

ATOMİK ABSORBSİYON SPEKTROFOTOMETRESİ İLE ZEYTİN ÖRNEKLERİNDE DEMİR, BAKIR, ÇİNKO VE CİVA ANALİZLERİ ÖRNEK HAZIRLAMA BASAMAĞININ OPTİMİZASYONU*

OPTIMIZATION OF PREPARING SAMPLE FOR IRON, COPPER, ZINC AND MERCURY ANALYSES IN OLIVE SAMPLES BY ATOMIC ABSORPTION SPECTROFOTOMETER

Yasemin ŞAHAN¹, Güler ÇELİK², Fikri BAŞOĞLU¹, Şeref GÜÇER³

¹Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Bursa

²TÜBİTAK Bursa Test ve Analiz Laboratuvarı (BUTAL), Bursa

³Uludağ Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü, Bursa

ÖZET: Günümüzde ülkemizde gıda maddeleri için eser element düzeylerinin saptanması gıda kimyası açısından önemini sürdürmektedir. Bu açıdan mg/kg ve µg/kg düzeyinde elementlerin doğru ve kesin sonuçlarla belirlenmesi halk sağlığı açısından önemlidir. Bölgemiz açısından büyük önem taşıyan sofralık zeytinlerde toksik özellik gösteren metal kaynaklarının belirlenmesi ve uygun çözüm yolları önerilmesi açısından çalışmamız önem taşımaktadır. Kullanılan analiz şemaları içinde hızlı ve hataya neden olmayan örnek hazırlama işlemlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Zeytin, AAS, Fe, Cu, Zn, Hg

ABSTRACT: Determined the level of minor elements in foods is important for food chemie in our country currently. In this respect to determine accurate and certain mg/kg and µg/kg levels of the elements is important for human health. Our research is important about designating the toxic metal resources in table olives which are important for our region, finding out suitable solving methods. Determining of sample preparing proceses which are rapid and don't cause any failure in analyses plans.

Key Words: Olive, AAS, Fe, Cu, Zn, Hg

GİRİŞ

Son yıllarda tüm dünyada Akdeniz diyetine karşı yoğun bir ilgi gözlenmektedir. Bu ilginin sebebi bu bölgede yaşayan kişilerin yaşam sürelerinin, dünyanın diğer bölgelerindekilere oranla daha uzun olmasının fark edilmesidir. Ayrıca bu bölgenin istatistiklerinde koroner kalp hastalıkları, bazı kanser türleri ve diyete bağlı olarak ortaya çıkan kronik hastalıkların daha az saptanmıştır. Bu açıdan diyetin bileşenleri ve bu gözlemlerle ilişkilendirilmesi önemli araştırma konuları arasındadır. Akdeniz diyetinin temel unsurlarından biri de zeytindir (Şahan vd 2001). Ülkemiz zeytin üretiminde 1.500.000 ton ile İspanya, İtalya ve Yunanistan'ın ardından dördüncü sırada yer almaktadır (Anonymous 2003).

Sofralık zeytinlerde bulunması müsaade edilen metal düzeyleri standartlara bağlanmış olup (Anonymous 1997a) bu düzeyler ya zeytinin yetiştiği ortamdan yada işleme ve depolama sırasındaki kirlenmelerden oluşabilmektedir. Bu metallerden Fe, Zn, Cu ve Hg gibi olanlar ürün kalitesindeki düşüş yanında insan sağlığını da ciddi şekilde tehdit etmektedir.

* Türkiye 8. Gıda Kongresinde sunulmuştur.

¹ E-posta: ysahan76@hotmail.com

İnsan vücudunda en fazla bulunan element olarak kabul edilen demir, hücre prosesinde, DNA, RNA ve protein sentezi; elektron taşınımı, hücre solunumu ve çoğalması, gen diziliminin düzenlenmesi gibi çok önemli roller üstlenmiştir (Andrews 1999, Andrews ve Fleming 1999, Andrews vd 1999, Boldt 1999, Conrad vd 1999, Lieu vd 2001).

