



T.C.  
Uludağ Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü

EKMEK VE BAZI UNLU MAMULLERDE HG-  
AAS İLE SELENYUM ANALİZİ VE  
KARŞILAŞILAN ANALİTİK PROBLEMLER

Muazzez ERSOY

Yüksek Lisans Tezi

EKMEK VE BAZI UNLU MAMULLERDE HG-  
AAS İLE SELENYUM ANALİZİ VE  
KARŞILAŞILAN ANALİTİK PROBLEMLER

Muazzez ERSOY



T.C.  
Uludağ Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü

EKMEK VE BAZI UNLU MAMULLERDE HG-  
AAS İLE SELENYUM ANALİZİ VE  
KARŞILAŞILAN ANALİTİK PROBLEMLER

Muazzez ERSOY

Yüksek Lisans Tezi

EKMEK VE BAZI UNLU MAMULLERDE HG-  
AAS İLE SELENYUM ANALİZİ VE  
KARŞILAŞILAN ANALİTİK PROBLEMLER

Muazzez ERSOY



T.C.

**ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**EKMEK VE BAZI UNLU MAMULLERDE HG-AAS İLE SELENYUM ANALİZİ  
VE KARŞILAŞILAN ANALİTİK PROBLEMLER**

**Muazzez ERSOY**

**DOÇ. DR. BELGİN İZGİ**

**(DANIŞMAN)**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**KİMYA ANABİLİM DALI**

**BURSA 2012**

**HER HAKKI SAKLIDIR**

**TEZ ONAYI** Muazzez ERSOY tarafından hazırlanan “EKMEK VE BAZI UNLU MAMULLERDE HG-AAS İLE SELENYUM ANALİZİ VE KARŞILAŞILAN ANALİTİK PROBLEMLER” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**Danışman :** (Doç. Dr, Belgin İZGİ)

|                 |  |      |
|-----------------|--|------|
| <b>Başkan :</b> | Unvanı, Adı ve Soyadı<br>..Ü.....Fakültesi,<br>.....Anabilim Dalı  | İmza |
| <b>Üye :</b>    | Unvanı, Adı ve Soyadı<br>..Ü. ....Fakültesi,<br>.....Anabilim Dalı | İmza |
| <b>Üye :</b>    | Unvanı, Adı ve Soyadı<br>..Ü. ....Fakültesi,<br>.....Anabilim Dalı | İmza |
| <b>Üye :</b>    | Unvanı, Adı ve Soyadı<br>..Ü. ....Fakültesi,<br>.....Anabilim Dalı | İmza |
| <b>Üye :</b>    | Unvanı, Adı ve Soyadı<br>..Ü. ....Fakültesi,<br>.....Anabilim Dalı | İmza |

**Yukarıdaki sonucu onaylarım**  
**Prof. Dr. Kadri Arslan**  
**Enstitü Müdürü**  
**.././....(Tarih)**

**U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;**

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
  - görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
  - başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
  - atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
  - kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
  - ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı
- beyan ederim.**

.././....

**İmza Ad ve Soyadı**

**Muazzez ERSOY**

## ÖZET

### YÜKSEK LİSANS TEZİ

#### EKMEK VE BAZI UNLU MAMULLERDE HG-AAS İLE SELENYUM ANALİZİ VE KARŞILAŞILAN ANALİTİK PROBLEMLER

Muazzez ERSOY

Uludağ Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

KİMYA Anabilim Dalı

**Danışman:** Doç. Dr. Belgin İZGİ

Bu çalışmada, hidrür oluşturmali atomik absorpsiyon spektrometrisi (HGAAS) ile ekmek ve unlu mamullerde selenyum tayini yapılmıştır. Homojen hale getirilen numuneler açık sistem ve mikrodalga sistem çözünürleştirme ile hazırlanmıştır. Uygun çözünürleştirme yöntemi olarak mikrodalga sistem belirlendikten sonra HCl derişimi, NaBH<sub>4</sub> derişimi ve taşıyıcı gazın akış hızı vb. değişkenlerin en uygun değerleri deneysel olarak saptanmıştır. Ekmek ve unlu mamullerde bulunabilecek elementler ile HGAAS’de tayin edilebilen elementlerin girişim etkileri de incelenmiştir. HGAAS için gözlenebilme sınırı (LOD) ve gözlenebilme miktarı (LOQ) sırasıyla; 0,53 µg/mL, 1,78 µg/mL olarak tespit edildi. Yöntemin doğruluğunun kontrolü için standart referans madde olarak 1567a wheat flour kullanıldı. HGAAS ile yapılan analizlerde selenyum kepekli ekmek çeşitlerinde 0,50-2,10 µg/g, beyaz ekmek çeşitlerinde 0,10-1,25 µg/g, çavdar ekmek çeşitlerinde 0,15-1,45 µg/g, farklı un çeşitlerinde 0,30-1,35 µg/g, mayalarda 0,1-0,6 µg/g, simitte 0,20 µg/g ve açmada 1,84 µg/g olarak tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Selenyum, ekmek, unlu mamuller, hidrür oluşturmali atomik absorpsiyon spektroskopisi

2012, x+61 sayfa



## ABSTRACT

MSc Thesis

### DETERMINATION OF SELENIUM IN BREAD AND SOME BAKERY PRODUCT BY HG-AAS and ANALYTICAL PROBLEMS

Muazzez ERSOY

Uludag University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Chemistry

**Supervisor:** Doç. Dr Belgin İZGİ

A method has been developed for the determination of selenium in bread and flour products using hydride generation atomic absorption spectrometry (HGAAS). Homogenized samples are prepared by open and microwave wet digestion system. Microwave digestion has been chosen for appropriate wet-digestion procedure. Optimum values of the variables such as HCl and NaBH<sub>4</sub> concentration, flow rate of the carrier gas were determined experimentally. The interfering effects of the elements which is possibly present in bread and flour products and the elements which could be determined by HGAAS were investigated. Limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) were also determined for HGAAS as 0.53 µg mL<sup>-1</sup>, 1.78 µg mL<sup>-1</sup>, inrespectively. Standard reference materials such as 1567a wheat flour was used to control methods. Selenium concentrations are found 0.50-2.10 µg g<sup>-1</sup> in whole wheat bread, 0.10-1.25 µg g<sup>-1</sup> in white bread, 0.15-1.45 µg g<sup>-1</sup> in rye bread, 0.30-1.35 µg g<sup>-1</sup> in different flours, 0.1-0.6 µg g<sup>-1</sup> in yeast, 0.20 µg g<sup>-1</sup> in simit (ring-shaped bread with sesame ) and 1.84 µg g<sup>-1</sup> in acma (savory pastry).

**Key Words:** Selenium, bread, flour products, hydride generation atomic absorption spectrometry

2012, x+ 61 pages

## ÖNSÖZ

Tez danışmanlığımı üstlenen ve bana bu konuda çalışma fırsatı sağlayan, çalışmalarım sırasında her türlü maddi manevi desteğini esirgemeyen değerli danışmanım sayın Doç. Dr. Belgin İZGİ'ye sonsuz saygı ve en içten teşekkürlerimi sunarım. Çalışmalarımızda destek ve yardımlarını esirgemeyen sayın hocam Prof. Dr. Şeref GÜÇER'e teşekkürlerimi sunarım.

“Beslenme Zincirinde Önemli Bir Yeri Olan Ekmek ve Benzeri Mamullerde Selenyum Düzeyinin Belirlenmesi (U.Ü BAP 2010/25)” başlıklı tez projesi ile tezimizi maddi olarak destekleyen Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine teşekkürlerimi sunarım. Çalışmalarımız sırasında hizmet alımı şeklinde mikrodalga sistem numune çözünürleştirme ve ICP-MS analizlerini gerçekleştirdiğimiz Bursa Gıda Kontrol ve Merkez Araştırma Enstitüsüne teşekkürlerimi sunarım.

Sürekli ilgi ve desteklerini esirgemeyen aileme teşekkür ederim.

Adı Soyadı

.../.../...

## İÇİNDEKİLER

|  |     |
|--|-----|
| ÖZET   | i   |
| ABSTRACT   | ii  |
| ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR  | iii |
| SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ                                  | vii |
| ŞEKİLLER DİZİNİ  | ix  |
| ÇİZELGELER DİZİNİ  | x   |
| 1. GİRİŞ   | 1   |
| 2. KURAMSAL TEMELLER   | 2   |
| 2.1. Selenyumun Özellikleri                                  | 2   |
| 2.2. Selenyumun Önemi ve Vücuttaki Fonksiyonları             | 3   |
| 2.3. Selenyum Kaynakları ve Alımı                            | 3   |
| 2.4. Selenyum Eksikliği ve Toksisitesi                       | 5   |
| 2.5. Ekmek ve Unlu Mamullerde Selenyumun Önemi               | 6   |
| 2.6.Selenyum Tayininde Kullanılan Metotlar                   | 7   |
| 2.6.1. Temel Bilgiler  | 7   |
| 2.6.1.1. Atomik Absorpsiyon Spektrometresi                   | 7   |
| 2.6.1.2.Hidrür Oluşturmalı Atomik Absorpsiyon Spektrometresi | 12  |
| 2.6.1.3. ICP (indüktif eşleşmiş plazma)                      | 12  |
| 2.6.1.4. Girişimler  | 14  |
| 2.6.1.5. Diğer Yöntemler                                     | 15  |
| 2.6.1.5.1. Kromatografik metotlar                            | 15  |

