

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

OKSİDATİF STRESE MARUZ KALAN RATLARDA
GERANİOL VE GERANİOL KSANTAT MADDELERİNİN BAZI
METALLER ÜZERİNE ETKİLERİ

DOKTORA TEZİ
MEHMET GÜNEŞ
02117202

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 20 EKİM 2010

Tezin Savunulduğu Tarih : 11 KASIM 2010

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Habibe ÖZMEN (F.Ü.)
Diğer Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Alaaddin ÇUKUROVALI (F.Ü.)
Prof. Dr. İbrahim YILMAZ (K.M.Ü.)
Doç. Dr. Niyazi BULUT (F.Ü.)
Doç. Dr. Hülya TUNCER (F.Ü.)

KASIM-2010

ÖNSÖZ

Vücudumuzu oluşturan her hücrede serbest radikallere ve bunların oluşturduğu hasarlara karşı antioksidan savunma mekanizması mevcuttur. Bu savunma mekanizmasına yardımcı olan ve dışarıdan besinlerle alınan doğal maddelerden biride terpen türevli olan geranioldür. Bu çalışmada oksidatif stres oluşturulan ratlarda geraniol ve geraniolden sentezlenmiş olan geraniol ksantat maddelerinin eser elementler üzerine etkileri incelenmiştir.

Bu tez çalışmasının planlanmasında, yürütülmesinde ve çalışmalarım süresince destek ve ilgisini esirgemeyen bilgi, tecrübe ve hoşgörülerinden yararlandığım Sayın Hocam Doç. Dr. Habibe ÖZMEN'e sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım.

Araştırmalarım sırasında bilgi, teknik ve hoşgörülerinden yararlandığım Sayın Doç. Dr. A. Orhan GÖRGÜLÜ' ye teşekkürü bir borç bilirim.

Doktora çalışması süresince verdikleri desteklerden dolayı Yrd. Doç. Dr. Ahmet ÖZKAYA'ya, Furkan ÖZEN' e ayrı ayrı teşekkür ederim.

Mehmet GÜNEŞ
ELAZIĞ – 2010

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ	II
İÇİNDEKİLER.....	III
ÖZET	VI
SUMMARY	VII
ŞEKİLLER LİSTESİ	VIII
TABLolar LİSTESİ	X
SEMBOLLER ve KISALTMALAR LİSTESİ.....	XI
GİRİŞ	1
1.1. Serbest Radikaller.....	1
1.1.1. Serbest Radikallerle Antioksidan İlişkisi.....	4
1.2. Terpenler ve Geraniol.....	7
1.2.1. Terpenler	7
1.2.2. Monoterpenler ve Yapıları.....	8
1.2.3. Geraniol.....	9
1.3. Ksantat Türevli Maddeler ve Özellikleri	11
1.3.1. Ksantatların Özellikleri.....	11
1.3.2. Ksantat Kompleksleri	11
1.4. Eser Elementler	12
1.4.1. Radikallerin Eser Elementlerle İlişkisi	16
1.5. Örneklerin Çözünürleştirme Teknikleri.....	19
1.5.1. Yükseltgeyici Proseslerle Çözme.....	20
1.5.1.1. Kuru Çözme	20
1.5.1.2. Yaş Çözme	20
1.5.1.2.1. Açık Sistemde Yaş Çözme.....	20
1.5.1.2.2. Kapalı Sistemde(Yüksek Basınç Altında) Mikrodalga ile Çözme.....	21
1.5.1.2.2.1. Mikrodalga Çözünürleştirme Sisteminin Mekanizması ve Klasik Çözünürleştirme Yöntemiyle Karşılaştırılması.....	21
1.5.1.3. Sadece Seyreltmeyle Örneklerin Analize Hazırlanması.....	28
1.5.1.4. Fotooksidasyonla Çözme	28
1.6. Analiz Yöntemleri	29

	<u>Sayfa No</u>
1.6.1. Spektroskopinin Tanımı ve Sınıflandırılması	29
1.6.2. Atomik Spektroskopi	30
1.6.3. Absorpsiyonun Esasları	31
1.6.4. Analiz Hattı Seçimi	32
1.6.5. Alevdeki Atomların Spektroskopik Davranışları.....	32
1.6.6. Alev Spektroskopisinin Türleri	33
1.6.7. Atomik Soğurum ve Atomik Yayınım Hat Genişlikleri.....	33
1.6.8. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi.....	33
1.6.8.1. Atomik Soğurum Ölçümü.....	34
1.6.9. Atomik Spektroskopisinin Düzenegi.....	34
1.6.9.1. Işık Kaynağı	35
1.6.9.2. Atomlaştırıcı.....	38
1.6.9.2.1. Alev	38
1.6.9.2.1.1. Alev Başı.....	39
1.6.9.2.2. Sloted Tube Atom Trap (STAT)	40
1.6.9.2.3. Alevde Atomlaşma Mekanizması ve Kimyasal Tepkimeler	41
1.6.9.2.4. Elektrotermal Atomlaştırıcılar.....	42
1.6.9.2.4.1. Grafit Atomlaştırıcı.....	43
1.6.9.3. Monokromatörler.....	43
1.6.9.4. Detektör ve Göstergeler	44
1.6.10. Atomik Soğurum Spektrometresinde Girişimler.....	44
1.6.10.1. Fiziksel Girişim	45
1.6.10.2. Kimyasal Girişim.....	46
1.6.10.3. İyonlaşma Girişimleri	47
1.6.10.4. Spektral Girişim	47
1.6.10.5. Zemin Girişimi	47
1.7. Çalışmanın Amacı	48
2. MATERYAL ve METOT	49
2.1. Ölçümlerde Kullanılan Düzenekler	49
2.2. Kullanılan Standart Çözeltiler ve Reaktifler	49
2.3. Geraniol Ksantatin Sentez ve Karakterizasyonu.....	49
2.3. İnceleme Materyali.....	55

	<u>Sayfa No</u>
2.4. Deney Hayvanları.....	55
2.5. Doku Örneklerinin Çözünürleştirilmesi	56
2.6. Doku Örneklerinin Analiz Edilmesi.....	57
2.7. Sonuçların Değerlendirilmesi.....	57
2.8. Analiz Edilen Elementlerin Kalibrasyon Eğrilerinin Çizilmesi.....	57
3. BULGULAR	61
3.1. Karaciğer Dokusu Tablosu ve Eser Elementlerin Değerlendirilmesi.....	61
3.2. Böbrek Dokusu Tablosu ve Eser Elementlerin Değerlendirilmesi	65
3.3. Akciğer Dokusu Tablosu ve Eser Elementlerin Değerlendirilmesi	69
3.4. Kas Dokusu Tablosu ve Eser Elementlerin Değerlendirilmesi.....	73
4. SONUÇLAR ve TARTIŞMA	77
5. ÖNERİLER	82
KAYNAKLAR	83
ÖZGEÇMİŞ	91

ÖZET

H₂O₂ ile oksidatif strese maruz bırakılan ratların karaciğer, akciğer, böbrek, kas dokularındaki Fe, Zn, Cu, Ca, Mn ve Mg elementlerinin düzeyleri üzerine intraperitoneal yolla verilen geraniol ve geraniol ksantatın koruyucu etkileri araştırıldı. Bu amaçla geraniol, geraniol ksantat, H₂O₂ ve kombinasyonlu gruplar kullanıldı.

H₂O₂ grubu demir düzeyi tüm gruplarda kontrol grubuna göre arttığı gözlemlendi ($p < 0.001$, $p < 0.01$). Geraniol ve geraniol ksantat maddeleri etkisi ile kombinasyonlu grupların demir düzeyleri H₂O₂ grubuna göre genel olarak düştüğü gözlemlendi. H₂O₂ grubu kalsiyum düzeyi genel olarak tüm dokularda kontrol grubuna göre arttığı gözlemlendi ($p < 0.01$, $p < 0.05$). Geraniol ve geraniol ksantat maddelerinin etkisi ile kombinasyonlu grupların Ca düzeyleri H₂O₂ grubuna göre nispeten düşürücü etkisi gözlemlendi. H₂O₂ grubu Zn düzeyi böbrek, akciğer ve kas dokularında kontrol grubuna göre azaldığı tespit edildi ($p < 0.05$, $p < 0.001$, $p < 0.01$). Özellikle akciğer dokusunda geraniol ve geraniol ksantat grupları Zn düzeyi kontrol grubuna göre arttığı gözlenirken ($p < 0.05$), diğer dokularda ise geraniol ve geraniol ksantat maddeleri verilen tüm grupların Zn düzeyi kontrol grubuna göre yakın çıktığı gözlemlendi. H₂O₂ grubu Mn düzeyi karaciğer ve böbrek dokularında kontrol grubuna göre azaldığı tespit edilirken ($p < 0.01$), diğer gruplar arasında istatistiksel bir fark olmadığı gözlemlendi ($p > 0.05$). Tüm grupların Cu ve Mg düzeyleri arasında genel olarak istatistiksel bir fark olmadığı gözlemlendi ($p > 0.05$).

Deney sonuçlarımıza göre oksidatif stres durumlarında oluşan yüksek Fe ve Ca düzeylerini geraniol ve geraniol ksantat maddelerinin düşürdüğü, oksidatif stres durumunda oluşan düşük Zn düzeylerinin ise bu maddelerin arttırdığını düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Geraniol, Geraniol Ksantat, H₂O₂, Karaciğer, Akciğer, Böbrek, Kas, Rat, Fe, Ca, Zn, Cu, Mg, Mn, AAS ve AES

SUMMARY

Effects on Some Metals of Geraniol and Geraniol Xanthate on Rats Induced Oxidative Stress

The conservative effects of intraperitoneally administered geraniol and geraniol xanthate on the levels of elements Fe, Zn, Cu, Ca, Mn and Mg in liver, lung, kidney, muscle tissues of rats exposed to oxidative stress by H₂O₂ have been investigated. For this purpose, geraniol, geraniol xanthate, H₂O₂ and combination groups were used.

H₂O₂ group iron level was observed to increase in all groups compared to the control group ($p < 0.001$, $p < 0.01$). It was observed that iron levels of combination groups generally dropped compared to the H₂O₂ group due to the effects of geraniol and geraniol xanthate. H₂O₂ group calcium level was generally observed to increase in all tissues compared to the control group ($p < 0.01$, $p < 0.05$). It was observed that Ca levels of combination groups relatively dropped compared to the H₂O₂ group due to the effects of geraniol and geraniol xanthate. H₂O₂ group Zn level was observed to decrease in kidney, lung and muscle tissues compared to the control group ($p < 0.05$, $p < 0.001$, $p < 0.01$). While it was observed that geraniol and geraniol xanthate groups Zn levels increased especially in lung tissue compared to the control group ($p < 0.05$), Zn levels of all groups which were administered geraniol and geraniol xanthate were observed to show values similar to the control group. While H₂O₂ group Mn level was observed to decrease in liver and kidney tissues compared to the control group ($p < 0.01$), no statistical differences were found between the other groups ($p > 0.05$). In general terms, no statistical differences were found between Cu and Mg levels of all the groups ($p > 0.05$).

According to the results of our trials, we think that geraniol and geraniol xanthate decrease high Fe and Ca levels that formed in the case of oxidative stress whereas these substances increase low Zn levels that formed in the case of oxidative stress.

Key Words: Geraniol, Geraniol Xanthate, H₂O₂, Liver, Lung, Kidney, Muscle, Rat, Fe, Ca, Zn, Cu, Mg, Mn, AAS and AES

ŞEKİLLER LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1.1. Antioksidanların sınıflandırılması	6
Şekil 1.2. İzoterpenlerin yapısı	7
Şekil 1.3. Terpenlerin genel yapıları.....	9
Şekil 1.4. Geraniolün yapısı.....	9
Şekil 1.5. Mikrodalga enerji kullanımında, çözünürleştirme kaplarının büyük kısmında oluşan basınç ve sıcaklığın zamana bağlı olarak değişimi.....	24
Şekil 1.6. Basınç ve sıcaklık kontrollü mikrodalga çözünürleştirme cihazı ile HNO ₃ karışımı kullanılarak yapılan çözünürleştirme işlemi sonucu değişen basınç ve sıcaklık eğrileri.	26
Şekil 1.7. Basınç ve sıcaklık kontrollü mikrodalga çözünürleştirme cihazı ile HNO ₃ /H ₂ O ₂ karışımı kullanılarak yapılan çözünürleştirme işlemi sonucu değişen basınç ve sıcaklık eğrileri.....	27
Şekil 1.8. Atomik Spektroskopinin sınıflandırılması.....	29
Şekil 1.9. Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi şeması	35
Şekil 1. 10. Atom rezonans hat soğurumu	35
Şekil 1.11. Oyuk katot lambası.....	36
Şekil 1.12. Atomik soğrumda kullanılan başlıklar	39
Şekil 1.13. Slotted Tube Atom Traper (STAT).....	40
Şekil 1.14. Alevli AAS’ de örnek çözeltisinin atomlaştırıcıya kadar izlediği yol	42
Şekil 1.15. Grafit tüp.....	43
Şekil 1.16. Fotoçoğaltıcı tüp	45
Şekil 2.1. Geraniol bileşiğinin IR spektrumu	51
Şekil 2.2. Geraniol ksantat bileşiğinin IR spektrumu	51
Şekil 2.3. Geraniol bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu	53
Şekil 2.4. Geraniol bileşiğinin ¹³ C-NMR spektrumu	53
Şekil 2.5. Geraniol ksantat bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu	54
Şekil 2.6. Geraniol ksantat bileşiğinin ¹³ C-NMR spektrumu.....	54
Şekil 2.7. Fe içinkalibrasyon grafiği.....	58
Şekil 2.8. Zn için kalibrasyon grafiği.....	58
Şekil 2.9. Mg içinkalibrasyongrafiği	59

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.10. Cu için kalibrasyon grafiği	59
Şekil 2.11. Ca içinkalibrasyongrafiği	60
Şekil 2.12. Mn için kalibrasyon grafiği	60
Şekil 3.1. Karaciğer dokusunda tesbit edilen Zn miktarı (mg/kg).....	62
Şekil 3.2. Karaciğer dokusunda tesbit edilen Fe miktarı (mg/kg)	62
Şekil 3.3. Karaciğer dokusunda tesbit edilen Ca miktarı (mg/kg).....	63
Şekil 3.4. Karaciğer dokusunda tesbit edilen Mn miktarı (mg/kg).....	63
Şekil 3.5. Karaciğer dokusunda tesbit edilen Mg miktarı (mg/kg).....	64
Şekil 3.6. Karaciğer dokusunda tesbit edilen Cu miktarı (mg/kg)	64
Şekil 3.7. Böbrek dokusunda tesbit edilen Zn miktarı (mg/kg)	66
Şekil 3.8. Böbrek dokusunda tesbit edilen Mn miktarı (mg/kg)	66
Şekil 3.9. Böbrek dokusunda tesbit edilen Mg miktarı (mg/kg)	67
Şekil 3.10. Böbrek dokusunda tesbit edilen Fe miktarı (mg/kg).....	67
Şekil 3.11. Böbrek dokusunda tesbit edilen Cu miktarı (mg/kg)	68
Şekil 3.12. Böbrek dokusunda tesbit edilen Ca miktarı (mg/kg).....	68
Şekil 3.13. Akciğer dokusunda tesbit edilen Cu miktarı (mg/kg)	70
Şekil 3.14. Akciğer dokusunda tesbit edilen Ca miktarı (mg/kg)	70
Şekil 3.15. Akciğer dokusunda tesbit edilen Fe miktarı (mg/kg).....	71
Şekil 3.16. Akciğer dokusunda tesbit edilen Mg miktarı (mg/kg)	71
Şekil 3.17. Akciğer dokusunda tesbit edilen Mn miktarı (mg/kg)	72
Şekil 3.18. Akciğer dokusunda tesbit edilen Zn miktarı (mg/kg)	72
Şekil 3.19. Kas dokusunda tesbit edilen Mn miktarı (mg/kg).....	74
Şekil 3.20. Kas dokusunda tesbit edilen Zn miktarı (mg/kg).....	74
Şekil 3.21. Kas dokusunda tesbit edilen Mg miktarı (mg/kg).....	75
Şekil 3.22. Kas dokusunda tesbit edilen Fe miktarı (mg/kg)	75
Şekil 3.23. Kas dokusunda tesbit edilen Ca miktarı (mg/kg).....	76
Şekil 3.24. Kas dokusunda tesbit edilen Cu miktarı (mg/kg).....	76

TABLÖLAR LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1.1. Reaktif oksijen partikülleri.....	2
Tablo 1.2. Terpenlerin genel yapıları	8
Tablo 1.3. Atomik spektral metotların sınıflandırılması	30
Tablo 1.4. Bazı elementlerin N/N_0 oranlarının sıcaklıkla değişimi	32
Tablo 1.5. AAS’de kullanılan bazı alevlerin sıcaklıkları ve alev hızları.....	39
Tablo 1.6. Alev AAS ve stat arasındaki duyarlılık karşılaştırılması.....	41
Tablo 2.1. Geraniol ve Geraniol ksantat bileşiklerinin 1H ve ^{13}C NMR değerleri	52
Tablo 2.2. Deney hayvanları yem % bileşimleri.....	55
Tablo 2.3. Metaller için alevli AAS ile ilgili parametreler.....	57
Tablo 3.1. Karaciğer dokusu eser element düzeyleri (ppm)	61
Tablo 3.2. Böbrek dokusu eser element düzeyleri (ppm)	65
Tablo 3.3. Akciğer dokusu eser element düzeyleri (ppm).....	69
Tablo 3.4. Kas dokusu eser element düzeyleri (ppm)	73

SEMBOLLER ve KISALTMALAR LİSTESİ

AAS	: Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi
AES	: Atomik Emisyon Spektroskopisi
STAT	: Sloted Tube Atom Trap
K	: Kontrol Grubu
H	: Hidrojen Peroksit Grubu
G	: Geraniol Grubu
L	: Geraniol Ksantat Grubu
HG	: Geraniol + Hidrojen Peroksit Grubu
HL	: Hidrojen Peroksit+ Geraniol Ksantat Grubu
SOD	: Süperoksit Dismutaz
SOR	: Serbest Oksijen Radikalleri

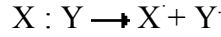
1.GİRİŞ

1.1. Serbest Radikaller

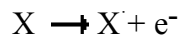
Atomun yapısı, bir çekirdek ve çevresinde bulunan değişik sayıda elektronlardan oluşmaktadır. Enerji düzeylerine göre belirli bir düzende yerleşen elektronlar, orbital adı verilen yörüngelerde hareket etmektedirler. Her orbitalde yerleşik iki elektron, birbirine zıt yönde kendi eksenini etrafında dönmektedir. Buna uygun olarak her bir orbitale bir tane aynı yönde dönen elektron yerleşmekte ve atom numarasına göre sayıları artan aynı sıra ile ters yönde dönecek şekilde orbitale yerleşmektedir.

Serbest radikallere, oksidan molekülleri veya en doğru adlandırma ile reaktif oksijen partikülleride denilir. Bunlar atomik veya moleküler yapılarında eşlenmemiş tek elektron içeren ve bu nedenle reaktif özellik taşıyan moleküllerdir. Serbest radikaller başlıca üç şekilde oluşabilmektedir.

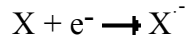
1.Bir molekülü oluşturan kovalent bağın homolitik kopması sonucu eşlenmiş elektronlardan herbirinin ayrı parçada kalması ile meydana gelebilmektedir.



2.Bir molekülün elektron kaybetmesi sonucu oluşabilmektedir.



3.Bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi ile elde edilebilmektedir.



Negatif yüklü elektron sayısının çekirdekdeki pozitif yüklü proton sayısı ile eşit olmadığı moleküller oldukları için dayanıklı olmayan serbest radikaller, elektron konfigürasyonlarını pozitif yükle dengelemeleri gerektiğinden çok reaktiftirler. Tek elektronunu bir başka moleküle verebilen bu radikaller, bir başka molekülden elektron alarak elektron çifti oluşturabilmektedirler. Sonuçta radikal olmayan bir yapı, radikal şekline dönüşebilmektedir [1].

Tablo 1.1. Reaktif oksijen partikülleri

Radikaller
Süperoksit radikal ($O_2^{\cdot -}$)
Hidroksi radikal (OH)
Peroksit radikal (ROO)
Alkoksil radikal (RO)
Semikinon radikal (HQ)
Hemoproteine bağlı serbest radikaller

Serbest radikaller organik ya da anorganik yapıli moleküller olabilir. Stabil olmayıp sisteme yoğun bir kararsızlık veren yük dengesizliklerini gidermek için yani elektron konfigürasyonlarını pozitif yüke dengeleyebilmek için oldukça aktif bir yapı özelliği gösterirler. Radikallerin aktif olma özelliği başlıca difüzyon mesafesi ile ilişkilidir. Ancak hidroksi (OH) radikali son derece yüksek aktif özellikte olduğundan meydana geldiği hücre bölümünden daha uzağa difüzyona gerek kalmadan oluştuğu yerde derhal reaksiyona girer. Buna karşılık süperoksit radikali, hidroksi radikalinden daha az reaktif olduğ u için açığa çıktığı hücre bölümünden daha uzak noktalara rahatlıkla diffüze olabilir. Ancak bu difüzyon hücre içindeki SOD'ın yüksek konsantrasyonu ile sınırlıdır. Hidrojen peroksit ise mitokondriyal membranlardan kolayca difüze olarak toksik etkisini açığa çıktığı noktadan daha uzak hücre bölümlerinde gösterebilir [2].

Çok kısa yaşam süreleri olan serbest radikaller tüm hücre bileşenleri ile kolayca etkileşebilme özelliğine sahiptirler.

Serbest radikaller hücrenin tüm fonksiyonlarında oluşabilme özelliğindedir. Radikal oluşumu hücre tiplerine göre değişiklik göstermesine rağmen tüm aerobik hücrelerde belirli düzeylerde radikal oluşturmaktadır [3].

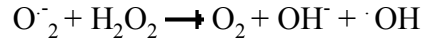
Oksijenin dış moleküler yörüngesine bir veya daha fazla çiftleşmemiş elektronların eklenmesi yaygın şekilde bulunan bu molekülü güçlü bir toksine, bir serbest oksijen radikaline dönüştürür.

Serbest oksijen radikalleri oksijenin belirli koşullarda kısmen indirgenmesi sonucu oluşan çok kısa ömürlü ve güçlü oksidan nitelikli oksijen metabolitleri olan hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksit anyonu ($O_2^{\cdot -}$), hidroksil radikali (OH) örnek verilebilir [4].

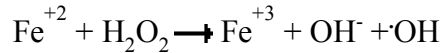
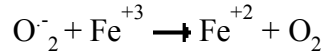
Oksijen kökenli ara ürünlerin birbirleri ile ilişkili oldukları bilinmektedir. Bunların göreceli konsantrasyonları endojen gidericilerin (Scavenger) ve katalitik metal iyonların varlığına bağlıdır [5].

Süperoksit anyonu sulu ortamda fazla reaktif değildir, yarı geçirgen hücre membranlarında kolayca geçebilir ve olasılıkla iyon kanalları aracılığı ile kaynağından dışarıya diffüze olabilir [6].

Serbest oksijen radikalleri arasında en reaktif ve en sitotoksik olanlar hidroksi radikali ve singlet oksijendir. Bu iki radikal serbest demir iyonunun yardımıyla hidrojen peroksit ve süperoksit anyonunun birbirleri ile reaksiyona girmelerinden oluşur (Haber-Weiss reaksiyonu sonucu oluşur) [7].



Bununla birlikte fizyolojik pH'da bu reaksiyonun hız sabiti Fe tarafından katalizlenen aşağıdaki iki reaksiyonla karşılaştırıldığında çok yavaştır [8].



Ferrik (Fe^{+3}) önce süperoksit anyonu ile reaksiyona girerek ferröz (Fe^{+2}), ardından da hidroksi radikali oluşturmak için yeniden H_2O_2 ile oksitlenmektedir. Bu iki basamaklı reaksiyon süperoksit ile oluşan Fenton reaksiyonu olarak bilinir [9]. Hemoglobinin *in vitro* olarak oksidan strese maruz kaldığında katalitik Fe salıverinerek bir biyolojik Fenton reaktifi olarak etki gösterebileceği bilinmektedir [10]. Serbest oksijen radikalleri zararlı etkileri yanısıra taşınma ve hücre büyümesinin kontrolü gibi normal hücresel işlevlerde rol oynarlar. [11].

Son zamanlarda gelişme sırasında dokularda oluşturulan reaktif oksijen türlerinin hücre iskeleti ve diğer iyon akımları üzerindeki etkileri sebebi ile dokuların gelişimini etkileyebilecekleri ileri sürülmüştür [12, 13].

Mitokondrilerdeki oksijenli solunumda olduğu gibi birçok anabolik ve katabolik işlemler sırasındaki reaksiyonlarda moleküler düzeyde elektron kaçışları olur ve bu sırada Reaktif Oksijen Partikül türevleri (ROP) oluşur. Aşağıda ROP'ların *in vivo* ortamda kaynakları görölmektedir [14].

Reaktif Oksijen Partiküllerinin Kaynakları:

I - Normal biyolojik işlemler

- 1 - Oksijenli solunum
- 2 - Katabolik ve anabolik işlemler

II - Oksidatif stres yapıcı durumlar

- 1 - İskemi - hemoraji - travma
- 2 - Ksenobiotik maddelerin etkisi
 - a-) İnhale edilenler
 - b-) Alışkanlık yapan maddeler
 - c-) ilaçlar
- 3 - Oksidan enzimler
 - a-) Ksantin oksidaz
 - b-) Galaktoz oksidaz
- 4 - Stres ile artan katekolaminlerin oksidasyonu
- 5 - Uzun süreli metabolik hastalıklar
- 6 - Diğer nedenler: Sıcak şoku, güneş ışını, sigara [14].

III - Yaşlanma süreci

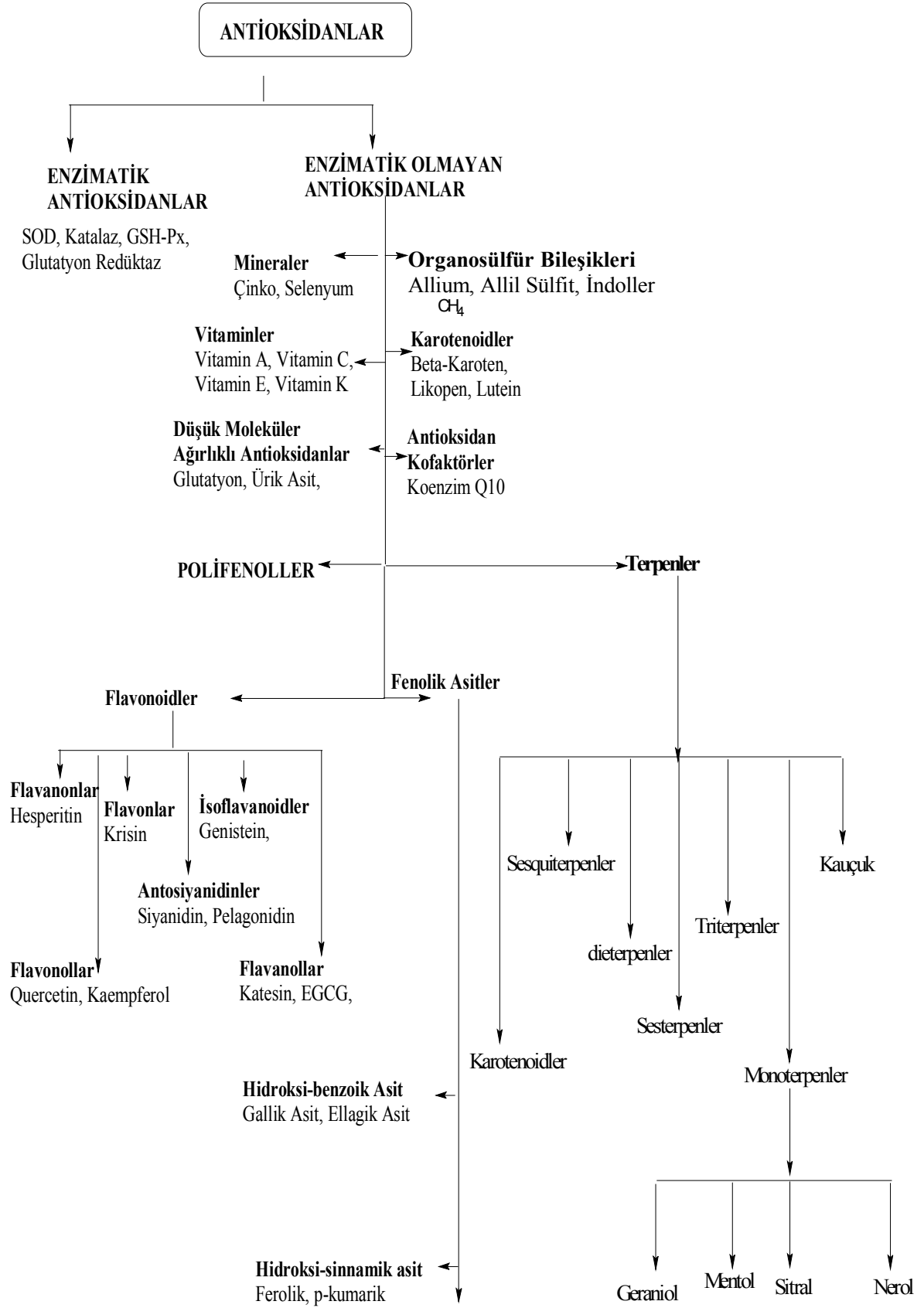
1.1.1. Serbest Radikallerle Antioksidan İlişkisi

Son yıllarda antioksidanların birçok hastalığa karşı önemi son derece artmıştır. Serbest radikallerin keşfiyle kanser, diabet, kalp hastalıkları, nörodejeneratif hastalıklar v.b. birçok hastalık ilişkisi belirtilmiştir. Tıbbi bitkilerde antioksidan özellikli maddelerin keşfiyle sağlık alanında kullanımı artmıştır ve birçok hastalığın tedavisinde kullanımı belirtilmiştir.

Serbest radikaller son derece reaktif moleküller olup oksidatif strese yol açan maddelerdir [15]. Oksidatif stres hücrede lipitlere, proteinlere, enzimlere, karbonhidratlara ve DNA'ya zarar verir. DNA moleküllerine, enzimlere ve proteinlere bağlanarak proteinlerin parçalanması sonucunda hücre büyük zarar görür [16]. Bunun sonucunda da yukarıdaki hastalıklar ortaya çıkar.

İnsan antioksidan savunma sisteminde enzimatik savunma sistemleri dediğimiz süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz enzimleri vardır. Bunların yanında hidrofilik savunuculardan flavonoidler ve monoterpenler vardır. Metabolizma sistemi için sentezlenen maddelerin yanında dışarıdan diyetle alınan önemli antioksidan türevli maddeler vardır. Bunlar içerisinde en önemli olanları askorbik asit, lipoik asit, polifenoller, terpenlerdir. Hastalıkların oluşumunda ROS karşı savunma zayıf olursa oksidatif hasarın artışıyla hücrede tahribatlar meydana gelir. Bu durumda dışarıdan alınan bu antioksidanlar oksidatif stresin oluşturduğu hasarları azaltmakta kullanılmaktadır. Likopen, ellagik asit, askorbik asit ve vitamin E önemli antioksidanlar olarak bilinir. Bu maddeler hastalıkların engellenmesi için de kullanılmaktadır [17].

Antioksidanlar iki büyük grupta sınıflandırılır. Bunlar enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlardır. Bu antioksidanların bazıları metabolizmada sentezlenen maddelerdir. Bunlar enzimler ve enzim kofaktörlerdir. Enzimatik olmayan antioksidanların kaynağı ise diyetlerdir. Diyet antioksidanları çeşitli sınıflara ayrılır. Bunlar içerisinde en önemli olanlar polifenoller ve terpenlerdir [18]. Terpenlerde kendi aralarında dieterpenler, kauçuk, monoterpenler, triterpenler olmak üzere kısımlara ayrılırlar.



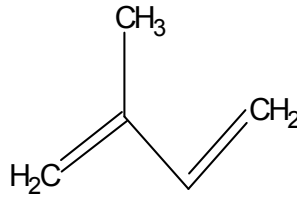
Şekil 1.1. Antioksidanların sınıflandırılması [19]

1.2. Terpenler ve Geraniol

1.2.1. Terpenler

Terpenler, doğada çok yaygın olarak bulunan gruplardan biri olup hidrokarbonların geniş bir sınıfını oluştururlar. Başlıca bitkilerde ve özellikle iğne yapraklılar tarafından üretilmekle beraber bazı böceklerde terpenleri salgırlar. Genellikle bitkilerde bulunurlar ve küçük molekülü olanlar bitkilerin yapraklarının, çiçeklerinin ve meyve kabuklarının seçkin kokularını oluştururlar. Uçucu yağların büyük çoğunluğu terpenik maddelerden oluşmuştur [20].

Bitkilerde ve hayvanlarda birçok farklı işlevleri bulunurken gıdalarda da aroma bileşenleri olarak önemlidirler. Limonen ve sitral (her ikisi de limonda bulunur), pinen (çam ağaçları), ögenol (karanfil), geraniol (gül) ve mentol en yaygın bilinen terpenlerdir.



Şekil 1.2. İzoterpenlerin yapısı

Doğal terpenlerin sentetik değişiklikleri ve türevleri, parfümeri ve gıdalarda tatlandırıcı katkı maddesi olarak kullanılırlar. Terpenler kimyasal olarak değişime uğratıldıkları zaman, örneğin yükseltgenme veya karbon iskeletinin düzenlenmesi ile meydana gelen bileşiklere genel olarak terpenoid olarak adlandırılır. Kimyasal anlamda terpenler, yapısı çeşitli fakat belli sayıda izopren birimlerine sahip olan bir moleküller grubu olarak tanımlanır. Terpenler biyosentetik olarak izopren birimlerden türetilirler. İzopren birim doğada çok yaygın olarak kullanılan bir yapı taşıdır. Bu birimin kimyasal formülü C_5H_8 olup terpenlerin temel moleküler formülleri de bunun katlarıdır, yani $(C_5H_8)_n$ (n birleştirilmiş izopren birimlerinin sayısıdır). Bu izopren kuralı veya C_5 kuralı olarak bilinir. İzopren birimler baş-kuyruk şeklinde bağlanarak düz zincirler oluşturabilirler veya halkalar oluşturabilirler. Terpenler, izopren (2-metil-1,3-butadien) oligomerleri olarak tanımlanabilirler. İzopren oligomerlerinden; C_{10} olanlara monoterpenler denir. C_{15} olanlara

seskiterpenler denir. C_{20} olanlara diterpenler denir. C_{30} olanlara triterpenler denir. C_{40} olanlara karotenoidler denir.

