

**ZEYTİN ÖRNEKLERİNDE ELEKTRO TERMAL ATOMİK ABSORPSİYON
SPEKTROMETRESİ(ET-AAS) İLE KURŞUN VE KADMIYUM TAYİNİNDE ÖRNEK HAZIRLAMA
METODLARININ KARŞILAŞTIRILMASI**

Yasemin ŞAHAN* Güler ÇELİK** Fikri BAŞOĞLU*** Şeref GÜÇER****

ÖZET

İnsan sağlığındaki riskler nedeniyle son yıllarda gıdalardaki çeşitli kimyasal kontaminantların belirlenmesine yönelik birçok çalışma yapılmıştır. Yüksek toksiteli metallerden kurşun ve kadmiyum en yaygın kontaminantlardır. Bu metallerin yüksek miktarlarda gıdalarda bulunması, kalp damar, böbrek, sinir sistemi ve kemir rahatsızlıkları gibi birçok hastalıkla ilişkilidir. Ayrıca kanserojenik, mutajenik ve teratejenik etkilere de neden olabilmektedir.

Ülkemiz sofralık zeytin ihtiyacının önemli bölümünü karşılayan Bursa bölgesindeki zeytinlerin kurşun ve kadmiyum miktarlarının saptanması bu açıdan önemlidir. Çalışmamızda değinilen elementlerin grafit fırınlı AAS ile tayininde örnek hazırlama basamaklarının seçiminde yakma metodlarının karşılaştırılması yapılmaktadır.

SUMMARY

Comparison of Preparing Sample For Lead And Cadmium Analysis in Olive Samples By Electrothermal Atomic Absorbtion Spectrometer (ET-AAS)

In recent years, a number of studies have determined the occurrence of various chemical contaminants in foodstuffs because of the human health risks for general populations. Lead and cadmium are among the most abundant heavy metals and particularly toxic. The excessive content of these metals in food is associated with etiology of a number of diseases, especially with cardiovascular, kidney, nervous as well as bone diseases. In addition, they are also implicated in causing carcinogenic, mutagenic and teratogenic.

It is important that determined these metals in olives from Bursa region which supply most of demanding table olives in our country. In our research comparison of ashing processes for lead and cadmium analysis in olive samples by ET-AAS.

*Dr. .Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü - Bursa

**Bursa TÜBİTAK Test ve Analiz Laboratuvarı(BUTAL)

***Prof. Dr. .Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü - Bursa

****Prof. Dr. .Uludağ Üniversitesi Fen - Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü - Bursa

1. GİRİŞ

Günümüzde artan endüstrileşme faaliyetleri, metal kirliliği gibi bazı olumsuzlukları da beraberinde getirmiştir. Toksik özellik gösteren metallere kurşun ve kadmiyuma sıklıkla çevremizde ve vücudumuzda rastlanmakta ve sağlığımızı etkileri nedeniyle de en fazla arananlar arasındadır.

Kurşun nörotoksik bir zehir olup hem sinir sistemine ve hem de beyine etki ettiği rapor edilmektedir. Bu konudaki bilgilerin tam olmamasına rağmen, kurşun büyük bir ihtimalle kalsiyum, demir, bakır ve çinko gibi bazı minerallerin fonksiyonlarına zarar verdiği düşünülmektedir(Aydemir ve İnce 1988). Kalsiyum yerine kemiklere yerleştiği ve buralarda depolanarak yapıda yumuşamalara neden olduğu belirtilmiştir. Hemoglobin sentezini azalttığı ve hücre membranıyla reaksiyona girerek, hücrelerin geçirgenliğinin artmasına sebep olduğu, dolayısıyla hasar oluşturduğu veya bu hücreleri öldürebildiği konusunda görüşler yaygındır(Correia ve ark., 2000; Elson ve Haas 2001).

Kurşunun bağışıklık sistemini de etkileyerek bakteri ve virüsleri karşı direnci düşürdüğü ve enfeksiyonların artmasına sebep olduğu, aynı zamanda böbrek tümörleri için risk faktörlerini ve kanser riskini arttırdığı ifade edilmiştir(Elson ve Haas 2001).