|  |    |
|--|----|
| 2.6.1.5.2. Elektrokimyasal yöntemler                       | 16 |
| 2.6.1.5.3. Nükleer analitik yöntemler                      | 16 |
| 3.MATERYAL ve YÖNTEM                                       | 18 |
| 3.1. Materyal  | 18 |
| 3.1.1. Kullanılan Cihaz ve Malzemeler                      | 18 |
| 3.1.1.1. Atomik Absorpsiyon Spektrometresi                 | 18 |
| 3.1.1.2. ICP-MS  | 19 |
| 3.1.1.3. Mikrodalga Çözünürleştirme Sistemi                | 19 |
| 3.1.1.4. Analitik Terazî                                   | 19 |
| 3.1.1.5. Etüv  | 19 |
| 3.1.1.6. Ultrasonik Su Banyosu                             | 19 |
| 3.1.1.7. Mikropipetler                                     | 20 |
| 3.1.1.8. Ekmek Makinası                                    | 20 |
| 3.1.2. Reaktifler, Çözeltiler ve Hazırlanmaları            | 20 |
| 3.1.2.1. Hidrür Sisteminde Kullanılan Çözeltiler           | 20 |
| 3.1.2.2. Stok Çözeltiler                                   | 21 |
| 3.1.2.3. Kalibrasyon Çözeltileri                           | 23 |
| 3.1.2.4. Standart Referans Maddeler(SRM)                   | 23 |
| 3.1.2.5. Temizleme Çözeltileri                             | 23 |
| 3.1.2.6. Kullanılan Örnekler                               | 23 |
| 3.2. Yöntem  | 24 |
| 3.2.1. Hidrür Oluşturmalı AAS işlemleri                    | 24 |
| 3.2.1.1. Örnek Hazırlamada En Uygun Şartların Belirlenmesi | 24 |
| 3.2.1.1.1. Reaktiflerin En uygun çalışma koşulları         | 26 |
| 3.2.1.1.2. Havuz Numunesinin En uygun çalışma koşulları    | 26 |

|   |    |
|---|----|
| 3.2.1.1.3. Numune Kaynatılma Sürelerinin En uygun çalışma koşulları             | 26 |
| 3.2.1.1.4. Numuneler Eklenen HCl Derişiminin En uygun çalışma koşulları         | 27 |
| 3.2.1.2. Hidrür Sistemi ile Analiz için en uygun koşullarının belirlenmesi      | 28 |
| 3.2.1.2.1. NaBH <sub>4</sub> Derişiminin incelenmesi                            | 29 |
| 3.2.1.2.2. HCl Derişiminin Belirlenmesi   | 31 |
| 3.2.1.2.3. Azot Gazı Akış Hızının Belirlenmesi                                  | 32 |
| 3.2.1.2.4. Pompa Hızının Belirlenmesi   | 34 |
| 3.2.1.2.5. Ölçüm Süresinin Belirlenmesi   | 35 |
| 3.2.1.2.6. Ölçüm hücreğine ulaşma süresi (measurement delay) Belirlenmesi       | 36 |
| 3.2.1.3. HG AAS ile Selenyum Tayininde Girişim Etkilerinin İncelenmesi          | 37 |
| 3.2.1.3.1. Girişim Etkileri   | 37 |
| 3.2.1.3.1.1. Numune bileşenlerinin etkisi                                       | 37 |
| 3.2.1.3.1.2. Kullanılan asit etkileri   | 39 |
| 3.2.1.4. Belirlenen en uygun çalışma koşullarında HGAAS ile Selenyum Analizleri | 42 |
| 3.2.2. ICP-MS ile Element analizleri  | 45 |
| 3.3. Tartışma ve Sonuç  | 47 |
| KAYNAKLAR   | 50 |
| ÖZGEÇMİŞ  | 52 |



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

| <b>Simgeler</b>      | <b>Açıklama</b>            |
|----------------------|----------------------------|
| %.....               | Yüzde                      |
| °C.....              | Santigrat derece           |
| $\nu$ .....          | Işık frekansı              |
| $\lambda$ .....      | Dalga boyu                 |
| E.....               | Enerji                     |
| K.....               | Kelvin                     |
| kW.....              | Kilowatt                   |
| MHz.....             | Megahertz                  |
| D <sub>2</sub> ..... | Döteryum                   |
| g.....               | Gram                       |
| mg.....              | Miligram                   |
| ng.....              | Nanogram                   |
| L.....               | Litre                      |
| mL.....              | Mililitre                  |
| $\mu$ L.....         | Mikrolitre                 |
| mm.....              | Milimetre                  |
| $\mu$ m.....         | Mikrometre                 |
| mmHg.....            | Milimetre cıva             |
| ppm.....             | Part per million           |
| ppb.....             | Part per billion           |
| M.....               | Molar                      |
| %RSD.....            | Yüzde bağıl standart sapma |

| <b>Kısaltmalar</b> | <b>Açıklama</b>   |
|--------------------|---|
| AAS.....           | Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi                       |
| FAAS.....          | Alevli Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi                |
| GFAAS.....         | Grafit Fırın Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi          |
| HGAAS.....         | Hidrür Oluşturmalı Atomik Absorpsiyon<br>Spektroskopisi |
| ICP.....           | İndüktif Eşleşmiş Plazma                                |
| MS.....            | Kütle Spektrometresi                                    |
| OKL.....           | Oyuk Katot Lambası                                      |
| GSH-Px.....        | Glutatin Peroksidaz Enzimi                              |
| NAA.....           | Nükleer Analitik Analizler                              |
| HPLC.....          | Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi                 |
| Abs.....           | Absorbans   |



## ŞEKİLLER DİZİNİ

|   | Sayfa |
|---|-------|
| Şekil 2.1. Atomik Absorpsiyon Spektrometresinin Genel Şekli.....                              | 9     |
| Şekil 2.2. Oyuk Katot Lambasının Şematik Görünümü.....  | 10    |
| Şekil 2.3. Standart katma eğrisinden örnekteki tayin elementi derişiminin (Cx) bulunması..... | 15    |
| Şekil 3.1. Hidrür Oluşturmalı Atomik Absorpsiyon Spektrometresi.....                          | 18    |
| Şekil 3.2. Etüvde Kurutulan Ekmek Numuneleri.....   | 24    |
| Şekil 3.3. Selenyumun standardının en uygun kaynatılma süresi.....                            | 27    |
| Şekil 3.4. HCl Derişiminin Se Absorbansına Etkisi.....  | 28    |
| Şekil 3.5. NaOH ve NaBH <sub>4</sub> derişiminin Se absorbansına etkisi.....                  | 30    |
| Şekil 3.6. HCl derişiminin Se absorbansına etkisi.....  | 32    |
| Şekil 3.7. Azot gazının akış hızının Se absorbansına etkisi.....                              | 33    |
| Şekil 3.8. Pompa hızının Se absorbansına etkisi.....  | 34    |
| Şekil 3.9. Ölçüm süresinin Se absorbansına etkisi.....  | 35    |
| Şekil 3.10. Ölçüm hücreğine ulaşma süresinin Se absorbansına etkisi.....                      | 36    |
| Şekil 3.11. Na, K, Ca derişiminin Se absorbansına etkisi.....                                 | 38    |
| Şekil 3.12. Zn, Mn derişiminin Se absorbansına etkisi.....                                    | 38    |
| Şekil 3.13. Mg derişiminin Se absorbansına etkisi.....  | 39    |
| Şekil 3.14. Cl <sup>-</sup> anyonunun girişim etkisi.....                                     | 39    |
| Şekil 3.15. Nitrat (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ) anyonunun girişim etkisi.....              | 40    |
| Şekil 3.16. Karbonat (CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> ) anyonunun girişim etkisi.....           | 40    |
| Şekil 3.17. Sülfat (SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> ) anyonunun girişim etkisi.....             | 41    |
| Şekil 3.18. H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> girişim etkisi.....                                 | 41    |
| Şekil 3.19. Askorbik asidin girişim etkisi.....   | 42    |
| Şekil 3.20. Selenyum kalibrasyon grafiğı.....   | 43    |

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

|   |    |
|---|----|
| Çizelge 2.1. Selenyumun Önemli Bazı Gıda Kaynakları.....  | 4  |
| Çizelge 2.2. Ülkelere Göre Ekmek ile Alınan Selenyum Miktarları.....  | 6  |
| Çizelge 3.1. Uygulanan Mikrodalga Fırın Çözme Yöntemi.....  | 25 |
| Çizelge 3.2. HCl derişiminin Se absorbansına etkisi.....  | 27 |
| Çizelge 3.3. NaOH ve NaBH <sub>4</sub> 'ün Selenyum absorbansına etkisi.....                                  | 30 |
| Çizelge 3.4. HCl derişiminin Se absorbansına etkisi.....  | 31 |
| Çizelge 3.5. Azot gazının akış hızının Se absorbansına etkisi.....  | 33 |
| Çizelge 3.6. Pompa hızının Se absorbansına etkisi.....  | 34 |
| Çizelge 3.7. Ölçüm süresinin Se absorbansına etkisi.....  | 35 |
| Çizelge 3.8. Ölçüm hücresine ulaşma süresinin Se absorbansına etkisi.....                                     | 36 |
| Çizelge 3.9. ICP-MS ile belirlenen en az ve en yüksek element miktarları.....                                 | 37 |
| Çizelge 3.10. FAAS ile Belirlenen En Az ve En Yüksek Element Miktarları.....                                  | 37 |
| Çizelge 3.11. HGAAS ile Ekmekte Se Analiz Sonuçları.....  | 43 |
| Çizelge 3.12. HGAAS ile Un ve Referans Maddelerde Se Analiz Sonuçları.....                                    | 44 |
| Çizelge 3.13. Evde Yapılan Ekmeklerde Se Analiz Sonuçları.....  | 44 |
| Çizelge 3.14. ICP-MS için Aletsel Değişkenler.....  | 45 |
| Çizelge 3.15. Ekmek ve Unlu Mamullerde ICP-MS ile Yapılan Bazı Elementlerin Analiz Sonuçları.....             | 46 |
| Çizelge 3.16. Farklı ülkelerde çeşitli yöntemler ile yapılan selenyum analiz sonuçları karşılaştırılması..... | 48 |

## 1.GİRİŞ

Selenyum; insanlar ve hayvanlar için önemli bir role sahip eser elementlerden biridir (Smrkolj ve Stibilj 2004). Enzim sistemlerindeki görevi, çeşitli kanser türlerini önlemedeki rolü ve bazı ağır metallerin zararını indirgemedeki fonksiyonlarının bilinmesi bu element hakkında yapılan çalışmalara ilginin artmasını sağlamaktadır (İzgi ve ark. 2006).