Tablo 1.2. Terpenlerin genel yapıları

	Terpenler	İzopren birimler	Karbon Atomu sayısı
1	Monoterpenler	2	10
2	Seskiterpenler	3	15
3	Diterpenler	4	20
4	Sesterpenler	5	25
5	Triterpenler	6	30
6	Karotenoidler	8	40
7	Kauçuk	> 100	> 500

Triterpenler iki C_{15} ve karotenoidler (tetraterpenler) iki C_{20} biriminin kafa-kafaya bağlandıkları yapılardır. Terpenlerin çoğu hidrokarbonlardır; ancak alkoller, ketonlar veya aldehitler gibi oksijen içeren bileşiklerde olabilirler. Bu türevler çoğunlukla terpenoids olarak adlandırılırlar. Monoterpenler ve seskiterpenler esansiyel yağların temel bileşenleridir. Diğer terpenler ise reçine, mum ve kauçuğun ana bileşenleridirler.

Uçucu yağlar farmakolojik etkilerine göre de gruplandırılırlar. Farmakolojik etkilerine göre de uçucu yağlar antiromatizmal, öksürük kesici, idrar söktürücü, iltihap azaltan, dezenfektan vs. gibi gruplandırmaya tabi tutulurlar [20].

1.2.2. Monoterpenler ve Yapıları

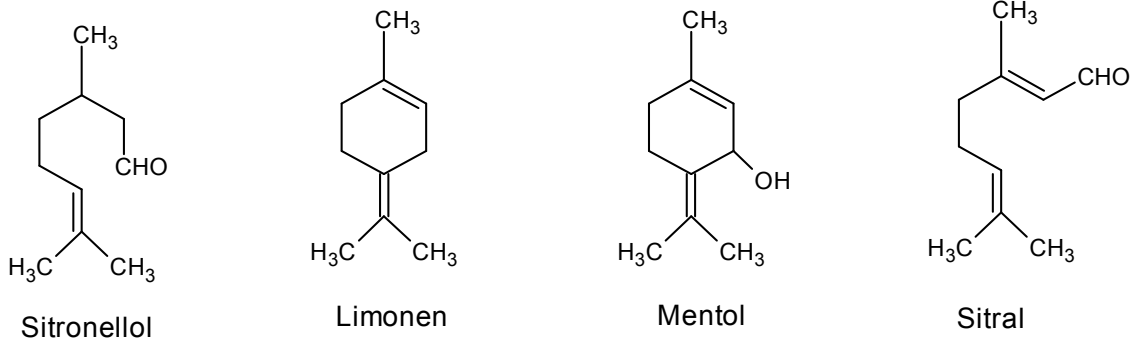
Monoterpenler genelde uçucu yağların yapısında bulunurlar. Bugün uçucu yağlarda yüzelliden fazla monoterpen bulunmuştur. Çoğu serbest haldedir.

Monoterpenler üçe ayrılırlar:

a) Asiklik monoterpenler üç çift bağ içerirler. Asiklik monoterpenlerin alkol, ester veya aldehit grubu taşıyan oksijenli türevleri bulunur,

b) Monosiklik monoterpenlerde iki çift bağ bulunur. Monosiklik monoterpenlerin oksijenli türevleri alkol, ester, keton grubu taşıyabilirler,

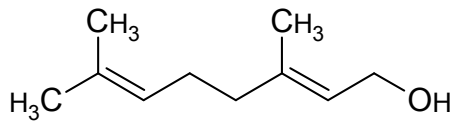
c) Bisiklik monoterpenler bir çift bağ içerirler. Bisiklik monoterpenlerin alkol, ester veya ketonlu türevleri bulunur [20].



Şekil 1.3. Terpenlerin genel yapıları

1.2.3. Geraniol

Geraniol bir monoterpenoid bir alkoldür. Monoterpenler sınıfına ait olan geraniol 10 karbon atomu taşıyan bir moleküler yapıya sahiptir. Tat verici olarak ve parfümeride kullanılır. Molekül ağırlığı 154,14 gr/mol ve molekül formülü C₁₀H₁₆O şeklindedir. Kaynama noktası 230⁰ C dır. Suda çözünmez, alkol, eter ve en yaygın çözünebilir organik çözücülerde çözünür. Saf geraniol renksiz, gül kokusuna benzer bir kokuya sahip yağlı sıvı bir maddedir. Gül yağının esasını teşkil eder. Birçok muhtelif esas yağlarda bulunur.



Şekil 1.4. Geraniolün yapısı (3,7-dimetil -2,6-oktadien-1-ol)

Vücudumuzu oluşturan her hücrede radikallere karşı ve bunların oluşturduğu hasarlara karşı vücudumuzda antioksidan savunma mekanizması mevcuttur. Bu savunma mekanizmasına yardımcı olan doğal maddelerden biride geranioldur. Geraniol kanser önleyici doğal bir antioksidandır.

Geraniolün çeşitli kanser türevlerine karşı antümör aktivitesi bulunmaktadır. Geraniol çeşitli kanser hücrelerine karşı *in vivo* ve *in vitro* antitümör etkinliği vardır [21].

Monoterpenler izoterpenler ailesinden olup, bitki ve meyvelerin yapısında bulunurlar. Onların antikanser özelliği mevalonat yolu adlı reaksiyonu inhibe etmesindendir [22]. Uçucu yağların antimikrobiyal, antioksidan, antikanser vb. gibi birçok fonksiyonel özelliğe sahip oldukları keşfedildiğinden [23-26] birçok araştırma uçucu yağların farmakolojik özelliklerinin araştırılmasına odaklanmıştır [27, 28]. Monoterpenler deneysel koşullarda doğrudan ve dolaylı kullanılarak antikasorejen özellik taşıdıkları gösterilmiştir [29, 30]. Bir monoterpen olan limonenin meme kanserini baskıladığı görülmüştür [31]. Günlük beslenmede sebze ve meyvelerin kalp ve damar hastalıkları belirtilerini ve kanser riskinin düşürmek için tavsiye edilmiştir [32]. Monoterpenlerin mevalonat biyosentezi üzerine çeşitli antikanser aktiviteleri gözlenmiştir [33, 34]. Monoterpenler kanser kemoterapisinde yeni bir ajan kullanılmaya başlanmıştır [35]. Limonen; portakal ve narenciye kabuğu yağlarında bulunur ve kemirgenlerde meme bezi kanserinde, karaciğer, akciğer, mide ve deri kanserinde antitümör etkisi olduğu gösterilmiştir [36-39].

Fenolik antioksidanlar koroner kalp yetmezliğinde de önleyici role sahiptirler [40]. Bitki fenoliklerinin antioksidan etkileri bilhassa redoks özelliklerinden ötürüdür ve bu yüzden indirgeyici ajanlar, hidrojen vericiler, tekli oksijen önleyiciler ve metal kelasyonu yapıcılar olarak etki ederler. Bitki fenolikleri, fenolik asitler, fenil propanoitler, monoterpenik fenoller, flavonoidler, tanenler, vs. gibi maddelerdir [41- 43].

Geraniolün kemirgenlerde meme bezi, akciğer, karaciğer, mide ve deri kanserlerine karşı antitümör aktivitesi bildirilmiştir [44].

Yvette ve arkadaşları tarafında yapılan çalışmada pankreas kanseri tümörü taşıyan ratlara 20 gün boyunca geraniol ve farnesol verilmiştir. Geraniol ve farnesolün pankreas tümörü üzerine etkili olduğu ve tümör yarıçapını azalttığı bildirilmiştir [45, 46].

Yapılan çalışmalarda limonda bulunan ve aromatik bitki yağında bulunan bir asiklik alkol olan geraniol etkisi fare lösemisi, cilt kanserine karşı *in vitro* ve *in vivo* antikanser etkisi olduğu görülmüştür [21, 44].

Yapılan çalışmalar geraniolün *vitro* ve *invivo* antitümör etkisi karaciğer tümörü, farelerde lösemi üzerine etkisi olduğu görülmüştür. Geraniolün insanlarda kolun kanser hücrelerinin büyümesini engellediği yapılan çalışmalarda görülmüştür. Geraniol lösemi ve kanserli karaciğer hücrelerini [21], habis tümörleri [45], pankreas kanser hücrelerini inhibe eder [48].

1.3. Ksantat Türevli Maddeler ve Özellikleri

1.3.1. Ksantatların Özellikleri

Ksantatlar esasen karbonik asitteki iki oksijen atomunun kükürt atomuyla ve bir hidrojen atomunun da alkil grubuyla yer değiştirmesi ile oluşan, alkil ditiyokarbonik asitlerin metal tuzlarıdır. Ksantatların yapıları, alkil ditiyokarbonik asit veya alkil ditiyokarbonat tuzlarının yerini tutan ksantik asitlere dayanır. Ksantatlar, 19. yüzyıl literatüründe ksantogen olarak adlandırılır. Ksantik asidin oksijen atomuna bağlı hidrojen atomu bir metal atomu ile yer değiştirilebilir. Metal ksantatların mineral flotasyonunda reaktif olarak ve analitik kimyada geniş bir şekilde kullanıldığı bilinmektedir. Alkali ve toprak alkali metalik ksantatları suda oldukça iyi çözünür. Ksantatlar üzerine değişik çalışmalar mevcuttur. Bunlardan birkaçı, mineral flotasyon etkileri, analitik kimyada karbon disülfür ve alkollerin tayininde kullanımları, katyonların çoğunun ayrılmasında ve kantitatif tayinde reaktif olarak kullanılması sayılabilir.

Ksantatların türevi olan diksantojenlere olan ilgi gün geçtikçe artmaktadır. Bu alandaki çalışmalar daha çok analitik kimya uygulamaları, yapı analizi kimyasıdır. Literatürde ksantatlarla ilgili çalışmaların çoğu bu konularla ilgilidir. Son zamanlarda ise flotasyon ve yapı analizi kimyasındaki uygulamaları analitik uygulamalarından daha çok artmaktadır. Bununla birlikte geçiş ağır metaller ile kompleksleri sıkça incelenmektedir. Ayrıca komplekslerin antifungal ve anti bakteriyel özelliklerini inceleyen birçok çalışma literatürde mevcuttur. Ksantatların eczacılık ve tıp kimyasında kullanımı giderek hız kazanmıştır [49, 50].

Ksantat bileşikler birçok geçiş metali ile kompleks yapar. Ksantat bileşiklerinin metal kompleksleri teknolojide, tıpta, tarımda oldukça geniş biçimde kullanılır. Bu komplekslerin antifungal ve anti bakteriyel özelliklerini inceleyen birçok çalışma literatürde mevcuttur.

1.3.2. Ksantat Kompleksleri

Geçiş metal ksantatlarının özellikleri ile ilgili çalışmalar son 20 yılda artmıştır. Demir, nikel, kobalt ksantatların spektroskopik çalışmaları yapılmıştır [51]. Bu alanda yapılan çalışmalar geçiş elementleri ile yapılmıştır. Watt ve McCormic, 1965 yılında yapmış

oldukları çalışmada metil ve etil ksantatların Pt (II), Pd (II), Ni (II), Cr (III) ve Co (III) komplekslerini sentezleyip, yapılarını karakterize etmiştir. Elde edilen 2 değerlikli Pt (II), Pd (II) ve Ni (II)'nin komplekslerinde metal:ligand oranının 1:2, 3 değerlikli olan Cr (III) ve Co (III)'nin komplekslerinde metal:ligand oranı 1:3 olduğu bulunmuştur. Kompleksler sulu ortamda yapılmış ve vakumda kurutulmuştur [52]. Coucouvanis ve Fackler, 1967 yılında yapmış oldukları çalışmada önce diyamanyetik olan nikel(II) etil ksantatı litatüre göre sentezlenmişler, daha sonra pridinle muamele ederek paramanyetik bis(etilksantato) bis(pridin)nikel (II) kompleksini sentezlemişlerdir [53].

1.4. Eser Elementler

Canlı organizmalarında bulunan elementler makro ve eser elementler olarak ikiye ayrılırlar. Organizmalarında önemli rolleri bulunan eser elementlerin tayin yöntemleri, farklı biyolojik ortamlarda miktarlarının belirlenmesi, hastalıklarla ilişkisinin ortaya çıkarılması günümüzde birçok araştırmaya konu olmuştur [54]. Eser elementler vücuttaki birçok fonksiyon için gereklidir ve eksikliklerinde çeşitli semptomlar görülür.

Gelişen bilim ve teknolojide, canlı organizmaların gerektiğinin önemi daha da arttı. Biyokimyada, tıbbi biyoloji, biyofizik ve tıp da yapılan çalışmalarda canlıların normal ve sağlıklı bir yaşam sürmelerinde eser elementlerin varlığı kabul edilmiştir. Normal bir insan vücudunda beş ana elementin (C, H, O, N ve P) organik bileşikler ile Ca, Na, K, S, Mg ve Cl gibi elementleri de içeren sert doku ve elektrolitlerden oluşturur. Bu 11 element dışında kalan elementlerin toplamı 70 kilo gelen bir insanda ancak 10 gram civarında olup bu elementlere eser element denir. Son araştırmalar 11 element dışında 40-50 kadar elementin insan vücudunda olduğunu göstermiştir. Eser elementler;

- Gerekli eser elementler; Cu, Mn, Cr, Co, Se, Fe, Zn.
- Gerekli olmayan fakat tedavi amaçlı olarak kullanılan eser elementler, Al, Au, Bi, Li, Ga ve Pt.
- Gerekli olmayan toksik elementler ise; Pb, Cd, Ni, Hg, Sb, As 'dir.

Gerekli eser elementler enzim-metal komplekslerinde aktivatör olarak veya metallo enzimlerin gerekli bileşini olarak görev yaparlar.

Ancak genel olarak vücut için yaşamsal öneme sahip olan elementlerin fazlası vücuda zararlı, toksik etki yaparken, yetersiz alınmalarında eksiklerinden kaynaklanan birçok

hastalık ve bozukluklar görülür. Eser elementlerin vücutta belli sınırlar içinde tutulması büyük önem taşımaktadır. Bu metallerin vücutta birikmesi organizmada çeşitli hasarlara yol açar. Örnek olarak kurşun ve kadmiyum çok küçük dozlarda bile organizmalar için zararlı etki göstermektedir. Canlı bünyesinde yaşamsal fonksiyonları olan bu metallerin konsantrasyonlarındaki en küçük bir değişiklik, dokularda tahribata ve dolayısıyla organ ve dokunun görevini yapmasını engelleyerek ikinci bir değişime neden olmaktadır. Bazen ölüme yol açabilmektedirler [55, 56].

Çinko ikiyüzden fazla enzimin yapısında bulunan bir metalloenzimdir. Zn birçok enzim ve hormonun yapısında bulunduğu gibi çoğu enzim ve hormonunun etkinlik kazanmasını da sağlayan önemli bir biyokatalizördür.

Büyüme ve gelişme çağındaki çocuklarda Zn eksikliği gelişim bozukluğu, vücut zayıflığı, neşesiz ve durgunluk, tat alma bozukluğu gibi oldukça önemli ve karmaşık bozukluklara yol açar [57, 58]. Akrodermatit adı verilen bir hastalıkta serum çinko düzeyi vücutta düşüktür. Belirtisi saç dökülmesi, ishal, deri hastalıklarıdır. Tedavi edilmezse çok ölümle sonuçlanabilir. Bebeklerde yeterli anne sütü alınınca hastalığın kaybolduğu görülmüştür. Çinko anne sütünde bol miktarda vardır. Anne sütünün yanında bebeklere çinko içeren ilaçlar verilerek hastalık iyileşmektedir.

Pankreasta bol miktarda çinko bulunmaktadır. Pankreastaki çinko insülün ile birleşmiş haldedir. İnsülün pankreasta Zn bileşiği halinde depo edilir [59]. Zn karaciğerde, daha sonra ise sonrası ile kemik, böbrek ve beyinde birikir [60-63].

Organizmadaki magnezyumun (Mg) %70'i kemik dokusunda magnezyum fosfat halinde yerleşmiştir. Geri kalan % 30'u yumuşak dokularda ve sıvılarda yer almıştır. Bununda büyük bir kısmı yumuşak dokulardadır ve onların başlıca katyonlarındadır. Mg, fosfataz, fosforilaz, enolaz gibi kimi enzimlerin aktivatörüdür, ATF az'ı inhibe eder. Sinir sisteminin aşırı duyarlılığını azaltır [64]. Mg eksikliğinden kaynaklanan psikiyatrik belirtiler sinirlilik, anksiyete, uykusuzluk, çocuklarda aşırı hareketlilik, depresyon, iştahsızlık, bitkinlik ve yorgunluktur. Mg eksikliğine bağlı kronik damar spazmları ve kalp kasında aşırı uyarılma, kalp ritminde anormallikler, hatta kalp durmasında ani ölümlere yol açabilir. Kalp durmasında ölenler üzerine yapılan araştırmalar, bu kişilerde Mg oranının düşük olduğunu göstermiştir. Mg paratiroit hormonunu bastırarak kalsitonini harekete geçirir. Böylece Ca kemiklerde birikmesini ve yumuşak dokulardan atılmasını sağlar. Mg eksikliği yüzünden yumuşak dokularda Ca birikimi artınca, kas ve eklem ağrıları baş gösterebilir. Kemiklerin daha çabuk kırılması, diş çürümelerinin artması gibi etkiler

görülür. Vücutta bulunan Mg ve Ca miktarı paralellik gösterdiklerinden birbirlerini dengelemektedirler. Ayrıca Mg yiyeceklerden Ca emilimini sağlar. Bu nedenle, osteoporoz'dan korunmada tedavide Mg içeren ilaçlardan yararlanılır. Bu yolla organizmanın Mg ihtiyacı karşılanmaya çalışılır. Kronik böbrek yetersizliğinde Mg birikme riski vardır. Hem Mg eksikliği hem de oksidatif stres, yaşlanmada ve yaşla ilgili hastalıklarda patojenik faktörler olarak saptanmıştır. Bu iki faktör arasındaki bağlantı insanlarda çok açık olmamasına rağmen, deney hayvanlarında şiddetli Mg eksikliğinin oksidatif stresi artırdığı gösterilmiştir [65].

Mangan (Mn), dünyada Fe, Al ve Cu elementlerinden sonra en çok kullanılan metallerden biridir. Mn organizmada esansiyel bir metaldir. Vücutta başlıca karaciğer ve böbreklerde depo edilir. Biyolojik sistemde çeşitli metabolik olaylarda önemli rollere sahiptir. Ancak merkezi sinir sistemi üzerindeki toksik etkisinin hangi mekanizma ile oluştuğu henüz tam açıklanamamıştır. Mn merkezi sinir sistemindeki toksik etkilerinin ancak yüksek dozda serbest Mn kronik maruziyetle olabileceği bildirilmektedir. Ancak yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu nörotoksik olabilmektedir. Mn insan vücuduna tozlarının inhalasyonu veya özellikle mangandioksit içeren partiküllerin yutulması ile alınmaktadır [66-68]. Mn yüksek dozda bulunduğu dokularda birikebilmekte ve toksik etki gösterebilmektedir. Özellikle yıllar içinde merkezi sinir sisteminde birikerek şizofreni benzeri psikiyatrik bozuklukla, parkinson benzeri ve nörolojik bulgular ile karakterize bir tablo oluşturduğu bildirilmiştir [69]. Endüstride yaygın olarak kullanılan Mn bu sektör çalışanları için özellikle de merkezi sinir sistemi üzerindeki etkileri ile önemli bir sağlık sorunu oluşturabilmektedir. Mn nörotoksik etkisini özellikle derin beyin dokularında gösterdiği bildirilmiştir [70, 71].

Fe toplam olarak erkeklerde 3,45 gr kadınlarda ise 2,45 gr kadar Fe, tüm vücuda dağılmış olarak bulunur. Bunun % 60-70 kadarı kan hücrelerinde hemoglobin içinde , % 10-12 kadarı ise kaslarda miyogloblin içinde ve enzimlerde , % 15-30 kadarı da karaciğer, dalak ve kemik iliğinde depolanmış olarak bulunur [57, 58]. +3 değerli Fe besinlerdeki indirgen maddelerle daha çok eriyebilen +2 değerli Fe çevrildiği kabul edilir [72]. Besinlerle alınan Fe çoğunlukla bu besinler içerisinde ferrik hidroksit veya ferrik organik bileşikler şeklinde depo edilir. Fosfatça zengin besinlerin alınması Fe absorpsiyonunu yavaşlatır. Kansızlık ise Fe absorpsiyonunu birkaç katına çıkartabilir [59]. Fe eksikliği anemiye yol açar. Başlıca belirtileri dikkatsizlik, yorgunluk, çaba harcayınca kalp çarpıntısı, dudak kenarlarında çatlaklar, yutma güçlüğüdür. Vücutta Fe yüklenmesi

bulguları karaciğer hücreleri başta olmak üzere pankreas, kalp, deri, endokrin organlar ve eklemlerde ortaya çıkar [73, 74]. Spesifik dokulardaki Fe fazlalığı artropati, birçok endokrin ve nörolojik bozukluklara yol açar. Fazla miktarda Fe spesifik doku ve hücrelerde birikimi serbest Fe artmasını önleyen transferrin ve ferritin gibi bazı proteinlerin kullanılabilirliğini engelleyebilir. Bundan başka Fe, süperoksit radikallerinin üretimine neden olan reaksiyonlara yol açabilir. Proteine bağlı olmayan ferrik iyonlar süperoksit tarafından indirgenir ve oluşan ferröz ürün, peroksit tarafından ferrik iyonlar rejenere etmek ve tüm biyolojik makromoleküllere zarar verebilen hidroksil radikali oluşturmak üzere reokside edilir. Hidroksil radikalleri DNA kırıklarına yol açar, enzimleri inaktive eder. Fe ayrıca süperoksit ve hidrojen peroksitin hücrel membranlar, proteinler ve DNA'ya saldıran serbest radikallere dönüşümünü katalizleyerek dokulara hasar verir.

Ca vücutta büyük miktarda bulunur. Bunun için Ca makro elementler (major elementler) sınıfına girer. Ca insan organizmasında en yoğun şekilde bulunan katyondur. Vücutta bulunan Ca çok büyük bir kısmı, kemik dokusunda 'hidroksiapatid' kristalleri halinde fosfatla birlikte bulunur. Ca kasların çalışması için önemlidir. Bu elementin birçok hastalıkla ilişkisi olduğu ortaya çıkmıştır. Ca eksikliğinde gençlerde raşitizm, yaşlılarda ostemalasi belirtileri, kemiklerin zayıflaması ve kırılğan hale gelmesi, erken diş çürümeleri meydana gelmesi, dişeti problemlerinin görülmesi, sinir sisteminde oluşan sorunlar, kalp çarpıntısı, tırnak kırılmaları, uyku sorunları, kolesterolün yükselmesi, yüksek tansiyon, kas ağrıları ve kas krampları gibi belirtileri görülür. Bedenin D vitamini düzeyi, yenen protein miktarı, besinlerle alınan Mg miktarı ve yiyecek maddelerinin bağırsaklardan geçme hızı gibi etkenler Ca düzeyini etkiler. Ca absorpsiyonundaki yetersizliği halinde genellikle bu hal D vitamini yetersizliği ile birlikte görülür [59, 75]. Ayrıca bağırsağın ve böbreklerin fosfat taşınmasındaki kusurları olan böbreksel raşitizm hastalıkları görülür [64]. Ca fazlasının damar yüzeyinde birikerek doğrudan damar sertliği ve buna bağlı yüksek tansiyona neden olur. Kandaki Ca düzeyinin gerektiğinden fazla olması hali, genellikle paratiroid bezinin hastalıklarında görülmektedir. Hafif dereceli yükselmeler, fazla bir belirti vermez. Bu hastalarda sık sık böbrek taşları görülür. Ca yükseldikçe kas güçsüzlüğü, böbrek kireçlenmesi, kemiklerde gereğinden fazla kireç toplanması gibi durumlar belirir.

Cu normal ortalama bir diyetle günde 2-4 mg alınmaktadır. Bu da erişkinler için yeterli miktardır. Bebek ve çocukların gereksinimi 0.05 mg/kg gündür. RDA standartlarına göre erişkinlere 1.5-3.0 mg, bebeklere 0.4-0.7 mg çocuklara da 0.7-2.5 mg günde önerilmektedir. Yetişkin insanlarda 100-150 mg kadar Cu vardır ve tüm

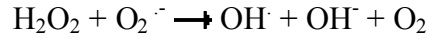
organizmada dağılmıştır. Cu, vücut tarafından zor absorbe edilen bir maddedir. Besinlerdeki Cu miktarının ancak %5' i vücut tarafından emilir. Vücutta çok az bulunmasına karşın oldukça önemli görevlere sahiptir. Hücre solunumu ve enerji salınımı işlevlerini gerçekleştiren sitokrom sisteminin bir parçasıdır. Oksijensiz serbest radikal metabolizmasında anti enflamatuvar etki denilen dokuların şişme ve kızarmasını giderici etki gösterir. Dokuların iyileşmesinde ve kemik yapısının sağlamlığında oldukça etkilidir. Cu depolama işini karaciğer üstlenmiştir. Karaciğer fazla Cu safra yoluyla bedenden atar. Öyleki, besinlerle aldığımız Cu miktarı yükselse bile bedendeki Cu miktarı aynı kalır. Bazı bakırlı enzimlerin beyin metabolizması ile ilgili olduğu bilinir [75]. Cu, kanda hem plazmaya hem de alyuvarlara dağılmıştır. Karaciğerde depolanan Cu, vücut dokusunun yeniden oluşması için gerekli enzimlerin yapımında oldukça önemli bir rol oynar. Cu eksikliğinde insanlarda çeşitli kemik, eklem ve yumuşak doku anormallikleri görülmektedir. Saç ve deride renk kaybı, solunum sisteminde enfeksiyonlar, plazmada Cu ve bakır oksidaz düzeyi düşüklüğünde görülür [64]. Cu yetersizliğinin erken bulgularından bir tanesi de osteoporozdur. Sık olarak Fe eksikliği ile beraber görülen Cu eksikliği halsizlik ve ödem yaratabilir. Büyümede yavaşlama, saç dökülmesi, iştahsızlık, ishal, cilt sorunları meydana gelir ve dokuların kendini tamir etmesi gecikir. Kemik yapısı etkilenir, sinirlerdeki iletiler yavaşlar. Farklı kan hücrelerinin ve sistemlerin Cu eksikliğinden etkilenmesi sonucu savunma sistemi zarar görür. Bu da enfeksiyonlara eğilime ve yakalanılan enfeksiyonların ağır seyretmesine yol açar. Ayrıca Cu metabolizmasının bozukluğuna neden olan genetik “Wilson Hastalığı” görülebilir. Bu hastalıkta serum ve saçlarda Cu düzeyi düşerken karaciğer ve beyinde Cu depolanmaktadır. Atılım bloke edildiğinde veya azaldığında seruplazmin düzeyi yükselmekte ve Cu birikerek karaciğer, beyin, böbrek ve korneaya zarar vermektedir. Ayrıca sinir sistemini etkileyerek bunama ve karaciğer fonksiyon bozukluklarına yol açmaktadır [76]. Vücuttaki Cu oranının tayini idrar testi ve kan serumu testi ile belirlenir. Cu birikiminin neticesinde beynin hasar görmesi sebebiyle kişilik problemleri görülebilir.

1.4.1. Radikallerin Eser Elementlerle İlişkisi

Fe, Cu, Zn, Ca, Mn, Mg metalleri fizyolojik şartlarda oksidatif stresi artırma veya azaltma yönünde önemli roller oynarlar. Bu metaller, çeşitli oksidasyon basamaklarında görev alırlar. Örneğin Fe, Cu gibi geçiş metalleri serbest radikal tepkimelerini

hızlandırarak katalizör görevi üstlenirler. Bu tip maddelere oksidan stresör ismi verilmektedir [77, 78]. Metal iyonlarının serbest radikal tepkimelerine üzerine etkileri vardır. Oksijenin kendisi, $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , $OH^{\cdot}$ ve geçiş metallerinin iyonları SOR biyokimyasında önemli rol oynayan maddelerdir [79].

Fe elementi oksidatif strese katalizör görevi üstlenerek tepkimenin hızını artırır. Normalde canlı organizmalarda H_2O_2 ve $O_2^{\cdot-}$ 'nin toksik etkileri, $OH^{\cdot}$ ve reaktif radikal metal komplekslerine dönüşmeleri ile oluşur. H_2O_2 , $O_2^{\cdot-}$ ile Haber-Weiss tepkimesi adı verilen tepkimeye girerek hücre için son derece toksik olan $OH^{\cdot}$ 'lere parçalanır [80, 81] ve Haber-Weiss tepkimesi oluşur.

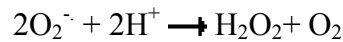


Bu tepkime katalizör varlığında veya katalizör olmadan da oluşabilmektedir. Katalizör olmadan oluşan tepkime oldukça yavaş ilerler. Tepkime eğer Fe elementi ile katalizlenirse (Fenton tepkimesi) oldukça hızlı meydana gelir [77].

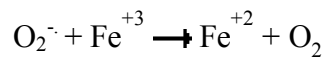
Fenton tepkimesi



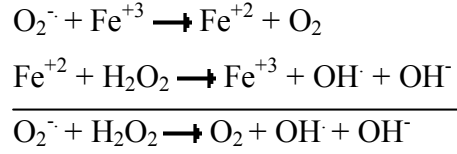
Vücutta Fe, transferine Fe^{+3} şeklinde bağlanarak plazmada taşınır ve transferine bağlı Fe serbest radikal oluşumuna katılmaz [73, 82].



Fe ve Cu gibi geçiş metallerinin varlığında oluşan Fenton reaksiyonu ile hidroksil radikalleri üretilir [78].



Süperoksit radikali varlığında geçiş metalleri Haber-Weiss reaksiyonu katalizörü olarak davranırlar. Bu reaksiyonda da hidroksil radikali üretebilir [80]. Proteinlere, yağ asitlerine saldırır, enzim inaktivasyonuna neden olur.



Fe, hidroksil radikal oluşumunu arttırır. Redoks aktif geçiş metalllerinden olan Fe ve Cu oksidatif hasarı arttırdığını gösteren ya da eksikliklerinde antioksidan savunmanın azaldığını gösteren bulgular mevcuttur [83-85].

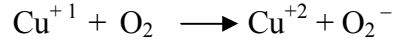
Mn organizmada esansiyel bir metaldir. Biyolojik sistemde çeşitli metabolik olaylarda role sahiptir. Süperoksit dismutaz, alkali fosfataz ve arjinaz gibi çok sayıda enzimin aktivite için kofaktördür [67]. Beyinde normalde az miktarda Mn bulunur (insanda 4.5-6.2 mmol/kg) [86]. Mn düşük oksidasyon durumlarında serbest oksijen radikali temizleyicisi olarak bilinir [87]. Mn bağışıklık sisteminin sağlıklı çalışması için gereklidir ve aynı zamanda beyin fonksiyonlarını etkiler [88- 90].

Mg eksikliği hem de oksidatif stres, yaşlanmada ve yaşla ilgili hastalıklarda patojenik faktörler olarak saptanmıştır. Bu iki faktör arasındaki bağlantı insanlarda çok açık olmamasına rağmen deney hayvanlarında şiddetli Mg eksikliğinin oksidatif stresi arttırdığı görülmüştür[65]. Mg aerobik ve anaerobik glikolizdeki enzimatik reaksiyonlarda önemli rol oynar [91].

Zn, demirden sonra insan vücudunda en çok bulunan ikinci eser elementtir. Zn ikiyüzden fazla enzimin yapısında bulunan bir metalloenzimdir. Antioksidan etkinliği olan süperoksit dismutaz enziminin yapısına da katılır. Ayrıca hayvan deneylerinde Zn eksikliğinin ağırı eşliğini düşürdüğü gösterilmiştir [91]. Endotel hücre fonksiyonunda oksidatif strese yanıt olarak ortaya çıkan olayları inhibe ettiği düşünülmektedir. Zn membran bütünlüğünün korunmasında görev yaptığı gibi antioksidan bir rolünün olduğu da belirtilmiştir. Organizmalarda Zn reaktif oksijen türleri, hidrojen peroksit, hidroksil radikaller gibi hücreye zarar veren radikallere karşı koruyucu görev yaptığı belirtilmiştir [92]. Zn, O₂ ve S ile çok kolay kompleks yapabildiği, nükleik asit biyosentezinde görev aldığı ve dokuların düzelmesiyle ilgisinin olduğu belirtilmiştir [93].

Aşırı hidrojen peroksit ile birleşen Cu elementi Fenton veya Haber-Weiss reaksiyonu ile hidroksil radikali oluşumunu arttırmaktadır. Hidroksil radikali de aşırı okside edici bir reaktif radikal olup DNA hidroksilasyonuna neden olmakta ve çoğu biyomoleküller reaksiyona girebilmektedir. Cu hidroksil radikal oluşumunu artmasına neden olur, redoks aktif geçiş metalllerinden olan Cu oksidatif hasarı arttırdığını gösteren ya da eksikliklerinde

antioksidan savunmanın azaldığını gösteren bulgular mevcuttur [83-85]. Cu redoks aktive edici bir metal olduğu için oksidatif stres üzerine etkisi söz konusudur. Fe, Fenton reaksiyonu yoluyla en güçlü serbest radikal olan hidroksil (OH[·]) radikallerinin oluşmasını sağlar. Benzer bu etki Cu⁺² girdiği indirgen transizyon metallerinin otooksidasyonu reaksiyonlarında da görülmektedir.



Cu oksidatif reaksiyonlarda yer alır, metalloenzimlerin yapısında bulunur. Bu enzimlerden süperoksit dismutaz (SOD), süperoksit radikalini hidrojen perokside ve oksijene dönüştürürken, katalaz (CAT) da hidrojen peroksiti suya dönüştüren antioksidan enzimlerdir [94]. Cu metali, fizyolojik şartlarda çeşitli oksidasyon basamaklarında görev alırlar. Bu özellikleri sayesinde geçiş metalleri serbest radikal tepkimelerini hızlandırarak katalizör görevi yaparlar. Cu indüklediği oksidatif hasar genellikle yüksek derecede reaktif olan (OH[·]) radikalinin oluşumu ile gerçekleşir ve (OH[·]) oluşumu dokularda hasara neden olur [96, 97].

Ca birçok enzimin salınmasına, taşınmasına neden olarak hücre fonksiyonunu bozar. Hücreye giren Ca⁺² mitokondrideki elektron transportunu da etkileyerek serbest radikalleri açığa çıkarır. [98-100]. Hücre içinde Ca artması hücreye potansiyel zararlı etkilere sahip çok sayıda enzimi aktif hale geçirir. Ca aktive ettiği enzimler fosfolipazlar (membran hasarına yol açar), proteazlar (membran ve sitoskeletal proteinleri parçalar), ATP'azlar (ATP tüketilmesini hızlandırır), endonükleaz'lardır (kromatin parçalanması). Aşırı Ca yüklenmesi, oksijen radikalleri ile başlayan hasarı artırır [101-103].

1.5. Örneklerin Çözünürleştirme Teknikleri

AAS ile çözelti halindeki örneklerin absorbans değerleri okunabildiğinden, analizi yapılacak biyolojik örneklerin çözünürleştirilmesi gerekir. Bu amaçla biyolojik örneklerle uygulanabilen metotlar şöyle sıralanabilir.

1.5.1. Yükseltgeyici Proseslerle Çözme

Kuru çözme, yaş çözme (açık sistemde çözme ve kapalı sistemde çözme) şeklinde sınıflandırılabilen teknikler bu sınıfa girer.