Hücrelerdeki demir seviyesi çok yükseldiğinde toksik özellik göstermektedir. Demirin toksik etkisi, DNA hasarı; protein, lipid ve karbonhidrat sentezinin bozulması, hücre çoğalmasındaki bozukluklar şeklindedir (Halliwell 1992, Halliwell ve Gutteridge 1992, McCord 1998, Schaich 1992, Smith vd 1992). Ayrıca bazı kanser türleri özellikle kolon kanseri, atherosklerozis oluşumu, nörodejeratif bozukluklar (Parkinson ve Alzheimer hastalıkları) gibi rahatsızlıkların oluşum basamaklarında rol oynadığı bildirilmiştir (Youdim 1988, Dexter vd 1991, Smith vd 1992, Susman 1992, Knekt vd 1994).

Bakır bitki ve hayvan dokularında bulunan eser elementlerdendir. Fazla alınan bakır vücut için toksiktir ve vücuttaki bazı enzimlerin çalışmasını engellemektedir (Ponta et al., 2002). Bakırın seruloplazminle bileşik yapması vücut dengesi ve atılım için önemlidir. Atılım bloke edildiğinde veya azaldığında seruloplazmin düzeyi yükselmekte ve bakır birikerek, karaciğer, beyin, böbrek ve korneaya zarar vermekte ve seruloplazmin sentezi azalmaktadır. Ayrıca sinir sistemini de etkileyerek dimans (bunama) ve karaciğer fonksiyon bozukluklarına yol açmaktadır (Aksoy 2000). Berg vd 1998'de yaptıkları araştırmada, kan serumda yüksek miktarda bakır elementinin bulunması halinde kadınlarda kardiyovasküler ve trombotik riskin yükseldiğini saptamışlardır.

Çinko vücut dokuları için lüzumlu elementlerden biri olup eksikliği bazı sağlık problemlerine yol açarken fazlalığı ciddi toksik etkiler yaratmaktadır. Çinko fazla alımı ile beliren akut toksisite belirtileri arasında metalik tad, bulantı, kusma, abdominal kramplar, baş dönmesi ve üşüme sayılabilir (Saldamlı 1998). Uzun süreli yüksek doz alımlarında (6-8 hafta) immün reaksiyonlarda azalma, bakır ve demir alımında azalmalar ve dolayısıyla hipokromik anemi, neutropenia, leukopenia ve HDL / LDL oranında arzu edilmeyen değişikliklere neden olmaktadır (Anonymous 2001, Sandström 2001).

Civa, küçük miktarlarda alındığında bile ciddi toksik etkilere neden olan iz elementlerden biridir (Aduna de Paz vd 1997). Civa endüstride, ziraatta özellikle pestisitler ve fungusidlerde sıklıkla kullanılmaktadır (Elson ve Haas 2001). İnsanların civaya maruz kalma yollarından biri diyetlerdir. Gıdalarda civa miktarı üretilen ürüne, bu ürünün coğrafik durumuna, tarım ve endüstriyel tekniklere kadar bir çok değişik faktöre bağlıdır (Aduna de Paz vd 1997).

Civanın temel fonksiyonları tam olarak bilinmemekle birlikte büyük olasılıkla protein yapısını etkilediği ve protein üretimiyle ilgili fonksiyonlara zarar verdiği tahmin edilmektedir. Civa sülfidril, amin ve karbonil gruplarına karşı kuvvetli bir eğilim sergilemekte, geniş sahadaki enzim sistemlerini inaktive etmekte ve hücre membranının zedelenmesine yol açmaktadır. Sinir sistemi üzerindeki etkileri sonucu görülen ana problemlere rağmen civanın vücut fonksiyonları üzerindeki özel etkisi henüz açıklanamamıştır (Elson ve Haas 2001). Ayrıca civa, kromozomları tahrip etmekte ve uzun süre metil civaya maruz kalanlarda somatik kromozom anormallikleri ortaya çıkmaktadır (Aksoy 1984).