Ekmek ve benzeri ürünler, besin zincirinin önemli bir basamağını oluşturmakla birlikte ülkemizde sıklıkla tüketilen gıdalar arasındadır. Sağlıklı bireylerin yetişebilmesi, besin zincirinde yer alan gruplarda selenyum tayinine yönelik çalışmaları gerektirmektedir (Demirözüt ve ark. 2002). Bu elementin gıdalardaki derişimi, topraktan bitkiye kadar gerçekleşen aktarım süreçlerine bağılı olarak gerçekleşmektedir. Yararlı ve zararlı düzeyleri arasındaki farkın çok küçük olması bu türlerde kesinliğı iyi analizlerin yapılmasındaki önemi göstermektedir (Oliveira ve ark. 2005).

Çalışmanın amacı; pazarımızdan tüketilen ekmek ve bazı unlu mamullerde selenyum düzeylerinin doğru ve güvenilir bir şekilde saptanmasıdır. Bu sayede halk sağlığı açısından selenyum düzeylerinin belirlenmesi önem arz etmektedir. Doğru ve güvenilir sonuçların sağlanması için yöntemin validasyonu ve olası girişimleri azaltılması için gerekli optimizasyonların yapılması gerçekleştirilmektedir.

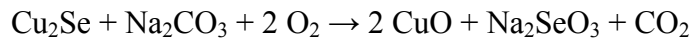
## 2. KURAMSAL TEMELLER

### 2.1. Selenyumun Özellikleri

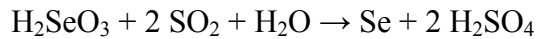
Selenyum (Se) 1817 yılında Jons Jacob Berzelius bulmuştur. Bakır piritlerinin ateşe tutulmasıyla kırmızı tozlar oluştuğunu görerek bunu yeni bir element olan Yunanca ay anlamına gelen selene olarak isimlendirmiştir (Tinggi 2003). Bu elementin birincil kaynağı olarak volkanik patlamalar ve buna bağlı olarak oluşan metalik sülfürler, ikincil kaynağı olarak ise biyolojik atıkların uzun süreli birikimiyle olduğu bilinmektedir (İzgi 2001).

Atom numarası 34, atomik kütlesi 78,96 g/mol olan selenyum periyodik tablonun VIA grubunda yer alır. Oda koşullarında katı, gri renkte olup erime sıcaklığı 221°C, kaynama sıcaklığı 685°C'dir. Doğada genellikle inorganik formda sodyum selenit olarak, gıda türevlerinde ise organik formu olan selenometionin olarak bulunmaktadır (Win 2003).

Endüstriyel olarak selenyum üretimi, bakırın saflaştırılması esnasında oluşan kalıntıların ekstraksiyonu ile olmaktadır. Bakır selenyum mineralinin sodyum karbonat varlığında oksidasyonu sonucunda Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> bileşiği elde edilir.



Bu elde edilen bileşiğin sülfürik asit ile asitlendirilmesi sonucunda H<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> oluşur. H<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>'ün SO<sub>2</sub> ile reaksiyonu sonucunda Se elde edilir.



Ayrıca suda çözünen selen bileşiklerinin indirgenmesi ile elde edilir (Lim ve Goh 2005) . Selenyum; yarı iletkenlerin üretiminde, fotoelektrik hücrelerde, plastiklerde, kızıl ötesi optik maddelerde, cam ve seramik endüstrisinde, ısıya dayanıklı madde üretiminde, boya ve mürekkep endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Lim ve Goh 2005).

## **2.2. Selenyumun Önemi ve Vücuttaki Fonksiyonları**

İnsan sağlığına etkisi önemli olan selenyum, selenoproteinlerin parçası olarak yapısal ve enzimatik fonksiyonlarda rol almakta, tiroid hormonunun üretiminde antioksidan ve katalizör olarak görev almaktadır. Ayrıca bağışıklık sistemi için de koruyucu etkiye sahiptir. İnsan için selenyumun önemi, glutatin peroksidaz enzimi (GSH-Px)'in yapısında yer almasıdır. Ayrıca farklı enzimlerin etkinlikleri için de önemli olabilmektedir. Bundan dolayı vücut dokularını yükseltgen maddelere karşı korur. Doymamış yağ asitlerinin yükseltgenmesi ile oluşan peroksitleri suya dönüştürerek, hücreye zarar veren serbest radikalleri yok eder. Bu özelliği ile kuvvetli antioksidan olduğu bildirilmektedir (Rayman 2000, Şimşek ve ark. 2004).

Alyuvar GSH-Px'in enzimi dört selenyum atomu içeren selenoproteindir. Selenyumun sürekli eksikliğinde GSH-Px etkinliğinde bir azalma gözlenir. Alyuvarlardaki GSH-Px, hemoglobinin çökmesi ve hücre zarlarının peroksidasyonunu önler. Çoğu besinler, fizyolojik, patolojik ve çevresel etkenler GSH-Px'in önemli etkinliğinde artma ya da azalmaya yol açar (Lauchli 1993, Obrian 2003).

## **2.3. Selenyum Kaynakları ve Alımı**

Yapılan çalışmalar, beslenme ile alınan günlük Se miktarının önemli olduğunu göstermektedir. Tüketilen gıdalar Se bakımından fakir ise zamanla insanlarda Se eksikliği baş göstermektedir (Murphy ve Cashman 2001, Finley 2005). Bitkisel kaynaklı

gıdalardaki Se miktarı, yetiştiği toprağa göre farklıdır. Dolayısıyla farklı bölgelerde Se alınımı da değişmektedir. Bitkilerin topraktan Se alımı toprakların içeriği, redoks potansiyeli, pH'ı, organik madde ve demir oksit/hidroksit içeriği ve selenyumla rekabet eden diğer iyonların derişimi gibi faktörler tarafından da etkilenir (Srnkolj ve Stibilj 2004). Selenyum topraklarda çoğunlukla selenat ( $\text{SeO}_4^{-2}$ ), selenit ( $\text{SeO}_3^{-2}$ ) ve selenid ( $\text{Se}^{-2}$ ) formlarında bulunur. Oksidasyon düzeyi ve toprak pH'ı arttıkça Se bitkiler tarafından daha kolay alınabilir. Toprakların pH'ı düştükçe bitkilerin topraktan Se alımı zorlaşır (Ellis ve Salt 2003).

Se'un protein yapısına katılmasından dolayı protein miktarı yüksek olan gıdalar genellikle Se bakımından zengindirler. Genellikle kırmızı et, balık, deniz ürünleri, selenyum açısından süt ürünlerine göre daha zengin gıdalardır (Şimşek ve ark. 2004, Pappa 2006).

**Çizelge 2.1.** Selenyum içerebilen bazı gıda kaynakları (Pappa ve ark. 2006)

| Gıda        | Se ( $\mu\text{g}/\text{gün-kışı başına}$ ) |
|-------------|---|
| Ekmek       | 10,5  |
| Balık       | 8,2   |
| Et          | 7,5   |
| Peynir      | 3,0   |
| Baklagiller | 2,6   |
| Süt         | 2,2   |
| Yumurta     | 1,6   |
| Yoğurt      | 0,6   |
| Meyve       | 0,6   |
| Sebze       | 0,4   |
| Fındık      | 0,1   |

## 2.4. Selenyum Eksikliği ve Toksikitesi

İnsan ve hayvanlarda selenyumca zayıf besinlerin tüketilmesi zamanla önemli sorunlara yol açabilmektedir. Selenyumun gıdalardaki yararlı ve toksik miktarları arasındaki fark oldukça azdır (Klapec 2003, Navarro 2008).

Yetişkin kadın ve erkekler için sırasıyla 60 ve 75 µg/gün düzeyinde selenyum alımı güvenli ve yeterli kabul edilmektedir. ABD’de önerilen günlük selenyum alım düzeyleri kadın ve erkekler için 55 µg/gün’dür. Gebelikte 60 µg /gün, laktasyon döneminde ise 70 µg/gün önerilmektedir. Selenyum alım seviyesi 400 µg/gün üzerinde olduğunda metabolizma tarafından tedbir alınmaz ve çeşitli problemler oluşabilir (Stabnikova 2007).

Selenyumun düşük seviyelerde alınması metabolik rahatsızlıkların oluşumuna yol açabilir (Foster ve Sumar, 1997). Düşük selenyum seviyesi; hipertansiyon, kısırlık, kistik fibrosis, eklem iltihabı, kas bozuklukları, viral enfeksiyonlara karşı hassasiyet, kardiyovasküler hastalıklar, tiroid fonksiyonu bozukluğu (guatr), depresyon ve kanser (özellikle kolon, prostat, akciğer ve diğer kanser türleri) gibi hastalıklarla ilişkilendirilmektedir. Son yıllarda Se savunma sistemi üzerinde ve HIV virüsünün (AIDS) etkilerinin azaltılması yönünde de kullanılabileceği düşünülmektedir. HIV virüsü hastalarında 200 µg Se’un günlük diyet içerisinde kullanımının olumlu sonuçlar verdiği gözlenmiştir. Hayvanlarda ise selenyum eksikliğinden dolayı beyaz kas hastalığı, iskelet bozuklukları, sığırlarda karaciğer dokularında yıkım (nekroz ) ve yavrularda da ölümler meydana geldiği bildirilmektedir (Kishchak 1998, Rayman 2000, Win 2003).

Selenyumun günlük belirtilen dozdan fazla alınması durumunda ise insanlarda deri, saç ve tırnak dokularında şekil bozuklukları ve kayıplarına, diş çürümelerine, gastrointestinal ve nörolojik rahatsızlıklar, baş ağrısı ve mide bulantısı gibi yan etkilere yol açabilmektedir.

Ağız yolu ile doğrudan alınan asidik selenyum (selenöz asit), sersemlik hissi verir, tansiyonu düşürür, solunumu yavaşlatır ve sonuçta ölüme neden olur (Reilly 1996, Tinggi 2003).

## 2.5. Ekmek ve Unlu Mamullerde Selenyumun Önemi

Selenometioninler protein yapısına girdiğinden, protein içeriği düşük olan meyveler ve çoğu sebzeler selenyum derişimi yönünden zayıfken tahıl ürünleri sebzelere ve meyvelere göre daha yüksek miktarda selenyum içermektedir.