1.5.1.1. Kuru Çözme

450-550° C deki bir fırında örnek ısıtılarak beyaz kül elde edilir. Kül örnekleri HNO_3 , HCl veya $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{O}_2$ karışımında gerekirse kuruluğa kadar ısıtılır ve seyreltik asit çözeltisiyle karıştırılarak elde edilen berrak çözelti analiz edilir. Bu metot basit olması, örnek miktarında sınırlama problemi olmaması, daha az çözücü kullanılmasına bağlı olarak daha az kirlenme riski avantajlarına sahiptir. Bunun yanı sıra küllenme süresince bazı metallerin klorürleri, bazılarının ise organometalik bileşikleri halinde buharlaşması gibi dezavantajlara sahiptir. Kayıplar çözünmeyen kalıntılardan ve kap yüzeyinde adsorpsiyondan da kaynaklanabilir.

1.5.1.2. Yaş Çözme

1.5.1.2.1. Açık Sistemde Yaş Çözme

Kuru çözmedeki buharlaşan ve adsorpsiyon kayıplarının olmadığı bu yöntemde örnekleri geri soğutucu takılmış atmosfere açık bir destilasyon balonuna konur. Çözücü olarak HNO_3 , H_2SO_4 , HClO_4 , $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{O}_2$ karışımı veya bunların karışımı kullanılır. Yaş çözme metodunda sıcaklık 200 °C nin altında olduğundan buharlaşma kayıpları As ve Se gibi mineraller haricinde yoktur. Ancak kuru çözmeye oranla daha çok çözücü gerektiğinden reaktiflerden gelen kirlenmeler ve örnek sınırlaması ve daha büyük dikkat gösterilmesi gereği gibi dezavantajlar vardır. Derişik çözeltiğinde ve sıcakta iyi bir yükseltgen olan HClO_4 in kullanıldığı çözünürleştirmelerde HClO_4 in patlayıcı özelliğinden dolayı örneğin kuruması engellenmelidir. Pyrex cam, teflon ve platin bu çözme metodunda kullanılan kapları oluşturur.

1.5.1.2.2. Kapalı Sistemde(Yüksek Basınç Altında) Mikrodalga ile Çözme

Uçucu olan elementlerin buharlaşma kayıplarını önlemek için teflon bombalarda yaşı çözme metodunda kullanılan çözücüler kullanılarak etüvde 100°C civarındaki sıcaklıklarda örnek çözünürleştirilir. Son zamanlarda bu şekilde hazırlanmış teflon bombalar mikrodalga fırına yerleştirilip daha hızlı bir sürede çözünürleştirme sağlanmaktadır [104].

1.5.1.2.2.1.Mikrodalga Çözünürleştirme Sisteminin Mekanizması ve Klasik Çözünürleştirme Yöntemiyle Karşılaştırılması

Günümüzde birçok mutfakta bulunan mikrodalga fırınlarla, ısıtma süreleri 15-20 dakikalardan 2-3 dakikalara indirilmiştir. Örneklerin çözünürleştirilmesi mikrodalga fırınların kullanılması ile kirlenme, element kaybı ve çözünürleştirme zamanı minimize edilmiştir [105]. Bu avantajlar, mikrodalga'nın ısıtma mekanizması (dipol dönme veya iyonik iletişim) alışılmış tekniklerden farklı olması ile sağlanmaktadır. Klasik ısıtma teknikleri bir kütleyi dıştan içe doğru tabaka-tabaka ısıtılırken, mikrodalga tüm kütlenin her yerini aynı anda ısıtır. Modern laboratuvarlarda çok sayıda örnek ve çoklu element analizi yapma gereksinimi; zaman kavramının çok önemli hale getirdiğinden mikrodalga fırınlar kullanılarak çözünürleştirme süreleri önemli ölçüde kısaltılmıştır.

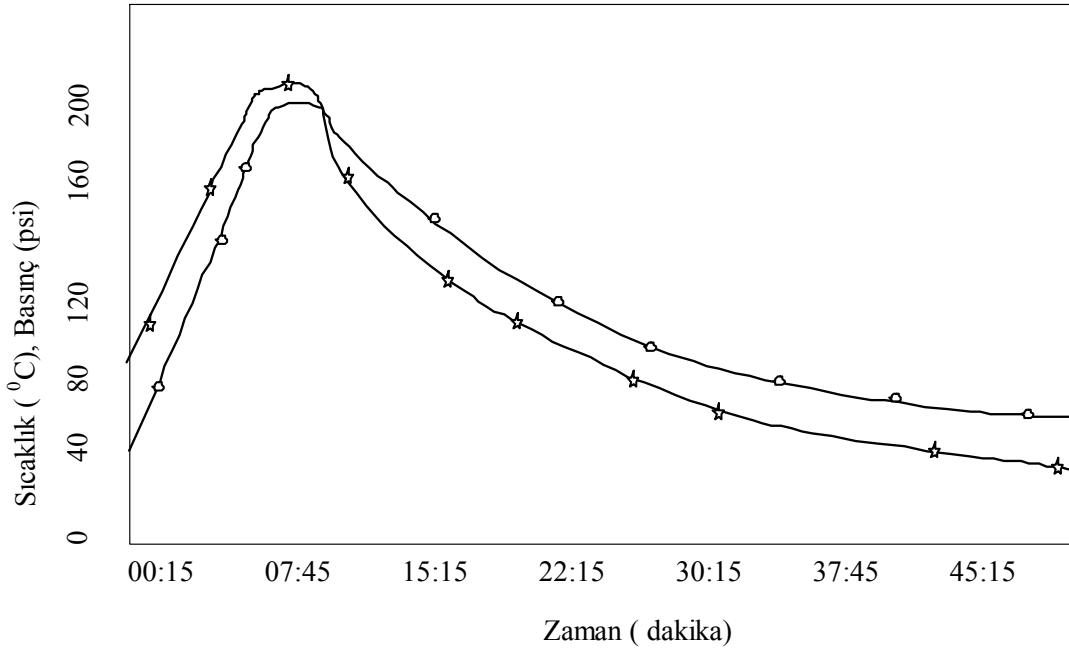
Mikrodalga fırınlarının kullanımı sadece örnek çözünürleştirmeye sınırlı kalmayıp, bunun yanında özellikle örnek çözeltilerinin buharlaştırılmalarında ve spesiasyonunda, kromogenik reaksiyonlarda, örnek temizlenmesinde, analit adsorpsiyon ve desorpsiyonunda, nemin ölçülmesinde, örnek kurutulmasında, kullanılmaktadır. Daha sonraki yıllarda Qinhan Jin ve arkadaşları tarafından mikrodalga çözünürleştirme tekniği çeşitli örneklerle uygulanmıştır. Bu örnekler; jeolojik, biyolojik, botanik, tahıl, çevre örnekleri, kül, metalik ve sentetik örnekler ve çeşitli karışım örnekleridir [106-108].

Ekstraksiyon uygulamaları ise Ganzler ve arkadaşları tarafından 1986 'da ilk olarak yapılmış ve özellikle toprak ve pestisit örneklerinde çalışmışlardır; gıdalardan ham yağ ve antibesinler, tohumlardan ilaç, fasulye ve tohumdan glikoz ekstraksiyonunu yapmışlardır. 1988'li yıllarda Kingstom ve Jessie mikrodalga altında örnek/çözünürleştirici kimyasallar etkileşiminin mekanizmasının bazı yönlerini ve mikrodalga/örnek etkileşiminin teorik yönlerini açıklamışlardır. 1990 yıllarda ise mikrodalga'nın Avrupa ülkelerinde bilgisayar teknolojisi kullanılarak kesikli yada on-line analizlerde değişik alanlarda uygulandığı

görülmektedir [109, 110]. Yüksek verimli analitik tekniklerin en önemli basamağı örnek hazırlama basamağıdır. Element analizi için örneklerin çözünürleştirilmesi ve örneklerdeki organik yapıların uzaklaştırılmaları gerekir, aksi takdirde girişim etkisi ve toplam element analizinde kayıplar söz konusu olacaktır. Bu ciddi problemin uzaklaştırılması için organik içeriklerin yok edilmesi gerekir. Organik yapısı uzaklaştırılmaya çalışılan örnek seyreltme, çözme, parçalama ve ayırma gibi bir takım işlemlerden sonra spesifik ölçüm teknikleriyle analizlenebilir. İlk olarak gıda örneklerinde mikrodalga kullanımı HNO_3 , N_2O_2 , HCl asit ve karışımlarıyla başlanılmış ve çözünürleştirme işlemi olumlu sonuç verirken, El Azouzi ve arkadaşları N_2O_2 , HNO_3 , HCl asit ve karışımlarını ilk olarak oda sıcaklığında çalışmışlardır. Özellikle Co, Cr, Se gibi elementlerin dışındaki elementlerde oldukça iyi geri kazanım sonuçları elde edilmiştir. El Azouzi ve arkadaşları, H_2O_2 , HNO_3 , HCl gibi asitleri doğrudan örnekler üzerine eklemeyip, bu işlemleri kademeli olarak iki basamakta ve her basamakta farklı mikrodalga güçler uygulayarak yapmışlardır [109, 111]. Analiz tekniği, örnekteki beklenen derişim, analit ve matriksin türü ölçüm için önemli parametrelerdir. Bir analiz tekniğinde kullanım kolaylığı, doğruluk ve kesinlik, bir sonraki örnekle arasında karşılıklı olabilecek kirlenme ve tepkime oluşumu (bellek etkisi), sistemden örneklerin geri kazanım etkileri, organik materyallerin yükseltgeme etkileri, inorganik materyallerin parçalanma/çözünülebilirlik etkileri dikkate alındığında geliştirilen bilgisayar sistemlerin mikrodalga ile birleştirilmesiyle bu elektromanyetik enerjinin kullanımı büyük avantajlar sağlamaktadır. Bazı laboratuvarlarda: American Society for Testing Materials (ASTM), the Environmental Protection Agency (EPA) ve the French Association of Standardization (AFNOR) gibi önemli laboratuvarların standart metod olarak tavsiyeleri mikrodalga kullanımı yönündedir. Yapılan birkaç çalışmada referans materyallerin ki bunlar; certified reference materials (CRM), National institute for Standards and Technology (NIST) ve Bureau of Reference Materials of the European Commission (BCR) iz element analizlerinde mikrodalga çözünürleştirilmeleriyle özellikle toprak, bitki, biyolojik örnek, atık, tahıl, gıda, jeolojik, endüstriyel vs örnek çeşitlendirmelerinde çoğu elementler için geri kazanım testlerinin oldukça iyi olduğu görülmüştür. Ancak alüminyum ve silikat içeren örneklerde bu yüksek geri kazanım sonuçları elde edilememiştir [109]. Mikrodalga ısıtma mekanizmasının üstünlüğü (dipol dönme, iyonik iletişim) hedef kütledeki bütün molekülleri aynı anda etkileyerek, klasik tekniklerin ısıtmasına göre çok daha kısa bir sürede işlemi tamamlamasından kaynaklanmaktadır. Mikrodalga işleminde enerji aktarımı çok güçlüdür ve verimlidir.

Oluşturulan bu mikrodalga ortamında organik moleküller üzerinde kimyasal bir etki oluşmamaktadır. Mikrodalga enerji teflon kaplar tarafından absorbe edilmediğinden enerji kaybı olmaz, sadece enerji örnek ve çözünürleştiriciler tarafından absorbe edilir. Mikrodalga'nın gücüne örnek türüne göre uygun bir şekilde seçilebilir, çözünürleştiricilerin derişimi ve eklenecek miktar kolaylıkla kontrol edilebilir [109]. Mikrodalga ısınması dıştan olduğu gibi içten de olduğundan, enerji moleküler çarpışmadan ziyade polarizasyon yolu ile transfer olur. İç ısınma örneği mekanik olarak uyarır ve numunenin dış tabakasını bozar, böylece asit ile örnek arasında daha iyi bir temas sağlanır. Kapalı basınç tüpleri örneğin ısıtılmasını arttırarak çözünürlüğe yardımcı olur. Bu nedenle ihtiyaç duyulan kaynama noktasına daha çabuk ulaşır. Mikrodalga çözünürleştirme, hidroliz ve ekstraksiyon sistemleri ticari olarak mevcut olanlardır. Son yıllarda önem kazanan bu aletlerin en önemli kısmı çözünürleştirme tüpleridir.

Çözeltileri direkt ve hızlı ısıtması, oluşturulan mikrodalga ortamındaki enerjiyi absorblamaması, kirlenmenin olmaması, rahat bir şekilde temizlenebilmesi, kullanılan asitlerle reaksiyona girmemesi, yapısında kirlilik bırakmaması nedeniyle önem kazanır [112, 113]. Günümüzde; açık (atmosferik basınç) tiplerde ve kapalı (yüksek basınç) tüplerde olmak iki tür mikrodalga çözünürleştirme tekniği kullanılmaktadır. Kapalı tüpler yaygın olarak ticari mikrodalga sistemlerinde kullanılır. Çözünürleştirme boyunca asit karışımının buharından ve ayrışma reaksiyonlarında oluşan gazlardan dolayı basınç yükselir. Bu nedenle atmosfer basıncının üzerinde bir basınç oluşur. Yüksek basınç nedeniyle de sıcaklık çarpıcı olarak artar. Bu nedenle mikrodalga çözünürleştirme sisteminin çok dikkatli programlanması gerekir [112, 114].



Şekil 1.5. Mikrodalga enerji kullanımında, çözünürleştirme kaplarının büyük kısmında oluşan basınç ve sıcaklığın zamana bağlı olarak değişimi [114]

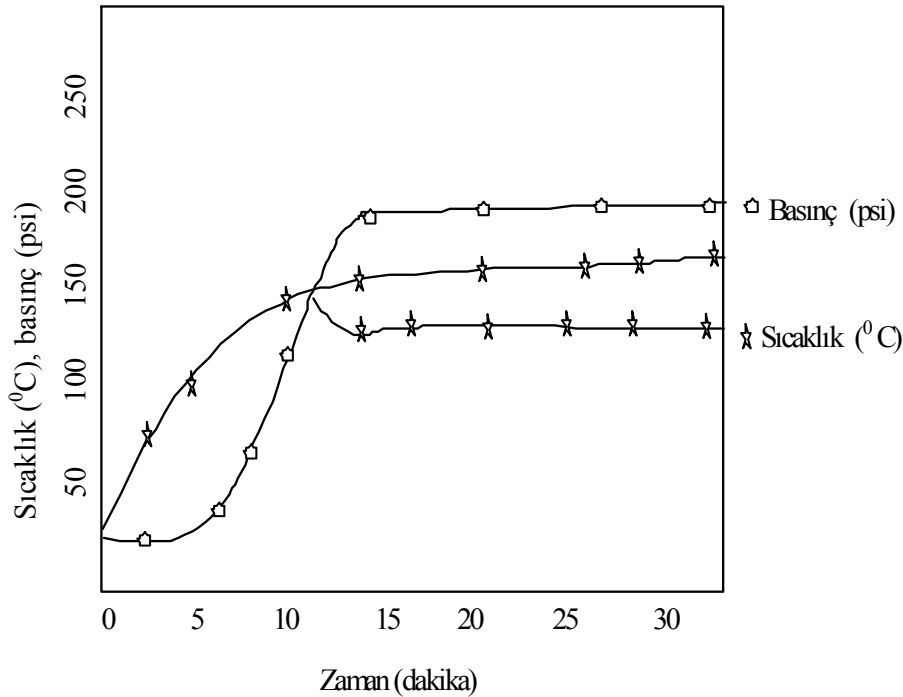
Mikrodalga enerji kullanılarak, basınç sıcaklık ve zaman arasındaki ilişkinin açıklanması için yapılan çalışmalarda da zamana göre ilk 5.-10. dakikalarda sıcaklık (°C) ve basınç (psi) değerinde hızlı bir şekilde artış olduğu görülmüş, belli bir maksimuma çıkan sıcaklık ve basınç eğrileri organik yapının parçalanması ve dolayısıyla basınç ve sıcaklık oluşturan gazların azalmasıyla daha sonraki sürelerde dalgalanmalar göstermiş ve üstel bir azalma ile sabit bir değere ulaşmıştır [114]. 1975 yılındaki tanıtımından bu yana mikrodalga ısıtma ile numune hazırlanması çok hızlı bir şekilde gelişip, günümüzde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu yöntemin klasik olarak bilinen tekniğe göre avantajları;

- Çözünürleştirme süresi
- Tekrarlanabilirlik
- Minimum enerji ve kimyasal madde sarfıyatı
- Uçucu bileşenlerin ortamda tutulması
- Çevresel kirlenmeden saklanması
- Basit olması
- Güvenli olması (avantaj ve dezavantajları göz önünde bulundurularak)
- Blank (kör) hacminde azalma olması
- Çözünürleştirilebilir örnek sayısının ve miktarının fazla olması
- Çözünürleştirme kapları (teflon) tarafından mikrodalga enerjinin absorbe edilmemesi.

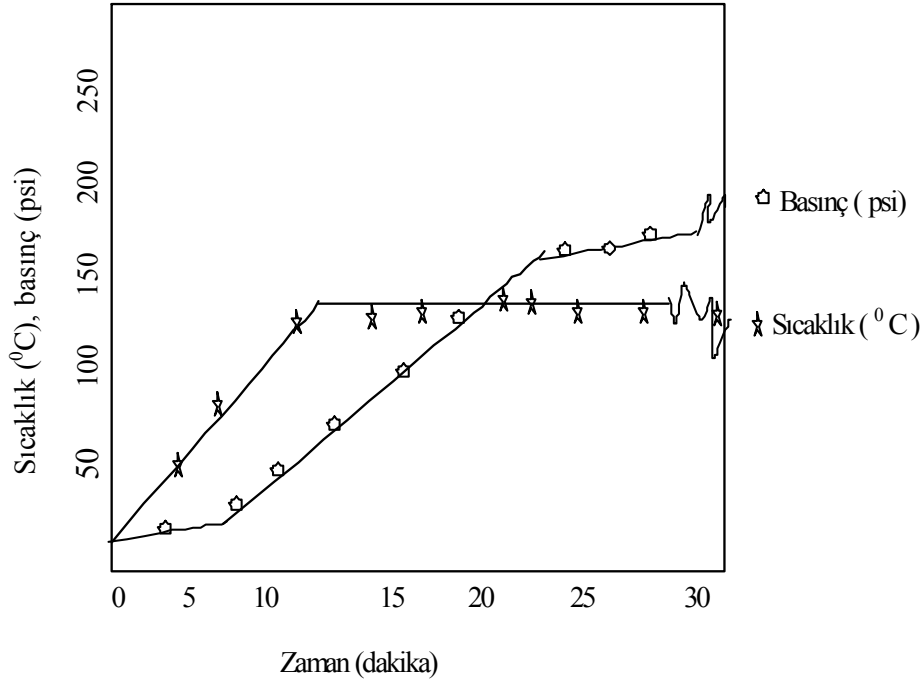
Kapalı tüplerde mikrodalga ile örnek hazırlanması analiz laboratuvarlarında çok yararlı araçlar haline gelmiştir. Çözünürleştirme kaplarında (teflon kaplar) gaz fazı ile sıvı faz termal bir dengede değildir. Teflon kaplar veya diğer çözünürleştirme kaplarında iç basınç tamamen kontrol altında değildir. Örnek parçalanması esnasında çözünürleştirme kabındaki gerçek basınç; kabın cinsine, kullanılan asidin türüne, miktarına, asidin sıcaklığına, çözünürleştirilen örneğin boyutuna ve bileşimine bağlıdır. Çözünürleştirici olarak kullanılan kimyasallar farklı ısı kapasiteleri ve yoğunlukları yüzünden, aynı işlem basamakları altında aynı miktarda enerji absorblamazlar. Kapalı tüp içerisinde atmosferik kaynama noktası üzerindeki asit sıcaklıkları, asidin kısmi basınçlarının arttırılmasıyla başlar. Bu artan sıcaklıklarda asidin oksidasyon potansiyeli de söz konusu olduğundan örneğin parçalanma oranı da artar. Eğer mikrodalga çözünürleştirmede örnekler kuruluğa kadar buharlaşırsa gaz sızıntısından veya kabın sıkı sıkıya kapalı olmamasından dolayı yansıma gücünün artmasından kaçınmak için mikrodalga fırının içine bir veya birkaç kap içinde 100'er ml su konulur [110]. HNO_3 ile yapılan çözünürleştirmelerde organik maddelerde CO_2 , NO , NO_2 , H_2O gibi gazlar açığa çıkar. Bu olay tüp içindeki toplam gaz hacmini arttırmakta ve belli sıcaklıkta HNO_3 'ün tek başına yapabileceğinden daha yüksek basınçların oluşması yol açmaktadır. İz elementlerin belirlenmesinde HNO_3 ve çözünürleştirmede kullanılan diğer kimyasalların seyreltik olmaları başarılı sonuçlar elde edilmesinde yardımcı olur. Bu hem basit, hem güvenli ve hem de ekonomik açıdan avantajlarının yanında, seyreltik asitler daha çok mikrodalga enerjiyi absorbe ederler. Bu gibi avantajlar sağlansa da çözünürleştirme süresinin uzaması önemli bir dezavantaj olarak görülür. Her ne kadar seyreltik çözünürleştirme asitleri mikrodalga enerjiyi iyi absorblasa da diğer bir taraftan derişik asitli ortamda aşırı bir gaz basıncı olur. Mikrodalğanın enerjisinin örnek matrisine etkisi artar, oluşan bu yüksek basınç ve sıcaklıkla örnekler çözünürleştirilir. Örnek bütünlüğünde sağlanan bu şekilde yapılan çözünürleştirme işlemlerinde belirlenen % geri kazanma verimi değerleri oldukça iyidir. Ancak örnek çözünürleştirilmesi esnasında ortamın potansiyelinin tehlikeli patlama potansiyellerine ulaşmaması için çözünürleştirme süresinin kısa tutulması ve mümkün olduğu kadar düşük asit hacminde çalışılması gerekir [111].

Tahıl örneklerinin mineralizasyonunda çeşitli asit ve asit karışımları kullanılır, bunlar HNO_3 , HF , HClO_4 , HCl , H_2SO_4 'dir. Polar moleküller ve iyonik çözeltiler (genellikle asitler) mikrodalga enerji tarafından etkilenebilecek sürekli bir dipol moment yüzünden güçlü bir şekilde mikrodalga enerjiyi absorbe eder. H_2SO_4 yüksek sıcaklıklarda PTFE

kaplarına zarar verdiğinden dolayı pek fazla tercih edilmez. HClO_4 ise yüksek sıcaklık ve basınçta tehlikeli patlama potansiyeline ulaştığından dolayı yüksek sıcaklık ve basınçlarda pek tavsiye edilmez. HCl ise Al analizi yapılan çalışmalarda Al ile girişim yaptığından dolayı bu analizde kullanılmaz. Shaole ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmalarda, örnek sadece 2,5-5 ml HNO_3 ve $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ karışımlarıyla çözünürleştirilmiştir. Örneğe bir ön çözünürleştirme işlemi uygulandıktan sonra sıcaklık $120\text{-}200^\circ\text{C}$ 'ye ayarlanmış ve basınç 200 psi olacak şekilde çözünürleştirme işlemine devam edilmiştir. $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ ve HNO_3 , HClO_4 asit karışımların çözünürleştirme yüzdeleri karşılaştırıldığında, $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ asit karışımı ile yapılan çözünürleştirme sonucu elde edilen mineral içeriklerinde %0,01 kadar bir artış olduğu gözlenmiştir. Çözünürleştirme ortamında H_2O_2 'in varlığı oksitlenmeyi ve çözeltinin berraklığını arttırmakta, sınırlı basınç altında yüksek sıcaklığın sürdürülmesine yardımcı olmaktadır.



Şekil 1.6. Basınç ve sıcaklık kontrollü mikrodalga çözünürleştirme cihazı ile HNO_3 karışımı kullanılarak yapılan çözünürleştirme işlemi sonucu değişen basınç ve sıcaklık eğrileri.



Şekil 1.7. Basınç ve sıcaklık kontrollü mikrodalga çözünürleştirme cihazı ile $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ karışımı kullanılarak yapılan çözünürleştirme işlemi sonucu değişen basınç ve sıcaklık eğrileri.

Isıtıcı üzerinde materyalin; asitler ve bazlarla ısıtılarak çözünürleştirilmesi analiz için örneklerin hazırlanmasında bilinen bir yöntemdir. Bu yöntem, ağız açık bir sistem olduğu için kaynama esnasında madde kaybını dikkatle önlemeyi gerektiren bir yöntemdir. Çözünürleştirmeyi tamamlama saatlerce sürebilir ve saatlerce açığa çıkan asit buharları sağlık için problem oluşturur [110, 111].

Bu yöntemlerde tepkime sıcaklığı asitlerin kaynama sıcaklığına kadar yükselir. Bu esnada asit buharları örneğin kirlenmesine yol açabilir, oluşabilecek patlama tehlikeleri, fazla miktarda asit kullanılması ve bu arada her çözünürleştirme işleminde sürekli aynı titizliğin gösterilmesi gerekir. Doğrudan yaş çözünürleştirme işlemlerinde genellikle derişik HNO_3 yada $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$, $\text{HNO}_3/\text{HClO}_4$ karışımları kullanılarak sıcaklık yükseltilir [109, 115]. Genel olarak bu tekniklerin dezavantajları:

- Çözünürleştirme başlamamışsa daha fazla asit ilavesi, sık sık kontrolü ve fazla miktarda asit ilavesi
- Asit konsantrasyonunun AAS'ye ve diğer spektroskopik aletlere verilecek sınırın çok üstünde olması halinde kuruluğa kadar buharlaştırma gereği,

- Mutlaka çeker ocak gerektirmesi, buna rağmen asit buharlarının laboratuvar ortamını kirletmesi,
- Çok fazla miktarda ve yüksek konsantrasyonda asit kullanılmasıdır.
- Potansiyel kirliliklere açık olması
- Çok uzun zaman alması
- Mekanik ve buharlaşma kayıpları olarak sıralanabilir.

1.5.1.3. Sadece Seyreltmeyle Örneklerin Analize Hazırlanması

Sıvı örnekler uygun seyreltici maddelerle seyreltilerek AAS ile direk analiz edilebilir. Bu amaçla saf su, 0.1 M HNO₃, 0.1 M HCl gibi seyreltik asitler, Triton X-100 veya % 1'lik sodyum lauryl sülfat gibi ıslatıcı reaktifler kullanılabilir. Alevsiz AAS' de HNO₃ ve HCl atomlaşma basamağını olumsuz etkileyebilir.

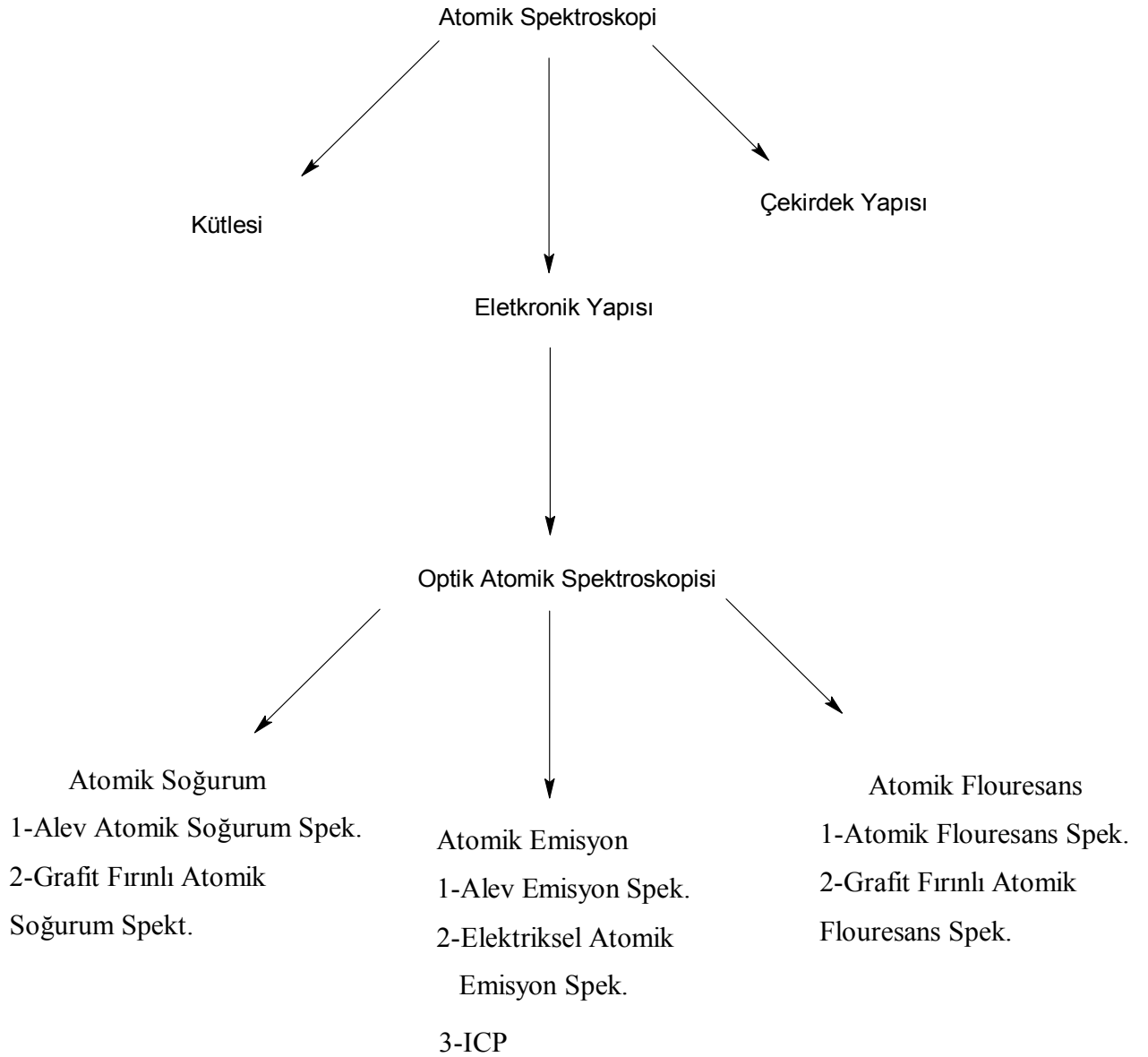
1.5.1.4. Fotooksidasyonla Çözme

Organik bileşikler ultraviyole ışınlarıyla etkileşme sonucu kısmen veya tamamen bozundurulabilir. Radyasyon kaynağı olarak ışıma yapan civa veya ksenon ark lambasının kullanıldığı bu düzenekte örnek lambanın etrafını saracak şekilde dizayn yapılmıştır. Biraz Hg veya Fe (III) ilavesiyle ışığın absorplanması arttırılabilir. Biraz H₂O₂ ilavesiyle de yükselgenme reaksiyonları hızlandırılabilir. Daha çok içme ve deniz suyundaki organik bileşiklerin bozundurulması amacıyla kullanılan bu methodda gerekli süre örnek ve cihaza bağlı olarak birkaç dakikadan birkaç saate kadar değişebilir.

1.6. Analiz Yöntemleri

1.6.1. Spektroskopinin Tanımı ve Sınıflandırılması

Madde ile elektromagnetik dalganın etkileşmesiyle oluşan soğurma (absorpsiyon) ve yayılım (emisyon) olaylarını dikkate alan fiziksel yöntem spektroskopi olarak tanımlanır [116]. Madde safken, elementlerde yapı taşları atom, bileşiklerde molekül olduğundan, Spektroskopiye de "Atomik" ve "Moleküler" olmak üzere iki gruba ayırabiliriz. Şekil 1.8. de atomik spektroskopinin sınıflandırılması verilmiştir [117].



Şekil 1.8. Atomik Spektroskopinin sınıflandırılması

1.6.2. Atomik Spektroskopisi

Atomik Spektroskopisi, nicel ve nitel analizler için oldukça fazla kullanılır. Morötesi veya görünür bölge ışınının soğurum ve yayılımı ilkesine dayanır. Morötesi veya görünür bölgedeki atomik spektrum, örneğin atomlara ayrışmasıyla elde edilir. Bileşiği oluşturan moleküller, bir işlemle bozularak atomlarına ayrıştırılır ve element gaz taneciklerine dönüştürülür. Atom halindeki elementin hem yayılım hem de soğurum spektrumu her element için karakteristik olup birbirinden farklı dalga boylarında ve genişliği birkaç $\text{\AA}$ dur. Bu dalga boylarından her birine, atomun hattı denir. Gaz içerisinde molekül ve kompleks iyonlarının bulunmadığı ortamda titreşim ve dönme hareketleri bulunmadığından dolayı band spektrumu gözlenemez. Böylece hatlar bağıl olarak sadece az sayıdaki geçişlere karşılık gelir. Tablo 1.3. atomik yayılım ve atomik soğurum ilkesine dayanan çeşitli yöntemleri göstermektedir [117]. Bu yöntemler hızlı, kolay, büyük duyarlık, geniş uygulanabilirlik gibi üstünlüklere sahiptir.

Tablo 1.3. Atomik spektral metotların sınıflandırılması

Bilinen İsmi	Atomlaştırma yöntemi	Radyasyon kaynağı	Numunenin verilışı
Ark Spektroskopisi	Elektrik arkı	Elektrik arkı	Örnek elektroda konur
Spark Spektroskopisi	Elektrik sparkı	Sparktaki örnek	Örnek elektroda konur
Alev Emisyon veya Atomik Emisyon	Alev	Alevdeki örnek	Örnek çözeltisi aleve püskürtülür
Atomik Floresans	Alev	Bozunma lambası	
X ışınları Floresans	Gerekmez	X- ışınları tüpü	Örnek X- ışınlarında tutulur
Soğurma yöntemleri			
Alev veya Atomik soğurma	Alev	Oyuk katotot lambası	Örnek X- ışınlarında tutulur
Alevsiz soğurma	Isıtılmış yüzey	Oyuk katotot lambası	Örnek X- ışınlarında tutulur
X- ışınları soğurma	Gerekmez	X- ışınları tüpü	Örnek X- ışınlarında tutulur

1.6.3. Absorpsiyonun Esasları

Atomik soğurum spektrumun ilk temel prensipleri 1860 yılında saptanmıştır [118]. Daha sonra Walsh ve arkadaşları [119], tarafından ilk olarak ortaya kondu ve 1955 yılından sonra geliştirilerek modern bir alet haline getirildi. 1960 yılında ise ticari bir alet olarak piyasaya sürüldü. Bundan böyle laboratuvarlarda birçok alanlarda kullanılmaya başlanmıştır. Çözeltilerdeki metallerin tayini için yaş metotların yerini almıştır. Atomik soğurma spektrometresi ile 60-70 kadar iz seviyedeki metallerin miktarı tayin edilebilmektedir.

Kuantum mekanik kuramına göre $h\nu$ enerjili foton, atom tarafından soğurulursa, atomun temel enerji seviyesindeki değerlik elektronları uyarılır. Daha sonra yüksek enerjili düzeye geçer, geçiş için gerekli enerji [120];

$$E_1 - E_0 = h\nu = hc / \lambda \quad (1) \text{ eşitliği ile verilmektedir.}$$

E_1 = Uyarılmış seviyedeki enerji

E_0 = Temel seviyedeki enerjisi

h = Plank sabiti

ν = Fotonun frekansı

c = Işık hızı

λ = Fotonun dalga boyu

Soğurulan foton tek dalga boyundadır (monokromatik). Bu dalga boyu atomik hat olarak isimlendirilir. Soğrulan ışığın şiddeti Lambert-Beer yasasına göre, $I = I_0 e^{-k_\nu l}$ (2) eşitliği ile verilmektedir.