Kurşun toksitesinde en büyük risk grubunu çocukların oluşturduğu ve hiperaktivite, öğrenmede yetenek azalması, öğrenme isteksizliği, genellikle çabuk heyecana kapılma, gündüz hayalleri, kolayca hedefine ulaşamama gibi öğrenme zararları şeklinde belirtiler gösterdiği belirtilmiştir (Elson ve Haas 2001).

Kadmiyum karsinogen olarak bilinen toksik metallere biri olduğu bilinmektedir. Kadmiyum zehirlenmesinde kritik organın böbrekler olduğu, burada protein ve şeker gibi maddelerin yeniden absorpsiyonunu geri dönüşümsüz olarak düşürerek doku hasarlarına yol açtığı ve kanser oluşumuna neden olabildiği ifade edilmiştir. Buna ek olarak akciğer ve prostat kanseri riskini de arttırdığı, ayrıca hipertansiyona ve kalp hastalıklarına da neden olabildiği rapor edilmiştir. Kadmiyumun kemiklerde ve eklem yerlerinde ağırlara sebep olduğu bildirilmektedir (Aydemir ve İnce 1988).

Biyolojik örneklerde kurşun ve kadmiyum düzeylerinin belirlenmesinde birçok analiz metot kullanılmakla birlikte, duyarlılığının uygun olması nedeniyle yaygın olarak elektrotermal atomik absorpsiyon spektrometresi(ET-AAS) kullanılmaktadır(Freschi ve ark., 2001). Ancak sonuçların kalitesi ve güvenilirliği açısından örnek hazırlama basamağı büyük önem taşıdığı bilinmektedir(Şahan ve ark., 2005).

Çalışmamızda, bölgemiz açısından büyük önem taşıyan zeytinlerin değinilen elementlerin düzeylerinin belirlenmesinde karşılaşılan analitik problemler ve bunların oluşturduğu hatalar belirlenerek düzeltilme olanakları değişik kalibrasyon metotları uygulanarak araştırılacaktır. Bu amaçla en önemli hata kaynağı olarak görülen örnek hazırlama basamağının seçiminde mikrodalga kapalı sistem ve klasik yaş yakma metodları karşılaştırılırken matriksten gelebilecek interferensler de asit karışımları olarak incelenecektir.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Örneklerin Analize Hazırlanması

Analizde kullanılacak siyah zeytinler polietilen torbalarda alınarak laboratuvara getirilmiştir. Zeytinlerin çekirdekleri elle çıkarılarak porselen havanda ezilmiş ve iyice karıştırılarak homojen hale getirilmiştir. Hazırlanan örneklere klasik ve mikrodalga kapalı sistem yaş yakma metodları uygulanmıştır. Ayrıca interferenslerin gözlenmesi açısından; nitrik asit(HNO₃), nitrik asit + hidrojen peroksit (HNO₃ + H₂O₂), hidroklorik asit(HCl) ve hidroklorik asit+ hidrojen peroksit(HCl + H₂O₂) asit karışımları denenmiştir. Kullanılan asit karışımlarının hazırlanmasında High-Purity Standarts Merck kullanılmıştır. Klasik yaş yakma uygulamasında yaklaşık olarak 5 g örnek alınarak 50 ml asit ilave edilmiş ve hot plate üzerinde yakılmış, asit ve hidrojen peroksit karışımı olanlara ise gereği kadar hidrojen peroksit ilave edilmiştir. Mikro dalga ile yakma işleminde ise yaklaşık 0.5 g örnek alınarak asitler 5 ml, asit ve peroksit karışımı için 5:1oranı kullanılmıştır. Mikrodalga kapalı sistem yakma işlemi, Perkin Elmer, Anton Paar Multiwave 3000'de PTFE tüpler kullanılarak maksimum 2400C ve 60 bar basınç uygulanmıştır. Ayrıca kalibrasyon metodu olarak örneklere standart katma işlemi uygulanmıştır.