Buğday ve buğday ürünleri insanların günlük Se alımının büyük bir bölümünü tek başına karşılamaktadır. Literatür tarama çalışmaları, buğdayın yaygın tahıl ürünleri (buğday, çeltik, mısır arpa, yulaf) arasında en etkili Se biriktiricisi (akümülatörü) olduğunu göstermiştir (Lyons ve ark. 2003). Türkiye geneline bakıldığında, tahıl ve tahıl ürünlerinin tüketimi beslenme diyetinin ilk sırasında yer almaktadır. Yetişkin bir insanın günlük enerjisinin yaklaşık %44'ü ekmek ve diğer tahıl ürünlerinden sağlanmaktadır (Pekcan, 2006).

Ekmek ve benzeri ürünlerde selenyum içeriğinin belirlenmesine yönelik birçok çalışma mevcut olmasına rağmen ülkemizde buna yönelik fazla araştırma mevcut değildir.

**Çizelge 2.2.** Ülkelere göre ekmek ile alınan selenyum miktarları

| Ülke        | Ekmekteki Se ( $\mu\text{g}/100\text{g}$ ) | Kaynak                |
|-------------|--|-----------------------|
| İrlanda     | 6,6-8,6                                    | Murphy ve ark., 2001  |
| Yunanistan  | 7,39-13,8                                  | Pappa ve ark., 2006   |
| Amerika     | 28   | Morris ve ark., 1970  |
| Hırvatistan | 4,57                                       | Klapec ve ark., 2004  |
| Türkiye     | 5,2  | Aras ve ark., 2000    |
| Mısır       | 1,4-15,2                                   | Hussein ve ark., 1998 |



## 2.6. Selenyum Tayininde Kullanılan Metodlar

### 2.6.1. Temel Bilgiler

#### 2.6.1.1. Atomik absorpsiyon spektroskopisi (AAS)

Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi, ışığın gaz halindeki atomlar tarafından absorpsiyonunun ölçülmesine dayanır ve günümüzde 70' in üzerindeki elementin duyarlı olarak tayinini sağlar. Temel ilkeleri 19. yy'dan bu yana bilinmesine rağmen günlük ve rutin çalışmalara uygulanabilmesi 1955 yılında Walsh ve Alkemade'nin çalışmaları sonucunda gerçekleştirilebilmiştir. Grafit Fırınlı Atomik Absorpsiyon ölçümleri ise L'vov ve Massmann'ın çalışmaları ile başlamıştır. Spektroskopik teknikler diğer tekniklere nazaran ucuz, kullanılması kolay ve hızlı tekniklerdir. Bu nedenle, spektroskopi alanında FAAS, GFAAS, HGAAS, ICP ve ICP-MS teknikleri yaygın olarak kullanılmaktadır (Gündüz 2001).

Kuantum teorisi ilk olarak, ısıtılan isimlerden yayılan ışın özelliklerini açıklamak için 1900'da Alman fizikçisi Max Planck tarafından önerildi. Bu teori, daha sonra diğer tip emisyon ve absorpsiyon süreçlerini açıklamak için genişletildi. Kuantum teorisinin iki önemli kuralı:

1. Atomlar, iyonlar veya moleküller, ancak belli enerjiye sahip belli kesikli hallerde bulunabilir. Bir tur bu halini değiştirdiğinde, iki enerji hali arasındaki enerji farkına tam olarak eşit enerjiyi absorplar veya yayar.
2. Atomlar, iyonlar veya moleküller bir enerji halinden ikinci bir hale geçişi sağlamak üzere ışın absorplar veya yayarsa, bu ışını frekansı ( $\nu$ ) veya dalga boyu ( $\lambda$ ), bu iki hal arasındaki enerji farkıyla aşağıdaki şekilde ilişkilidir.

$$E_i - E_o = h \nu = h.(c/\lambda) \quad (2.1)$$

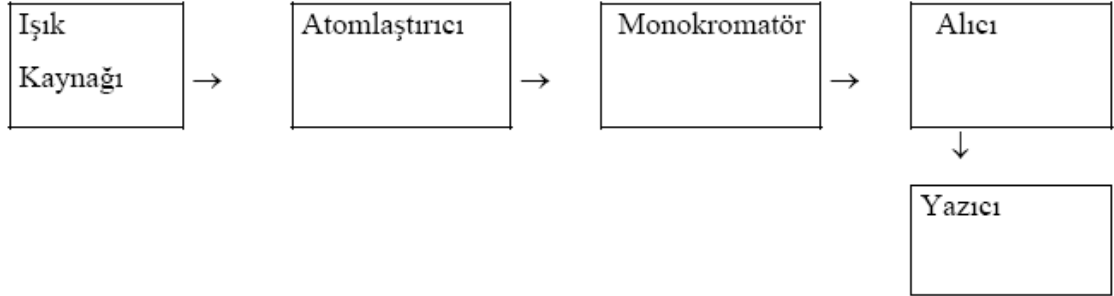
Burada  $E_1$ , daha yüksek enerji halinin,  $E_o$  ise düşük enerji halinin enerjisidir.  $c$  ve  $h$  ise, sırasıyla ışık hızı ve Planck sabitidir. Element halindeki atom veya iyonlar için belli bir halin enerjisi, artı yüklü çekirdek etrafında dönen elektronların hareketinden kaynaklanır. Bunun sonucu olarak, çeşitli enerji halleri, elektronik haller olarak tanımlanır. Elektronik hallere ek olarak, moleküllerde atomlar arası titreşim enerjilerine bağlı olarak kuantlaşmış titreşim halleri, moleküllerin kendi ağırlık merkezi etrafındaki dönüşlerinin bir sonucu olarak da yine kuantlaşmış dönme halleri vardır. Bir atom veya molekül için en düşük enerji hali, temel hal'dir. Daha yüksek enerji halleri ise uyarılmış haller olarak tanımlanır. Oda sıcaklığında kimyasal türler genellikle temel hallerinde bulunurlar.

Işın katı, sıvı veya gaz tabakasından geçtiğinde, bazı frekanslar absorpsiyon ile secici olarak ortamdaki alınır; bu süreçte ışın enerjisi numuneyi oluşturan atom, iyon veya moleküllere aktarılır. Absorpsiyon, bu parçacıkları normal oda sıcaklığı hali yani temel halden bir veya daha çok sayıdaki yüksek enerjili uyarılmış hallerine çıkarır. Kuantum teorisine göre atom, molekül veya iyonlar yalnız belli değer ve sayıda enerji düzeyinde bulunabilir; ışının absorplanabilmesi için uyarıcı foton enerjisinin, tam olarak absorpsiyon yapan türlerin temel hali ile uyarılmış hallerden biri arasındaki enerji farkına eşit olması gereklidir. Bu enerji farkları ise, her tür için özgün olduğundan, absorplanan ışındaki frekansların incelenmesi, numuneyi oluşturan maddenin bileşenlerinin belirlenmesi için kullanılabilir. Bu amaçla, deneysel olarak dalga boyu veya frekansa bağlı olarak absorpsiyon (absorbans, ışın gücündeki azalmanın bir ölçüsü olup

$$A = -\log T = \log(P/P_o) \quad (2.2)$$

değerlerin bir grafiği hazırlanır. absorpsiyon spektrumlarının görünüşte büyük farklılıklar gösterebilir; bazıları çok sayıda keskin piklerden, bazıları ise düzgün ve sürekli eğrilerden oluşur. Genel olarak spektrumun nitelikleri, Absorpsiyon yapan, türlerin karmaşıklığı, fiziksel hali ve çevresinden etkilenir. Bununla birlikte, temel farklar ise atomların ve moleküllerin absorpsiyon, spektrumlarında gözlenir.

Atomik Absorpsiyon Spektrometresi ışık kaynağı, örneğin parçalanarak atomik buhar haline geldiği absorpsiyon ortamı, monokromatör ve algılayıcı (dedektör) (Uluslar arası Metroloji sözlüğü) gibi kısımlardan oluşur.



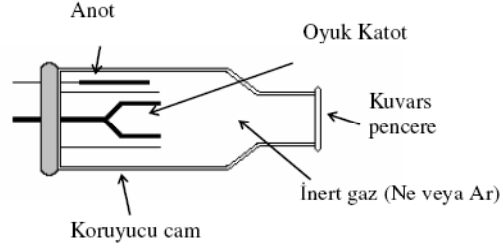
**Şekil 2.1.** Atomik Absorpsiyon Spektrometresi Genel Şekli

Atomik absorpsiyon spektroskopisinde metallerin çoğu ile az sayıda ametal analiz edilir. Atomik absorpsiyon spektroskopisinde element elementel hale dönüştürüldükten sonra buharlaştırılır ve kaynaktan gelen ışın demetine maruz bırakılır Aynı elementin ışın kaynağından gelen ışınları absorplar.

**-AAS de ışık kaynakları** AAS de ışık kaynaklarının görevi numunedeki atomların absorplayacağı dalga boyundaki ışınları yaymaktır. Dar çizgiler hem absorpsiyonda hem de emisyonunda tercih edilir. Çünkü dar çizgiler spektrumların örtüşmesinden kaynaklanan girişimi azaltır. Elementler çok dar dalga boyu aralığında ( $\sim 0,002$  nm) absorpsiyon yaparlar. Bu nedenle absorpsiyon hattından daha dar emisyon hattı veren bir kaynak kullanılmalıdır. Hidrojen ve tungsten lambası gibi sürekli ışın kaynağı kullanılmasıyla ölçülen absorbans çok küçük olur. Çünkü sürekli ışık kaynakları belli bir aralıkta her dalga boyunda ışın yayarlar. Ve bu ışınların çok azı dar absorpsiyon hatlı atom tarafından absorplanabilir.

- a) Oyuk Katot lambası (OKL); en yaygın olarak kullanılan oyuk katot lambasıdır. Düşük basınçta (birkaç mmHg) neon veya argon gibi bir asal gazla doldurulmuş silindirik biçiminde lambalardır. Bunlarda kullanılan katot analiz elementinden

yapılmıştır. Anot ise tungsten veya nikteldir. Anot ile katot arasında 100 - 400 v gerilim uygulandığında asal gaz iyonlaşır. Böylece ortamda iyonlar ve elektronlar oluşur. Bu iyonlar katoda çarparak yüzeydeki metal atomlarını koparır ve uyarırlar. Uyarılan atomlar, temel enerji seviyesine dönerken katot elementine özgü dalga boyunda ışımaya yaparlar.