I = Örnekten çıkan ışık şiddeti

I_0 = Gelen ışık şiddeti

k_ν = ν frekanstaki soğurum katsayısı

l = Soğurum ortamının uzunluğu

(2) eşitliğinin her iki tarafın logaritmasını alıp düzenlersek,

$$A = \log I_0/I = 0.4343 k_\nu l \quad (3) \text{ şeklini alır.}$$

Burada A 'ya soğurum, k_ν frekansı ise; atom sayısına ait hat genişliğini belirleyen fiziksel olaylara (Doppler ve Lorenz genişlemesi gibi) ortamdaki atom sayısına bağlıdır.

1.6.4. Analiz Hattı Seçimi

Atomik soğurum spektrometresinde atom buharı elde etmek için alev, grafit fırın gibi atomlaştırıcılar kullanılmaktadır. Atomların sıcaklığı 2000-3000 °C arasındadır. Sıcaklığın yüksek olmasından dolayı atomların uyarılması söz konusu ise de, bu sıcaklık aralığında büyük oranda temel seviyede bulunur. Herhangi bir i seviyesindeki uyarılmış atomların sayısı Boltzman eşitliği ile verilmektedir.

$$N_i = N_o g_i / g_o e^{-E_i/kT} \quad (4)$$

N_i = Uyarılmış seviyedeki atom sayısı

N_o = Temel seviyedeki atom sayısı

g_i = i seviyedeki statistik ağırlık

g_o = Temel seviyedeki statistik ağırlık

E_i = i seviyedeki uyarma enerjisi

T = Sıcaklık (°K)

k = Boltzman sabiti

(4) eşitliğinde görüldüğü gibi herhangi bir i seviyede uyarılmış atom sayısı, T ye ve E'ye bağlıdır. Tablo 1.4. de bazı elementlerin N_i/N_o oranlarının sıcaklıkla değişimi verilmiştir.

Tablo 1.4. Bazı elementlerin N/N_o oranlarının sıcaklıkla değişimi

	Hat(A°)	g_i/g_o	E_i (eV)	2000 K	3000 K	4000 K	5000 K
Cs	8521	2	1.46	$4.4 \cdot 10^{-4}$	$7.2 \cdot 10^{-3}$	$3 \cdot 10^{-2}$	$6.8 \cdot 10^{-2}$
Ca	4227	3	2.93	$1.2 \cdot 10^{-7}$	$3.7 \cdot 10^{-5}$	$6.0 \cdot 10^{-4}$	$3.3 \cdot 10^{-3}$
Na	5891	2	2.11	$9.9 \cdot 10^{-6}$	$5.6 \cdot 10^{-4}$	$4 \cdot 10^{-3}$	$1.5 \cdot 10^{-2}$
Zn	2139	3	5.80	$7.3 \cdot 10^{-15}$	$5.6 \cdot 10^{-10}$	$1.5 \cdot 10^{-7}$	$4.3 \cdot 10^{-6}$

1.6.5. Alevdeki Atomların Spektroskopik Davranışları

İnorganik tuzların sulu çözeltisi aleve püskürtüldüğünde metalik bileşenin önemli bir kısmı tek atomlu gaza dönüşür. Böylece alev içerisinde gaz çözeltisi veya büyük oranda mono atomik partikül içeren plazma elde edilir.

1.6.6. Alev Spektroskopisinin Türleri

Alevin sıcaklığı, tek atomlu taneciklerin küçük bir oranının daha üst elektronik seviyelere (enerji seviyelerine) uyarılması açısından önemlidir. Uyarılan tanecikler daha büyük enerji seviyelerinden temel seviyeye dönmesi, atomik yayınım özellikleri alev spektroskopisi temelini oluşturur. Burada hatların dalga boyu nitel analiz, hatların şiddeti ise nicel analizin temelini oluşturur.

1.6.7. Atomik Soğurum ve Atomik Yayınım Hat Genişlikleri

Bir atomik soğurum veya atomik yayınım doruğunun normal hat genişliği 10^{-5} nm civarındadır. Bu genişlik, atomların uyarılmış enerji düzeylerindeki yaşama sürelerinin sonucudur. Doppler ve basınç genişlemeleri hat genişliğinin değişmesine neden olur. Atomların düzensiz ısısal hareketlerinin sonucu olarak ortaya çıkan Doppler genişlemesinde atomların hareketi ışık kaynağına doğru ise absorpsiyon frekansı azalır, ters yönde ise artar. Biraz daha uzun dalga boyları soğurulur veya yayımlanır. Alıcıya doğru hareket eden atomlarda tersi olur. Yani kısa dalga boylarına kaymalar söz konusudur. Basınç genişlemesi olarak bilinen ikincisi, atomlar arasındaki çarpışmalar dolayısıyla gözlenen genişlemedir. Atomların yarıçapları üst enerji seviyelerindeki küçük değişmelere ve bununla ilgili olarak dorukların genişlemesine neden olur. Bu etkilerin her ikisi de, sıcaklığın yükselmesiyle artar. Yüksek sıcaklıklarda daha fazla genişleme gözlenir.

1.6.8. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi

Atom buharı tamamen karakteristik elektronik geçişlere karşılık gelen enerjili ışını soğurur. En çok kullanılan soğurum hattı, uyarılmış bir seviyeden diğerine geçişten ziyade temel seviyeden uyarılmış seviyeye geçişi içeren rezonans hattıdır. Uyarılmış atomların sayısı az olduğundan, uyarılmış seviyeden geçişler oldukça zayıftır ve gözlenmezler. Sonuç olarak alevli atomik soğurum spektrumu rezonans hatlardan oluşur. Bu hatlar temel düzeyden, üst düzeye geçişin neticesinde elde edilirler. Rezonans soğurum hattının dalga boyu aynı geçişe karşı gelen yayınım hattı ile aynı dalga boyundadır.

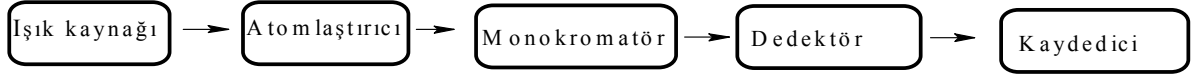
1.6.8.1. Atomik Soğurum Ölçümü

Atomik soğurum hatları çok dar olduğundan ve geçişler her element için tek olduğundan dolayı, buna dayalı analitik yöntemler teorik olarak çok spesifikdir. Diğer taraftan dalga boyunun dar olması çözelti soğurumunda rastlanmayan bir problemin ortaya çıkmasına neden olur. Beer yasası sadece monokromatik ışın için gerekli olduğundan, soğurum doruğunun kaynağa göre daha dar olması halinde, soğurum ile derişimin doğrusal olması beklenir. Spektrumlu ışık kaynağı, atomik soğurum için kullanıldığında sadece ışının küçük bir kesri soğurulur ve bağıl soğurum oldukça küçük olur. Bu da Beer yasasından sapmaya ve ilaveten duyarlığın oldukça azalmasına neden olur. Bu problem soğurum için kullanılan aynı dalga boyunda yayınım yapan ışın kaynağı kullanarak giderilir. Örnek olarak Na' un soğurum hattı 589 nm' dedir ve bu elementin analizi için kaynak olarak, Na buhar lambası kullanılır. Burada gaz halindeki Na atomları elektriksel boşalım ile uyarılır. Daha sonra uyarılan atomların düşük enerji seviyelerine dönmeleri ile karakteristik ışın yayarlar. Yayılan hat rezonans soğurum hattı ile aynı dalga boyuna sahiptir. (Doppler genişlemesinin minimuma düşürülmesi için alevde, daha düşük sıcaklıkta çalışılmalıdır.)

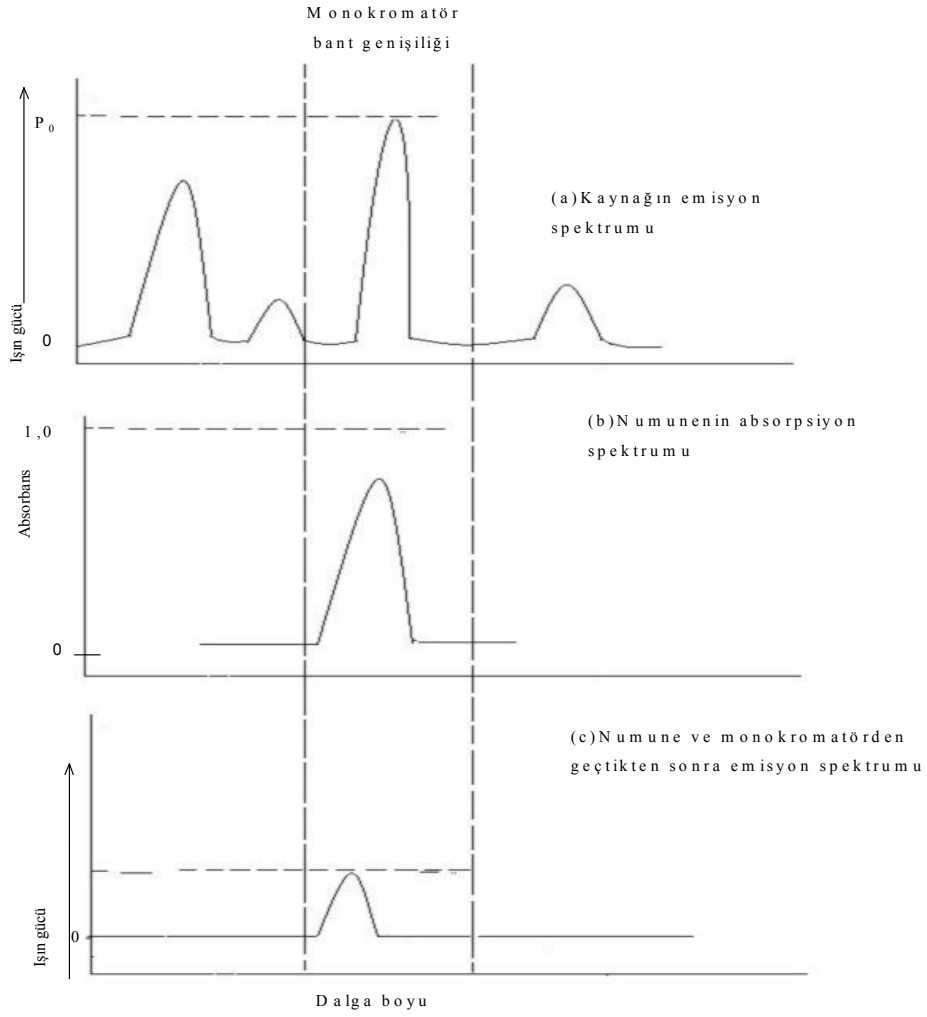
Analizde kullanılan ışın, soğurulacak dalga boyunda ve soğurum doruğunda ölçüm yapmaya uygun olmalıdır. Bu durumda duyarlık artar ve Beer yasasına daha çok uyum sağlanır. Analiz edilen her bir element için kendisine ait lamba kullanılır. Bu güçlüğü gidermek için çok büyük ayırma gücüne sahip monokromator ile sürekli kaynak kullanarak veya başka bir seçenek, yüksek sıcaklıktaki alev içerisine tayin edilen elementin bir bileşenini göndererek hat kaynağı elde etme denemeleri yapılmıştır. Bu seçeneklerin hiçbiri her bir element için özel lamba kullanılması kadar tatmin edici sonuç vermemiştir.

1.6.9. Atomik Spektroskopisinin Düzenegi

Atomik absorsiyon (soğurum) ölçümleri için gerekli olan aletin kısımları şekil 1.9.'da gösterilmiştir. Bunlar ışık kaynağı, atomlaştırıcı, monokromatör, dedektör, kaydedici olmak üzere 5 ana kısımdan oluşur.



Şekil 1.9. Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi şeması



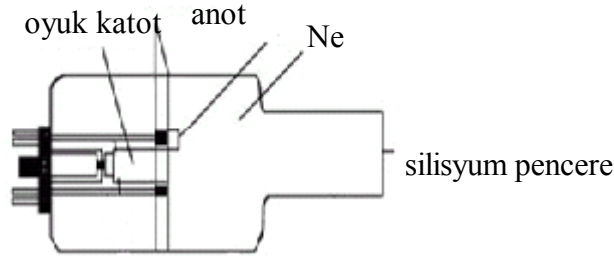
Şekil 1.10. Atom rezonans hat soğurumu

1.6.9.1. Işık Kaynağı

Atomik soğurum ölçümü için en yaygın kaynak bulunan oyuk katot lambasıdır. Oyuk katot lambası, tungsten anot ve analiz edilecek elementten veya alaşımından yapılmış katottan oluşur. Oyuk katot lambası analizi yapılacak elementin rezonans hattında ışın yayınlar. Oyuk katot lambalarının şekli silindir olup (şekil 1.11.) ön kısmı kuvar

camından yapılmaktadır. Bu kısma elle dokunulmamalıdır. Parmak izi kısmen ışığın saçılmasına neden olduğu gibi, elden geçen bir miktar tuz, kuvarsin dayanıklılığını azaltır.

Elektrotlar 1-2 mmHg basıncında He, Ne veya Ar gazı ile doldurulmuş cam tüp içerisine yerleştirilir. Bu asal gazların seçiminde dikkat edilen en önemli faktör asal gazın yayım çizgileriyle, ölçümü yapılacak elementin yayım çizgilerinin çakışmamasıdır. Diğer bir nokta da asal gaz ve elementin iyonlaşma potansiyelleridir. İyonlaşma potansiyeli yüksek olan elementler için iyonlaşma enerjisi argondan çok yüksek olan neon kullanılır. Elektrotlar arasına potansiyel uygulandığı zaman gaz iyonlaşır ve iyonlar elektrota doğru hareket ederek akım geçmesi sağlanır.



Şekil 1.11. Oyuk katot lambası

Eğer potansiyel yeteri kadar büyükse katot yüzeyindeki metal atomlarının bazıları yeteri kinetik enerjili olduklarından yerlerinden sökülerek ayrılırlar ve atom buhar oluşur. Bu işleme Sputering denilir. Atomik buhar fazından, metal atomlarının bir kısmı uyarılmış durumdadır. Bundan dolayı o atomlara ait karakteristik ışımaya yayılır.

Atomik absorpsiyon analizlerinde her element için ayrı bir lamba kullanma gereği, çok elementi katotların yapılması düşüncesine yol açmıştır. Katot, alaşımlardan, metaller arası bileşiklerden veya toz haline getirilmiş metal karışımlarından yapılabilir. Tekli oyuk katot lambalarına nazaran ekonomik olması ve zamandan kazanma gibi avantajları yanında, spektral girişimlerin olması dezavantajı çoklu oyuk katot lambalarının kullanımında bazı güçlükler neden olmaktadır [121].

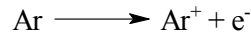
Tipik atomik soğurum ölçümünde alev tarafından yayılan ışımaya girişimlerinin giderilmesi gerekir. Spektral girişim denilen bu olayı, alev ile alıcı arasına monokromator yerleştirilmesiyle önlenir. Bu işlem analiz için seçilen dalga boyuna karşılık gelen ışımaya, diğerlerinden ayırır. Alev, ortamda bulunan atomların uyarılması sonucu yayılan ışımaya da içereceğinden, bunların kaynaktan gelen ışıklardan ayırt edilmesi gerekir. Bu işlem,

kaynağın şiddetinin sabit frekansta modüle edilmesiyle sağlanır. Bu işleme modülasyon denir. Modülasyon işleminde, alıcı 2 tip sinyal alır. Birisi kaynaktan kesikli gelen, diğeri alevden sürekli gelen sinyaldir. Bu sinyaller daha sonra elektrik enerjisine dönüştürölür ve bağıl olarak basit elektronik sistemde sadece aç sinyali amplifiye edilir ve alevden gelen sürekli aç sinyali çıkartılarak net ışık sinyali elde edilir.

Basit ve güvenilir modülasyon, ışık kaynağı ile alev arasına dairesel disk yerleştirerek sağlanır. Diskin dörtte bir kısmı kesiktir ve diğeri dörtte bir kısmı siyah boyalıdır. Disk sabit hızda ışığın frekansı ile uyumlu olarak döner ve kesikli bir ışık üretir. Alıcıya eşit aralıkla kaynaktan ve alevden yayımlanan ışınlar düşer. Bunların farkı elektronik olarak alınır. Başka bir seçenek de, ışık kaynağını besleyen ışık; kaynağının sadece aç sinyali verecek şekilde tasarlanmasıdır.

Oyuk katot lambaları; zamanla dolgu gazının ortamdan uzaklaşması ve tozlaşan katot metalinin lambanın çeperlerine taşınıp absorplanması sonucu ışık şiddetinde bir azalma olmakta ve belli bir süre sonra kullanılamaz hale gelmektedir. Bunun yanında oyuk katot lambasının ömrü, uygulanan maksimum akım şiddetine çok bağılıdır. Lambanın ömrünü uzatmak için, firmaca önerilen maksimum akımının altında bir değerde çalışılmalıdır. Uçucu elementlerin katot lambalarında tozlaşma diğelerine göre daha çabuk olduğundan ömürleri oldukça kısadır. Bu nedenle bu elementlerin katot lambaları, katotları uçuculuğu az olan alaşımlardan yapılmaktadır. Sn, Ga, In, Bi, Pb, As, Ge ve Se gibi elementleri örnek verebiliriz. Uçucu elementler için daha uzun ömürlü ve ışık şiddeti yüksek olan elektrotsuz boşalım lambaları kullanılmaktadır. Bu lambalar radyo frekansı veya mikro dalgalarla uyarılma ilkesine dayanır. Bu oyuk katot lambalarının diğelerinden farkı, katot önünde oluşan atom bulutuna farklı bir kaynaktan yapılan ikincil bir boşalımdır. Böylece daha etkili bir uyarılma sağlanmakta ve ışık şiddeti arttırılmaktadır.

Işık kaynağının çalışma prensibi; anot ile katot arasında yüksek gerilim oluşturulduğunda anotta soygaz iyonlaşır.



(+) yüklü hale geçen soygaz katot tarafından çekilir ve katot yüzeyindeki metal atomlarına enerjisini verir. Böylece metal atomları son yörüngesindeki elektronları bir üst enerji seviyesine çıkarak uyarılmış hale gelir. Uyarılmış metal atomları üst enerji seviyesinden temel hale geçerken katot elementinin karakteristik spektrumunu yayırlar.

1.6.9.2. Atomlaştırıcı

Atomlaştırıcının en önemli işlevi; örnekteki molekül veya iyonlardan temel haldeki element atomlarını oluşturmaktır. Bu olay, tüm atomik absorpsiyon olayında en önemli ve en kritik işlemdir. Bir analizin başarılı olup olmaması atomlaşmanın etkinliğine bağlıdır; tayinin duyarlılığı incelenen elementin atomlaşma derecesi ile doğrudan orantılıdır. Atomlaştırıcı olarak; Alev, elektrotermal atomlaştırıcılar, kuvars atomlaştırıcılar ve lazer ışını kullanılır.

1.6.9.2.1. Alev

Atomik absorpsiyon spektroskopisinde en iyi bilinen ve kullanılan alev hava/asetilen alevidir. Birçok element için uygun bir ortam ve atomlaşma için yeterli sıcaklık sağlar. Bunun yanında analiz hattı kısa dalga boyunda olan elementlerin analizi için hidrojen/hava alevi kullanılmaktadır. Hava/asetilen alevi bazı bileşiklerin ayrışması için yeterli değildir. Örneğin alüminyum, silisyum, bor gibi elementler çok çabuk kararlı oksitlerini oluşturduklarından refraktör elementlerdir. Bu refraktör elementler için nitroz oksit/asetilen alevi kullanılır. AAS' de yanıcı ve yakıcı gaz alete iki kanaldan girer. Yanıcı ve yakıcı gazların akış hızları rotametre ile ölçülmektedir. Yakıcı gazın basıncı ise 2-3 atmosfer civarındadır. Analizi yapılacak çözelti, sisteme giren yanıcı ve yakıcı gazların oluşturdukları basınç farkından yararlanarak plastik bir boruyla emdirilir ve sisleştiriciye gelir. Burada birkaç mikron çapında zerreciklere ayrılır ve karışım odasında gazlarla karışarak alev başına ulaşır. Yerçekiminin etkisiyle tanecikler sisleştiriciden dışarı atılır. Alev çözeltinin %10-15'i ulaşır. Alev ulaşan çözelti ilk önce çözücüsünü kaybeder, erir, buharlaşır ve analizi yapılacak elementin atomik buharı oluşur. Bu işlem alev başından 0.1-1 cm yüksekliğinde olmaktadır. Alev başından 1 cm yükseklikten sonra sıcaklık hızla düşmektedir. Alevin sıcaklığı ve atom buharının analiz ortamında kalma süresi, yanıcı ve yakıcı gaz cinslerine ve akış hızlarına bağlıdır [120]. Tablo 1.5. de AAS'de kullanılan bazı alevlerin sıcaklıkları ve alev hızları verilmiştir.

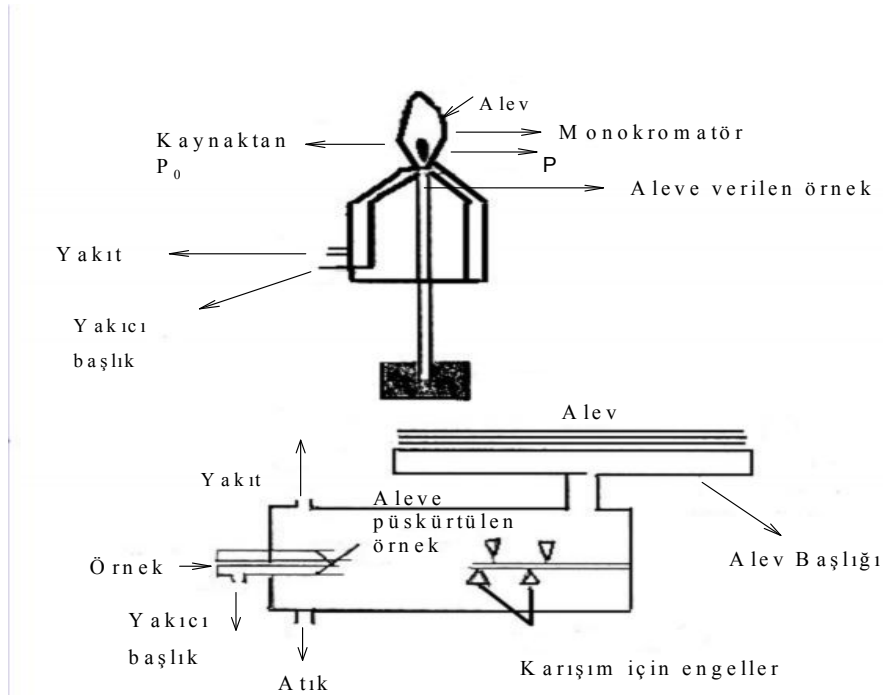
Tablo 1. 5. AAS 'de kullanılan bazı alevlerin sıcaklıkları ve alev hızları

Yanıcı	Yakıcı (Yükseltgen)	sıcaklık	Maksimum yanma hızı (cm/s)
Doğalgaz	Hava	1700-1900	39-43
Doğalgaz	Oksijen	2700-2800	370-390
Hidrojen	Hava	2000-2100	300-440
Hidrojen	Oksijen	2550-2700	900-1400
Asetilen	Hava	2100-2400	158-266
Asetilen	Oksijen	3050-3150	1100-2480
Asetilen	Nitröz oksit	2600-2800	285

1.6.9.2.1.1. Alev Başı

AAS' de iki tür alev başı kullanılır. Birincisi olan toplam tüketimli sistemde; yanıcı ve yakıcı gazlar ayrı, ayrı taşınarak yakıcı başlığın hemen altında analizi yapılacak çözeltiye karışırlar. Örnek çözeltisi yakıcının merkezinden geçen dik bir kapilerden püskürtülerek doğrudan aleve sis şeklinde verilir (şekil 1.12.a).

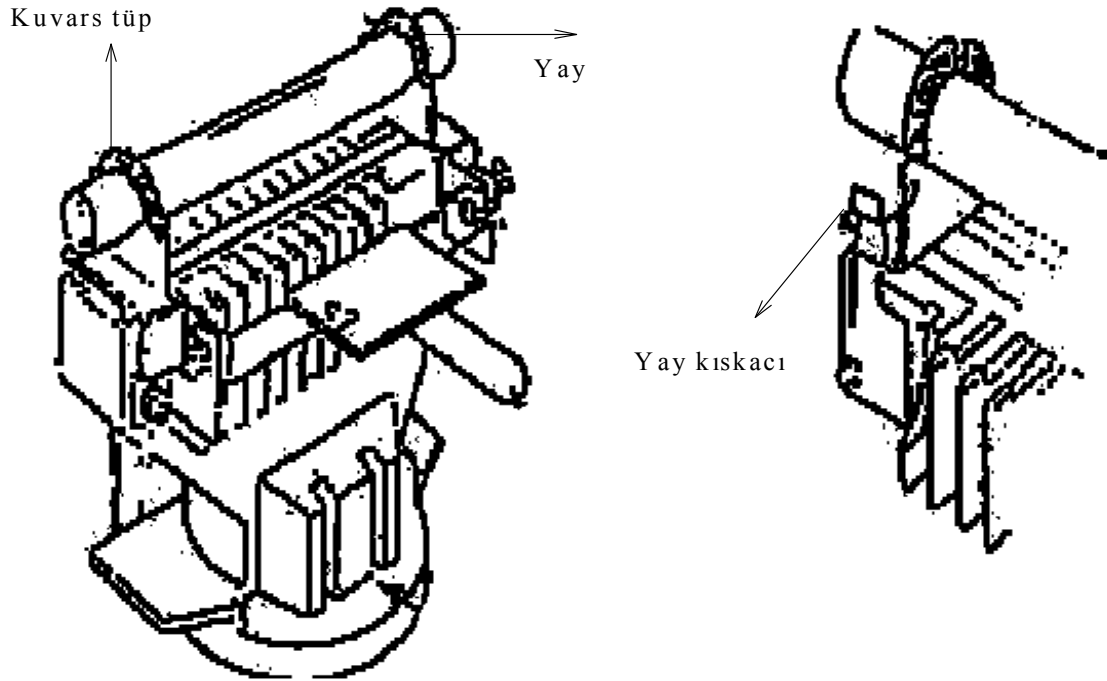
İkinci tür olan karıştırmalı sistemde ise yakıcı ve yanıcı gazlar karıştırma bölgesinde iyice karıştırılır. Aerosol aleve giden önce belli bir yol kat eder ve bu sırada büyük örnek damlaları dışarı akıtılır. Çözeltinin ancak %5-20' si aleve ulaşılır (şek 1.12.b).



Şekil 1.12. Atomik soğurma kullanılan başlıklar, a)Toplam tüketim, b) Pyremix başlık

1.6.9.2.2. Sloted Tube Atom Trap (STAT)

Alevli atomlaştırıcılarda duyarlılığı geliştirmek için ekstraksiyon tekniği, platin halka tekniği ve hidrür oluşturma sistemi gibi değişik teknikleri kullanmak mümkündür. Bu tekniklerin yanı sıra çift yarıklı tüp olan STAT'ın kullanımı ile de duyarlılığın önemli ölçüde arttığı gözlenmiştir. Şekil 1.13. de gösterilen STAT aksesuar kuvarstan yapılmış olup, 50 mm yarıklı bir tüptür. STAT standart başlık üzerine yerleştirilerek kullanılır ve bu şekilde tüpün kullanılmadığı zamanlarda ışık yolundan ve alevden uzaklaştırılması mümkündür. Uçucu elementler STAT kullanıldığında hava/asetilen alevinin en sıcak birincil reaksiyon bölgesinde termal olarak ayrışır ve duyarlıklarında önemli bir artış gözlenir.



Şekil 1.13. Sloted Tube Atom Traper (STAT)

STAT'ın çalışma prensibi; tüpün altında bulunan yarık, direk olarak alevin üzerine gelecek şekilde element atomlarının tüp içinde tutularak alevde uzun süre kalması sağlanır. Tüpteki ikinci yarık alttaki yarığın üstüne açılmış durumdadır. Bu ikinci yarık nedeniyle duyarlılığın azalması düşünülebilir. Düşünülenin aksine, sonuçlarda, herhangi bir önemli duyarlılık kaybı söz konusu olmamaktadır. Bu ikinci yarık bir numuneden daha sonraki diğer numunenin etkilenmesini "memory effect" (hafıza etkisi) in azalmasını sağlar.

Standart alev metodu ile alan sonuçlarla, yarıklı tüp kullanılarak alınan sonuçlar karşılaştırıldığında duyarlılıkta belirgin bir artışın olduğu gözlenmiştir. Tablo 1.6. de alev

AAS ile STAT arasındaki duyarlılık karşılaştırılması yapılmış ve duyarlılığın STAT ile 2-5 kat arttığı tespit edilmiştir.

Tablo 1.6. Alev AAS ve stat arasındaki duyarlılık karşılaştırılması

Element	Alev çeşidi	Stat duy.	Alev AAS duy.	Gelişme
As	Ar/H ₂	0.06	0.30	X5.0
Se	Ar/H ₂	0.08	0.26	X3.3
Sn	Hava/H ₂	0.10	0.35	X3.5
Cd	Hava/CH ₂	0.004	0.010	X2.5
Cu	Hava/CH ₂	0.015	0.035	X2.3
Pb	Hava/CH ₂	0.03	0.10	X3.3
Zn	Hava/CH ₂	0.004	0.010	X2.5
Hg	Hava/CH ₂	0.50	2.30	X4.6
Pt	Hava/CH ₂	0.90	1.2	X1.3
Au	Hava/CH ₂	0.05	0.12	X2.4
Ag	Hava/CH ₂	0.011	0.030	X2.7
Tl	Hava/CH ₂	0.10	0.28	X2.8
Bi	Hava/CH ₂	0.08	0.23	X2.9

STAT' ın avantajları:

- 1- Numuneyi daha fazla seyreltmek mümkündür, bu yüzden daha az miktarda numune kullanılır (Serumda Cu/Zn).
- 2- Numunenin daha fazla seyreltilmesi mümkün olabileceğinden, girişimlerin azaltılması sağlanır.
- 3- Hızlıdır - Saatte 300 numuneden fazla analiz yapılabilir.
- 4- Ucuzdur ve hızlı tarama metodudur (İdrarda Pb/Cd/Cu).

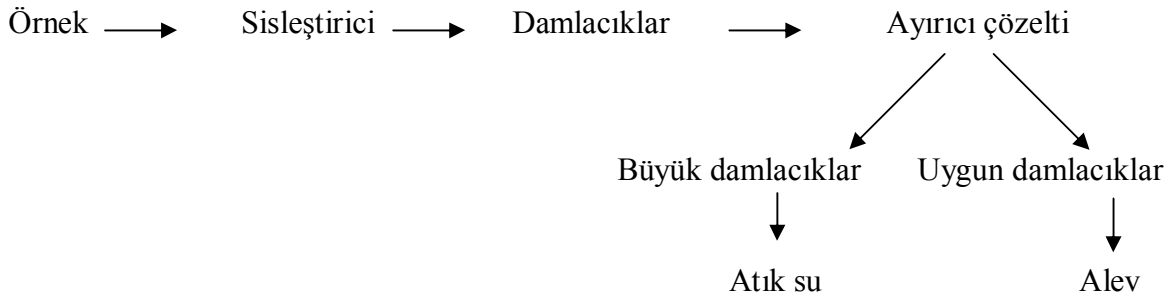
1.6.9.2.3. Alevde Atomlaşma Mekanizması ve Kimyasal Tepkimeler

Atomlaşma, kimyasal bağların yüksek sıcaklıkta bozularak serbest atomlar oluşturma olayıdır. Örnek çözelti sisleştirci vasıtasıyla uygun damlacıklar halinde alev bölgesine ulaşır. Örnek çözeltinin, ilk olarak çözücüsü uçar, katı hale geçer, erir ve atomik buhar

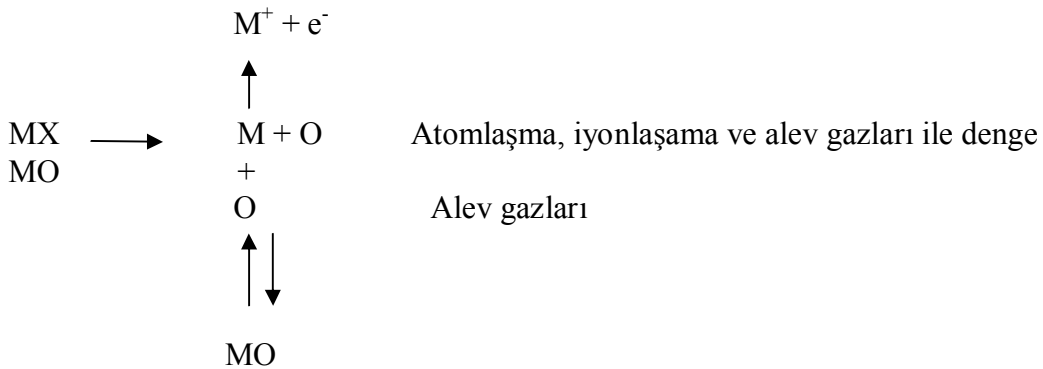
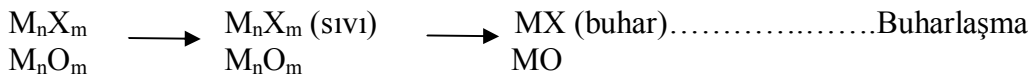
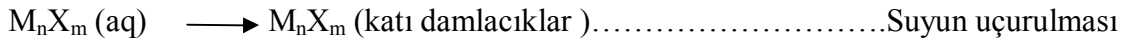
haline geçer. Atomik buhar haline dönüşen element ışığı soğurur. Şekil 1.14.de Alevli AAS' de örnek çözeltinin buharlaştırıcıya kadar izlediği yol gösterilmektedir.

1.6.9.2.4. Elektrotermal Atomlaştırıcılar

Atomik absorpsiyon spektrometresinde örneklerin atomlaştırılmasında alev en çok kullanılan ortam olmuştur. Ancak, daha iyi bir duyarlık ve gözlenebilme sınırı elde etme isteği, örneklerin daha ekonomik olarak kullanılabilmesi ve alev tekniğinin temel sınırlamaları aleve karşı elektrotermal atomlaştırıcıların geliştirilmesine yol açmıştır. Elektrotermal atomlaştırma için grafit fırınlar, karbon çubuk ve filamanlar ve metal filamanlar kullanılmaktadır.