Civanın toksitesi onun kimyasal formuna bağlıdır. Civanın organik formu olan metil civa en tehlikelidir (Ubillus vd 2000). Civa zehirlenmesinin ilk belirtilerini; yorgunluk, uykusuzluk, alınganlık, sinirlilik, iştahsızlık, baş ağrısı ve zayıf hafıza oluşturur. Bunları baş dönmesi, titreme ürperme, koordinasyon bozukluğu ve depresyon gibi sinir sistemi semptomları izler. Daha ileri safhada çok sıklıkla el, ayak ve dudaklarda hissizlik, karıncalanma, kötü hafıza, duyma ve konuşmada azalma, felç ve psikoz görülür. Şiddetli civa zehirlenmesindeki diğer problemler böbrekler ve beyinde hasar ile hamilelerde doğum sorunlarıdır (Elson ve Haas 2001).

Gıdalardaki metal düzeylerinin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan tekniklerden biri Atomik Absorpsiyon Spektrometre olup çok geniş bir uygulama alanı bulmaktadır (Garrido vd 1994, Canfranc vd 2001). Ancak sonuçların kalitesi açısından en önemli basamak örnek hazırlamadır.

Bu çalışmamızda, bölgemiz açısından büyük önem taşıyan sofralık zeytinlerdeki metal düzeylerinin belirlenmesinde karşılaşılan analitik problemlerin ve hata kaynaklarının belirlenerek düzeltilme olanakları araştırılacaktır. Bu amaçla yaş yakma, kuru yakma ve kapalı sistemde yakma olmak üzere üç farklı örnek hazırlama yöntemi seçilerek kirlenme, kayıp ve girişim konuları sistematik olarak incelenecektir.

2. MATERYAL ve YÖNTEM

2.1. Örneklerin analize hazırlanması

Cam kavanozda bulunan siyah ve yeşil zeytin örnekleri marketten alınarak laboratuvara getirilmiş ve bekletilmeden analize hazırlanmıştır. Zeytinlerin çekirdekleri elle çıkarılarak porselen havanda ezilmiş ve iyice karıştırılarak homojen hale getirilmiştir. Buradan yaklaşık 1-5 gram örnek alınarak kuru yakma (Anonim, 1986a), yaş yakma (Anonim, 1986b) ve kapalı sistem yakma işlemleri uygulanmıştır. Ayrıca örneklere standart katma işlemi yapılmıştır.

2.2 Kullanılan Cihazlar

Zeytinlerde ağır metal iyonlarından; demir (Fe), bakır(Cu), çinko(Zn) ve civa(Hg) tayinleri (Anonymous 1987, Anonymous 1990a, Anonymous 1990b, Anonim 1997b)'ye göre Atomik absorpsiyon spektrofotometresinde yapılmıştır.

Demir, bakır, çinko analizleri için; Shimadzu marka AA-6701 model double beam D2 zemin düzeltmeli alev atomlaştırıcı sistem kullanılmıştır. Bu metaller için optimize edilen ölçüm koşulları Çizelge 1'de özetlenmiştir. Civa analizi için ise 253.7 nm'de, 0.5 slit aralığında HVG-1 hidrür sistemi AA-6710F ile kombine olarak kullanılmıştır.

Çizelge 1. Alevli AAS'de uygulanan işlem koşulları

Metal	Dalga boyu (nm)	Slit aralığı (nm)	Lamba akımı (mA)	Alev yüksekliği (mm)	Taşıyıcı gaz ve hızı (L/dak)
Fe	248.3	0.5	12	7	Hava- asetilen 2.2
Cu	324.8	0.5	6	7	Hava- asetilen 1.8
Zn	213.9	0.5	8	7	Hava- asetilen 2.0

AAS ölçümlerinde gerekli çözeltilerin hazırlanmasında kullanılan saf su Milli-Q (Millipore) deiyonize sistemi kullanılarak hazırlanmıştır. Standart çözeltiler olarak, Cu(Merck 1.19786), Fe(Merck 1.19781), Zn(Merck 1.19806), Hg(Merck 1.19789) kullanılmıştır.