**Şekil 2.2.** Oyuk katot lambasının şematik görünüşü

Hangi element analiz edilecekse o analite ait lamba takılır. AAS' nin dezavantajı her element için ayrı bir OKL gerektirmesidir. Birden fazla elementi aynı anda tayin edebilmek için incelenecek elementlerin alaşımlarını içeren lambalar tasarlanmıştır. Ancak bunlarda lambanın emisyon şiddetinin azalması ve bunun sonucunda gözlenebilme sınırının büyümesidir. OKL ye uygulanan gerilim dolayısıyla yüksek akım daha şiddetli ışımaya yol açar. Bu avantaja karşın lambadan oluşan hatların Doppler genişlemesi artar.

b) Elektrotsuz boşalım lambaları; OKL den daha büyük ışık şiddeti oluşturur. Bu lambalar elektrot içermez, analit elementini ve birkaç torr basınçta argon gibi inert gaz içeren kapalı kuvars bir tüptür. Radyo frekansı veya mikrodalga ışını ile lambanın içindeki atomlar uyarılır. Önce argon atomları iyonlaşır, bu iyonlar, analit atomlarına çarparak onları uyarır. Ancak bu tür lambaların performansı OKL ler kadar iyi değildir.

## - Atomlaştırıcılar

### a) Alevli Atomlaştırıcılar

Numuneyi atomlaştırmak için bir alev başlığı ile yanıcı/yakıcı gazların kullanıldığı atomlaştırıcılardır. Alevde renklerinin farklılıklarına bakılarak farklı bölgeler bulunduğu bilinmektedir. Birincil reaksiyon bölgesinde yüksek enerji isteyen reaksiyonlar oluşur. Burada oluşan radikaller (OH<sup>-</sup>, H<sup>-</sup>, CN<sup>-</sup>) iç bölgeye geğer. Alevin en sıcak olduğu bu bölgede gazlar, hava oksijeni ile karışarak, son yanma ürünlerini oluşturur. Burası da ikincil reaksiyon bölgesidir. Alev sıcaklığı alev merkezinde en yüksek olup, yukarı doğru çıkıldıkça azalır. Günümüzde en çok kullanılan gaz karışımları hava/asetilen ve azotprotoksit/asetilen'dir.

Alev gazlarının yüksek miktarı, aleve aerosolün taşınması ve yanmayan gazların bağıl yüksek akış hızlarından dolayı seyrelme etkisiyle alevde bulunan atom derişimini azaltır. Ayrıca alevin neden olduğu zemin sinyali de analit sinyaline etki eder.

### b) Alevsiz Atomlaştırıcılar

Günümüzde en sık kullanılan elektrotermal atomlaştırıcılar grafit fırınlardır. Genellikle 5-10 mm çapında, 20-30 mm uzunluğunda ve 1 mm kalınlığında iki ucu açık silindir görünümdededir.

Elektrotermal atomlaştırıcılı sistemde atomlaşma basamakları: Birkaç mikrolitre hacmindeki örnek elektrik akımıyla ısıtılan karbon veya iletken bir yüzey üzerinde düşük sıcaklıkta kurutulur, sonra sıcaklık yükseltilerek örnek kül edilir. Daha sonra sıcaklık atomlaşma sıcaklığına yükseltilir ve tayin elementinin serbest atomlarının oluşması sağlanır.

### **2.6.1.2. Hidrür Oluşturmalı Atomik Absorpsiyon Spektrometresi**

Hidrür oluşturma yöntemi, oluşturulan hidrürün atomlaştırıcıya doğrudan gönderildiği doğrudan aktarma yöntemi ve hidrürün toplama bölümünde tutulduktan sonra hepsinin birden atomlaştırıcıya gönderildiği biriktirme yöntemi olarak ikiye ayrılır (Dedina ve Tsalev 1995). Doğrudan yöntem de sürekli akış, akışa enjeksiyon ve kesikli sistemler olarak uygulanabilir.

Bu yöntemde numune ve reaktifler ayrı kapiler borular ile sisteme verilir. Taşıma amaçlı kullanılan borularda ve bağlantı noktalarında kullanılan malzemelerin iç çapı genellikle 0,3 – 1,0 mm arasındadır. Dar boru çapları sistemdeki basıncı arttırmakta, geniş çaplı borular ise sistemin hacmini arttırarak analiz süresini uzatmakta ve kimyasal tüketimini arttırmaktadır. Reaksiyonun gerçekleştiği bölümde kullanılan gaz-sıvı ayırıcıları genel olarak hidrostatik, emmeli ve membranlı olmak üzere üç sınıfa ayrılır. Hidrostatik gaz-sıvı ayırıcılar U şeklindedir ve basitliklerinden dolayı en sık kullanılmaktadır. Emmeli gaz-sıvı ayırıcılar genelde yüksek basınçlı ortamlarda daha iyi performans gösterirler. Membranlı gaz-sıvı ayırıcılar gazın mikro gözenekli yapıdaki membrandan geçmesi esasına dayanır. Genellikle sadece gaz geçirgen olan politetrafloroetilen (PTFE) veya silikon lastik borular kullanılmaktadır. Hidrürün atomlaştırılmasında genellikle atomik absorpsiyon spektrometrenin ışık yoluna yerleştirilmiş T-bağlantılı kuvars tüpler kullanılmaktadır.

- Monokromatör

Analizi yapılmak istenen elementin hattını ışın kaynağının yaydığı diğer emisyon hatlarından ayıran monokromatör; ışının girdiği bir yarık, toplayıcı mercek, aynalar ve bir çıkış yarığından oluşur. AAS' de monokromatör olarak, prizma veya optik ağ kullanılır.

### **2.6.1.3. İndüktif eşleşmiş plazma (ICP) spektroskopisi**

Atomik absorpsiyon spektroskopisinde olduğu gibi burada da numuneler atomlaştırılır. Bunun için de plazma, ark, kıvılcım metotları kullanılır. Bu atomlaştırıcılarda, farklı

element atomlarının birbirlerini karıştırma ihtimalleri azdır, birçok elementi aynı zamanda tayin etmek mümkündür, tayin aralıkları çok geniştir. Tüm bu üstünlüklerine rağmen emisyon ve absorpsiyon metotları birbirinin yerini alan değil, birbirini tamamlayan metodlardır. Üstelik atomik absorpsiyon cihazlarının basit ve ucuz olması, işletme masraflarının az olması, kesinliklerinin yüksek olması gibi üstün yönleri de vardır (Gündüz, 2001).

Plazma, katyon ve elektronlardan meydana gelen ve elektrik akımını ileten ortama denir. Plazmada negatif yüklerin toplamı pozitif yüklerin toplamına eşittir. Plazmadaki katyonlar farklı elementlerden meydana gelebilir. Örneğin, argon plazmasında argon katyonları, elektronlar ve doğal olarak da çok daha düşük oranlarda analizi yapılan numuneden buharlaşan atomların katyonları bulunur. Plazmadaki argon katyonları büyük miktarda enerji absorplayarak (0.5 ile 5.0 kW arasında) meydana ortamın sıcaklığını uzun süre yaklaşık 10.000 K de sabit tutabilirler.

Argon plazma elde etmek için çeşitli güç kaynakları kullanılır. Bu kaynaklarda en çok kullanılanı, güçlü bir mikrodalga radyo frekansı ortamından argon gazı geçirilenidir. Buna İndüktif Olarak Çiftleşmiş Plazma (ICP) denir. Plazma ortamında sıcaklık, diğer atomlaştırma ortamlarına (alev, elektrotermal vb.) göre daha homojen dağılımlıdır (üniformdur). Ayrıca atomların bu ortamda kalma süreleri daha uzundur.

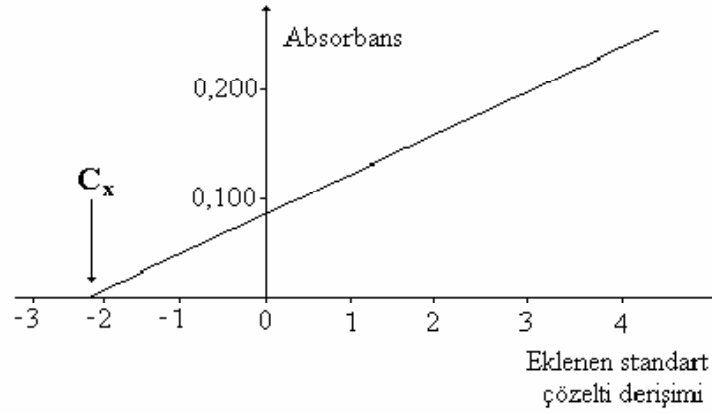
İndüktif olarak çiftleşmiş plazma kaynağı, içi içe geçmiş üç kuvars borudan meydana gelir. Bunlar arasından dakikada 11-17 litre argon gazı geçirilir. Borulardan en genişinin çapı yaklaşık 2.5 cm' dir. Bu borunun üst kısmında su ile soğutulan bir radyo indüksiyon bobini bulunur. Radyo indüksiyon jeneratörünün gücü, 27 MHz de yaklaşık 2 kW tır. Numune argon gazı ile sürüklenir. İyonlaşma bir tesla bobini kıvılcım ile başlatılır. Numuneden meydana gelen iyonlar ve elektronlar bir indüksiyon bobini tarafından oluşturulan manyetik alanla etkileşir.