Alevde atomlaşma oksit veya halojenür üzerinden olabilir ve aşağıdaki tepkimeler ile açıklanır,

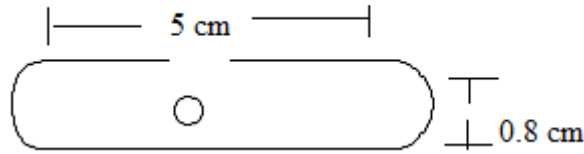


Şekil 1.14. Alevli AAS' de örnek çözeltisinin atomlaştırıcıya kadar izlediği yol

1.6.9.2.4.1. Grafit Atomlaştırıcı

Alevde oluşan analiz elementi atomlarının sayısı alev gazları ile seyreltiğinden oldukça azdır. Bu nedenle alevde yapılan analizler düşük derişimlerde yetersiz kalmaktadır. Örneğin, kan, serum gibi örnekler sisleştirciyi tıkadıkları için bu örnekleri seyreltmek veya çözmek gerekmektedir. Bu örneklerin konsantrasyonu azalmaktadır. Bu nedenle bazı araştırmacıları yeni atomlaştırmacılar bulmaya sevk etmiştir.

Grafit fırının çalışma prensibi oldukça basittir. Elektriksel olarak ısıtılan fırın sistemi atomik absorpsiyon spektrometresinin ışık yoluna yerleştirilir. Yüksek sıcaklıkta tüpün hava ile oksitlenmesini engellemek için grafit tüp sürekli argon gazı atmosferinde tutulur. Şekil 1.15. de gösterilen grafit tüpün orta kısmındaki delikten bir mikropipet yardımıyla 1-50 ml çözelti enjekte edilir. Daha sonra tutucu elektrotlar yardımı ile grafit çubuğa 500 A kadar gerilimler uygulanarak 2600 °C kadar sıcaklıklar elde edilebilir. Örneklerin analizinde uygulanan sıcaklık programları kurutma basamağı, kül etme basamağı, atomlaştırma basamağı ve temizleme basamağı olmak üzere dört kısımdan oluşmaktadır.



Şekil 1.15. Grafit tüp

1.6.9.3. Monokromatörler

Monokromatör, analiz elementinin rezonans hattını diğer hatlardan ayıran optik düzendir. Filtreler ise; belli dalga boyunda elektromagnetik dalgayı çeviren diğerlerini soğuran organik veya inorganik maddelerdir. Atomik soğurma aleti, ölçüm için seçilen hattının girişim yapan veya analiz duyarlılığını düşürebilen diğer hatlardan ayırabilecek yeterlikte olmalıdır. Görünür bölgede geniş aralıklarla yer alan sadece birkaç rezonans hattına, sahip olan alkali metallerin bir kısmı için cam filtre yeterlidir. Kolaylıkla değiştirilen, üst üste yerleştirilmiş filtrelerle sahip cihaz ticari olarak bulunmaktadır. Bu tür alet her element için ayrı bir filtre ve ışık kaynağı kullanılır. 22 element için tatmin edici

sonuçlar elde edildiği iddia edilmektedir. Bununla beraber birçok cihazda iyi kaliteli morötesi ve görünür bölge monokromator bulunmaktadır.

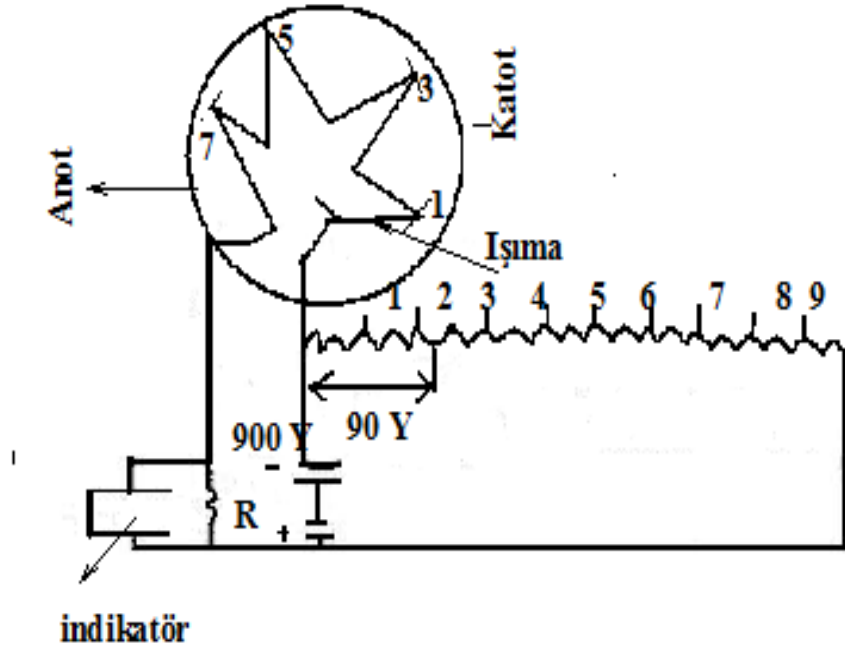
1.6.9.4. Detektör ve Göstergeler

Işın enerjisini elektrik enerjisine dönüştüren cihazlara dedektör denir. Bir AAS için alıcı-gösterge bölümleri esas itibari ile morötesi ve görünür bölge zelti spektrofotometreleri ile aynıdır. Genellikle ışın enerjisini ölçülebilir elektrik enerjisine dönüştürmek için fotoçoğaltıcı tüpler kullanılır.

Düşük ışık gücünü ölçmek için fotoçoğaltıcı tüp alelade bir tüpten daha büyük avantaj sağlar. şekil 1.16 da böyle bir alet şematik olarak gösterilmiştir. Katot yüzeyi foto tpnkine çok benzer ve çıkan elektronlar ışığa maruz kalır. Tüpler aynı zamanda dinod denilen ilave elektrotlar da ihtiva eder. Dinod 1 (şekil 1.16 da 1 den 9 a kadar işaretili) katottan daha pozitif olan 90 voltta tutulur ve bunun bir sonucu olarak elektronlar ona doğru hızlandırılır. Dinoda arpan herbir fotoelektron birkaç yeni elektronun yayılmasına neden olur. Bunlar dinod 1'den 90 volt daha pozitif olan dinod 2'ye hızlandırılır. Bundan başka yüzeye çarpan her elektron birkaç elektron daha çıkarır. Bu işlem zamanla 9 defa daha tekrara edilir. Foton başına 10^6 ile 10^7 elektron üretilmiş olur. Bu elektron bulutu en sonunda anotta toplanır. oğaltılmış olan akım bir R direncinden geçtikten sonra daha fazla büyütülüp ölçülebilir. Fotoçoğaltıcı tüpler kuvvetli ışına maruz kalırlarsa zarar görürler. Bu nedenle bu cihazlar düşük ışık akımının ölçülmesinde kullanılır. Performanslarındaki belli değişmelerden kaçınmak için tüpler ışık geinmeyen muhafazalarda saklanmalı ve kısa sürede olsa ışıkla teması önlenmelidir. İşaret ettiğimiz elektronik sistem kaynaktan modüle edilen enerji ile alevden sürekli gelen enerjiyi birbirinden ayıracak kapasitede olmalıdır. Soğurum veya geçirgenlik ölçümüne dayalı, hem sıfırlamayı hem de soğurumu doğrudan okuyan metreler kullanılır.

1.6.10. Atomik Soğurum Spektrometresinde Girişimler

Analizlerde yanlışlığa sebep olan elementlerin tümü girişim (interferans) olarak tanımlanır. Girişimler nedenlerine göre fiziksel, kimyasal, spektral, iyonlaşma ve zemin olmak üzere beşe ayrılır.



Şekil 1.16. Fotoçoğaltıcı tüp

1.6.10.1. Fiziksel Girişim

Alev ölçüm şartlarını değiştiren fiziksel olaylar ile çözeltinin fiziksel özelliklerini değiştiren faktörlerin tümü olarak tanımlanır. Fiziksel girişimler; çözeltinin viskozitesi, yüzey gerilimi ve özgül ağırlık gibi fiziksel özelliklerinin örnek ve referans madde de farklı olması nedeniyle ortaya çıkar. Örnek çözeltisinin viskozitesi, yüzey gerilimi gibi fiziksel özellikleri, standart çözeltisi ile aynı değil ise atom oluşum hızları farklılık gösterir. Genellikle alevli atomlaştırıcılarda gözlenen girişimlerin nedeni, analiz çözeltisinden ve standart çözeltiden oluşan sis taneciklerinin çaplarının farklı olması dolayısıyla yanıcı ve yakıcı gaz karışımı ile alev başına ulaşan çözelti oranları arasındaki değişiklikten kaynaklanır. Matriks girişimleri önlemek için çözelti seyreltilir veya viskoz sıvılar için yüzey gerilimi azaltıcı saponin türü (Örneğin, triton-x-100) maddeler eklenir. Bu eklenen maddeler standart çözeltilere de eklenmelidir.

Grafit atomlaştırıcıda, çözeltinin atomlaştırıcıya enjeksiyonu esnasında gözlenir. Kullanılan otomatik mikro pipet veya otomatik enjektörlerde bir miktar çözeltinin kalmasına neden olur. Saponin türü maddelerin eklenmesiyle bu etki ortadan kaldırılır.

1.6.10.2. Kimyasal Girişim

Kimyasal girişimler elementin nicel olarak atomlaşmasını önleyen herhangi bir bileşik oluşumu olarak tanımlanır.

Kimyasal girişimlerin ortaya çıkmasının başlıca iki nedeni vardır; ya zor eriyen veya buharlaşan tuz oluşur ve oluşan moleküller tam olarak ayrışmaz ya da serbest atomlar ortamda bulunan anyon, katyon veya radikallerden biri veya birkaçı ile birleşerek atomlaşması daha zor bileşikler oluşturmasıdır.

Alevde karşılaşılan kimyasal girişimlerden başlıcası, serbest atomların ortamda bulunan başka atom veya radikallerle kendiliğinden tepkimesidir. Serbest metal atomları ile alevin yanma ürünlerinin birleşmesi sonucu, oksitler veya oksit radikalleri, hidroksitler veya hidroksit radikalleri, karbürler veya nitrürler oluşur. Bu tür girişim sonucu olarak 30 kadar metalik element hava/asetilen alevinde kararlı oksitler oluşturduklarından tayin edilemezler (lantanitler, alüminyum, silisyum ve bor v.b.).

Birçok kimyasal girişim alev sıcaklığının yükseltilmesi veya kimyasal çevrenin değiştirilmesi ile uzaklaştırılır. Eğer bu yöntemler pratik değilse ve istenmiyorsa kimyasal girişimler kimyasal olarak giderilir. Bu yöntemlerden biri, girişim yapan iyon standart çözeltiye eklenir veya daha genel olarak örnek matriksi ve standart çözeltiler birbirine benzetilir. İkinci yöntem, girişim yapan anyon, örnek çözeltisine aşırı eklenen başka bir katyonla bağlanır. Üçüncü yöntem, tayin edilecek katyon kompleks içinde tutulur.

Elektrotermal atomlaştırıcılarda kimyasal girişimler başlıca, uçucu bir bileşik oluşumu ve kararlı bir bileşik oluşumundan kaynaklanır.

Grafit fırınlı kül etme basamağında organik matriksi parçalayabilmek için bazen yüksek sıcaklıklar kullanılabilir. Bu da analiz elementinin kaybına neden olur. Bu kayıplar kül etme sıcaklığı uygulandığında örneğin veya matriks elemanları ve çözücüler nedeni ile uçucu bir bileşik haline geçmesinden kaynaklanır.

Uçucu element oluşumunu engellemek için çözücü olarak halojen asitler yerine oksitleyici asitler tercih edilir. Oluşan asitler külletme basamağında madde kaybına neden olmayacağı gibi atomlaşma basamağının başlarında da kolayca parçalanabilirler. Kül etme basamağındaki kayıpları engellemek için, örneğin daha zor atomlaşan, daha kararlı bir bileşiği oluşturularak ve matriks örnek elementinden daha uçucu bir hale getirilerek giderilir. Paladyum ve diğer platin grubu elementlerinin As, Te, Hg, Tl, Pb ile daha kararlı bir yapı oluşturarak kül etme basamağındaki kayıpları azalttığı gösterilmiştir.

1.6.10.3. İyonlaşma Girişimleri

Özellikle sıcak alevlerde birçok element az veya çok iyonlaşır; bu durumda temel düzeydeki toplam atom sayısı azalacağından duyarlılık da azalır. İyonlaşma girişimi iki yolla giderilebilir. Atomlaşma daha düşük sıcaklıktaki bir alevde yapılabilir. Örneğin, alkali metalleri hava/asetilen alevinde önemli ölçüde iyonlaştıklarından daha soğuk olan hava/hidrojen alevinde iyonlaşmadan atomlaştırılabilirler. Ancak bu yöntem elementlerin çoğu için uygun değildir çünkü soğuk alevde atomlaşma verimi azalır ve önemli kimyasal girişimler ortaya çıkabilir. İyonlaşma girişiminin giderilebileceği ikinci yöntem ise,



dengeğini, alevde aşırı miktarda elektron oluşturarak sola kaydırmaktadır. Pratikte, örnek ve standart çözeltilere kolaylıkla iyonlaşan bir elementin (genellikle potasyum veya sezyum) aşırısı eklenerek bu durum sağlanır.

1.6.10.4. Spektral Girişim

Spektral girişim, analiz elementinin hattının örnekte bulunan diğer elementin rezonans veya başka bir hattıyla çakışmasından kaynaklanır. Alternatif ışıklı bir sistemde iki nedenden dolayı spektral girişim olabilir. Eğer, katodu uygun olmayan element bileşiminden yapılmış çok elementli bir lamba kullanılırsa, incelenen elementle beraber başka bir elementin rezonans hattı da alıcıya düşebilir veya yine çok elementi lambalarda tavsiye edilen yarık genişlikleri kullanılmazsa birden fazla elementin rezonans hattı alıcıya düşebilir. İkinci neden ise analiz elementi absorpsiyon hattının örnekteki başka bir elementin hattı ile çakışmasıdır.

1.6.10.5. Zemin Girişimi

Zemin soğurumunun iki önemli nedeni vardır. Birincisi katı yada sıvı maddenin neden olduğu ışık saçılması bundan dolayı meydana gelen soğurum. İkincisi ışığın moleküler ve radikaller tarafından soğurulmasıdır. Zemin soğurumu alevle çalışıldığında ya az soğurum

yapan alev bileşenleri seçilir veya D₂ lambası kullanılarak yok edilir [120]. Grafit fırınlı AAS' de daha fazla gözlenir ve alkali halojenür moleküllerinin soğurumu örnek verilebilir. Giderilmesi için, D₂ lambası, Zeeaman zemin düzeltici sistem, Smith- Hift yöntemi gibi yöntemler geliştirilmiştir.

1.7. Çalışmanın Amacı

Bu çalışmada, H₂O₂ verilerek oksidatif strese maruz bırakılmış rat dokularında terpen türevli maddelerden olan geraniol ve geraniolden sentezlenmiş olan geraniol ksantat maddelerinin bazı metaller üzerine etkileri araştırıldı. Bu amaçla dokulardaki eser elementlerden Fe, Cu, Zn, Mn, Mg ve Ca düzeyleri incelendi.

Sonuçlar ışığında geraniol ve geraniol ksantat maddelerinin oksidatif strese karşı eser elementler düzeyinde etkinliği incelenmiştir.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Ölçümlerde Kullanılan Düzenekler

- Kurutma işlerinde etüv,
- Tartım işlerinde hassas elektronik terazi,
- Seyreltme ve standart çözelti hazırlama işlemlerinde değişik hacimlerde balonjojeler, cam pipetler, erlen, beher, deney tüpleri ve ayırma hunileri,
- Otomatik pipetler,
- Derin dondurucu,
- Teflon bomba,
- Mikrodalga fırın (Kenwood MW 460 mikrodalga fırın, 800 watt),
- Perkin Elmer 3100 model Atomik Absorpsiyon Spektrometresi (AAS),
- Perkin Elmer 3100 model Atomik Emisyon Spektrometresi (AES),

2.2. Kullanılan Standart Çözeltiler ve Reaktifler

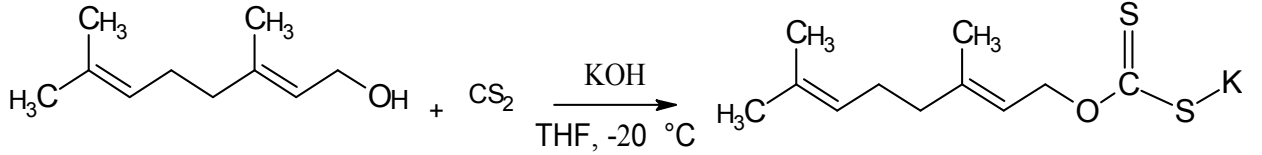
Analiz edilen Ca, Mn, Mg, Fe, Cu, Zn elementlerine ait analitik saflıkta 1000 ppm'lik (Merck marka) stok çözeltilerinden uygun seyreltmeler yapılarak standart çözeltiler hazırlandı. Doku örneklerinin çözünürleştirilmesinde derişik HNO₃, HClO₄ ve H₂O₂ (Merck marka) kullanıldı. Geraniol ksantat sentezi için geraniol (Al-fa Aesar), CS₂ (Merck marka), KOH (Merck marka) , THF (Merck marka) kullanıldı.

Çalışmaların tamamında bidistile deiyonize su kullanıldı.

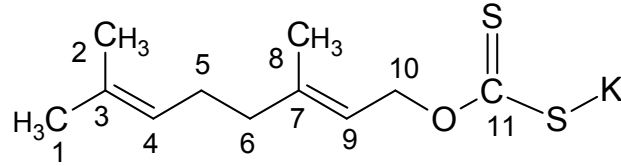
2.3. Geraniol Ksantatın Sentez ve Karakterizasyonu:

İki ağızlı 250 ml'lik bir reaksiyon balonuna 50 ml mutlak THF ve 0,025 mol (3,85 g) geraniol konuldu. Reaksiyon balonundan argon gazı geçirildi. Üzerine 1,40 g (0,025 mol) KOH ilave edildi bir gece oda sıcaklığında magnetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Etil alkol sıvı azot karışımında reaksiyon ortamı -20 °C'ye soğutuldu ve CS₂'nin aşırısı (2,50 g) 20 ml THF deki çözeltisi damla damla ilave edildi. Damlatma bittikten sonra, aynı sıcaklıkta reaksiyona dört saat devam edildi. Çözücü kuruluğa kadar evaporatörde

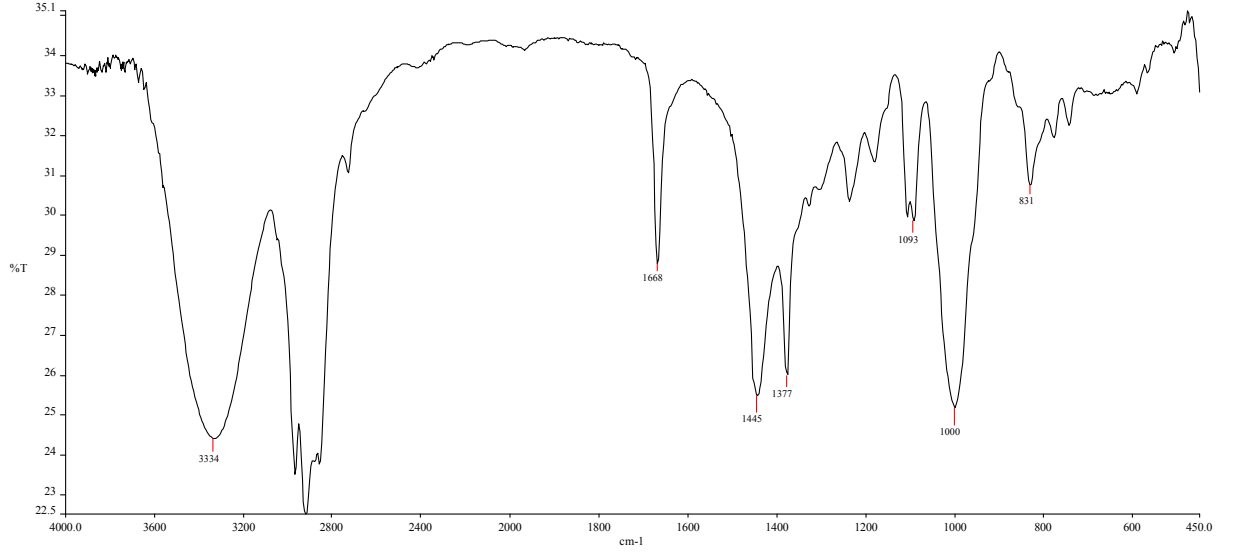
buharlaştırıldıktan sonra üzerine petrol eteri ilave edilerek maddenin tam çökmesi sağlandı. Sonra vakumda sinterli süzgeçte süzüldü. En son eterle yıkandı ve sarımsı beyaz madde elde edildi. Verim, 5,7 g (%85). Bileşiğin ($C_{11}H_{17}KOS_2$) elementel analizi; bulunan (hesaplanan): C; 48.76 (48.81), H; 5.98 (6.18), S; 22.96 (23.23).



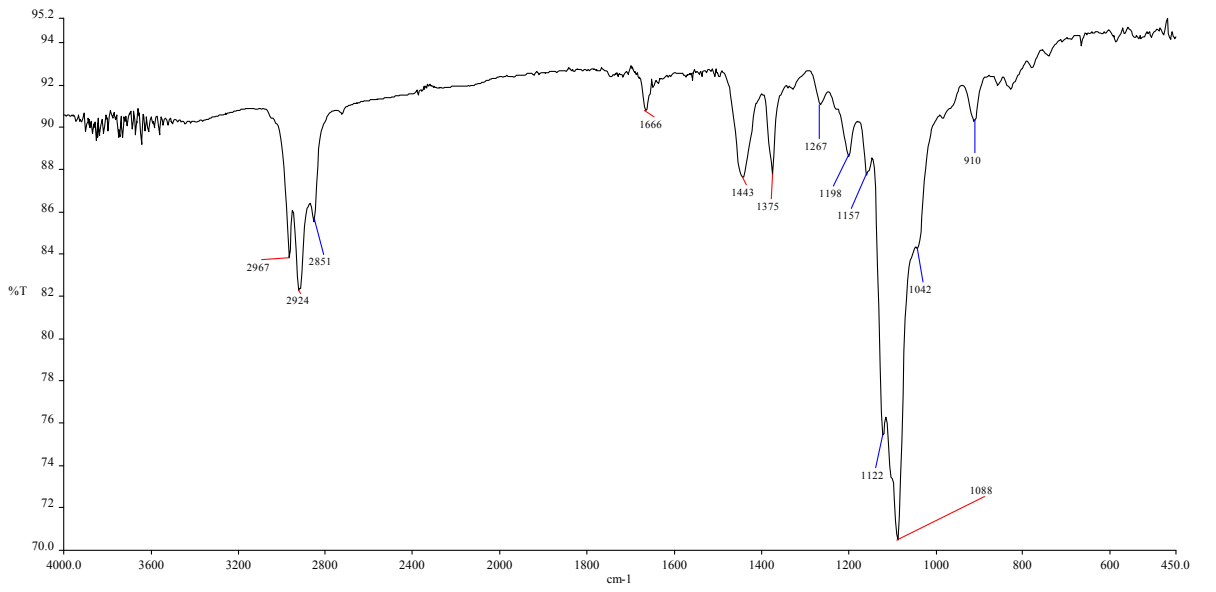
Geraniol ksantatın karakterizasyonu;



Geraniol maddesinin IR spektrumu şekil 2.1’de geraniol ksantat bileşiğinin IR spektrumu ise şekil 2.2’de verilmiştir. Spektrum incelendiğinde; 3334 cm^{-1} deki geraniolün -OH pikinin tamamen kaybolduğu görülmektedir. Alifatik -CH gerilme titreşimleri 2967 cm^{-1} de, 1668 cm^{-1} deki çift bağ piki de çift bağların korunduğunu göstermektedir. Geranioldeki 1000 cm^{-1} deki C-O gerilme piki, şiddeti azalarak 1042 cm^{-1} ’e kaymıştır. Ayrıca Ksantat bileşiklerin karakteristik piki -OCS₂ grubu 1088 cm^{-1} kuvvetli bir pik olarak görülmektedir. Bileşiğin oluştuğu aşağıda verilen IR verilerinden anlaşılmaktadır.



Şekil 2.1 Geraniol bileşiğinin IR spektrumu



Şekil 2.2 Geraniol ksantat bileşiğinin IR spektrumu

Tablo 2.1. Geraniol ve Geraniol ksantat bileşiklerinin ^1H ve ^{13}C NMR değerleri

Geraniol Bileşiğinin ^1H ve ^{13}C NMR Sonuçları (ppm)				Geraniol Ksantat Bileşiğinin ^1H ve ^{13}C NMR Sonuçları (ppm)			
H ₁	1,57	C ₁	25,72	H ₁	1,55	C ₁	25,98
H ₂	1,58	C ₂	17,73	H ₂	1,62	C ₂	18,04
		C ₃	131,53			C ₃	131,41
H ₄	5,08	C ₄	124,12	H ₄	5,07	C ₄	124,32
H ₅	1,95	C ₅	26,24	H ₅	1,97	C ₅	26,40
H ₆	2,07	C ₆	39,46	H ₆	2,02	C ₆	39,52
		C ₇	137,17			C ₇	138,98
H ₈	1,65	C ₈	16,16	H ₈	1,65	C ₈	16,76
H ₉	5,28	C ₉	124,45	H ₉	5,34	C ₉	124,39
H ₁₀	3,95	C ₁₀	57,85	H ₁₀	4,71	C ₁₀	68,04
H ₁₁	4,46					C ₁₁	230,08

Bileşiklerin ^1H ve ^{13}C NMR sonuçları tablo 2.1.'de verilmiştir. Spektrumlar incelendiğinde geraniol bileşiğinin 4.46 ppm'deki proton piki (-OH; H₁₁) geraniol ksantat bileşiğinde tamamen kaybolmuştur. Bu da CS₂ nin oksijen atomuna bağlandığını göstermektedir. Buna ilaveten -CH₂-O protonlarının (H₁₀) 3,95 den 4,71 ppm'e kayması CS₂ nin bağlandığını göstermektedir. Reaksiyon esnasında çift bağların korunduğu çift bağa bağlı protonların geraniol ksantat bileşiğinde de görülmesinden anlaşılmaktadır. Geranioldeki diğer protonlarında geraniol ksantatta az miktarda kayarak gözlenmesi maddenin oluştuğunu göstermektedir. ^{13}C NMR sonuçları incelendiğinde ksantat bileşiklerin karakteristik ^{13}C piki -CS₂ nin 230 ppm civarlarında gözlenmesi gereken piktir. Geraniol ksantat bileşiğinde de bu pik 230,08 ppm'de belirgin olarak gözlenmektedir. Diğer pikler çoğunlukla az miktarda kaymalar olsa da geraniol bileşiği ile hemen hemen aynıdır. Ancak oksijen atomuna bağlı olan karbon atomunda kaymanın olması beklenir. Bu kayma geraniol ksantat bileşiğinde 57,85 den 68,04 ppm gözlenmektedir. Geraniol bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumuna dikkatli bir şekilde bakıldığında C₆ nin (39,46ppm) DMSO pikleri arasına karıştığı görülmektedir. Aynı durum geraniol ksantat bileşiği içinde geçerlidir. Bu ^{13}C NMR verileri de bileşiğin oluştuğunu açıkça göstermektedir.

2.3. İnceleme Materyali

Deneysel uygulamada, ağırlıkları birbirine yakın erkek wistar albino ratların kas, karaciğer, böbrek ve akciğer dokuları kullanıldı.

2.4. Deney Hayvanları

Deneysel çalışmada kullanılan erkek wistar albino cinsi ratlar, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Merkezi (FÜTDAM)’nden temin edildi ve aynı yerde deneysel uygulama gerçekleştirildi. Ratlar havalandırma sistemi bulunan bir ortamda özel olarak hazırlanmış ve her gün altları temizlenen kafeslerde beslendi. Yemler, özel çelik kaplarda ve su ise paslanmaz çelik bilyeli biberonlarda normal çeşme suyu olarak verildi. Deney hayvanları Elazığ Yem Fabrikasında özel olarak hazırlanan pelletler halindeki rat yemleriyle beslendi. Ratlara verilen yemin bileşiminde bulunan katkı maddeleri Tablo 2.2. de gösterilmiştir. Ratların deneysel uygulama yapılacak safhaya kadar bakımlarına bu şekilde devam edildi.

Tablo 2.2. Deney hayvanları yem % bileşimleri

Yem Maddeleri	% Bileşimleri
Buğday	10
Mısır	21
Arpa	14
Kepek	8
Soya Küspesi	25
Balık Unu	8
E-Kemik Unu	4
Melas	4
Tuz	4
*Vitamin Karması	1
**Mineral Karması	1

*Vitamin karması: Deney hayvanlarına verilen yemlerin vitamin karmasında A, D₃, E, K, B₁, B₂, B₆, B₁₂ vitaminleri ile nikotinamid, folik asit, D-biotin ve kolin klorit bulunmaktadır.

**Mineral karması: Mn, Fe, Zn, Cu, I, Co, Se ve Ca oluşmuştur.

Deneysel çalışmalara başlamadan önce, çıkabilecek aksaklıkların asgariye indirilmesi amacıyla ön çalışma yapıldı. Deney hayvanlarının bulundukları ortamın sıcaklığı 22-25 °C arasında sabit tutuldu ve hayvanlar 12 saat ışık altında ve 12 saatte karanlıkta takip edildi. Deneysel çalışmalarda ortalama ağırlıkları 260 gr (260 ± 40 gr) olan toplam 36 adet 4 aylık wistar albino cinsi erkek ratlar kullanıldı. Bu ratlar altı gruba ayrılmıştır. Bu gruplar ve gruplara verilen madde konsantrasyonları aşağıda belirtilmiştir.

1. Kontrol grubu
2. H_2O_2 grubu
3. Geraniol grubu
4. Geraniol ksantat grubu
5. H_2O_2 + Geraniol ksantat grubu
6. H_2O_2 + Geraniol grubu

Kontrol grubuna mısır özü yağı verildi. Geraniol 50 mg/kg, H_2O_2 20 mg/kg, geraniol ksantat 10 mg/kg düzeyinde ratlara verilmiştir. Geraniol ksantat ve H_2O_2 çözeltisi distile suda hazırlanarak verilmiştir. Geraniol mısır özü yağında hazırlanarak verilmiştir. Geraniol ksantat ve H_2O_2 gruplarına ayrıca mısır özü yağı standart olarak da verildi. Ratlara maddeler intraperitoneal yolla gün aşırı verildi. 30 günlük süre sonunda kobaylar dekapite edilerek dokular (karaciğer, akciğer, böbrek ve kas) cerrahi işlemlerle çıkarıldı ve analize kadar $-20^{\circ}C$ 'de bekletildi.

2.5. Doku Örneklerinin Çözünürleştirilmesi

Dekapite edilen dokulardan 0.4-1.0 gram alınarak üzerlerine 1,5 mL HNO_3 ve 1.5 mL $HClO_4$ ilave edilip 3 saat bekletildikten sonra 2 mL H_2O_2 ilave edilerek mikrodalga fırında, kapalı sistem PTFE (politetrafloretilen) kaplarda çözünürleştirme işlemleri gerçekleştirildi. Mikro dalga fırında parçalama programı 250 W, 5 dakika; 800 W, 10 dakika ve 450 W, 5 dakika olacak şekilde uygulandı. Elde edilen berrak karışımın hacmi 0,1 M HNO_3 çözeltisi ile 10 mL' ye tamamlandı.

Aynı metotlar doku içermeyen kör çözeltiler içinde uygulandı.

2.6. Doku Örneklerinin Analiz Edilmesi

Analize hazırlanan örnek çözeltileri her bir grup ayrı olmak şartıyla ve bazı elementler için seyreltme, bazı elementler için ise direkt okuma yapılarak kalibrasyon eğrisi yöntemi ile Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresyle Zn, Cu, Fe, Ca ve Mg elementlerinin analizleri gerçekleştirildi. Mn analizi ICP –AES ile gerçekleştirilmiştir.

Atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile analizi gerçekleştirilen her bir elementin optimize edilen analiz şartları verilmiştir. Tablo 2.3 de bazı optimize şartları verilmiştir.

Tablo 2.3. Metaller için alevli AAS ile ilgili parametreler

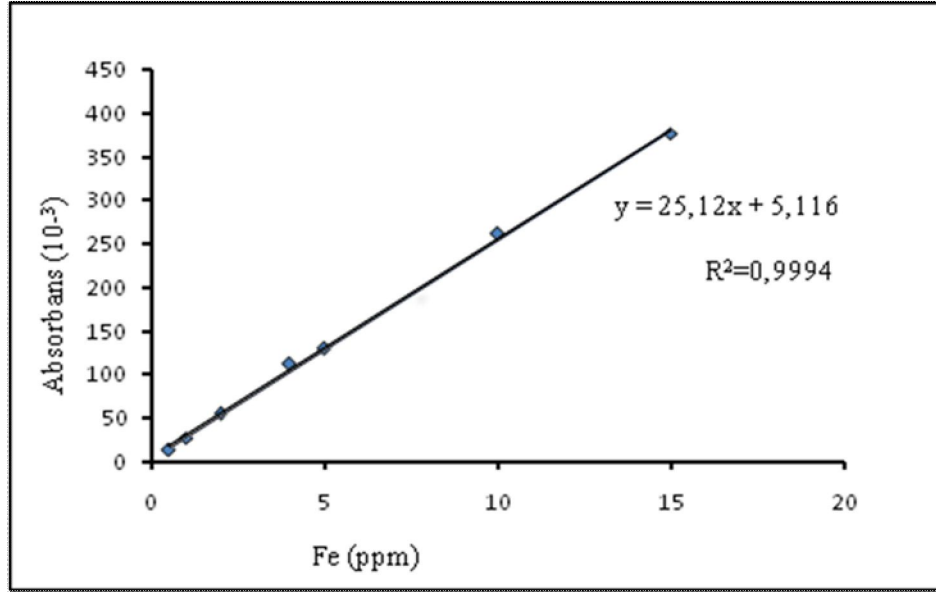
Element	Dalga boyu(nm)	Slit aralığı (nm)	Alev tipi	Akış hızı(L/dk)
Ca	422,7	0,5	Nitrozoksit/asetilen	4,0-4,4
Mg	285,2	0,5	Hava/asetilen	0,9-1,2
Cu	324,8	0,5	Hava/asetilen	0,8-1,1
Zn	213,9	0,5	Hava/asetilen	0,9-1,2
Fe	248,3	0,2	Hava/asetilen	0,8-1,0

2.7. Sonuçların Değerlendirilmesi

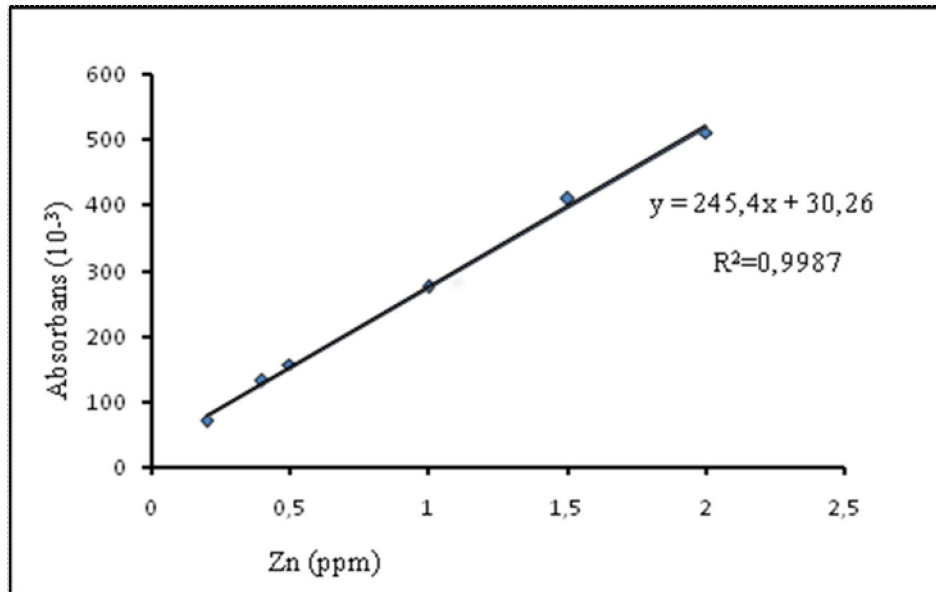
İstatistiksel değerlendirme SPSS 10.0 programı ile yapıldı. Gruplar arasındaki karşılaştırma Varyans analizi (ANOVA) yapılarak ve gruplar arasındaki farklılıklar LSD testinin uygulanması ile bulundu.