2.2. Kullanılan Cihazlar

Kurşun ve kadmiyum analizleri için, Zeeman düzeltmeli Varian SpectrAA 220 Z atomik absorpsiyon spektrofotometresi, Varian GTA 110 Z grafit fırınla kombine edilerek kullanılmıştır. Uygulanan parametreler Çizelge 1 ve 2'de özetlenmiştir.

Çizelge 1. ET-AAS'de Uygulanan İşlem Koşulları

Metal	Dalga boyu (nm)	Slit aralığı (nm)	Lamba akımı (mA)	Alev yüksekliği (mm)	Taşıyıcı gaz ve hızı (L/dk)
Pb	283.3	0.5	5	-	Argon - 3.0
Cd	228.8	0.5	4	-	Argon - 3.0

Grafit fırın uygulamasında matriks düzenleyici olarak Palladyum tuzu (High – Purity Standarts MM-9100) kullanılmıştır(10 ml Pd + 10 ml örnek).

AAS ölçümlerinde gerekli çözeltilerin hazırlanmasında kullanılan saf su için Milli-Q (Millipore) deiyonize sistemi kullanılmıştır. Standart çözelti olarak, Pb(Merck 1.19776), Cd(Merck 1.19777) kullanılmıştır.

Çizelge 2. Grafit Fırın Sıcaklık Programı

Metal	Basamak	Sıcaklık(°C)	Süre(s)
Pb	1	85	5.0
	2	95	40.0
	3	120	10.0
	4	400	5.0
	5	400	1.0
	6	400	2.0
	7	2100	1.0
	8	2100	2.0
	9	2100	2.0
Cd	1	85	5.0
	2	95	40.0
	3	120	10.0
	4	250	5.0
	5	250	1.0
	6	250	2.0
	7	1800	0.8
	8	1800	2.0
	9	1800	2.0

3. SONUÇ VE TARTIŞMA

Zeytin örneklerinin değişik metot ve farklı asit karışımları kullanarak elde edilen sonuçlardan bazıları Çizelge 3'te görülmektedir.

Çizelge 3. Bazı Zeytin Örnekleri İçin Bulunan Sonuçlar(ng/g)

Asit ve Karışımları	Klasik Yaş Yakma		Mikrodalga Kapalı Sistem Yakma	
	Pb	Cd	Pb	Cd
HCl	11,80 ± 0.12	5.12 ± 0.22	33.22 ± 0.28	13.18 ± 0.12
HCl + H ₂ O ₂	25,31 ± 0.31	9.71 ± 0.18	58.69 ± 0.16	23.85 ± 0.36
HNO ₃	32,11 ± 0.11	8.16 ± 0.11	65.79 ± 0.14	16.26 ± 0.11
HNO ₃ + H ₂ O ₂	56,85 ± 0.13	12.63 ± 0.09	126.11 ± 0.16	27.13 ± 0.13

Siyah zeytinlerin iki farklı yakma metodu ve değişik asit karışımları kullanılarak elde edilen örneğe katılan standart çözeltiler için bulunan % verim değerleri çizelge 4'de görülmektedir.

Çizelge 4. Zeytin Örneklerinin % Verim Değerleri

Asit ve Karışımları	% VERİM*			
	Klasik Yaş Yakma		Mikrodalga Kapalı Sistem Yakma	
	Pb	Cd	Pb	Cd
HCl	32.91 ± 0.16	36.69 ± 0.53	68.73 ± 0.47	74.26 ± 0.14
HCl + H ₂ O ₂	41.52 ± 0.21	56.96 ± 0.46	73.68 ± 0.23	100.86 ± 0.27
HNO ₃	40.37 ± 1.03	46.97 ± 0.89	82.48 ± 0.12	84.55 ± 0.51
HNO ₃ + H ₂ O ₂	59.48 ± 0.42	50.45 ± 0.33	100.15 ± 0.10	98.85 ± 0.32

* örneklere 100 ng/g standart katılmıştır.