#### 2.6.1.4. Girişimler

Atomik Absorpsiyon yöntemlerinde; fiziksel, spektral ve kimyasal girişimler olarak üç tür girişimle karşılaşılır. Fiziksel girişimler, absorpsiyon hücresinde ölçüm şartlarını değiştiren olayların tümü olarak tanımlanabilir. Viskozite, emilim hızı, yüzey gerilimi, ışık saçılması görülen önemli fiziksel girişim etkileridir. Spektral girişimler, ışınların saçılmasına neden olan katı tanecik içeren ürünlerden veya geniş bant absorpsiyonu oluşturan yanma ürünlerinden meydana gelir. Her ikisi de gelen ışık gücünü zayıflatır ve pozitif hataya neden olur. Kimyasal girişimler, analitin absorpsiyon karakteristiklerini değiştiren ve atomlaştırma sırasında oluşan çeşitli kimyasal işlemlerden meydana gelir. Bu kimyasal işlemler, az uçucu bileşiklerin oluşumu, ayrışma dengeleri, iyonlaşma dengeleridir (Gündüz, 2001). Analiz sırasında oluşabilecek girişim etkilerinin giderilmesi için zemin düzeltme metodları kullanılmaktadır. Bunlar; sürekli ışık kaynağı (D<sub>2</sub>-Döteryum), Zeeman, Smith-Hieftje zemin düzeltme metodlarıdır. Sürekli ışık kaynağı zemin düzeltme metodunda, hem ışık kaynağı hem de D<sub>2</sub> 'dan gelen ışınlar monokromatörden geçerek aynı dedektör üzerine düşürülmektedir. Zeeman metodunda ise toplam absorbans ve zemin absorbansı aynı ışık kaynağından ölçülebilmektedir. Smith-Hieftje metodunda ise ışık kaynağının emisyon çizgi profilini zemin etkilerinin ölçümü için düzenlenmesi prensibine dayandığı belirtilmektedir. Burada ışık kaynağına düşük akım uygulanmasıyla hem atomik absorpsiyon hem de zemin absorpsiyonundan gelen ölçümler yapılırken yüksek akım uygulanmasıyla sadece zemin absorpsiyonundan gelen ölçümler yapılabilir. (Lajunen, 1992) Girişimlerin giderilmesinde kullanılan bir diğer metod da kalibrasyon metodudur. Bu yöntem için, tayin edilecek elementin stok standart çözeltilerinden belirli derişimlerde en az üç kalibrasyon çözeltisi hazırlanır. Kalibrasyon ve örnek çözeltilerinin absorbansları ölçülür. Kalibrasyon çözeltilerinin derişimlerine karşılık absorbansları grafiğe geçirilir ve elde edilen noktalar birleştirilerek bir doğru çizilir. Bu grafiğe "kalibrasyon eğrisi" denir. Kalibrasyon eğrisinden yararlanarak, absorbans değerlerine karşı gelen derişim bulunur. Örnek çözeltilerinin absorbansları kalibrasyon eğrisinde absorbansın derişimle doğrusal olarak değiştiği



aralıkta olmalıdır. Örnek çözeltilerinin absorbansları bu aralığın dışında ise, seyreltme veya deriştirme yolu ile bu aralığa çekilmelidir. Çok sayıda örnek çözeltilisine uygulanabilmesi bu yöntemin üstünlüğüdür. Standart katma yönteminde tayini yapılacak örnekten en az üç eşit kısım alınır. Birinci kısma yalnızca çözücü, diğerlerine ise artan belirli miktarlarda kalibrasyon çözeltileri katılıp her biri çözücü ile eşit hacme tamamlanır. Absorbanslar okunur ve katılan derişime karşı absorbans grafiğı çizilir. Elde edilen doğrunun derişim eksenini kestiğı noktanın absorbans eksenine olan uzaklığı örneğın derişimine karşılık gelir.



**Şekil 2.3.** Standart katma eğrisinden örnekteki tayin elementi derişiminin ( $C_x$ ) bulunması

## 2.6.1.5 Diğer Yöntemler

### 2.6.1.5.1. Kromatografik metodlar

Tayin edilen selenyumun numune içerisinde hangi formda bulunduğunun canlılar için önem taşıdığı yapılan birçok çalışmada belirtilmektedir. Gıda numunelerinde Se

türlendirme amaçlı yapılan çalışmalarda kromatografik analizler kullanılmaktadır (Guerin ve ark. 1999). Ayrıca kromatografik ve spektroskopik metodların kombinasyonu kullanılarak da selenyum analizleri gerçekleştirildiği bildirilmektedir (Mester ve Fodor 1998). Çeşitli gıda numunelerinde selenyum analizleri için HPLC-ICP-MS (Zheng ve ark. 1998, Wrobel ve ark. 2003), HPLC-MS-MS ( Gosetti ve ark. 2007) gibi kombinasyonların kullanıldığı bildirilmektedir.

#### **2.6.1.5.2. Elektrokimyasal metodlar**

Elektrokimyasal yöntemlerde; analiz edilecek maddenin elektrokimyasal özelliklerinden faydalanılarak gerçekleştirilir. İyonun sadece bir yükseltgenme basamağının tayin edilebilmesi, kullanılacak cihazların ucuz ve basit olması ayrıca iyon derişimi değil aktivitesinin tayin edilmesi bu yöntemin üstünlükleri arasındadır. Selenyum analizinde sıklıkla kullanılan elektrokimyasal metodlar arasında sıyırma voltametri çeşitleri yer almaktadır (Holak ve ark. 1994, İnam ve Somer 1999). Selenyumun polarografik yöntemlerle tayiniyle ilgili de literatürde birçok çalışma mevcuttur. Elde edilen sonuçlara göre selenyumun asidik ortamda bazik ortama göre daha duyarlı polarografik dalgalar ve pikler verdiği belirtilmektedir (Speranskaya, 1962).

#### **2.6.1.5.3. Nükleer analitik metodlar**

Gıda numunelerinde eser düzeydeki selenyum analizlerinin gerçekleştirilmesinde nükleer analitik metodlar da kullanılabilir. Aktivasyon analizi, numune içindeki bir veya daha fazla element termal nötronlar veya uygun bir ışın ile uyarılarak oluşturdukları radyoaktivitelerinin ölçülmesi prensibine dayanmaktadır (Skoog ve ark. 1998). Literatürde nötron aktivasyon analizi (NAA) ile yapılan selenyum analizlerinin; hem sıvı hem katı numuneye uygulanabilirliği ve düşük girişim etkileri nedeniyle kullanımının

tercih edilebileceği belirtilmektedir (Nyarko ve ark. 2008). Yapılan çalışmalara bakıldığında da gıda numuneleri için selenyum analizlerinde NAA kullanımının yaygın olduğu görülmektedir (Singh ve ark. 2004, Ahmed ve ark. 2010).

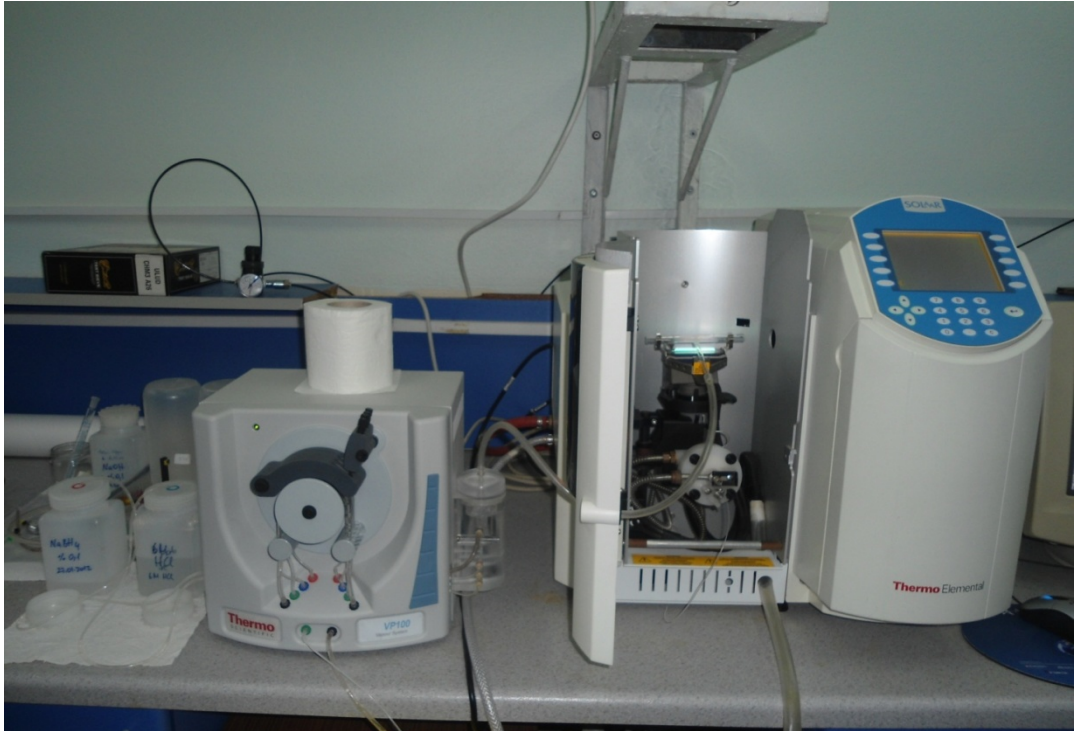
### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1.Kullanılan cihaz ve malzemeler

##### 3.1.1.1. Atomik absorpsiyon spektrometresi

Bu çalışmada, Thermo Solaar S series Atomik Absorpsiyon spektrometre cihazı (AAS) ve VP100 hidrür sistemi kullanıldı. Deneylerde kullanılan Hidrür Oluşturmalı Atomik Absorpsiyon Spektrometre cihazı Şekil 3.1.'de görülmektedir.



Şekil 3.1. Hidrür oluşturmali Atomik Absorpsiyon Spektrometre Cihazı (HGAAS)

### **3.1.1.2. ICP-MS**

Çalışmada sonuçların kıyaslanması amacıyla Gıda Kontrol Enstitüsünden proje kapsamında hizmet alımı yapılarak Agilent 7500cx model ICP-MS kullanıldı.

### **3.1.1.3. Mikrodalga çözünürleştirme sistemi**

Deneyleerde numunelerin çözünürleştirilmesi için Gıda Kontrol Enstitüsünden proje kapsamında hizmet alımı yapılarak Berghoff MSW 3 model laboratuvar tipi mikrodalga fırın kullanıldı.

### **3.1.1.4. Analitik terazi**

Radwag AS 220 C/2 model, kalibrasyonu yapılmış, elektronik,  $\pm 0,0001$  g hassasiyet ile tartım yapabilen terazi kullanıldı.

### **3.1.1.5. Etüv**

Numunelerin kurutulması için Müve Sterilizer FN 055 marka etüv kullanıldı.

### **3.1.1.6. Ultrasonik su banyosu**

Çözeltilerin hazırlanmasında ve numune hazırlama işlemlerinde Cleanex marka Ultrasonik Yıkama cihazı kullanıldı.

### **3.1.1.7. Mikropipetler**

Çalışmada Volac marka 50-100; 200-1000 µL aralığındaki pipetler kullanıldı.

