
- Cammann, K., "Working with Ion Selective Electrodes" Springer-Verlag (1979).
- ✓ Chakrabarti, C.L., Lu Y., Cheng, J. *Analytica Chimica Acta*, 267:47-64 (1993).
- Clarke, N., Danielson, L.G., Sparen, A. *Intern. Jour. Environ. Anal. Chem.*, 48:77-100 (1991).
- Courtjin, E., VandeCastele, C., Dams, R. *The Science of the Total Environment*, 90:191-202 (1990).
- Craney, C.L., Swartout, K. *Anal. Chem.*, 58:656 (1986).
- Datta, A.K., Wedlund, P.J., Yokel, R.A. *Jour. Trace Elem.*, 4:107-114 (1990).
- Disler, P.B., Lunch, S.R. *Gut*, 16:193 (1975).

- Dougan, W.K., Wilson, A.L. *Analyst*, 99:413 (1974).
- Drischoll, C.I. *Int.J. Environ. Anal. Chem.*, 16:267 (1984).
- Duffield, J.R., Williams, D.R. *Aluminium in Food and the Environment*, Eds: R.Massey- D.taylor, Royal Society of Chemistry, London, s.1-6 (1988).
- Ebdon, L. *An Introduction to Atomic Absorption Spectroscopy*, Heydan, London (1982).
- Elçi, L., Soylak, M., Doğan, M., *Fresenius' Z. Anal. Chem.*, 342:175-178 (1992)
- Evans, A., Zelany, L.W. *Soil Sci. Soc. Am. Jour.*, 50:910 (1986).
- Fairweath-Tait, S.J., Faulks, R.M. *Human Nutrition: Food Science and Nutrition*, 41F:183-192 (1987).
- Finger, A., Kuhr, C. *Journ. Chromatog.* 642:293-315 (1986).
- Fishman, M.J. *At. Absorpt. Newsl.*, 11:46 (1972).
- ✓ Florence, T.M., Batley, G.E. *Crit. Rev. Anal. Chem.*, 9(3):219 (1980).
- ✓ Florence, T.M. *Talanta*, 29:354 (1982).
- Florence, T.M. *Complexation of Trace metals in Natural Waters*. Eds. Kramer C.J.M., Duinker, J.C. Nijhoff/Junk The Hague. s.411(1984).
- Garrison, S. *The Environmental Chemistry of Aluminium*, CRC Lewis Publishers. Boca Raton NewYork s.1-38 (1996).
- Gillard, R.D., Cariot, A.M. *Nature*, 321:570 (1986).
- Gonzales, E.B., Parajon, J.P., Alanzo, J.G., Sanz-Medel, A., *J. Anal. At. Spectrom.*, 4:175-179 (1989).
- Greger, J.L., Gvetz, W., Sullivan, D. *Jour. Food Protection*, 48:772-777 (1985).
- Güçer, Ş. *Doktora Tezi*, Ege Üniversitesi, İzmir, (1974).
- Hiraide, M. *Anal. Chim. Acta*, 172:215-221 (1985).
- Hodges, S.C. *Soil. Sci. Soc. Am. Jour.*, 51:57-64 (1987).
- Howard, A.G., Coxhead, A. *Jour. Analyst*, 111:1379 (1986).
- Hsu, Y., Pipes, O. *Environ. Sci. Technol.*, 6:645 (1972).
- James, B.R., Clark, C.J., Riha, S.J. *Soil Sci. Soc. Am. Jour.*, 47:893 (1983).
- Janssens, E., Schutyser, P., Dams, R. *Environ. Technol. Lett.* 3:25 (1982).

- ✓ Jon, C., Loon, V., Barefast, R.R. *Analyst*, 117:563-570 (1992).
- Jones, P., Paul, B. *Analytical Proceedings*, 29:402-405 (1992).
- Kacar, B. *Çayın Gübrelenmesi, Çay-Kur Yayınları No 4 Ankara* (1984).
- Kacar, B. *Çay ve Çay Topraklarının Analizleri, Çay-Kur yayınları No 14 Ankara* (1991).
- Karlık, S.J. ve Eichorn, G.L. *Abstracts of Papers in Conference on Aluminium Determinations in Biological Materials, Charlottesville, VA, pp.3* (1983)
- Kerven, G.L. *J. Soil Res.*, 27:91 (1989).
- Klaus, R.K., et all., *Analyst* 114:911-913 (1989).
- Kunç, Ş., "Spektroskopi Kış Okulu, Atomik Spektroskopi Ders Notları" *Malatya* (1986).
- Kunç, Ş. *Yayınlanmamış Seminer Notları, Malatya, (1992).*
- L'uvov, B.V. *J.Anal.Atom.Spect.*, 2:95 (1987).
- ✓ Laegreid, M., Alstad, J. *Environmental Science and Technology*. 17:357 (1983).
- Lalende, H., Hendershot, W.H. *Can.Jour.Fish.Aquat.Sci.*, 43:231 (1986).
- LaZerte, B.D., *Can.Jour.Fish.Aquat.Sci.*, 41:766 (1984).
- Lee, M., Burrell, I.C. *Anal. Chim.Acta.*, 66:245 (1973).
- ✓ Lund, W. *Fresenius Jour.Anal. Chem.*, 337:557-564 (1990).
- Martin, R.B. *Metal Ions in Biological Systems*, Ed. H.Sigel. Marcel Dekker Inc., New York and Basel, s.1-57 (1988).
- Massman, H. *Spect.Chim.Acta*, 23B:215 (1986).
- McArtur, I.M. *Univ.Leeds, Res.Inst. Annual Report Sci. Results*, 20:80 (1976).
- McAvoy, D., Driscoll, C.T. *Soil Sci. Soc. Am. Jour.*, 56:449-455 (1992).
- Midgley, D. and Torrance, K., "Potentiometric Water Analysis" *Jhon Wiley and Sons* (1978).
- ✓ Mizuike, A. *Pure and Appl. Chem.*, 59(4):555-564 (1987).
- ✓ Mohammed, B., Ure, A.M., Littlejohn. A. *Jour.Anal.Atom.Spect.*, 7:695-699 (1992).
- ✓ Mora, S.J., Harrison, R.M. *Water Research*, 17(7):723-735 (1983).