2.8. Analiz Edilen Elementlerin Kalibrasyon Eğrilerinin Çizilmesi

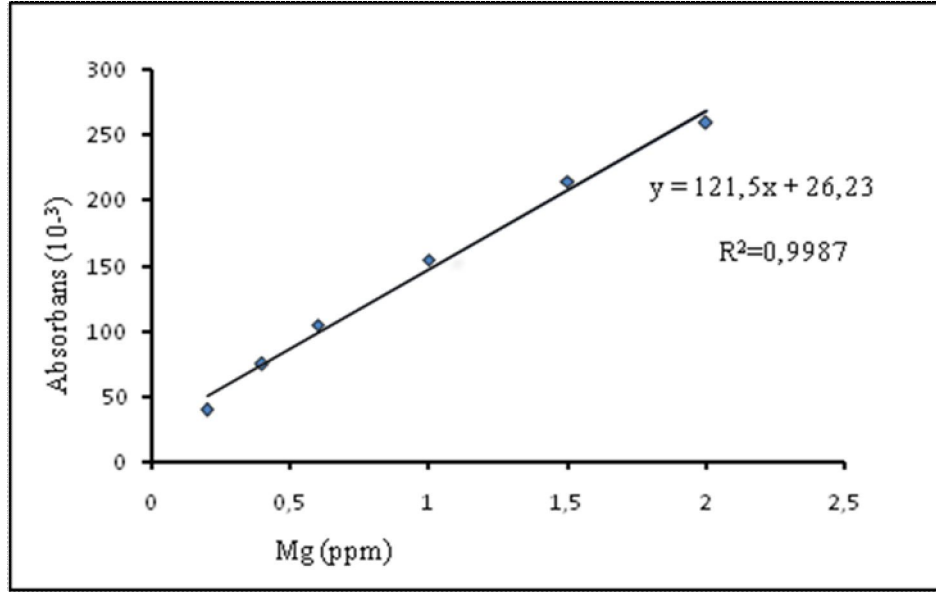
Analiz edilen her bir elementin standart stok çözeltisinden elementin lineer olduğu bölgeler göz önüne alınarak, derişimlerine karşı absorpsiyon şiddetleri grafiğe geçirilerek kalibrasyon eğrileri çizildi.



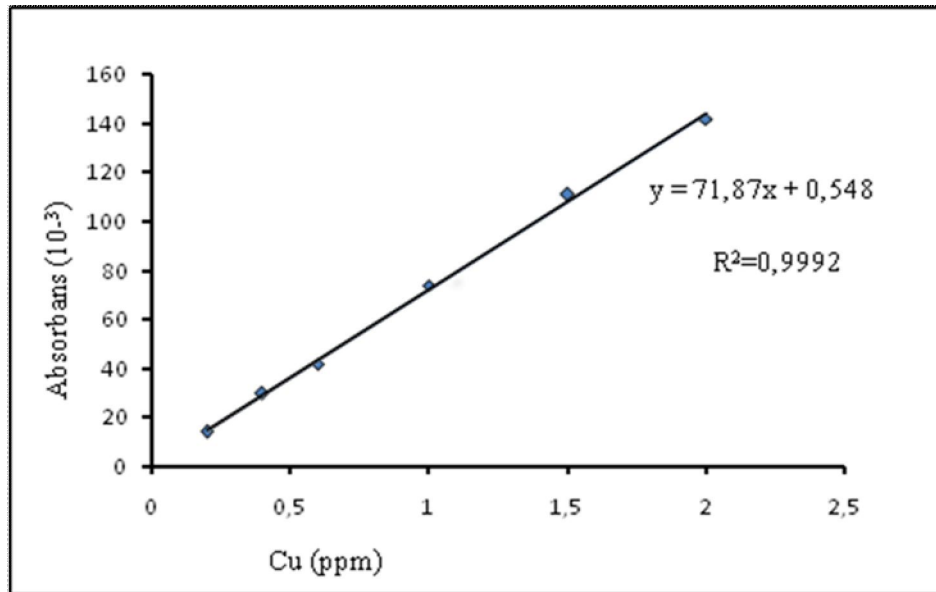
Şekil 2.7. Fe için kalibrasyon grafiği



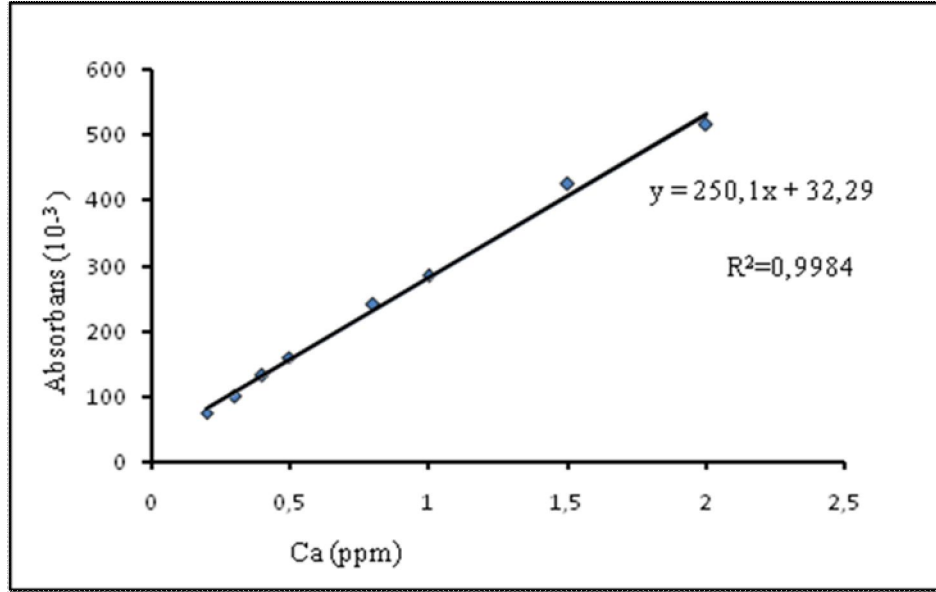
Şekil 2.8. Zn için kalibrasyon grafiği



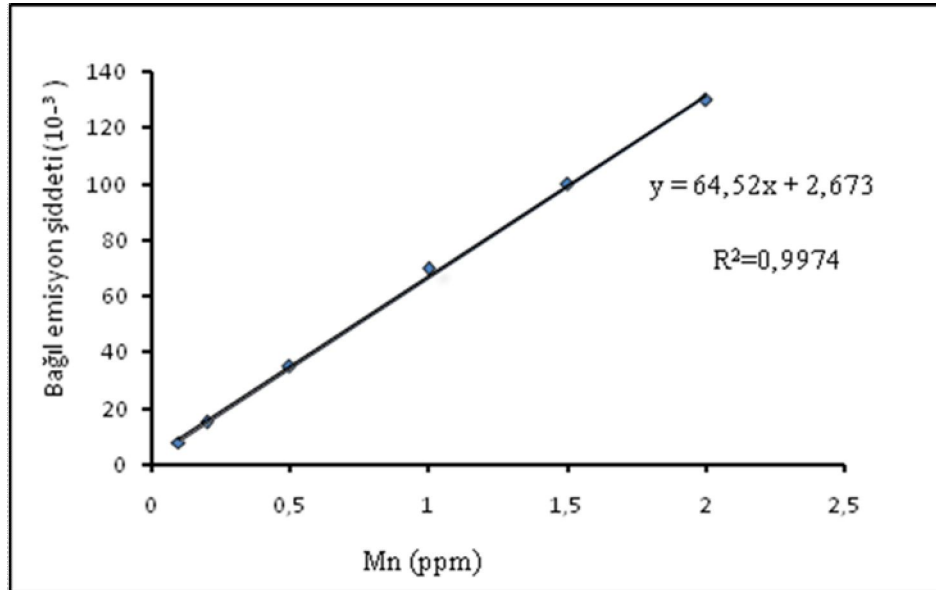
Şekil 2.9. Mg için kalibrasyon grafiği



Şekil 2.10. Cu için kalibrasyon grafiği



Şekil 2.11. Ca için kalibrasyon grafiği



Şekil 2.12. Mn için kalibrasyon grafiği

3. BULGULAR

3.1. Karaciğer Dokusu Tablosu ve Eser Elementlerin Değerlendirilmesi

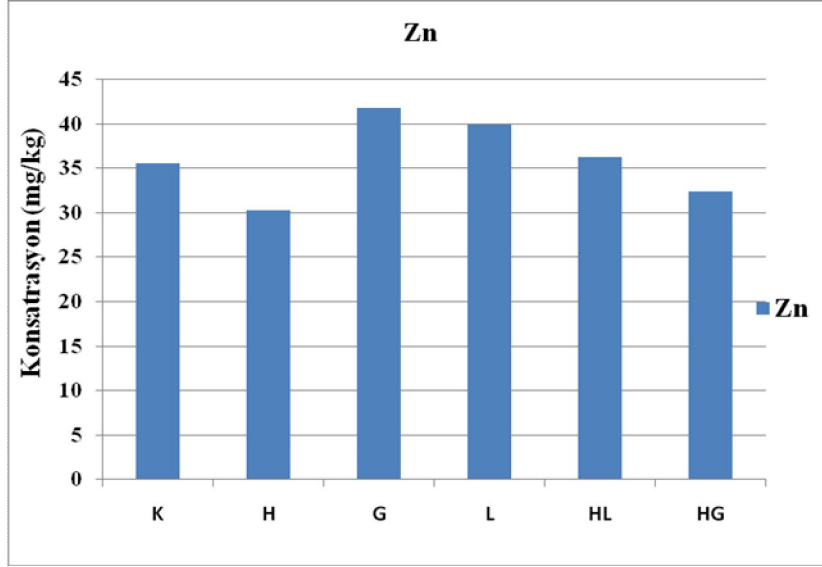
Tablo 3.1. Karaciğer dokusu eser element düzeyleri (ppm)

Gruplar	Fe	Cu	Zn	Ca	Mn	Mg
K n=6	92,77±4,36 ^a	2,82±0,13 ^a	35,65±2,23 ^a	95,56±5,23 ^a	2,10±0,13 ^a	63,50±5,17 ^a
H n=6	149,18±6,94 ^d	1,79±0,08 ^b	30,28±1,49 ^a	110,52±8,51 ^b	1,22±0,07 ^c	55,37±3,53 ^a
G n=6	94,59±3,91 ^a	2,19±0,22 ^a	41,83±1,59 ^b	86,90±2,57 ^a	2,37±0,33 ^a	74,75±4,12 ^a
L n=6	101,62±3,33 ^a	2,70±0,23 ^a	39,88±1,54 ^a	83,93±3,16 ^a	1,81±0,16 ^a	71,30±3,37 ^a
HL n=6	131,28±4,20 ^d	2,92±1,59 ^a	36,29±2,01 ^a	87,07±3,35 ^a	2,30±0,22 ^a	71,11±4,38 ^a
HG n=6	115,40±7,95 ^c	3,56±0,38 ^a	32,40±2,03 ^a	104,52±6,83 ^a	2,08±0,43 ^a	65,54±3,80 ^a

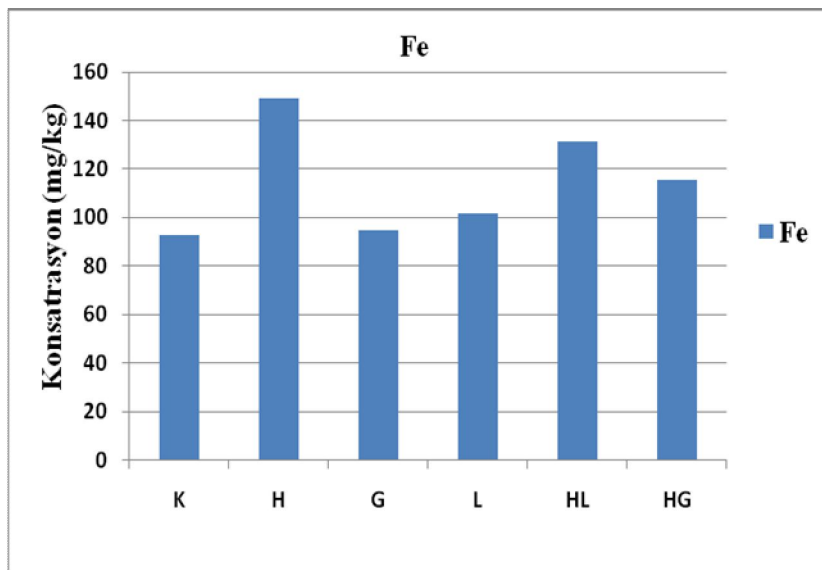
a: $p>0.05$, b: $p<0.05$, c: $p<0.01$, d: $p<0.001$ Kontrol grubuna göre karşılaştırma yapıldı.

Karaciğer dokusu Fe düzeyi incelendiğinde; H grubu Fe düzeyinin K grubu Fe düzeyine göre arttığı gözlemlendi ($p<0.001$). HG ve HL gruplarının Fe düzeylerinin K grubu Fe düzeyine göre yüksek çıktığı gözlenirken ($p<0.01$, $p<0.001$); H grubu demir düzeyine göre de düşük çıktığı saptandı ($p<0.001$, $p<0.05$). K, L ve G grupları Fe düzeyleri arasında istatistiksel fark olmadığı tespit edildi ($p>0.05$). K grubu Cu düzeyi ile G, L, HL ve HG gruplarının Cu düzeyleri arasında istatistiksel fark olmadığı gözlemlendi ($p>0.05$). Ancak H grubundaki Cu düzeyinin K, L, HL ve HG gruplarının Cu düzeylerine göre düşük çıktığı tespit edildi ($p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.001$). K grubu Zn düzeyinin G grubundaki Zn düzeyine göre düşük çıktığı tespit edildi ($p<0.05$). K grubu ile diğer grupların Zn düzeyleri arasında anlamsal fark olmadığı tespit edildi ($p>0.05$). H grubu Zn düzeyinin G, L ve HL gruplarının Zn düzeylerine oranla düşük çıktığı saptandı ($p<0.001$, $p<0.01$, $p<0.05$). K grubu Ca düzeyinin H grubundaki Ca düzeyine göre düşük çıktığı gözlenirken ($p<0.05$); K grubu Ca düzeyi ile diğer grupların Ca düzeyleri arasında istatistiksel fark olmadığı tespit edildi ($p>0.05$). H grubu Ca düzeyi G, L ve HL gruplarının Ca düzeylerine göre yüksek çıktığı tespit edildi ($p<0.01$, $p<0.01$, $p<0.01$). K grubu Mn düzeyinin H grubunun Mn

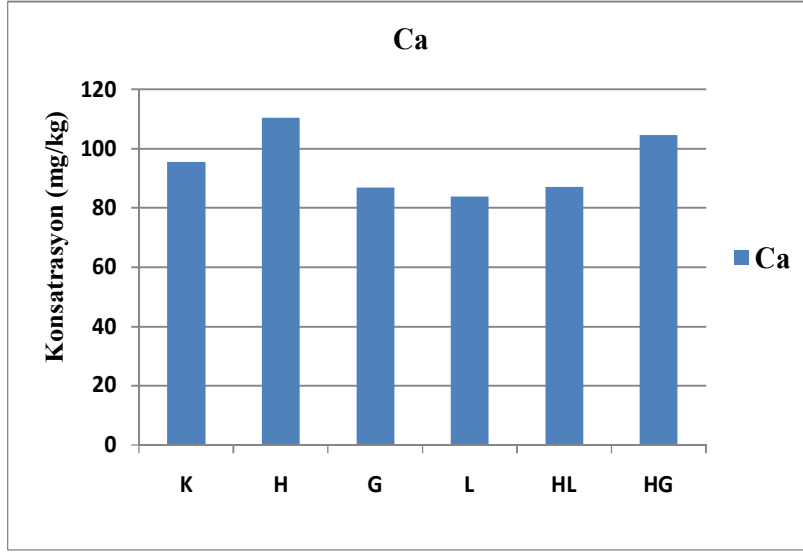
düzeyine göre fazla çıktığı saptanırken ($p<0.01$); diğer grupların Mn düzeyleri arasında istatistiksel fark olmadığı tespit edildi ($p>0.05$). K grubu Mg düzeyi ile diğer grupların Mg düzeyleri arasında istatistiksel fark olmadığı tespit edildi ($p>0.05$). H grubu Mg düzeyinin G, L ve HL gruplarındaki Mg düzeylerine göre düşük çıktığı tespit edildi ($p<0.01$, $p<0.05$, $p<0.01$).



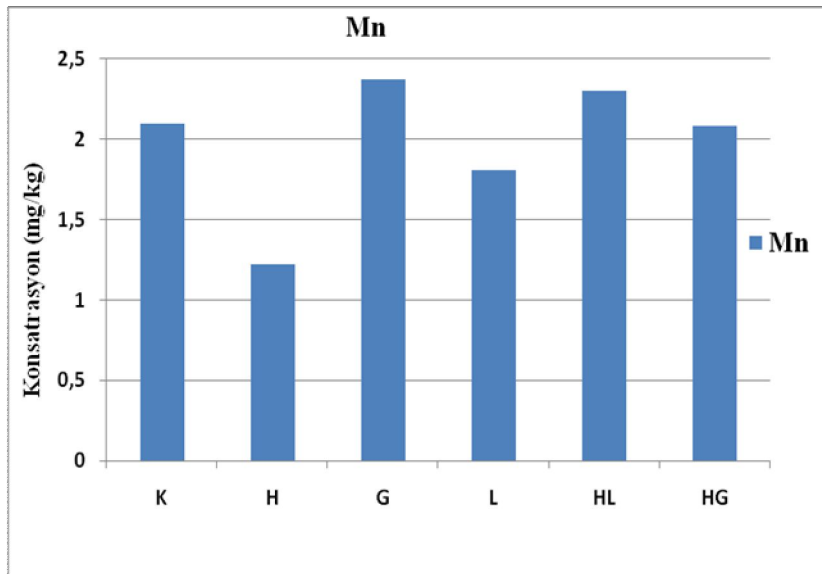
Şekil 3.1. Karaciğer dokusunda tespit edilen Zn miktarı (mg/kg)



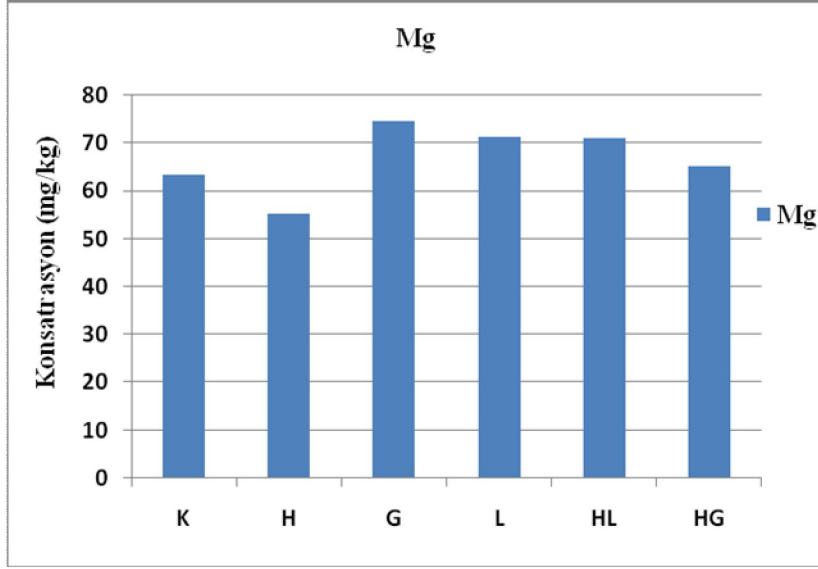
Şekil 3.2. Karaciğer dokusunda tespit edilen Fe miktarı (mg/kg)



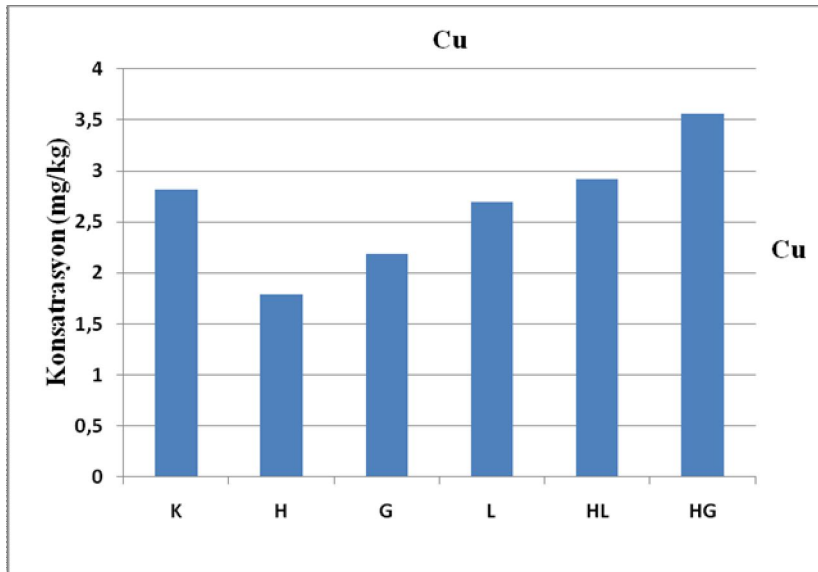
Şekil 3.3. Karaciğer dokusunda tespit edilen Ca miktarı (mg/kg)



Şekil 3.4. Karaciğer dokusunda tespit edilen Mn miktarı (mg/kg)



Şekil 3.5. Karaciğer dokusunda tespit edilen Mg miktarı (mg/kg)



Şekil 3.6. Karaciğer dokusunda tespit edilen Cu miktarı (mg/kg)

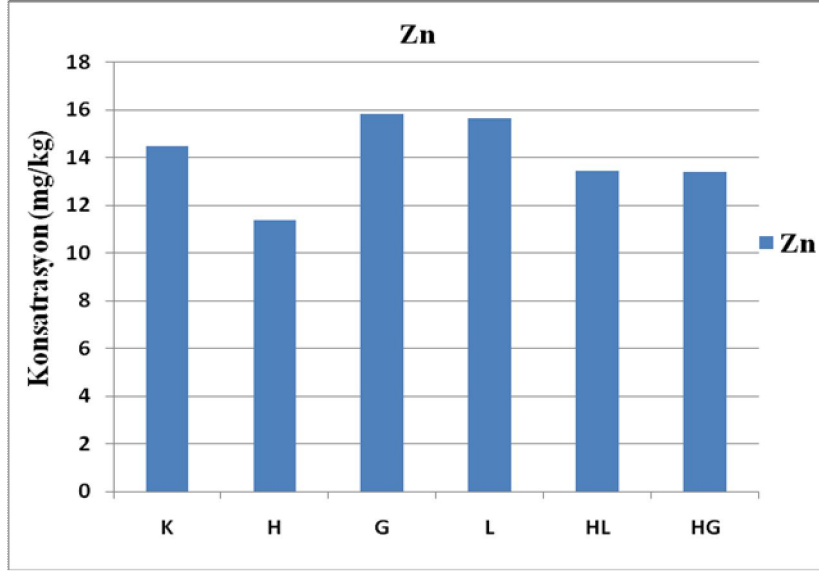
3.2. Böbrek Dokusu Tablosu ve Eser Elementlerin Değerlendirilmesi

Tablo 3. 2. Böbrek dokusu eser element düzeyleri (ppm)

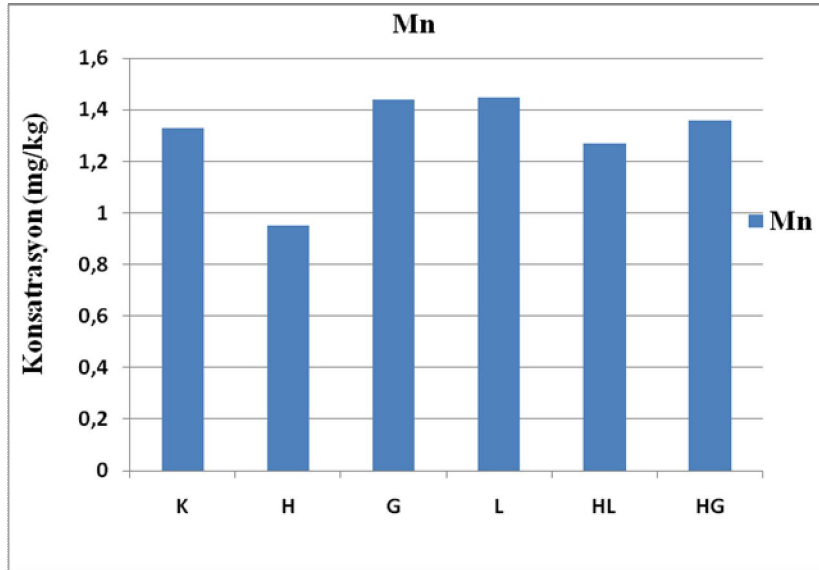
Gruplar	Fe	Cu	Zn	Ca	Mn	Mg
K n=6	38,50±2,07 ^a	3,57±0,19 ^a	14,49±0,90 ^a	75,58±5,15 ^a	1,33±0,09 ^a	60,34±2,19 ^a
H n=6	50,43±2,87 ^d	4,45±0,28 ^c	11,39±0,73 ^b	85,42±5,19 ^b	0,95±0,08 ^c	50,44±2,75 ^b
G n=6	32,37±2,91 ^a	3,51±0,16 ^a	15,84±0,98 ^a	66,98±4,81 ^a	1,44±0,06 ^a	62,09±4,57 ^a
L n=6	34,53±1,74 ^a	3,61±0,32 ^a	15,64±0,94 ^a	70,51±4,36 ^a	1,45±0,08 ^a	65,49±2,08 ^a
HL n=6	43,62±3,24 ^a	3,48±0,16 ^a	13,46±0,86 ^a	79,01±5,12 ^a	1,27±0,06 ^a	52,09±2,54 ^a
HG n=6	41,65±2,78 ^a	3,89±0,20 ^a	13,38±0,90 ^a	82,33±3,54 ^a	1,36±0,12 ^a	54,67±3,19 ^a

a: p>0.05, b:p<0.05, c:p<0.01, d:p<0.001 Kontrol grubuna göre karşılaştırma yapıldı.

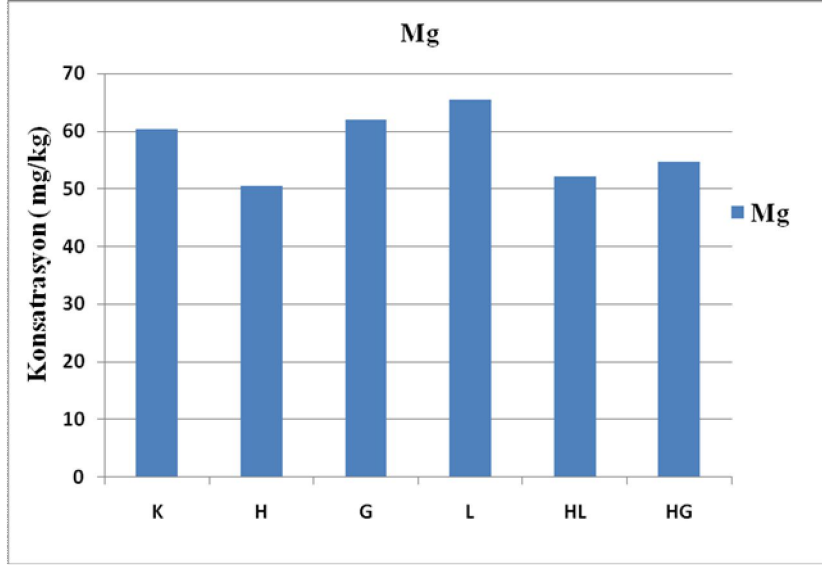
Böbrek dokusu Fe düzeyi incelendiğinde; H grubu Fe düzeyinin K, G ve L gruplarının Fe düzeylerine göre arttığı gözlemlendi (p<0.001). K grubu Fe düzeyi ile G, L, HL ve HG gruplarının Fe düzeyleri arasında anlamsal fark olmadığı tespit edildi (p>0.05). HG grubunun Fe düzeyinin H grubunun Fe düzeyine göre azaldığı tespit edildi (p<0.05). H grubu Cu düzeyinin K grubunun Cu düzeyine göre yüksek iken (p<0.01); K grubu Cu düzeyi ile diğer grupların Cu düzeyleri arasında istatistiksel fark olmadığı gözlemlendi (p>0.05). H grubu Zn düzeyi K, L ve G gruplarına göre düşük çıktığı gözlenirken (p<0.05); K, L ve G gruplarının çinko düzeyleri arasında istatistiksel fark olmadığı gözlemlendi (p>0.05). K, G, L, HL ve HG gruplarının Ca düzeyleri arasında anlamsal fark olmadığı saptanırken (p>0.05); H grubu Ca düzeyinin K, G ve L gruplarındaki Ca düzeylerine göre yüksek çıktığı tespit edildi (p<0.05, p<0.05, p<0.001). H grubu Mn düzeyinin K grubundaki Mn düzeyine göre düşük iken (p<0.01); K grubu Mn düzeyi ile diğer grupların Mn düzeyleri arasında istatistiksel fark olmadığı gözlemlendi (p>0.05). Ancak G ve L gruplarının Mn düzeylerinin H grubundaki Mn düzeyine göre yüksek çıktığı saptandı (p<0.05, p<0.001). H grubu Mg düzeyinin K grubunun Mg düzeyine göre düşük çıktığı gözlenirken (p<0.05); K, H, L, HL ve HG gruplarının Mg düzeyleri arasında istatistiksel fark olmadığı tespit edildi (p>0.05).