### **3.1.1.8. Ekmek makinası**

Laboratuvar ortamında selenyum katkılı maya ile ekmek yapılması amacıyla Essenso marka ekmek makinası kullanıldı.

### **3.1.2. Reaktifler, çözeltiler ve hazırlanmaları**

Deneylerde, analitik saflıkta kimyasal maddeler, Merck marka çözücüler (hidroklorik asit, nitrik asit, perklorik asit, sülfürik asit, hidroflorik asit gibi) ve deiyonize saf su kullanıldı.

#### **3.1.2.1. Hidrür sisteminde kullanılan çözeltiler**

- a) % 0,1 (m/v)'lik Sodyum bor hidrür ( $\text{NaBH}_4$ ) çözeltisi; 500 mL % 0,1 (m/v)'lik NaOH çözeltisi içinde 0,5 g  $\text{NaBH}_4$  (Merck) çözülerek hazırlandı. Bu çözelti ultrasonik banyoda 15 dakika bekletildi. Çözelti her analiz için taze olarak hazırlandı.
- b) 6 M Hidroklorik asit (HCl) çözeltisi; derişik HCl ' den (%30) 158,7 mL alınarak 250 mL' ye tamamlandı. İhtiyaç duyulan farklı derişimlerdeki HCl çözeltileri de benzer hesaplama yapılarak hazırlandı.

### 3.1.2.2. Stok çözeltiler

a) Se (IV) stok çözeltisi; 1000 mg/L' lik, Atomik spektroskopi yöntemine uygun Merck marka Se (IV) standart stok çözeltisi kullanıldı.

b) Se (IV) ara stok çözeltisi; (1 mg/L'lik), 1000 mg/L'lik Se (IV) çözeltilisinden 50 µL alınıp saf su ile 50 mL' ye tamamlanarak hazırlandı. Daha düşük derişimdeki standart çözeltiler bu ara stok çözelti kullanılarak günlük olarak hazırlandı.

c) Sodyum (Na) stok çözeltisi; 1000 mg/L' lik, Atomik spektroskopi yöntemine uygun Merck marka Na standart stok çözeltisi kullanıldı.

d) Sodyum (Na) ara stok çözeltisi; (1 mg/L' lik), 1000 mg/L' lik Na çözeltilisinden 50 µL alınıp saf su çözeltisi ile 50 mL' ye tamamlanarak hazırlandı. Daha düşük derişimdeki standart çözeltiler bu ara stok çözelti kullanılarak günlük olarak hazırlandı.

e) Potasyum (K) stok çözeltisi; 1000 mg/L' lik, Atomik spektroskopi yöntemine uygun Merck marka K standart stok çözeltisi kullanıldı.

f) Potasyum (K) ara stok çözeltisi; (1 mg/L' lik), 1000 mg/L' lik K çözeltilisinden 50 µL alınıp saf su çözeltisi ile 50 mL' ye tamamlanarak hazırlandı. Daha düşük derişimdeki standart çözeltiler bu ara stok çözelti kullanılarak günlük olarak hazırlandı.

g) Kalsiyum (Ca) stok çözeltisi; 1000 mg/L' lik, Atomik spektroskopi yöntemine uygun Merck marka Ca standart stok çözeltisi kullanıldı.

h) Kalsiyum (Ca) ara stok çözeltisi; (1 mg/L' lik), 1000 mg/L' lik Ca çözeltilisinden 50 µL alınıp saf su çözeltisi ile 50 mL' ye tamamlanarak hazırlandı. Daha düşük derişimdeki standart çözeltiler bu ara stok çözelti kullanılarak günlük olarak hazırlandı.

ı) Magnezyum (Mg) stok çözeltisi; 1000 mg/L' lik, Atomik spektroskopi yöntemine uygun Merck marka Mg standart stok çözeltisi kullanıldı.

i) Magnezyum (Mg) ara stok çözeltisi; (1 mg/L' lik), 1000 mg/L' lik Mg çözeltisinden 50 µL alınıp saf su çözeltisi ile 50 mL' ye tamamlanarak hazırlandı. Daha düşük derişimdeki standart çözeltiler bu ara stok çözelti kullanılarak günlük olarak hazırlandı.

j) Mangan ( Mn) stok çözeltisi; 1000 mg/L' lik, Atomik spektroskopi yöntemine uygun Merck marka Mn standart stok çözeltisi kullanıldı.

k) Mangan ( Mn) ara stok çözeltisi; (1 mg/L' lik), 1000 mg/L' lik Mn çözeltisinden 50 µL alınıp saf su çözeltisi ile 50 mL' ye tamamlanarak hazırlandı. Daha düşük derişimdeki standart çözeltiler bu ara stok çözelti kullanılarak günlük olarak hazırlandı.

l) Çinko (Zn) stok çözeltisi; 1000 mg/L' lik, Atomik spektroskopi yöntemine uygun Merck marka Zn standart stok çözeltisi kullanıldı.

m) Çinko (Zn) ara stok çözeltisi; (1 mg/L' lik), 1000 mg/L'lik Zn çözeltisinden 50 µL alınıp saf su çözeltisi ile 50 mL' ye tamamlanarak hazırlandı. Daha düşük derişimdeki standart çözeltiler bu ara stok çözelti kullanılarak günlük olarak hazırlandı.

n) 1000 ppm standart Nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) Çözeltisi; sodyum nitrat ( $\text{NaNO}_3$ ) katısından 1,37 g alınarak 1 L' ye tamamlandı.

p) 1000 ppm standart klorür ( $\text{Cl}^-$ ) Çözeltisi; sodyum klorür ( $\text{NaCl}$ ) katısından 1,65 g alınarak 1 L' ye tamamlandı.

r) 1000ppm standart karbonat ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) Çözeltisi; sodyum karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) katısından 1,38 g alınarak 1 L' ye tamamlandı.



s) 1000ppm standart sülfat ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) Çözeltisi;  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  katısından 1,48 g alınarak 1 L' ye tamamlandı.

### **3.1.2.3. Kalibrasyon çözeltileri**

HGAAS' de tayini yapılacak olan Se elementi için 0,5-1-5-10-20-40-60  $\mu\text{g/L}$ ' lik derişimlerinde Se(IV) kalibrasyon çözeltileri deneyin yapılacağı gün Se (IV) ara stok çözeltisinin uygun oranlarda seyreltilmesiyle taze hazırlandı.

### **3.1.2.4. Standart referans maddeler (SRM)**

Analizlerin doğruluğunun kontrolü için iki adet standart referans madde kullanıldı. Bunlar; un standardı NIST 1567a wheat flour kodlu ve  $1,1 \pm 0,2 \mu\text{g/g}$  Se içerdiği, maya standardı National Research Council Canada (NRC) firmasından (SELM-1) kodlu ve  $2059 \pm 64 \text{ mg/kg}$  düzeyinde toplam Se içeren SRM'lerdir.

### **3.1.2.5. Temizleme amaçlı kullanılan çözeltiler**

Kirli cam ve plastik malzemelerin temizlenmesi amacıyla %0,1  $\text{HNO}_3$  çözeltisi hazırlandı. Kirli malzemeler önce su ile bolca çalkalanıp, 1 gün süresince asit banyosunda bekletildi. Asit banyosundan çıkarılan malzemeler saf su ile en az beş kez çalkalanarak kurumaya bırakıldı.

### **3.1.2.6. Kullanılan örnekler**

Ticari olarak satın alınan farklı markalarda beyaz, kepek ve çavdar ekmeği; beyaz, kepekli, çavdarlı ve çinko katkılı un, simit ve açma numuneleri kullanıldı.

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Hidrür Oluşturmalı AAS İşlemleri

#### 3.2.1.1. Örnek hazırlamada en uygun şartların belirlenmesi

a) Numunelerin alınması; ticari olarak satılan üç farklı markanın ekmek (beyaz, kepek, çavdar) ve un (beyaz, kepek, çavdar, çinkolu) çeşitleri yanında yaş ve kuru olmak üzere iki farklı maya çeşidi, simit ve açma satın alındı. Ev tipi ekmek hazırlama için satılan ticari Essenso marka ekmek makinasının temel pişirme programı (Basic) kullanılarak, aynı miktarlarda malzeme kullanılarak (215 g un, 10 mL su, 2.5 g tuz, 2 g şeker, 1 g maya) selenyum katkısız ve 1 g SELM-1 maya kullanılarak beyaz ve kepekli olmak üzere dört çeşit ekmek pişirildi.

b) Homojenizasyon işlemi; Alınan ekmek ve unlu mamuller, eldiven kullanılarak ufak parçalara ayrıldıktan sonra, 24 saat 80°C'de etüvde kurutuldu. Kurutulan numuneler mutfak robotundan geçirilerek 850 mikron elekte elendi.



**Şekil 3.2.** Etüvde kurutulan ekmek numuneleri

c) Mikrodalga ısıtmalı çözünürleştirme; Homojenize edilmiş numuneler mikrodalga ısıtmalı cihazın teflon kaplarına 0,2500 g civarında tartılıp, üzerine 4 mL HNO<sub>3</sub> yanında 1 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ilave edilerek karıştırıldı. 15- 20 dakika çeker ocakta beklemeye bırakılarak ön bir ekstraksiyon işlemi yapıldı. Bu işlemle, kapların mikrodalga ısıtmalı cihaza bulunduğu hızla gelişen reaksiyonlardan dolayı basınç artışı ve patlamaların azaltılması veya engellenmesi amaçlanmıştır. Teflon kaplar kapatılarak, mikrodalga ısıtmalı sisteme ait aşağıda belirtilen çalışma koşullarında çözünürleştirme gerçekleştirildi.