3. ARAŞTIRMA SONUÇLARI ve TARTIŞMA

Farklı örnek parçalama işlemleriyle hazırlanan siyah ve yeşil zeytin örneklerinin metal miktarları ve % verim sonuçları Çizelge 2' de görülmektedir.

Demir tayininde % verim değerleri karşılaştırıldığında, her üç yönteminde birbirine yakın sonuçlar verdiği gözlenmiştir(Şekil 1).

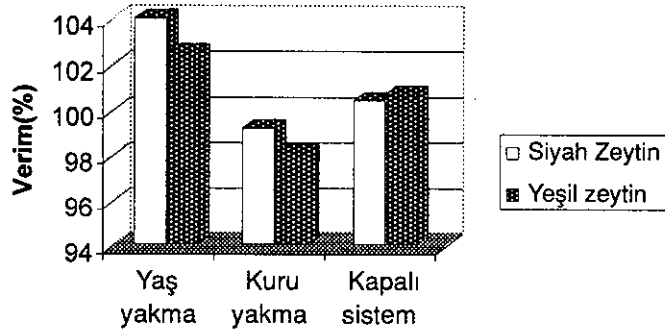
Çinko tayininde kapalı yakma sistemi ~% 99 verim değerleriyle en uygun yöntem olduğu gözlenmiştir(Şekil 2). Uçucu olması nedeniyle çinko miktarındaki en fazla kaybın ise kuru yakma yöntemiyle olduğu belirlenmiştir.

Bakır tayininde yaş ve kuru yakma örnek hazırlama yöntemlerinin uygun olmadığı ve örnekler bu yöntemlerle analize hazırlandığında bakır miktarının yaklaşık olarak ancak yarısının saptanabileceği gözlenmiştir. Bununla birlikte kapalı sistem yakma ile %96.9- 96.3'lük % verim saptanmıştır(Şekil 3).

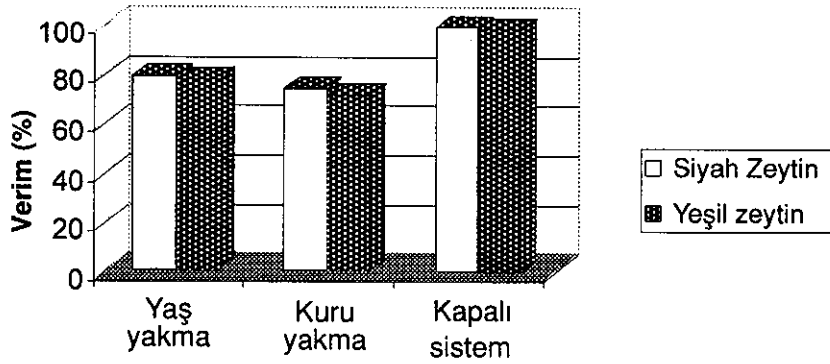
Çizelge 2.Siyah ve yeşil zeytin örneklerindeki metal miktarları ve % verim değerleri

Element	Örnek hazırlama metodları	Siyah zeytin (mg/kg)	% verim (%)	Yeşil Zeytin (mg/kg)	% verim (%)
Fe	Yaş Yakma	79.7 ± 7.1	104.0 ± 5.0	13.1 ± 1.1	102.5 ± 5.5
	Kuru Yakma	88.4 ± 1.8	99.2 ± 2.4	32.6 ± 8.8	98.1 ± 2.4
	Kapalı Sistem	122.0 ± 2.5	100.4 ± 1.6	19.2 ± 2.6	100.7 ± 2.6
Zn	Yaş Yakma	4.1 ± 0.1	78.6 ± 5.1	3.17 ± 0.32	76.8 ± 2.1
	Kuru Yakma	2.5 ± 1.0	73.5 ± 2.4	2.1 ± 0.2	71.6 ± 2.7
	Kapalı Sistem	5.5 ± 1.3	98.8 ± 0.9	6.1 ± 0.4	98.1 ± 5.9
Cu	Yaş Yakma	0.7 ± 0.1	56.2 ± 5.1	<0.1	50.9 ± 5.6
	Kuru Yakma	<0.1	46.6 ± 5.3	<0.1	42.4 ± 1.7
	Kapalı Sistem	0.9 ± 0.1	96.9 ± 2.1	<0.1	96.3 ± 0.9
Hg	Yaş Yakma	0.1* ± 0.1	18.0* ± 7.1	0.24* ± 0.1	20.2* ± 1.4
	Kuru Yakma	0.1* ± 0.0	2.9* ± 0.7	0.1* ± 0.0	4.3* ± 0.7
	Kapalı Sistem	0.27* ± 0.0	102.8* ± 0.6	1.1* ± 0.5	100.7* ± 0.6