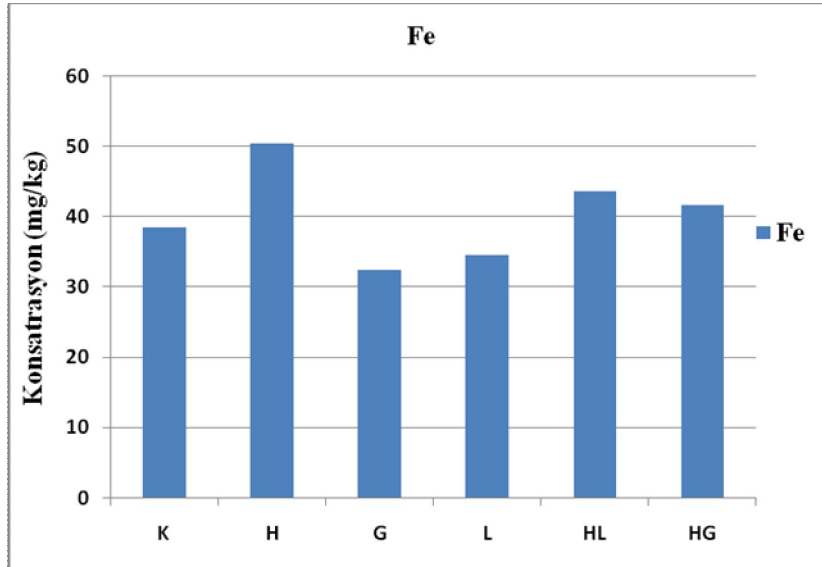
Şekil 3.7. Böbrek dokusunda tespit edilen Zn miktarı (mg/kg)



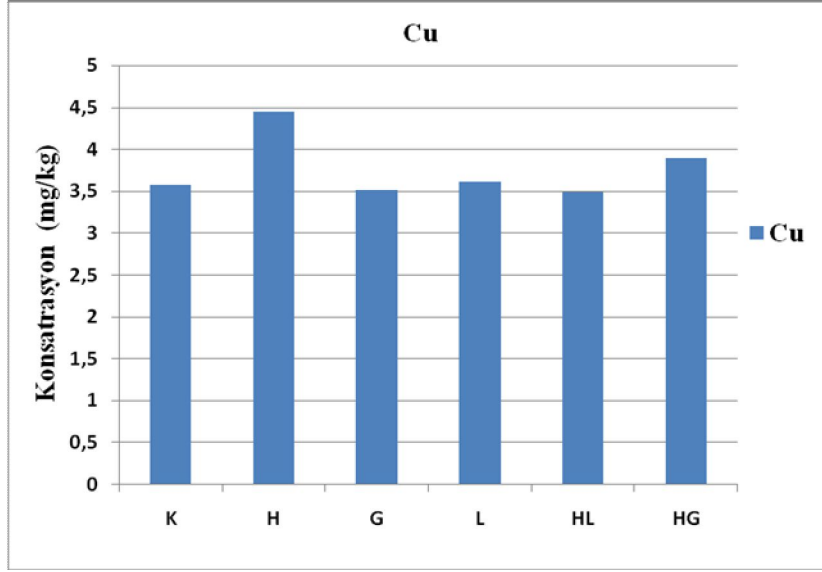
Şekil 3.8. Böbrek dokusunda tespit edilen Mn miktarı (mg/kg)



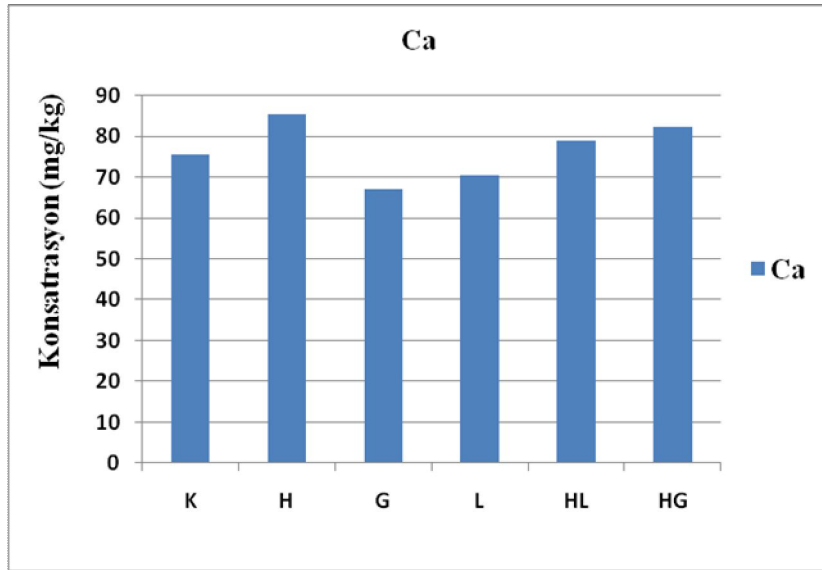
Şekil 3.9. Böbrek dokusunda tespit edilen Mg miktarı (mg/kg)



Şekil 3.10. Böbrek dokusunda tespit edilen Fe miktarı (mg/kg)



Şekil 3.11. Böbrek dokusunda tespit edilen Cu miktarı (mg/kg)



Şekil 3.12. Böbrek dokusunda tespit edilen Ca miktarı (mg/kg)

3.3. Akciğer Dokusu Tablosu ve Eser Elementlerin Değerlendirilmesi

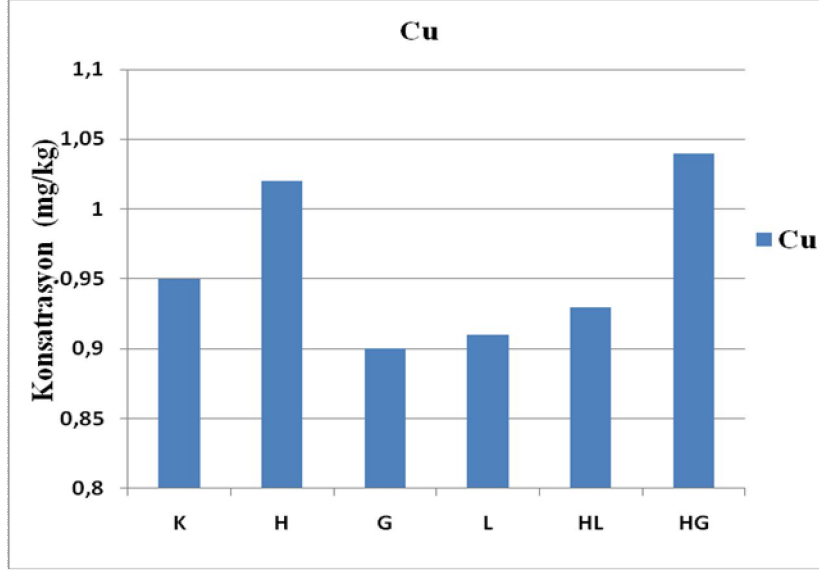
Tablo 3.3. Akciğer dokusu eser element düzeyleri (ppm)

Gruplar	Fe	Cu	Zn	Ca	Mn	Mg
K n=6	61,13±3,02 ^a	0,95±0,02 ^a	15,46±1,26 ^a	79,16±4,43 ^a	0,18±0,01 ^a	35,45±2,47 ^a
H n=6	77,27±3,11 ^c	1,02±0,05 ^c	9,05±0,35 ^d	91,70±4,50 ^b	0,15±0,01 ^d	32,10±1,34 ^a
G n=6	58,44±4,12 ^a	0,90±0,04 ^a	17,58±1,45 ^b	75,88±4,10 ^a	0,19±0,01 ^a	42,02±3,27 ^b
L n=6	60,59±3,52 ^a	0,91±0,09 ^a	18,61±1,35 ^b	70,27±3,56 ^a	0,21±0,02 ^a	40,76±1,36 ^a
HL n=6	67,80±2,98 ^a	0,93±0,02 ^a	16,65±1,08 ^a	84,50±4,26 ^a	0,17±0,01 ^a	38,30±1,37 ^a
HG n=6	70,46±4,83 ^a	1,04±0,07 ^a	15,83±1,19 ^a	80,43±3,28 ^a	0,18±0,01 ^a	39,49±1,79 ^a

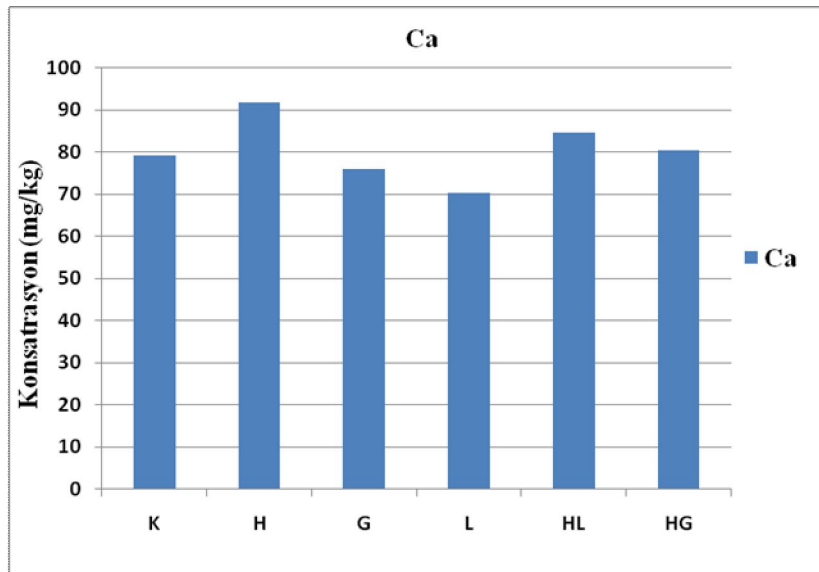
Kontrol grubuna göre karşılaştırma yapıldı. a: $p>0.05$, b: $p<0.05$, c: $p<0.01$, d: $p<0.001$

Akciğer dokusu Fe düzeyi incelendiğinde; K grubu Fe düzeyinin H grubu Fe düzeyine göre düşük çıktığı saptandı ($p<0.01$). H grubu Fe düzeyinin G, L, HG ve HL gruplarının Fe düzeylerine göre yüksek çıktığı saptandı ($p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.05$, $p<0.05$). Geraniolün etkisiyle Fe düzeyi HG grubunda ($p<0.05$), L maddesinin etkisiyle HL grubunda Fe düzeyi ($p<0.05$) düşmüştür. H grubu Cu düzeyinin K, G, L ve HL gruplarındaki Cu düzeylerine göre yüksek çıktığı saptandı ($p<0,01$). K, G, L, HL ve HG gruplarının Cu düzeyleri arasında istatistiksel fark olmadığı saptandı ($p>0.05$). K, HL ve HG gruplarının Zn düzeyleri arasında istatistiksel fark olmadığı gözlenirken ($p>0.05$), H grubu Zn düzeyinin K, L ve G gruplarındaki Zn düzeylerine göre düşük çıktığı tespit edildi ($p<0.001$). H grubu Ca düzeyinin K grubunun Ca düzeyine göre yüksek iken ($p<0.05$); K grubunun Ca düzeyi ile diğer grupların Ca düzeyleri arasında istatistiksel fark olmadığı saptandı ($p>0.05$). H grubu Ca düzeyinin G ve L gruplarındaki Ca düzeylerine göre yüksek çıktığı gözlemlendi ($p<0.01$, $p<0.05$). K, G, L, HG ve HL gruplarının Mn düzeyleri arasında istatistiksel fark olmadığı gözlemlendi ($p>0.05$). H grubu Mn düzeyinin K, G, L, HG ve HL gruplarındaki Mn düzeylerine göre düşük çıktığı saptandı ($p<0.001$). Geraniol ve ksantat maddesinin etkisiyle HG ve HL gruplarında Mn seviyesi artırmıştır ($p<0.001$, $p<0.01$). L, HL ve HG gruplarının Mg düzeyleri arasında istatistiksel fark olmadığı saptandı ($p>0.05$).

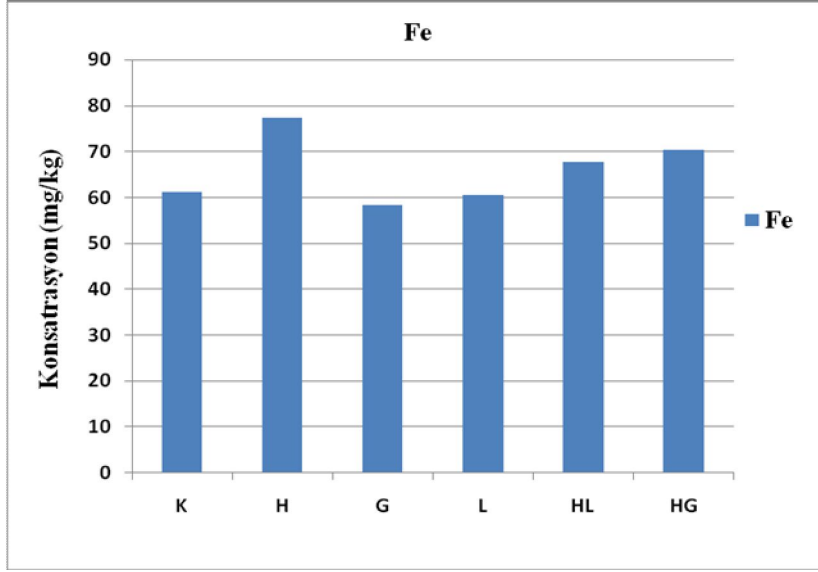
Ancak H grubu Mg düzeyinin K, G ve L gruplarındaki Mg düzeylerine göre düşük çıktığı tespit edildi ($p<0.01$, $p<0.001$).



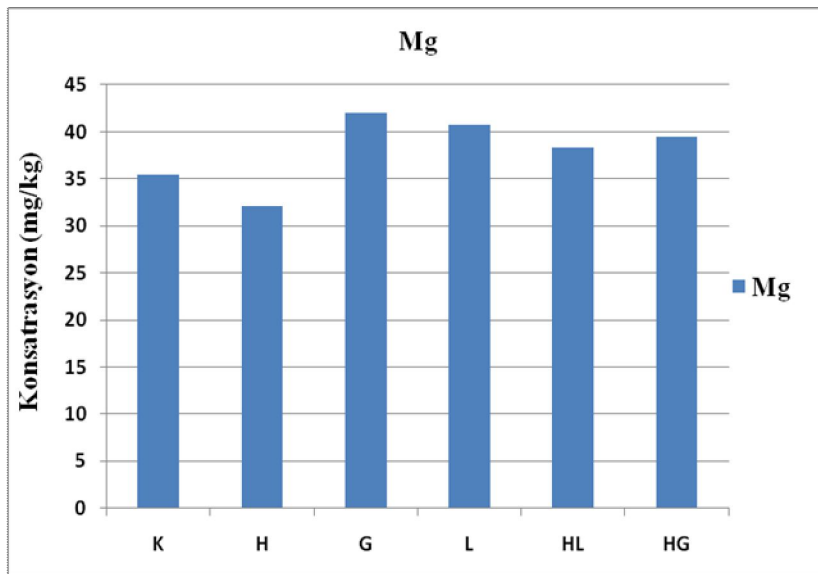
Şekil 3.13. Akciğer dokusunda tespit edilen Cu miktarı (mg/kg)



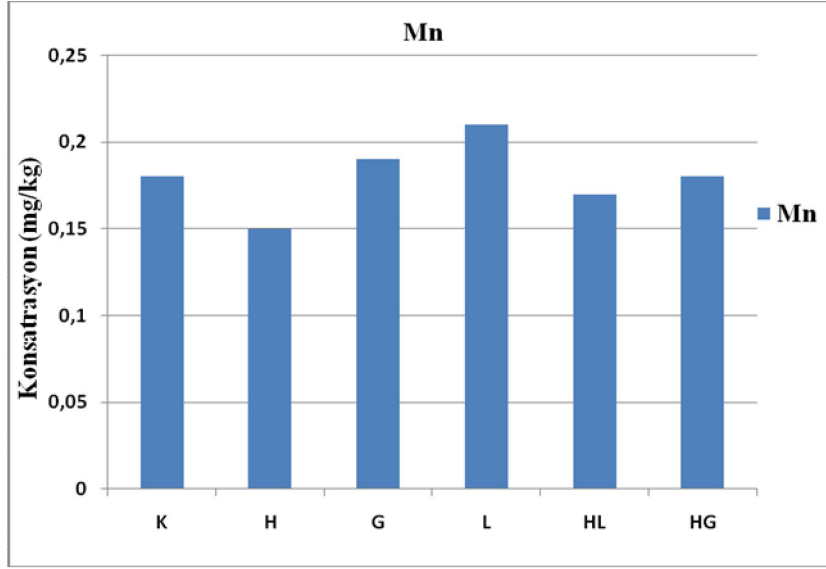
Şekil 3.14. Akciğer dokusunda tespit edilen Ca miktarı (mg/kg)



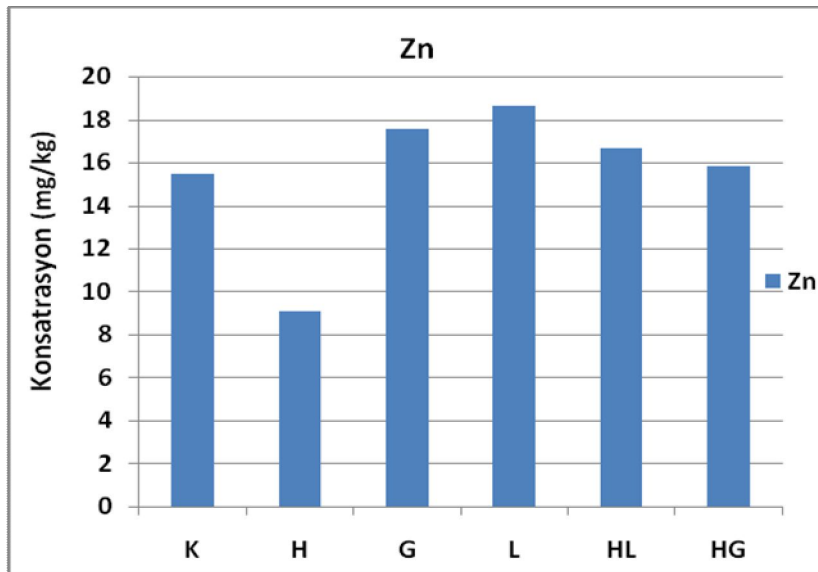
Şekil 3.15. Akciğer dokusunda tespit edilen Fe miktarı (mg/kg)



Şekil 3.16. Akciğer dokusunda tespit edilen Mg miktarı (mg/kg)



Şekil 3.17. Akciğer dokusunda tespit edilen Mn miktarı (mg/kg)



Şekil 3.18. Akciğer dokusunda tespit edilen Zn miktarı (mg/kg)

3.4. Kas Dokusu Tablosu ve Eser Elementlerin Değerlendirilmesi

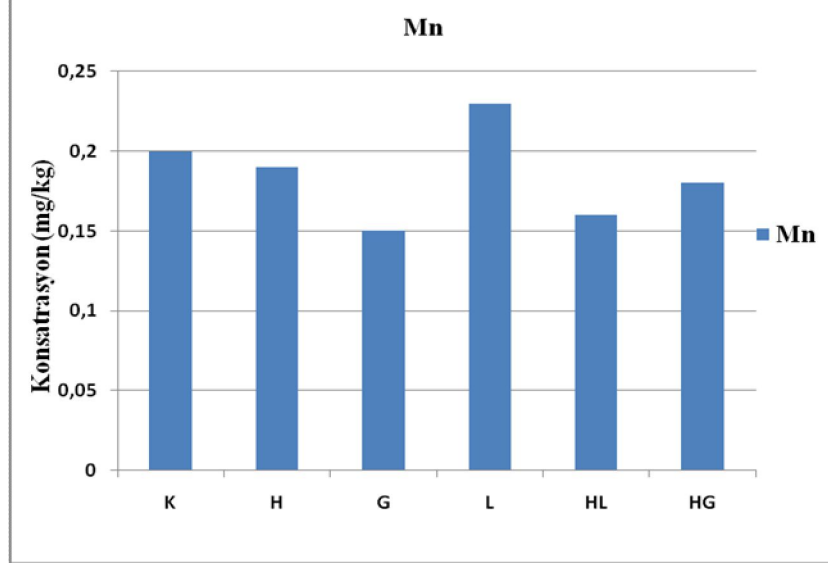
Tablo 3.4. Kas dokusu eser element düzeyleri (ppm)

Gruplar	Fe	Cu	Zn	Ca	Mn	Mg
K n=6	40,37±2,25 ^a	1,12±0,03 ^a	12,55±1,00 ^a	52,36±4,09 ^a	0,20±0,02 ^a	38,23±2,14 ^a
H n=6	66,26±2,80 ^d	1,32±0,01 ^b	9,67±0,94 ^c	65,47±2,68 ^c	0,19±0,02 ^a	33,41±2,22 ^a
G n=6	36,39±2,22 ^a	0,98±0,03 ^a	13,22±1,02 ^a	47,71±4,03 ^a	0,15±0,02 ^a	34,74±2,38 ^a
L n=6	37,85±1,43 ^a	1,10±0,05 ^a	12,45±0,67 ^a	43,51±3,57 ^a	0,23±0,01 ^a	40,19±2,69 ^a
HL n=6	60,15±2,99 ^d	1,23±0,05 ^a	9,92±0,89 ^b	57,20±3,08 ^a	0,16±0,01 ^a	37,56±1,96 ^a
HG n=6	55,28±3,15 ^d	1,24±0,06 ^a	10,54±1,21 ^a	61,49±2,90 ^a	0,18±0,01 ^a	35,52±2,73 ^a

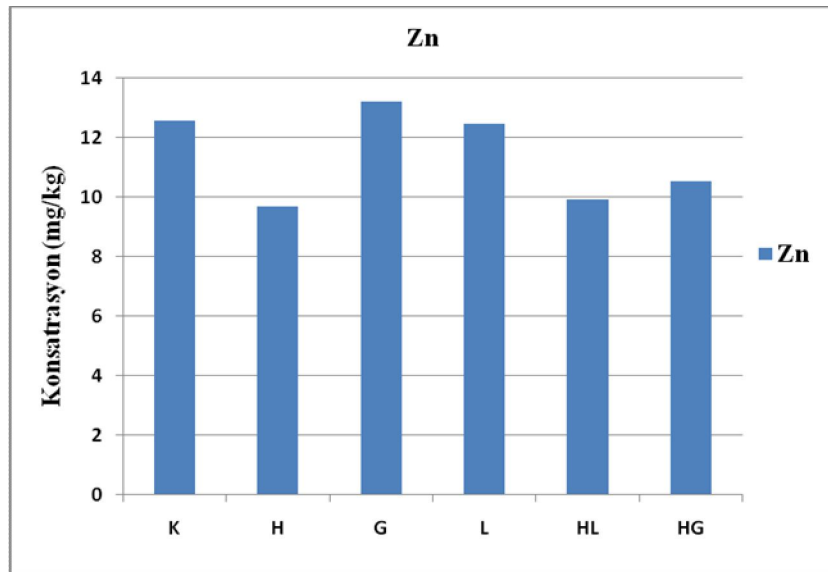
a: $p>0.05$, b: $p<0.05$, c: $p<0.01$, d: $p<0.001$ Kontrol grubuna göre karşılaştırma yapıldı.

Kas dokusu Fe düzeyi incelendiğinde; H grubu Fe düzeyinin K, G, L ve HG gruplarının Fe düzeylerine göre yüksek çıktığı saptandı ($p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.01$). K grubu Fe düzeyi ile G ve L gruplarının Fe düzeyleri arasında istatistiksel fark olmadığı tespit edilirken ($p>0.05$), K grubu Fe düzeyinin HL ve HG gruplarının Fe düzeylerinden düşük çıktığı gözlemlendi ($p<0.001$). HL grubunun Fe düzeyi ile H grubunun Fe düzeyi arasında istatistiksel fark olmadığı saptandı ($p>0.05$). H grubu Cu düzeyinin K, G ve L gruplarının Cu düzeylerinden yüksek çıktığı saptandı ($p<0.01$, $p<0.001$, $p<0.01$). K grubunun Cu düzeyi ile L, G, HL ve HG gruplarının Cu düzeyleri arasında anlamsal fark olmadığı tespit edildi ($p>0.05$). H grubu Zn düzeyinin K, G ve L gruplarının Zn düzeylerine göre düşük çıktığı saptandı ($p<0.01$). K, G, L ve HG gruplarının Zn düzeyleri arasında istatistiksel fark olmadığı gözlenirken, ($p>0.05$); K grubu Zn düzeyi H grubundan yüksek çıktığı gözlemlendi ($p<0.01$). Aynı şekilde H, HL ve HG gruplarının Zn düzeyleri arasında istatistiksel fark olmadığı saptandı ($p>0.05$). H grubu Ca düzeyinin K, G ve L gruplarının Ca düzeylerine göre yüksek çıktığı tespit edildi ($p<0.01$, $p<0.01$, $p<0.01$). H grubu Ca düzeyi ile HG ve HL gruplarının Ca düzeyleri arasında istatistiksel fark olmadığı gözlemlendi ($p>0.05$). K grubu Ca düzeyi ile G, L, HL ve HG gruplarının Ca düzeyleri arasında istatistiksel fark olmadığı saptandı ($p>0.05$). Mn düzeyleri incelendiğinde tüm grupların Mn düzeyleri arasında istatistiksel fark olmadığı tespit edildi ($p>0.05$). K grubu Mg düzeyi ile diğer grupların Mg

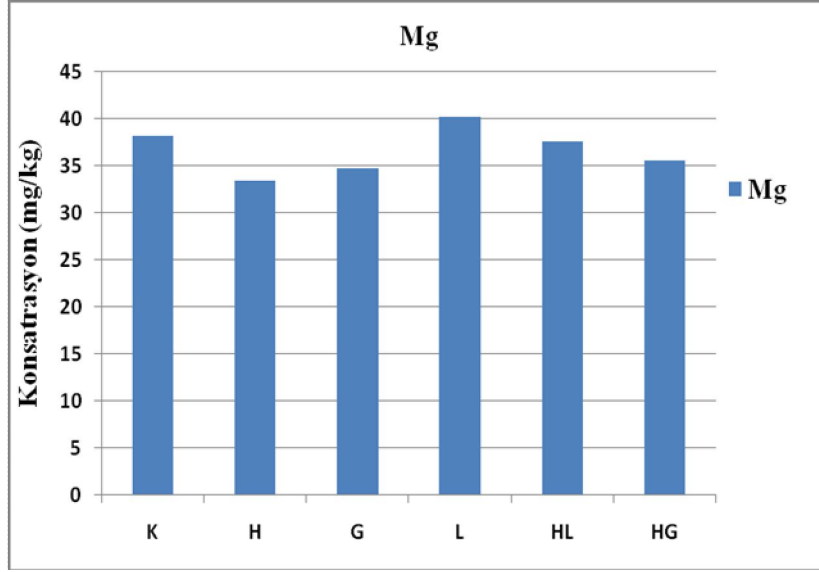
düzeyleri arasında istatistiksel fark olmadığı gözlenirken ($p>0.05$), tek anlamsal farkın L grubunun Mg düzeyinin H grubunun Mg düzeyine göre yüksek çıktığı saptandı ($p<0.05$).



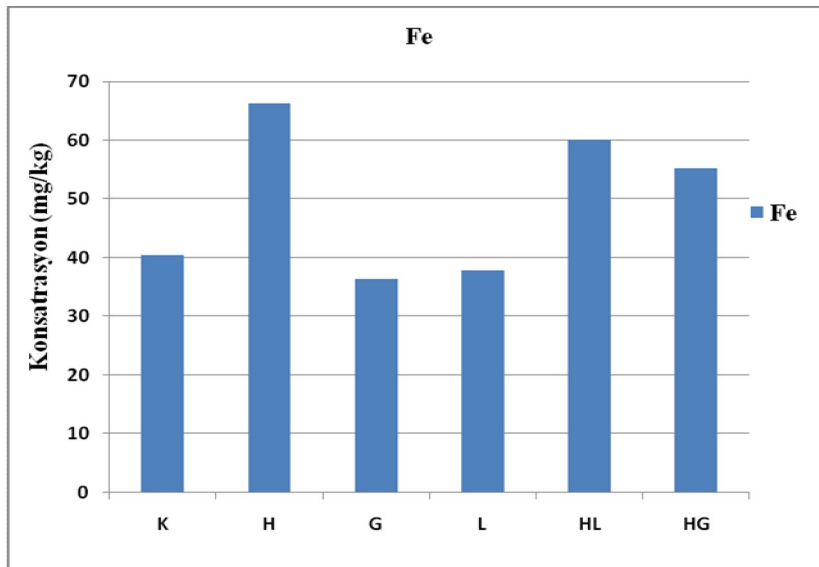
Şekil 3.19. Kas dokusunda tespit edilen Mn miktarı (mg/kg)



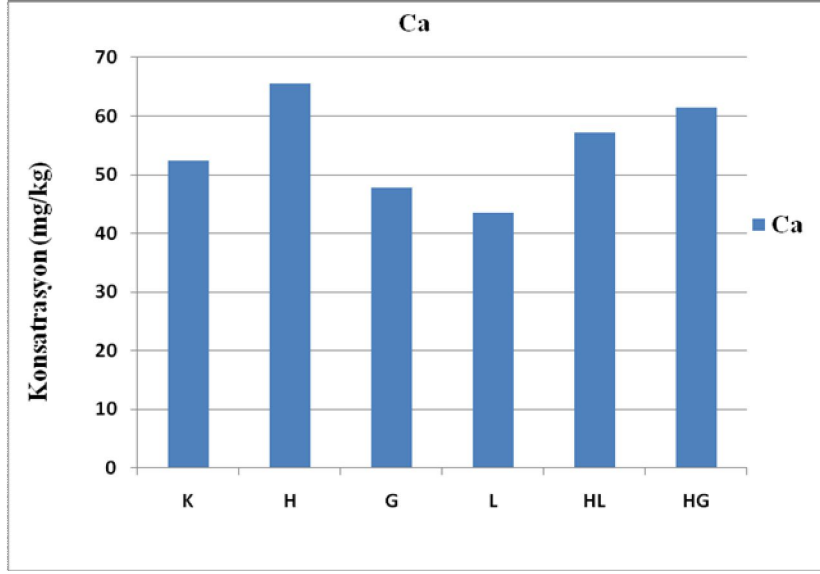
Şekil 3.20. Kas dokusunda tespit edilen Zn miktarı (mg/kg)



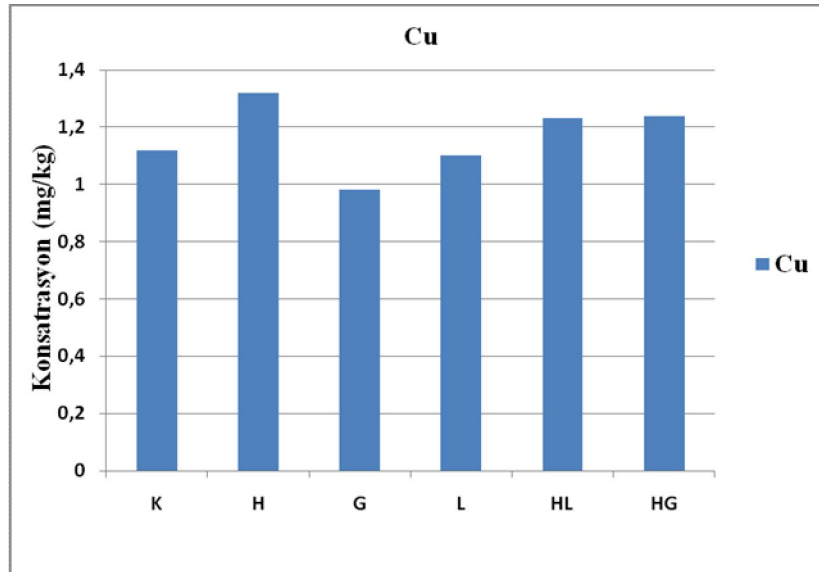
Şekil 3.21. Kas dokusunda tespit edilen Mg miktarı (mg/kg)



Şekil 3.22. Kas dokusunda tespit edilen Fe miktarı (mg/kg)



Şekil 3.23. Kas dokusunda tespit edilen Ca miktarı (mg/kg)

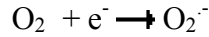


Şekil 3.24. Kas dokusunda tespit edilen Cu miktarı (mg/kg)

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada H₂O₂ verilerek oksidatif stres oluşturulan ratlarda geraniol ve geraniolden sentezlenmiş olan geraniol ksantat maddelerinin eser elementler üzerine etkileri incelendi.

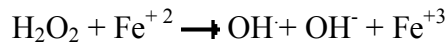
Serbest radikaller, hücre metabolizmasındaki tepkimeler esnasında ortaya çıkan ve hücre yapılarıyla reaksiyona giren maddelerdir [77,78]. Hücre içerisinde oksidan ajanların artması ve antioksidan sistemin azalması sonucunda hücre oksidatif strese maruz kalır. Bunun sonucunda hücre hasara uğrar [78, 122, 123]. Diyabet mellitus, kanser gelişimi, ateroskleroz, nörodejeneratif hastalıklar gibi birçok hastalığın etiyolojisinde ve ilerlemesinde serbest radikallerin rol oynadığı gösterilmiştir [77, 124, 125]. Hücrede elektron taşıma sisteminden elektron kaçakları meydana gelir. Canlılarda tek bir elektronun transfer yoluyla oksijene verilip oksijenin tek değerlikli indirgenmesi ile O₂⁻ oluşmaktadır [126].



Oksijenin 2 elektronla redüklenmesi veya O₂⁻'nin dismutasyonu ile H₂O₂ oluşur [77].



Serbest radikallerin biyokimyasında H₂O₂ önemli bir yer tutar. Bunlar geçiş metal iyonlarının bulunduğu ortamda kolaylıkla parçalanıp oksijen radikallerinin reaktif olan ve biyolojik sistemlerde daha çok hasar oluşturan OH[•] oluşturur [77].



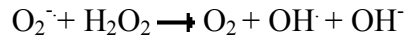
Fenton tepkimesinde Fe⁺² ile H₂O₂'in tepkimeye girmesi ile hücre için son derece toksik olan OH[•] oluşur [80].

Metabolizmada demir ve bakır oksidasyon basamaklarında görev alırlar. Bu metaller radikal tepkimelerini hızlandırarak katalizör görevi üstlenen oksidan türevli maddelerdir

[77, 78]. Metal iyonlarının serbest radikal tepkimelerinde hücrede lipid peroksidasyon üzerine etkileri vardır. Oksijenin kendisi, $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , $OH^{\cdot}$ ve geçiş metalleri reaktif oksijen biyokimyasında önemli rol oynayan maddelerdir [79, 95].

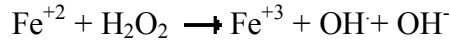
Canlı organizmalarda H_2O_2 ve O_2 'nin toksik etkileri, $OH^{\cdot}$ ve reaktif radikal metal komplekslerine dönüşmeleri ile oluşur [80]. H_2O_2 , $O_2^{\cdot-}$ ile Haber-Weiss tepkimesi adı verilen tepkimeye girerek hücre için son derece toksik olan $OH^{\cdot}$ 'lere parçalanır [80, 81].

Haber-Weiss tepkimesi;



Bu tepkime katalizör varlığında veya katalizör olmadan da oluşabilmektedir. Katalizör olmadan oluşan tepkime oldukça yavaş ilerler. Tepkime eğer demir elementi ile katalizlenirse [Fenton tepkimesi] oldukça hızlı meydana gelir [77, 127].

Fenton tepkimesi;



Yaptığımız çalışmada radikal kaynağı olarak ratlara verdiğimiz H_2O_2 , yukarıda belirtilen reaksiyonlarla oluşturulan mekanizma sonucunda zararlı serbest radikaller oluşturulmuştur. Çalışmamızda H_2O_2 verilen ratların tüm dokularda Fe' in kontrol grubuna göre yüksek çıktığını tespit ettik. Namık Delibaş ve arkadaşları yaptıkları [128] bir çalışmada; yaşlılık hastalığı olan Presbiakuzi hastalığının serbest radikal kaynaklı olduğunu görülmüştür. Bu çalışmada hasta grupları ile kontrol grupları arasındaki Fe karşılaştırılmasında hastalık grubunun oranının yüksek çıktığı belirtilmiştir. Hasta grubundaki Fe oranının yüksek çıkma sebeplerini SOD aktivitesi ile Fe arasındaki ilişkiye bağlamışlardır. Presbiakuzi grubunda SOD aktivitesinin düşük çıkması ve demir düzeylerinin yüksek bulunması süperoksit anyonu artışıyla, ferritinden demir salımına yol açabileceğini, böylece süperoksit anyonu, katalitik demiri artırarak Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları için demiri hazır hale getireceğini belirtmişlerdir.

Yaptığımız çalışmada H_2O_2 maddesinin ratlarda radikalik etkisini tüm dokularda etkisini göstererek Fe oranını arttırdığını düşünmekteyiz. Karaciğer dokusunda geraniol ve geraniol ksantat verilen gruplardaki Fe düzeyleri ile kontrol grubu Fe düzeyi arasında anlamsal fark olmadığı gözlemlendi. Ancak kombinasyonlu gruplarda Fe düzeylerini bu

maddelerin H_2O_2 grubuna göre düşürdüğü tespit edildi. Bu sonuçlardan geraniol ve geraniol ksantat maddelerinin H_2O_2 in olumsuz radikalik etkisini Fe düzeyinde elimine ettiğini düşünmekteyiz. Diğer dokularda da bu özellikler paralellik göstermektedir.

Çalışmamızda böbrek, akciğer ve kas dokularındaki H_2O_2 grubu Zn düzeylerinin kontrol grubu Zn düzeylerine göre düştüğü, karaciğer dokusunda ise nispeten düşüş olduğu gözlemlendi. Bu sonuçlar H_2O_2 in oksidatif stres etkisiyle olduğunu düşünmekteyiz. Fibromyaljili hastalığı multifaktöriyel olup oksidatif stresinde etkili olduğu bir hastalıktır. Fibromyalji yaygın ağrı ve vücutta belirli noktalarda hassasiyetle karakterize, kronik bir kas iskelet sistemi hastalığıdır [129]. Bu hastalıkta hastalarda serum çinko düzeyini araştıran çalışmalar mevcuttur [130, 131]. Russel [132] ve arkadaşları çinkonun ağrı iletim sisteminde önemli bir yeri olduğunu ve hayvan deneylerinde de ağrı duyusunu artırdığını savunmuşlardır. 30 fibromyaljili hastada serum çinko düzeyini araştırmış ve kontrol grubuna göre belirgin olarak düşük bulmuşlardır. Eisinger [130] ve arkadaşları fibromyaljili hastalarda serum çinko düzeyinde farklılık olmadığını bildirmişlerdir. Bağış ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada ise bu hastalık grubunun serum çinko düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı oranda düşük çıktığını belirtmişlerdir [133].

Zn oksidatif strese karşı hücreyi koruyucu etkisi *in vitro* ve *invivo* çalışmalarda belirtilmiştir. Serum Zn konsantrasyonu ve SOD un aktivitesi arasında pozitif bir ilişki olup, diyetteki Zn eksikliği CuZn-SOD aktivitesinin azalmasına sebebiyet verir. Bunun sonucunda oksidatif stres artmaktadır. Serum ve organların lipit peroksidasyona maruz kalması ile Zn miktarının azalması ratlarda yapılan çalışmalarda açıklanmıştır [93, 134]. Karaciğer dokusunda geraniol verilen grupta Zn düzeyi kontrol grubuna göre artırdığı, geraniol ksantat maddesi ise kontrol grubuyla aynı düzeyde olduğu gözlemlendi. Kombinasyonlu gruplarda ise Zn düzeyi nispeten H_2O_2 gruba göre arttığı tespit edildi. Böbrek dokusunda ise geraniol ve geraniol ksantat verilen grupların Zn düzeyi kontrol grubuna göre arttığı, H_2O_2 grubuna göre de kombinasyonlu gruplarda Zn düzeyinin bu maddelerin etkisiyle arttığını düşünmekteyiz. Bu durum akciğer ve kas dokularında da paralellik göstermektedir. Geraniol ve geraniol ksantat dokularda genel olarak H_2O_2 in zararlı radikal etkisini azaltarak, Zn düzeyinin korunmasında rol oynadığını düşünmekteyiz.