- Noller, B.N., Cosbert, P.J. *Environmental Technology Letters*, 6:381-390 (1985)
- Okuro, T., Turner, R.C. *Can. Jour. Chem.*, 47:2521 (1969).
- Owuor, P.O., Cherviyot, D.K.A. *Plant and Soil*. 119:342-45 (1989).
- Özdemir, Y. Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi, Malatya (1992).
- Quartley, B., Esselmont, G. *Fd. Chem Toxic*, 31(8):543-548 (1993).
- Pinta, M., "Atomic Absorption Spectrometry" Jhon Wiley, New York (1975).
- Plrzyk, D.J. and Chu, C.H., *anal. Chem.*, 327:179-185 (1977).
- Roura, M., Baucells, M. *Analytical Techniques in Environmental Chemistry: Series on Environmental Science*, Eds: I Albgigers, Vol.7, Pergamon Press Elmsford, NY, s.377 (1982).
- Salbu, B., Steinnes, E., Pappas, A.C. *Anal. Chem.*, 47: 1011 (1974).
- Seip, H.M., Muller, L., Naas, A. *Water Air Soil Pollut.*, 23:81 (1984).
- Severus, H. *Aluminium in Food and the Environment*, Eds: R.Massey- D.Taylor, Royal Society of Chemistry, London, s.88-103 (1988).
- Shatiqua, Alam A.M., Vittorio, O., Porthault, M. *Anal Chim.Acta*, 118:87 (1976).
- Sherlock, J.C. *Aluminium in Food and the Environment*, Royal Society of Chemistry, London, s.65-76 (1988).
- Skoog, D., West, D., and Holler, J., "Fundamentals of Analytical Chemistry" Saunders College Publishing, (1988)
- Slavin, W. *Analytical Techniques in Environmental Chemistry: Series on Environmental Science*, Eds: I Albgigers, Vol.7, Pergamon Press Elmsford, NY, s.397 (1982)..
- Smith, P.S. and McClure, J., *J.Clin Pathol.*, 30:1283-1293 (1982).
- Spiro, M., Price, E.W. *Analyst*, 111:331-33 (1986).
- Stewart, W.K. *Aluminium in Food and the Environment*, Eds: R.Massey- D.taylor, Royal Society of Chemistry, London, s.9-19 (1988).
- Suzuki, Y., Imai, S., Kamikr, T. *Analyst*. 114:839 (1989).
- Soroka, K. *Anal. Chem.*, 59:629 (1987).
- TS4234, TSE, 1984, Su Analiz Metotları, Florür Tayini, Fotometrik ve Potansiyometrik Yöntemler.

Trojanowicz, N., Hulaniki, A. *Microchim. Acta*, 11:17 (1981).

Weber, G. *Chromatografia*, 26:133-38 (1988).

Willet, I.R. *Soil Sci. Soc. Am. Jour.*, 53:1385 (1989).

✓ Winner, R.W. *Aquatic Toxicology*, 5:267(1984).

✓ Wolf, W.E., Irgolic, K.J. The Importance of Chemical "Speciation in Environmental Processes. Eds. M.Bernhard, F.E.Brickman, P.J. Sadler. Dahlem Konferenzen. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg. s.17-38 (1986).

✓ Wolf, W.R. The Importance of Chemical "Speciation in Environmental Processes. Eds. M.Bernhard, F.E.Brickman, P.J. Sadler. Dahlem Konferenzen. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, s.39-58 (1986).

Verbrueken, A.H., Van deVayer, F.L., Van Grieken, R.E., et all., *Clin.Chem.*, 32:763-768 (1984)

Yıldız, A., Genç, Ö., "Enstrümental Analiz" Hacettepe Üniversitesi Yayınları, A-64, 1993

Zortka, J.V. *Anal.Chem.*, 50(3):538-41 (1978).