* sonuçlar µg/kg olarak verilmiştir.

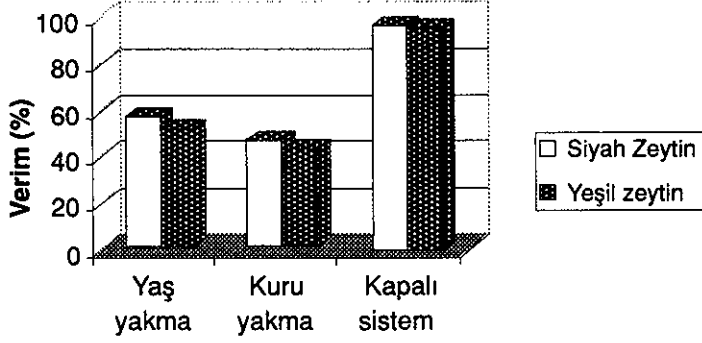


Şekil 1. Demir tayininde farklı örnek hazırlama yöntemlerinin % verim'lerinin karşılaştırılması

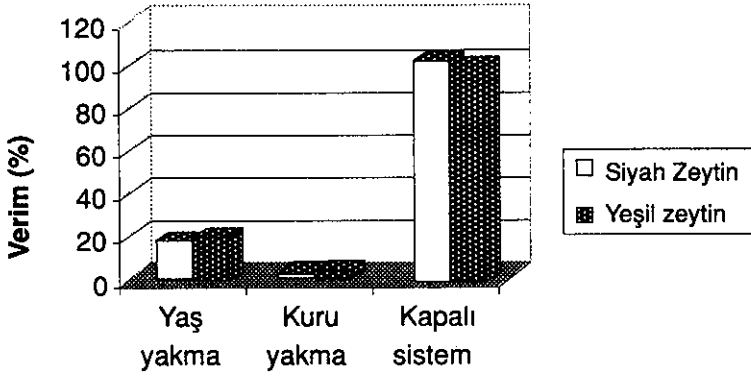


Şekil 2. Çinko tayininde farklı örnek hazırlama yöntemlerinin % verim'lerinin karşılaştırılması

Civa analizi için yapılan gözlemler çerçevesinde ancak kapalı sistem örnek yakma yönteminin kullanılacağı saptanmıştır(Şekil 4). Civa tayininde yaş yakma yöntemi uygulandığında civa II'nin okside olarak elementel civanın azalmasına neden olduğu, kuru yakma yönteminde ise yüksek sıcaklığa bağlı olarak civa miktarında kayıplar olduğu ifade edilmiştir (Navarro vd 1992, Guo ve Boosner 1993, Adelojo vd 1994).



Şekil 3. Bakır tayininde farklı örnek hazırlama yöntemlerinin % verim'lerinin karşılaştırılması



Şekil 4. Civa tayininde farklı örnek hazırlama yöntemlerinin % verim'lerinin karşılaştırılması

Metal tayinlerinde kuru yakma işlemi az kimyasal gereksinimi ve kolaylıkla çok numune ile çalışma olanağı nedeniyle tercih edilmesine rağmen yüksek sıcaklı uygulaması nedeniyle Zn, Cu, Fe, Hg gibi bazı metallerde kayıplara neden olduğu benzer şekilde yaş yakma işleminde daha az gözlenirse dahi kayıplar olduğu ifade edilmiştir (McClements 2003). Bu genel gözlemler zeytin örnekleri içinde geçerli bulunmuştur.