Ca ve oksidatif stres ilişkisini hedef alan çalışmalarda bu elementin seviyesinin normal organlara kıyasla hasar görmüş doku veya organlardan daha yüksek olduğu bildirilmektedir. Orrenius ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda hücrede serbest

kalsiyum miktarının artmasıyla kalsiyuma bağı savunma sistemi enzimlerinin aktive olduğu ve serbest radikal üretimi ile birlikte de kalsiyumun hücre içinde arttığı ifade edilmektedir [135]. Ayrıca multiple myeloma hastalarında da Ca seviyesinde artış olduğu bildirilmektedir [136]. Kanseri dokudaki aşırı Ca artışının beyinde homostatik dengeyi bozarak fizyolojik seviyenin üzerine çıktığı ve böylece bu organı da etkilediği görülmektedir. Beyin için önemli fonksiyonlar üstlenen bu elementin yüksek seviyelerinin toksik olduğu bilinmektedir [137]. Yapılan başka bir çalışmada; kobaylara oksidatif stres oluşturma amacıyla kanserojen DMBA verilmiş ve antioksidan özellik gösteren lipoik asidin eser elementler üzerine etkinliği incelenmiştir. Bu çalışmada DMBA verilen kobaylarda Ca düzeyinin kontrol grubuna göre yüksek bulunduğu ve lipoik asidin oksidatif stresi Ca düzeyinde pozitif yönde etki göstererek Ca düzeyini düşürdüğü belirtilmiştir [138].

Yaptığımız çalışmada karaciğer, böbrek ve kas dokularında oksidatif stres grubu olan H₂O₂ grubunda Ca düzeyinin kontrol grubuna göre arttığı tespit edildi. Geraniol ve geraniol ksantat gruplarının Ca düzeylerinin kontrol grubu Ca düzeylerine yakın değerde çıktığı gözlemlendi. Bu maddelerin etkisiyle kombinasyonlu grupların Ca düzeylerinin kontrol grubu Ca düzeyine yaklaştığı tespit edildi. Akciğer dokusunda ise H₂O₂ grubu Ca düzeyi nispeten kontrol grubuna göre yüksek çıkmasına rağmen istatistiksel fark olmadığı gözlemlendi. Sonuçlarımız yukarıda verdiğimiz literatürlere uygun olduğunu belirtebiliriz. Geraniol ve geraniol ksantat türevli maddemizin oksidatif stres sonucu artan yüksek Ca düzeyini elimine ettiğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda karaciğer ve akciğer dokuları Mn düzeyleri incelendiğinde H₂O₂ grubu Mn düzeyinin kontrol grubuna göre düştüğünü gözlemledik. Diğer gruplar arasında istatistiksel fark olmadığını tespit ettik. Bu sonuçlardan H₂O₂ in oksidatif stres sonucu Mn düzeyini düşürdüğünü söyleyebiliriz. Geraniol ve geraniol ksantat verilen kombinasyonlu gruplarda ise Mn düzeyi kontrol grubu seviyesinde olması, bu maddelerin dokulardaki oksidatif stres sebeplerini engelleyebileceğini göstermektedir.

Mangan organizmada esansiyel bir eser elementtir. Metabolizmada çok önemli görevleri vardır. Özellikle metabolizmada çeşitli biyokimyasal olaylarda görev yapmaktadır. Piruvat karboksilaz, superoksit dismutaz, glutamin sentetaz, alkali fosfataz ve arjinaz gibi çok sayıda enzimin aktiviteleri için kofaktördür [67]. Manganın düşük oksidasyon durumlarında serbest oksidasyon radikali temizleyicisi olarak görev yapmaktadır [87]. Sonuçlarımız literatürleri desteklemektedir.

Çalışmamızda Cu ve Mg düzeylerinde gruplar arası önemli farkların olmadığını tespit ettik. Yaptığımız çalışmada terpen türevli maddelerden geraniol ve geraniolden yeni sentezlenmiş olan geraniol ksantat maddelerinin eser elementler üzerine etkilerini inceledik. Bu maddelerin oksidatif stres üzerine eser elementler düzeyinde (Fe, Ca, Zn ve Mn) olumlu etkilerinin olduğunu gözlemledik.

Geraniol çeşitli kanser hücrine karşı *in vivo* ve *in vitro* antitümör etkinliği vardır [21]. Monoterpenler deneysel koşullarda doğrudan ve dolaylı kullanılarak antikasorejenler üzerine etkili olduğu gösterilmiştir. [29, 30]. Monoterpenlerin mevalonat biyosentezi üzerine çeşitli antikanser aktiviteleri gözlenmiştir [33, 34].

Sonuç olarak; oksidatif stres oluşturulan gruplardaki yüksek Fe ve Ca düzeylerini geraniol ve geraniol ksantat maddeleri genel olarak dokularda olumlu etkilerini göstererek düşürdüğünü düşünmekteyiz. Aynı şekilde oksidatif stres oluşturulan gruplarda düşen Zn ve Mn düzeylerini ise bu maddelerin artırıcı etkilerini genel olarak gözlemledik. Cu ve Mg düzeylerinde ise genel olarak gruplar arası anlamsal farkların olmadığını tespit ettik.

5. ÖNERİLER

Bu çalışmada, geraniol ve geraniol maddesinden sentezlenen geraniol ksantat maddesinin oksidatif stres üzerine eser elementler düzeyinde olumlu etkilerinin olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmanın, ilerde geraniol ve geraniol ksantatla ilgili yapılacak çalışmalara ışık tutacağını düşünmekteyiz. Aynı şekilde benzer çalışmalar yapılarak diğer monoterpen türevli maddelerin oksidatif stres üzerine etkileri araştırılabilir. Ayrıca monoterpenlerin ksantatlarla yapılacak yeni sentez maddelerinin oksidatif stres üzerine etkileride araştırılabilir.

KAYNAKLAR

- [1] Onat, T. and Emerk, K., 1997. Temel Biyokimya, Bassaray Basımevi, İzmir.
- [2] Aust, S.D. and Svingen, B.A., 1982. Free Radical Biology, Academ. Press., 5, 1-28.
- [3] Heribert, W., 1987. Singlet Oxygen in Biological Systems, J. Electroanal. Chem., 232, 91-104.
- [4] Elstner, E.F., 1991. Oxygen Radicals - Biochemical Basis For Their Efficacy, Clin. Wochen., 69, 949-956.
- [5] Halliwell, B. and Gutteridge, J.M., 1990. Role of Free Radicals, and Catalytic Metal Ions in Human Disease : An Overwiev, Methods Enzymol., 186, 1-85.
- [6] Del Maestro, R.F., 1992. An Approach to Free Radicals in Medicine and Biology, Acta Physiol. Scand. Suppl., 492, 153-168.
- [7] Cheeseman, K.H. and Slater, T.F., 1993. An Introduction to Free Radical Biochemistry, Br. Med. Bul., 49, 479-490.
- [8] Tanugan, G., Koldaş, M. and Uras, F., 1994. Serbest Radikaller, Haseki Tıp Bülteni, Cilt : 32, Sayı : 4.
- [9] Southoin, P.A. and Powis, G., 1988. Free Radical in Medicine I., Chemical Nature and Biologic Reactions, Mayo Clin. Proc., 63, 381-389.
- [10] Fremann, B.A. and Crapo, J.D., 1982. Free Radicals and Tissue Injury, Lab. Invest., 47, 412-426.
- [11] Akkuş, İ., 1995. Serbest Radikaller ve Fiziopatolojik Etkileri, Mimoza Yayınları, 08-26, Konya.
- [12] Guemouri, L., Lves, A. and Herbert, B., 1991. Biological Variability of SOD, GSH-Px and CAT in Blood, Clin. Chem., 37/11, 1932-1937.
- [13] Evens, P.L.T., 1993. Free Radicals in Brain Metabolism and Pathology, Br. Med. Bull., 49 (3), 577-58.
- [14] Çavdar, C., Sifil A. and Çamsarı T., 1997. Reaktif Oksijen Partikülleri ve Antioksidan Savunma, Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi/Office Journal of the Turkish Nephrology, Association. 3-4, 92-95.
- [15] Sies, H., 1997. Oxidative stress: oxidants and antioxidant, Exp. Physiol. 82 ,291-295.
- [16] Becman, K.B. and Ames, B.N., 1998. The free radical theory of aging matures, Physiol. Rev., 78 , 547-581.
- [17] Gilgun-sherki, Y., Melamed, E. and Offen, D., 2001. Oxidative stress induced neurodege nerative diseases: the need for antioxidants that peneyrate the blood brain barrier, Neuropharmacology 40 , 959-975.
- [18] Liu, R.H., 2004. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevent: mechanims of action, J. Nutr. 134 , 3479-3485.
- [19] Özkaya, A., 2007. Oksidatif Strese Maruz Kalan Ratların Bazı Biyokimyasal Parametrelerine Hesperetin ve Ellagik Asidin Etkisi, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, Elazığ.
- [20] Ceylan, A., 1987. Tıbbi Bitkiler II, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları. No:481, s 1-22.
- [21] Shoff, S.M, Grummer, M., Yatvin, M.B. and Elson, C.E., 1991. Concentration-dependent increase of murine P388 and B16 population doubling time by the acyclic monoterpene geraniol, Cancer Res. 51, 37-42Elson, C.E., 1995. Suppression of mevalonate pathway activities by dietary isoprenoids: protective roles in cancer and cardiovascular disease. J Nutr 125:1666-1672

- [22] Hammer, K. A., Carson, C. F. and Riley, T.V., 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*, 86, 985-990.
- [23] Jayaprakasha, G.K., Jena, B.S., Negi, P.S. and Sakariah, K.K., 2002. Evaluation of antioxidant activities and antimutagenicity of turmeric oil: A byproduct from curcumin production. *Zeitschrift fuer Naturforschung, C*, 57C, 828-835.
- [24] Lee, K.G. and Shibamoto, T., 2002. Determination of antioxidant potential of volatile extracts isolated from various herbs and spices. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50, 4947-4952.
- [25] Vardar-Ünlü, G., Candan, F., Sokmen, A., Daferera, D., Polissiou, M., Sokmen, M., Donmez, E. And Tepe, B., 2003. Antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil and methanol extracts of *Thymus pectinatus* Fisch. Et Mey. Var. *pectinatus* (Lamiaceae). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51, 63-67.
- [26] Benencia, F. and Courreges, M.C., 2000. *In vitro* and *in vivo* activity of eugenol on human herpesvirus. *Phytotherapy Research*, 14, 495-500.
- [27] Mahmoud, S.S. and Croteau, R.B., 2001. Metabolic engineering of essential oil yield and composition in mint by phosphate reductoisomerase and menthofuran synthase. *Proceedings of the National Academy Sciences, U.S.A.* 98, 8915- 8920.
- [28] Maltzman, T.H., Hurt, L.M., Elson, C.E., Tanner, M.A. and Gould, M.N., 1989. The prevention of nitrosomethylurea-induced mammary tumors by *d*-limonene and orange oil. *Carcinogenesis (Lond.)*, 10: 781-783.
- [29] W'attenberg, L.W., Sporn, V.L. and Barany, E., 1989. Inhibition of N-nitrosodiethylamine Carcinogenesis in mice by naturally occurring organosulfur compounds and monoterpenes. *Cancer Res.*, 49: 2689-2692.
- [30] Jameson, C. W., 1989. NTP Technical Report on the Toxicology and Carcinogenesis of d-Limonene. Research Triangle Park. NC: National Toxicology Program.
- [31] Motulsky, A., 1989. Food and Nutrition Board, National Research Council. Diet and Health: Implications for Reducing Chronic Disease Risk. DC: National Academy Press. Washington.
- [32] Clegg, R., Middleton, B., Bell, G.D., and White, D.A., 1980. Inhibition of hepatic cholesterol synthesis and 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase by mono and bicyclic monoterpenes administered in vivo. *Biochem. Pharmacol.*, 29: 2125-2127.
- [33] Fitch, M. E., Mangels, A. R., Altmann, W. A., El Hawary, M., Qureshi, A.A. and Elson, C.E., 1989. Microbiological screening of mevalonate-suppressive minor plant constituents. *J. Agric. Food Chem.* 37: 687-691.
- [34] Kelloff G.J., Boone, C.W., Crowell, J.A., Steele, V.E., Lubet, R.A., Doody, L.A., Malone, W.F., Hawk, E.T. and Sigman, C.C., 1996. New agents for cancer chemoprevention. *J Cell. Biochem*, 26: 1-28.
- [35] Wattenberg, L.W. and Coccia, J.B., 1991. Inhibition of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone carcinogenesis in mice by D-limonene and citrus fruit oils. *Carcinogenesis* 12: 115-117.
- [36] Crowell, P.L. and Gould, M.N., 1994. Chemoprevention and therapy of cancer by dlimonene. *Crit Rev Oncog* 5: 1-22.
- [37] Mills, J.J., Chari, R.S., Boyer, I.J., Gould, M.N. and Jirtle, R.L., 1995. Induction of apoptosis in liver tumors by the monoterpene perillyl alcohol. *Cancer Res* 55: 979-983.
- [38] Kawamori, T., Tanaka, T., Hirose, Y., Ohnishi, M. and Mori, H., 1996. Inhibitory effects of d-limonene on the development of colonic aberrant crypt foci induced by azoxymethane in F344 rats. *Carcinogenesis* 17: 369-372.

- [39] Rauha, J.P., Tammela, P., Summanen, J., Vuorela, P., Kahkonen, M., Heinonen, M., Hopia, A., Kujala, T., Pihlaja, K., Törnquist, K. and Vuorela, H., 1999. Action of some plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds on calcium fluxes in clonal rat pituitary GH₄C₁ cells. *Pharm. Pharmacol. Lett.*, 9, 66-69.
- [40] Shahidi, F. and Ho, C.T., 2000. *Phytochemicals and Phytopharmaceuticals*, Campaign, Illinois: AOAC Press.
- [41] Cadenas, E., Packer, L., 1996. *Handbook of Antioxidants*, New York: Marcel & Dekker.
- [42] Packer, L., Hiramatsu, M. and Toshikawa, T., 1999. *Antioxidant Food Supplements in Human Health*, San Diego: Academic Press.
- [43] Elegbede, J.A., Maltzman, T.H., Verma, A.K., Taner, M.A., Elson, C.E. and Gould, M.N., 1986. Mouse skin tumor promoting activity of orange peel oil and d-limonene: a reevaluation. *Carcinogenesis* 7:2047–2049.
- [44] Yu, S.G., Hildebrandt, L.A. and Elson, C.E., 1995. Geraniol, An Inhibitor of Mevalonate Biosynthesis, Suppresses the Growth of Hepatomas and Melanomas Transplanted to Rats and Mice, *J. Nutr.* 125, 2763–2767.
- [45] Yvette, D., Burkea, M., Jennifer, Starka., Steven, L., Roachb, Stephanie, E., Senb, and Pamela, L. Crowella, 1997. Inhibition of Pancreatic Cancer Growth by the Dietary Isoprenoids Farnesol and Geraniol, Departments of Biology and Chemistry, Indiana University-Purdue University at Indianapolis, Indianapolis, Indiana 46202.org 32,151-156.
- [46] Elson, C.E., Yu, S.G., 1994. The chemoprevention of cancer by mevalonate-derived constituents of fruits and vegetables. *J Nutr* 124:607–614.
- [47] Burke, Y.D., Stark M.J., Roach S.L., Sen S.E. and Crowell, P.L., 1997. Inhibition of pancreatic cancer growth by the dietary isoprenoids farnesol and geraniol. *Lipids*, 32:151–156.
- [48] Ramachandra, S., R., 1971. *Xanthates and related compounds*, Marcel Dekker, New York.
- [49] Kristan, D. and Berrat, J., 1996. 9-isothionatoacridines, *Molecules*, 1, 181-189.
- [50] Isvarona, P.C., 1964. Spectrophotometric studies of the Fe(III) xanthate system, *Analele Univ. C.I. Parhin Ser. Nat.*, 13 (1), 113-140.
- [51] Watt, G.W. and McCormic, B., J., 1965. The Synthesis and characteritazation of methyl and etyl xanthato complexes of Pt(II), Pd(II), Ni(II), Cr(III) and Co(III), *J. Inorg. Nucl. Chem.*, 27, 898-900.
- [52] Coucouvanis, D. and Fackler, J.P.J., 1967. Square plane sulfur complexes VI Reaction of bases with xanthates dithiocarbamates, and dithiolates of Ni (II) ., Vol 6, No:11 2047-2053.
- [53] Ası, T., 1996. *Tablolarla Biyokimya*, İstanbul.
- [54] Merlini, M., 1980. Some Considerations On Heavy Metals In The Marine Hydrosphere and Biosphere. *Thallasia Jugoslavica*. 16 (2–4), 367–376.
- [55] Engel, D.W., Sunda, W. and Fowler, B.A., 1981. Factors Affecting Trace Metal Uptake And Toxicity To Estuarine Organisms. I. Environmental Parameters. In *Biological Monitoring Of Marine Pollutans*. (F.J Vermeberg And Calabrese Edit) Academic Pres.
- [56] Cartwright, GE., 1978. Diagnosis of treable Wilson's disease, *N. Engl j.med.*, 298:1347-50.
- [57] Doğan, M., 1993. Eser elementler, biyolojik önemleri ve tayin yöntemleri ders notları, Erciyes üniversitesi.

- [58] Bingöl, G., 1978. *Biyokimya*, 394 - 395.
- [59] Saito, S., 1996. The effect of copper on zinc in liver and in metallothionein. *Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol. Dec.*, 94 (3), 259-264 .
- [60] El-Ziddeh, M., Ide, K., Yoshimatsu, T., Matsui, S. and Furuichi, M., 1995. Effects of Ca or trace elements from semi-purified diet on growth and feed utilization of yellow croaker, *Nibea albiflora*. *J. Fac. Agric. Kyushu Univ., Fukuoka*, 811-833.
- [61] Glore, S.R., Orth, V.L., Stoecker, J., Knehas, A.W. and Erdman, J.W. J, 1993. Dietary zinc supplements do not enhance catch-up growth of rats during recovery from protein-zinc malnutrition when the diets are based on either isolated soybean protein or casein. *Nut. Res.*, 13: 9, 1025-1037
- [62] Mehta, S.W. and Eikum, R., 1989. Effect of estrogen on serum and tissue copper and zinc levels in the female rat. *Nut. Rep. International*, 40: 6, 1101-1106.
- [63] Yenson, M., 1995. *İnsan Biyokimyası*, 585- 586.
- [64] Manuel, Y., Keenoy, B., Moorkens, G., Vertommen, J., Noe, M., Neve, J. and De Leeuw, I., 2000. Magnesium status and parameters of the oxidant-antioxidant balance in patients with chronic fatigue: Effects of supplementation with magnesium. *J Am Coll Nutr*, 19:374-382.
- [65] Huang, C.C., Chu, NS., Lu, C.S., Wang, J.D., Tsai, .JL., Tzeng, J.L., Wolters, E.C. and Calne, D.B., 1989. Chronic Manganese intoxication. *Arch. Neurol*, 46: 1104-6.
- [66] Gallez, B., Baudalet, C., Adline, J., Geurts, M. and Delzenne, N., 1997. Accumulation of manganese in the brain of mice after intravenous injection of manganese-based contrast agents. *Chem Res. Toxicol*, 10: 360-3.
- [67] Chua, A.C.G. and Morgan, E.H., 1996. Effects of iron deficiency and iron overload on manganese uptake and deposition in the brain and other organs of the rat. *Biological Trace Elem. Res.*, 55: 39-55.
- [68] Keen, C.L., Zidenberg, C.S., Lönnnerdal, B. in Mertz W, Abernathy, C.O. and Olin, S.S., 1994. Nutritional and toxicological aspects of manganese intake: An overview in; *Risk assesment of essential elements*, Washington, D.C. ILSI Pres, 221-35.
- [69] Ashner, M. and Ashner, J.L., 1991. Manganese neurotoxicity: cellular effects and blood-brain barrier transport. *Neurosci Behav Rev*, 15: 333-40.
- [70] Barbeau, A., 1984. Manganese and extrapyramidal disorders. *Neurotoxicology*, 5: 13-36.
- [71] Levine, M.M. and Kleeman, C.R., 1987. Hypercalcemia: pathophysiology and treatment. *Hosp pract* 22:73.
- [72] Brittenham, G., 2000. Disorders Of İron Metabolism: İron Deficiency And Overload. *Inhematology, Basic Principles And Practice 3 Nd Ed*. In: Hoffman R, Benz E, Shattil S, Furie B, Cohen H, Silberstein L, Mcglave P (Eds). New York Copyright © 2000 Churchill Livingstone, Pp.: 397-428.
- [73] Nairz, M. and Weiss, G., 2006. Molecular and clinical aspects of iron homeostasis: From anemiato hemochromatosis. *Wien Klin Wochenschr*, 118: 442-462.
- [74] Davies, S. and STEWART, A., 1995. Hastalanmadan yaşamak bizim elimizde. 3. Baskı. Remzi Kitapevi A.Ş., 350s, İstanbul.
- [75] Sallie, R., Chiyende, J. and Tan, K.C., 1994. Fulminant hepatic failure resulting from coexistent Wilson's disease and hepatitis E. *Gut* 1994; 35: 849-53.
- [76] Von Sonntag, C., 2006. Free-Radical-Induced DNA Damage and Its Repair. A Chemical Perspective. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.
- [77] Gilbert, D.L. and Colton, C. 2002. Reactive Oxygen Species in Biological Systems: An Interdisciplinary Approach. Kluwer Academic Publishers.

- [78] Burdon, Rh., 1994. Free radicals and cell proliferation. Free Radical Damage and ITS Control 28 nd Ed. In: Rice-Evans Ca, Burdon Rh (eds), pp.: 155–185.
- [79] Karihtala, P., Soini, Y., 2007. Reactive oxygen species and antioxidant mechanisms in human tissues and their relation to malignancies. APMIS, 115: 81-103.
- [80] Cadenas, E. and Davies, K.J., 2000. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. Free Radic Biol Med, 29: 222-230.
- [81] Halliwell, B., 1989. Tell me about free radicals, doctor: a review. J R Soc Med 82: 747-752.
- [82] Nasr, M.R., Ali, S., Shaker, M. and Elgabry, E., 2002. Antioxidant micronutrients in children with thalassaemia in Egypt. East Mediterr Health J., 8:490-495.
- [83] Chan, A.C., Chow, C.K. and Chiu, D., 1999. Interaction of antioxidants and their implication in genetic anemia. Proc Soc Exp Biol Med., 222:274-282. Review.
- [84] Ashour, M.N., Salem, S.I. and El-Gadban, H.M., 1999. Antioxidant status in children with protein-energy malnutrition (PEM) living in Cairo, Egypt. Eur J Clin Nutr, 53:669-673.
- [85] Lenter, C., 1981. Composition of the body. In Geigy Scientific tables I Ed. Ciba - Geigy Limited, Basle, 22.
- [86] Donaldson, J., McGregor, D. and LaBella, F., 1982. Manganese neurotoxicity; a model for free radical mediated neurodegeneration. Can J Physiol Pharmacol 60:1398- 1405.
- [87] Artington, J.D., 2002. Essential Trace Minerals for Grazing Cattle in Florida; AN 086 Animal Science Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida.
- [88] Harris, B., Adams, A.L. and Van Horn, H.H., 1994. Mineral Needs of Dairy Cattle; University of Florida, Florida Cooperative Extension Service Circular, 468, April.
- [89] McDowell, L.R., 1992. Minerals in Animal and Human Nutrition; ISBN: 0-12-483369-1 Academic Press, Inc. New York, USA.
- [90] Milne D.B., 1999. Trace elements. In Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3. edition. Ed. Carl A Burtis, Edward R. Ashwood, WB Saunders Company, Philadelphia, Pennsylvania, 1280.
- [91] Coudray, C., Rachidi, S. and Favier, A., 1993. Effect of Zinc on Superoxid Dependent Hydroxyl Radical Production in Vitro. Biol. Trace. Elem. Res., 38: 273-287.
- [92] Cuvin-Aralar, M.L.A., 1994. Survival and Heavy Metal Accumulation of Two Oreochromis niloticus (L.) Strains Exposed to Mixtures of Zinc, Cadmium and Mercury. The Science of the Total Environment, 148 (1): 31-38.
- [93] Aydemir, B., Kızıler, A.R., Onaran, I., 2006. Impact of Cu and Fe concentrations on oxidative damage in male infertility. Biol Trace Elem Res, 112:193-204.
- [94] Valko, M., Rhodes, C.j., Moncol, J., Izakovic, M. and Mazur, M., 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chem Biol Interact 160: 1-40.
- [95] Britton, R.S., 1996. Metal induced hepatotoxicity. Semin Liver Dis, 16: 3-12.
- [96] Toplan, S., Darıyerli, N., Özçelik, D. and Akyolcu, M.C., 2003. Effects Of Experimental Copper Application On Oxidant And antioxidant Systems. Cerrahpaşa J Med 34: 185-187.
- [97] Tator, C.H., 1996. Experimental and clinical studies of the pathophysiology and management of acute spinal cord injury. J Spinal Cord Med, 19: 206-214.

- [98] Young, W., Huang, P.P. and Kume-Kick, J., 1995. Cellular, ionic and biomolecular mechanisms of the injury process. In: Benzel EC, Tator CH (eds). Contemporary management of spinal cord injury. AANS, 27- 42.
- [99] Puniak, M.A., Freeman, G.M. and Agresta, C.A., 1991. Comparison of a serotonin antagonist, opioid antagonist and TRH analog for the acute treatment of experimental spinaltrauma. J Neurotrauma, 8: 193 - 203.
- [100] Kloner, R.A., Bolli, R., Marban, E., Reinlib, L. and Braunwald, E., 1998. Medical and cellularimplications of stunning, hibernation, and preconditioning: an NHLBI workshop. Circulation, 97(18):1848-67.
- [101] Kloner, R.A. and Jennings, R.B., 2001. Consequences of brief ischemia: stunning, preconditioning, and their clinical implications: part 1. Circulation. 104(24):2981-9.
- [102] Kloner, R.A. and Jennings, R.B., 2001. Consequences of brief ischemia: stunning, preconditioning and their clinical implications: part 2. Circulation., 104(25):3158-67.
- [103] Erdoğan, S., 2002. Çeşitli Bakliyat Ürünlerinde Bazı Metallerin (Cu, Mn, Zn, Fe) Spektroskopik Tekniklerle Analizleri, inonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisan Tezi, Malatya.
- [104] Zhou, C.Y.,Wong, M.K., Koh, L.L. and Wee, Y.C., 1996. Mikrowave Assisted Dilute Acid Extraction of Trace Metals From Biological Samples For Atomik Absorption Spektrometric Determination, Journal of Analytical Atomik Spcctrometry, 11, 585-590.
- [105] Sturgeon, M.E, Willie, S.N., Methven, B. A., Lam J.W.H., 1995. Continuous-Flow Microwave-Assisted Digestion of Environmental Samples Using Atomic Spektrometric Detection, Journal of Analytical Atomic Spektrometry, 10, 981-986.
- [106] Matusiewicz, H., 1994. Development of a High Pressure/Temperatura Focused Microwave Heated Teflon Bomb For Sample Preparation, Anal. Chem., 66, 751-755.68.
- [107] Jin, Q., Liong, F., Zhang, H., Zhao L., Huan Y. and Song D., 1999. Application of Microwave Technigues in Analytical Chemistry, Trends in Analytical Chemistry, 18,7,479-484.
- [108] Burguera, M. and Burguera, J.L, 1998. Microwave-Assisted Sample Decomosition in Flow Analysis, Analytica Chimica Acta, 366, 63-80.
- [109] Morales, A., Salvador A. and Guardia, M., 1903. Determination of Cd and Ni Rice Plants by Flame Atomic Absorption Spektrometry, Atomic Spektroskopy, January, February, 1411.
- [110] Schelkoph, G.M and Milne, D.B., 1988. Anal. Chcm., 60, 2060-2062.
- [111] Filgueiras, A., Carelo, J., Lavilla I. and Bndicho, C., 2000. Comparison of Ultrasound-Assisted Extraction and Microwave-Assisted Digestion For Determination of Magnesium, Manganese and Zinc in Plant, Samples by Flame Atomic Absorption Spektrometry Talanta, 53, 433-441.
- [112] Bermejo-Barrera, P., Moreda-Pineira, A., Muniz-Navairo O., Gomez-Femandez A.M. and Bermejo-Barrera A., 2000. Optimizasyon of a Microwave-Pseudo-Digestion Pracedure by Exprimental designs For The Determination of Trace Elements in Seafood products by Atomic Absorption Spektrometry, Spectrochimica Acta, 55, 1351-1371.
- [113] Mierzwa, J., Sun, Y.C., Chung, Y.T., Yang, M.H., 1998. Comparative Determination of Ba, Cu, Fe, Pb and Zn in Tea Leaves by Slurry Sampling Electrotthermal Atomic Absorsption and Liquid Sampling tnductively Cougled Plasma, Atomik Emission Spektrometry Talanta, 47, 1263-1270.

- [114] Masson, P., 1999. Matrix Effects During Trace Element Analysis in Plant Samples by Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry With Axial View Configuration and Pneumatic Nebulizer, *Spectrochimica Acta B*, 54, 603-612.
- [115] Zhou, C.Y., Wong, M.K., Koh, L.L. and Wee, Y.C., 1996. Mikrowave Asisted Dilute Acid Exraction of Trace Metals From Biological Sample For Atomik Absorpsion Spektrometric Determination, *Jurnal Of Anatical Atomic Spektrometry*, 11, 585-590.
- [116] Fassel, V.A. and Kniseley, R.N., 1974. *Anal. Chem.*, 46, 1155A.
- [117] Elwell, W.T., 1975. *Atomic Absorption Spectrophotometry*, Vol.6, 53. England.
- [118] Walsh, A., Shelton, J.P. and Russel, B.J., 1957, *Spectrochimica Acta*, B, 317.
- [119] Kuş, Ş., 1986. Atomik Absorbsiyon Spektroskopisi İlke Enstrümantasyon ve Teknik, *Spektroskopiki Kış Okulu*, D.3, Malatya.
- [120] Güçer, S., 1974. AAS'de tekli ve çoklu katot lambalarında gözlenen bazı interferenslerin incelenmesi ve giderilme çareleri. Doktora tezi, Bornova.
- [121] Halliwell, B. and Gutteridge, J.M., 1984. Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage, and antioxidant therapy. *Lancet*, 1: 1396-1397.
- [122] Freeman, B.A. and Crapo, J.D., 1982. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab Invest*, 47: 412-426.
- [123] Halliwell, B. and Whiteman, M., 2004. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: How should you do it and what do the results mean? *Br J Pharmacol*, 142: 231-255.
- [124] Scheibmeir, H.D., Christensen, K., Whitaker, S.H., Jegaethesan, J., Clancy, R., Pierce, J.D., 2005. A review of free radicals and antioxidants for critical care nurses. *Intensive Crit Care Nurs*, 21: 24-28.
- [125] Thomas, M.J., 1995. The role of free radicals and antioxidants: How do we know that they are working? *Crit Rev Food Sci Nutr*, 35, 21.
- [126] Brittenham, G., 2000. Disorders of iron metabolism: iron deficiency and overload. In *Hematology, Basic Principles And Practice 3 Nd Ed.* In: Hoffman R, Benz E, Shattil S, Furie B, Cohen H, Silberstein L, Mcglave P (eds). New York Copyright © 2000 Churchill Livingstone, pp.: 397-428
- [127] Delibaş, N., Doğru, H., Döner, F., Gedikli, O. and Tahan, V., 1996. Presbiakuzi ve Serbest Radikaller: K.B.B ve Bas Boyun Cerrahisi Dergisi, 4: 8-11.
- [128] Goldenberg, D.L., 1998. Fibromyalgia and related syndromes. In *Rheumatology*. Klippel J, Dieppe PA. Mosby, London, 4-15:1-12.
- [129] Eisinger, J., Zakarian, H., Pouly, E., Plantamura, A., Ayavou, T., 1996. Protein peroxidation, magnesium deficiency and fibromyalgia. *Magnes Res*, 9[4]: 313-6.
- [130] Prescott, E., Norrgard, J., Rotbol Pedersen L. and Danneskiold- Samsøe, B., 1992. Fibromyalgia and magnesia. *Scand J. Rheumatol* 21[5]:264.
- [131] Russell, J., Older, S., Seal, L.A. and Merrill, G.A., 2000. The role of zinc in fibromyalgia in pain. A pilot study. *ACR. Meeting Philadelphia*, 213-213 cilt:43 sayı:9.
- [132] Bağıs, S., Tamer, L., Sahin, G., Biçer, A., Karabiber and M., Erdoğan, C., 2003. Fibromyaljili Hastalarda Eser Element Düzeyleri :T KLİN Ftr, 3:19-22
- [133] Faure, P. et al. 1991. Effect of an acute zinc depletion on rat lipoproteine and peroxidation. *Biol. Trace Elem. Res.* 28: 135–146.
- [134] Orrenius, S., McCabe, M.J. and Nicotera, P., 1992. Ca²⁺ dependent mechanisms of cytotoxicity and programmed cell death. *Toxicol Lett*, 64-65, 357-364.
- [135] Oyajobi, B.O., 2007. Multiple myeloma/hypercalcemia. *Arthritis Res Ther*, 9 (1): 1-6.

- [136] Berridge, M.J., Bootman, M.D. and Roderick, H.L., 2003. Calcium signalling: dynamics, homeostasis and remodelling. *Nat Rev Mol Cell Bio*, 4, 517-529.
- [137] Çiftçi, H., Özkaya, A., Dayangaç, A., Ölçücü, A., Çelik, S., Şahin, Z. and Ateş, S., 2009. DMBA İle İndüklenmiş Kobayların Beyin Dokusundaki Bazı Elementler Üzerine Alfa Lipoik Asidin Etkisi , *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Dergisi*, 15 (4): 569-573.

ÖZGEÇMİŞ

03.04.1975 yılında Kars'ta doğdum. İlköğretimimi Kiremithane İlköğretim Okulunda tamamladım. Lise eğitimimi Sunar Nuri Çomu Lisesinde tamamladım. Lisans eğitimime 1994 yılında Yüzüncüyıl Üniversitesi Eğitim Fakültesi Kimya Bölümünde başladım ve 1998 yılında tamamladım. 1999 yılında Fırat Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Analitik Anabilim dalında yüksek lisansıma başladım. Yüksek lisans eğitimimi 2001 yılında bitirdim ve aynı yıl doktora eğitimime başladım. Halen Adana'da öğretmen olarak çalışmaktayım.