Örnek hazırlanmasında kullanılan yöntemlerden kapalı sistem yakma metodu her iki metal içinde en iyi sonucu vermiştir. Yaş yakma metodu uygulandığında metal miktarlarında yaklaşık olarak %50'lik bir kayıp gözlenmektedir(Çizelge 3).

Uygulanan asit karışımları içerisinde HNO₃ + H₂O₂ karışımı, iki metot içinde en iyi sonucu vermiştir. Bunu HCl + H₂O₂ ve HNO₃ izlerken, en kötü sonuç HCl'de gözlemlenmiştir.

Zeytin örnekleri için metaller arasında bir karşılaştırılma yapıldığında ise hangi metot kullanılırsa kullanılsın kurşun belirlenmesinde HCl ve karışımlarının uygun olmadığı ve örneklerin parçalanmasında HNO₃ + H₂O₂ kullanılmasının doğru sonuçlar vereceği saptanmıştır. Buna karşın kadmiyum aranmasında kapalı sistem uygulanarak metalin uçması engellendiğinde HNO₃ + H₂O₂ yanında HCl + H₂O₂ karışımının da kullanılabileceği belirlenmiştir. Gıdalardaki kurşun ve kadmiyum miktarlarının belirlen-

mesinde birçok araştırmacı HNO_3 ve karışımlarını kullanmaktadır(Oniawo ve ark. 1999; Correie ve ark. 2000; Lopez ve ark. 2000; Demirözü ve Saldamlı, 2001).

Gıda örneklerinin metal düzeylerinin doğru ve kesin olarak saptanması değişik laboratuvarlarda alınan sonuçların karşılaştırılması ve ülkemizdeki gıda ürünlerinin taranması ve halk sağlığı açısından önem arz eder. Bu açıdan tüm analiz basamaklarının incelenmesi özellikle örnek parçalama basamağındaki hataların belirlenmesi önemli bulunmuştur. Ayrıca interferenslerin oluşabileceği kalibrasyon metotları karşılaştırılarak standart katma ile giderilme olanakları araştırılmalıdır. Spektral girişimler açısından da en az girişim verebilecek Zeeman düzeltmeli ET-AAS kullanılmalı ve buda yeterli gelmiyorsa matriks ayırma işlemlerine gidilmelidir.

4. KAYNAKLAR

- AYDEMİR, O., ve F. İNCE., 1988. Bitki Besleme. Dicle Üniversitesi Eğitim Fak.Yayınları. No:2, Diyarbakır. 690s.
- CORREIA, P.R.M., OLIVEIRA, E., OLIVEIRA, P.V. 2000. Simultaneous determination of Cd and Pb in foodstuffs by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 405, 205-211.
- DEMİRÖZÜ, B., SALDAMLı, I. 2001. Variation of heavy metal contents in frozen vegetable products. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 67:416-422.
- ELSON, M., M.D.HAAS., 2001. Toxic minerals and Heavy Metals. *Healthy World* online <http://www.healthy.net/osp/templotes/article.asp?id=16608> Header title=Minerals & action. 17 P.
- FRESCHI, G.P.G., DAKUZAKU, C.S., MORAES, M., NOBREGA, J.A., NETO, J.A.G. 2001. Simultaneous determination of Cd and Pb in wine by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B* 56, 1987-1993.
- LOPEZ, F.F., CABRERA, C., LORENZO, N.L., LOPEZ, M.L. 2000. Aluminum content in foods and beverages consumed in the Spanish diet. *Journal of Food Science*. 65(2); 206-210.
- ONIAWO, P.C., ADETOLO, I.G., IWEGBUE, C.M.A., OJO, M.F., TELA, O.O. 1999. Trace metals composition of some Nigerian beverages and drinks. *Food Chemistry*. 66, 275-279.
- ŞAHAN, Y., ÇELİK, G., BAŞOĞLU, F., GÜÇER, Ş. 2005. Atomik absorsiyon spektrofotometresi ile zeytin örneklerinde demir, bakır, çinko ve civa analizleri örnek hazırlama basamağının optimizasyonu. *Gıda*, 30(2); 89-95.