4. SONUÇ

Gıda örneklerinin metal düzeylerinin saptanmasında en önemli basamağı örnek parçalama oluşturmaktadır. Gıdanın yapısına ve aranılacak metale göre farklı yöntemlerin uygulanmasının gerekliliği gözlemlerimizde saptanmıştır. Aksi takdirde kayıplar oluşmakta ve doğru, duyarlı sonuç elde edilmesi mümkün olmamaktadır.

KAYNAKLAR

- Adelojo SB, Dhindso HS, Tondon RK 1994. Evaluation of some wet decomposition methods for mercury determination in biological and environmental materials by cold vapor atomic absorption spectroscopy. *Anal. Chim. Acta*, 285, 359-364.
- Aduna de Paz L, Alegria A, Barbera R, Fare, R, Lagarda MJ 1997. Determination of mercury in dry-fish samples by microwave digestion and flow injection analysis system cold vapor atomic absorption spectrometry. *Food Chemistry*, 58(1-2), 169-172.
- Aksoy M 1984. Beslenme ve Kanser. Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara. 177s.
- Aksoy M 2000. Beslenme Biyokimyası. Hatipoğlu Basım ve Yayımları San. Tic. Ltd. Şti. Ankara. 622 s.
- Andrews NC 1999. Disorders of iron metabolism. *N. Engl. J. Med.* 341, pp. 1986-1995.

- Andrews NC and Fleming, MD. 1999. Iron and erythropoiesis: lessons from anemic mice. *Mol. Biol. Hematopoiesis* **6**, pp. 363–370.
- Andrews NC, Fleming, MD and Levy JE. 1999. Molecular insights into mechanisms of iron transport. *Curr. Opin. Hematol.* **6**, pp. 61–64.
- Anonim. 1986a. Meyve, Sebze ve Mamullerinde Organik Maddelerin Parçalanması- Kül Etme metodu. TS 4888. Türk Standartları Enstitüsü .
- Anonim. 1986b. Meyve, Sebze ve Mamullerinde Organik Maddelerin Parçalanması- Yaş metod. TS 4887. Türk Standartları Enstitüsü
- Anonim. 1986b. Meyve, Sebze ve Mamulleri- Çinko Tayini- Atomik Absorpsiyon Spektrometrik Metot. TS 7573. Türk Standartları Enstitüsü
- Anonymous. 1990a. Fruits, vegetables and derived products- Determination of iron content by flame atomic absorption spectrometry. ISO 9526.
- Anonymous. 1990b. Association of Official Analytical Chemists(AOAC) Official Methods Of Analysis. Edited By K. Helrich. 15th Edition. Publish By the AOAC inc. Arlington, Virginia USA.
- Anonim. 1997a. Sofralık Zeytin. TS 774. Türk Standartları Enstitüsü .
- Anonim. 1997b. Meyve, Sebzeler ve Bunlardan Hazırlanan Mamuller- Bakır Tayini- Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrometrik Metot. TS ISO 7952. Türk Standartları Enstitüsü.
- Anonymous. 2001. Altmed Watch. Contemporary. OB/GYN. Vol 46(2); 136-138.
- Anonymous. 20003. Olive Production. FAO Production Yearbook. Vol.56, 261 p.
- Berg G, Kohlmeier L, Brenner. 1998. Effect of oral contraceptive progestins on serum cooper concentration. *European Journal of Clinical Nutrition.* Vol 52(10); 711-715.
- Boldt DH. 1999. New perspectives on iron: an introduction. *Am. J. Med. Sci.* **318**, pp. 207–212.
- Canfranc E, Abarca, A., Sierra, I., Marina, ML. 2001. Determination of iron and molybdenum in a dietetic preparation by flame AAS after dry ashing. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* **25**; 103-108.
- Conrad ME, Umbreit, JN and Moore EG. 1999. Iron absorption and transport. *Am. J. Med. Sci.* **318**, pp. 213–229.
- Dexter DT, Carayon A, Javoy-Agid F, Agid Y, Wells FR, Daniel S.E, Lees AJ, Jenner P, and Marsden CD. 1991. Alterations in the levels of iron, ferritin and other trace metals in Parkinson's disease and other neurodegenerative diseases affecting the basal ganglia. *Brain* **114**, pp. 1953–1975.
- Elson M, Haas, MD. 2001. Toxic minerals and heavy metals. *Healthy World online* [http:// www.healthy.net/osp/templots/article.asp?id=16608](http://www.healthy.net/osp/templots/article.asp?id=16608). Header title=minerals and action,17 p.
- Garrido MD, Frias I, Diaz C, Hardisson A. 1994. Concentrations of metals in vegetable edible oils. *Food Chemistry.* **50**; 237-243.
- Guo T, Boosner J. 1993. Determination of mercury in urine by flow- infection cold vapour atomic absorption spectrometry. *Anal. Chim. Acta*, **278**, 189-196.
- Halliwel B. 1992. Oxygen radicals as key mediators in neurological disease: fact or fiction?. *Ann. Neurol.* **32**, pp. 10–15.
- Halliwel B and Gutteridge JM. 1992. Biologically relevant metal ion-dependent hydroxyl radical generation. An update. *FEBS Lett.* **307**, pp. 108–112.
- Knekt P, Reunanen A, Takkuner, H, Aroma, A, Heliovara M, Hakulinen T. 1994. Body iron stores and risk of cancer. *Int. J. Cancer.* **56**(1994), 379-382.
- Lieu PT, Heiskala M, Peterson PA, Yang Y. 2001. The roles of iron in health and disease. *Molecular Aspects of Medicine.* **22**(1-2),1-87.
- McClements J. 2003.<http://www-unix.oit.umass.edu/~mcclemen/581Ash&Minerals.html>.
- McCord JM. 1998. Iron, free radicals, and oxidative injury. *Seminars Hematol.* **35**, pp. 5–12.
- Navvaro M, Lopez MC, Lopez H. 1992. Microwavw dissolution for the determination of mercury in fish by cold vapor atomic absorption spectrometry. *Anal. Chim. Acta*, **257**, 155-158.
- Ponta M, Frentiu, T Rusu AM, Cordes EA. 2002. Trace of Cu, Mg, and Zn in Aquatic Animals and Sediments from the Cris River Basin- West Romania. Part I: Statistical Evaluation of Data Obtained by Atomic Emission Spectrometry with Radiofrequency Capacitively Coupled Plazma Source and Flame Atomic Absorption Spectrometry. *Croatica Chemica Acta* **75**(1), 291-306.
- Saldamlı İ. 1998. Gıda Kimyası. Hacettepe Üniversitesi Yayınları. Ankara, 527 s.

- Sandström B. 2001. Micronutrient interactions: effects on absorption and bioavailability. *British Journal of Nutrition*. Vol(2), 181-185.
- Schaich KM. 1992. Metals and lipid oxidation. *Lipids* 27, pp. 209–218.
- Smith C, Mitchinson MJ, Aruoma OI and Halliwell B. 1992. Stimulation of lipid peroxidation and hydroxyl-radical generation by the contents of human atherosclerotic lesions. *Biochem. J.* 286, pp. 901–905.
- Sussman HH. 1992. Iron in cancer. *Pathobiology* 60, pp. 2–9.
- Şahan Y, Yiğit A, Başoğlu F. 2001. Akdeniz Diyeti ve Zeytin yağının Sağlık Üzerine Etkisi. II. Uluslar arası Altınoluk "Antandros" Zeytincilik Sempozyumu. 17-19 Ekim 2001. 89-103s.
- Ubillus F, Alegria A, Barbera R, Fare R, Lagarda MJ. 2000. Methylmercury and inorganic mercury determination in fish by cold vapour generation atomic absorption spectrometry. *Food Chemistry*, 71, 529-533.
- Youdim MB. 1988. Iron in the brain: implications for Parkinson's and Alzheimer's diseases. *Mount Sinai J. Med.* 55, pp. 97–101.