**Çizelge 3.1.** Uygulanan mikrodalga fırın çözme programı

| <b>Program</b>               |          |          |          |          |          |
|------------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|
| <b>Yakma Basamakları</b>     | <b>1</b> | <b>2</b> | <b>3</b> | <b>4</b> | <b>5</b> |
| <b>Basınç (bar)</b>          | 30       | 30       | 30       | 30       | 30       |
| <b>Sıcaklık (°C)</b>         | 140      | 190      | 215      | 100      | 100      |
| <b>Çıkış süresi (dak)</b>    | 5        | 5        | 5        | 1        | 1        |
| <b>Bekleme süresi (dak.)</b> | 5        | 10       | 20       | 1        | 1        |
| <b>Güç (%)</b>               | 60       | 75       | 80       | 10       | 10       |

d) Açık Sistem Çözünürleştirme; Numuneler 8 mL derişik HNO<sub>3</sub> ile 24 saat bekletilerek, kuruluğa dek ısıtıldı. Üzerlerine 1-2 mL saf su eklenerek tekrar kuruluğa dek ısıtıldı. Soğutma işleminden sonra 1 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> eklenerek, kuruluğa kadar ısıtma işlemi uygulandı. Çözünürleştirme işlemi biten numuneler 30 dakika ultrasonik banyoda bekletilerek homojenizasyon sağlandıktan sonra, 50 mL' ye saf su ile tamamlandı.

### **3.2.1.1.1. Reaktiflerin en uygun çalışma koşulları**

Kalibrasyon çözeltileri, günlük olarak Se (IV) ara stok çözeltisinden 0,5, 1, 5, 10, 20, 40, 60 µg/L' lik Se(IV) derişimlerinde hazırlandı. HG-AAS tekniği ile analiz edilmeden önce çözeltiler, literatür çalışmalarında da belirtildiği üzere ön indirgeme işlemine tabi tutuldu. Çözünürleştirilmiş numuneler, 1:1 oranında 6M HCl çözeltisi ile seyreltilerek 90 °C'a ayarlanmış sıcak su banyosunda, süreli olarak bekletildikten sonra analiz edildi. Böylece Se (IV)'ün, Se (VI)'ya yükseltgenmesi engellenmiş oldu. Belirtilen işlem standartlar ve numunelere uygulandı (Olivas ve Donard 1994).

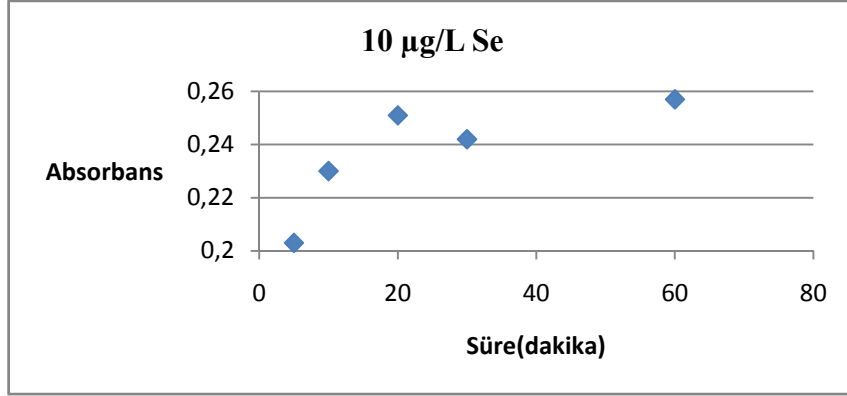
### **3.2.1.1.2. Havuz numunesinin en uygun çalışma koşulları**

Açık sistem çözünürleştirme sonrası hazırlanan tüm numunelerden 3 mL alınarak gerçek numunemizi temsil etmesi amacıyla havuz numunesi hazırlandı. Bu çözelti 0,45 µm' lik filtreden süzülerek en uygun çalışma koşullarının belirlenmesi amacıyla HGAAS analizlerinde kullanıldı.

### **3.2.1.1.3. Numune kaynatılma sürelerinin en uygun çalışma koşulları**

HGAAS tekniği ile gerçekleştirilen analizlerde, numuneler 6M HCl çözeltisi ile 1:1 oranında seyreltildi ve 90 °C'a ayarlanmış sıcak su banyosunda ne kadar süre ile bekletilmesi gerektiği belirlendi.

Çalışmada en uygun kaynatılma süresi olarak 20 dakika seçildi. Diğer sürelerde de yüksek absorbans değerleri elde edilmesine rağmen okunan absorbanslardaki RSD' nin de en iyi olduğu değer 20 dakikadır.



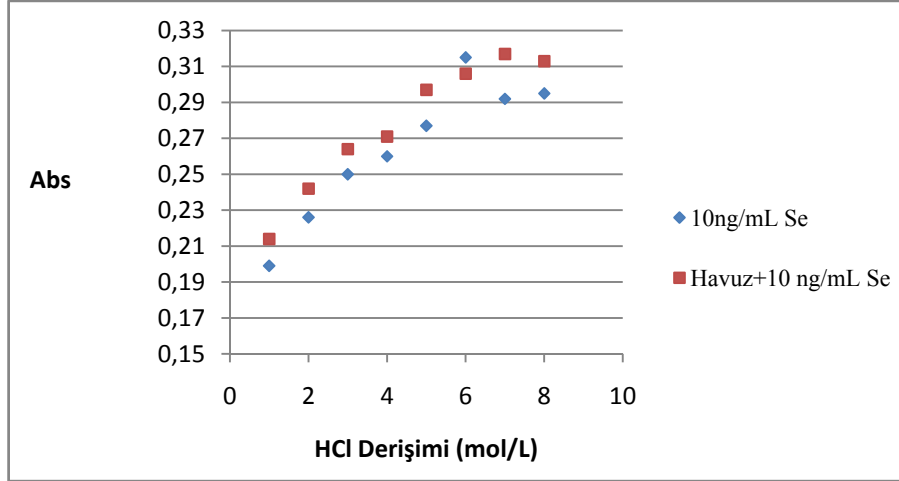
**Şekil 3.3.** Selenyum standardının en uygun kaynatılma süresi

#### 3.2.1.1.4. Numuneler eklenen HCl derişiminin en uygun çalışma koşulları

En uygun HCl derişimi için 1-8 M derişim aralığında HCl çözeltileri hazırlandı ve 10 µg/L' lik Se standardı ve havuz çözeltisi ile en uygun asit derişimi belirlendi. Sodyum bor hidrür çözeltisinin derişimi (% 0,1(m/v)) , azotun akış hızı (150 mL/dk), ölçüm süresi (4saniye), pompa hızı (30) , ölçüm geciktirme süresi (60) sabit tutularak farklı HCl derişimlerinde 10 ng/mL' lik Se için ve havuz numunesi için absorbans değerleri elde edilerek HCl derişimlerine karşı grafiğe geçirildi.

**Çizelge 3.2.** HCl derişiminin Se absorbansına etkisi

| HCl Derişimi<br>(M) | Absorbans<br>(10ng/mL Se) | Absorbans<br>(Havuz+10ng/mL Se) |
|---------------------|---------------------------|---------------------------------|
| 1                   | 0,199                     | 0,214                           |
| 2                   | 0,226                     | 0,242                           |
| 3                   | 0,250                     | 0,264                           |
| 4                   | 0,260                     | 0,271                           |
| 5                   | 0,277                     | 0,297                           |
| 6                   | 0,306                     | 0,315                           |
| 7                   | 0,292                     | 0,317                           |



**Şekil 3.4.** HCl derişiminin Se absorbansına etkisi

Grafikten de g r ld ğu gibi en yüksek absorbans değerini veren en uygun HCl derişimi 6M olarak belirlendi.

### 3.2.1.2. Hidrür sistemi ile analiz için en uygun koşullarının belirlenmesi

Hidrür oluŐurturmalı AAS tekniği ile gerçekleştirilen analizlerde bazı parametrelerin en uygun değerlerinin belirlenmesi gerekmektedir. Bu parametreler; hidroklorik asit derişimi, sodyum bor hidrür derişimi, taşıyıcı gaz akış hızı, pompa hızı, ölçüm süresi ve ölçüm geciktirme s residir (measurement delay).

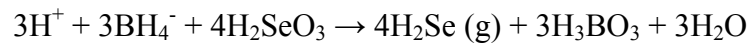
HGAAS' de çalışmalara baŐlamadan önce bahsedilen bu parametrelerin en uygun çalışma koşulları için denemeler gerçekleştirildi. Hangi parametre inceleniyorsa, o parametrenin değeri deđiŐtirilirken diğerleri sabit tutuldu. HGAAS' de selenyum tayinine baŐlarken; cihaz çalıştırılır ve selenyum için uygun dalga boyu (196,0 nm) gibi selenyuma ve sisteme uygun değerler seçilir. Lambanın kararlı hale gelebilmesi için açıldıktan sonra bir süre beklenir.

Işın kaynağından gelen ışının atomların üzerine tam olarak gelebilmesi için, alev başlığının konumunu ayarlamak gerekir. Bunun için, bilgisayar üzerinde otomatik olarak en yüksek absorbandsın elde edildiği yatay ve düşey konumlar belirlenir. Cihaz her açıldığında bu işlem tekrarlanmalıdır. Uygun derişimlerde hazırlanan HCl ve NaBH<sub>4</sub> çözeltileri de yerleştirildikten sonra pompa çalıştırılır. Sisteme belirli derişimde selenyum çözeltisi verilerek en yüksek absorbands değeri elde ettiğimiz T tüp konumu kontrol edilir. En yüksek absorbandsın elde edildiği bu şartlarda, farklı derişimlerde hazırlanmış olan Se kalibrasyon çözeltileri cihaza verilir ve kalibrasyon grafiği çizilir. Daha sonra hazırlanan numuneler cihaza verilir ve çizilen kalibrasyon grafiği yardımıyla numuneler için Se derişimi bulunur. Seyreltme gibi durumlar göz önüne alınarak gerekli hesaplamalar yapılır.

Yeni bir kuvars T tüp, ilk kullanımdan önce yüksek derişime sahip bir standart kullanılarak şartlandırılır. Ayrıca, kuvars T tüpün yüzeyinin kirliliği analiz sonuçlarını etkileyeceğinden absorbands ölçümünde bir düşme görüldüğünde T tüp yerinden çıkarılıp seyreltik HF çözeltisi içerisinde yıkanarak saf su ile durulanıp kurumaya bırakılır. Böylece analizlerin doğruluğu sağlanmış olur.

#### **3.2.1.2.1. NaBH<sub>4</sub> derişiminin incelenmesi**

Sodyum bor hidrür (NaBH<sub>4</sub>), hidrür oluşturu bir maddedir. Burada NaBH<sub>4</sub>, Se (IV) ile tepkimeye girerek hidrojen selenür (selenyum hidrür) oluşmasını sağlar.

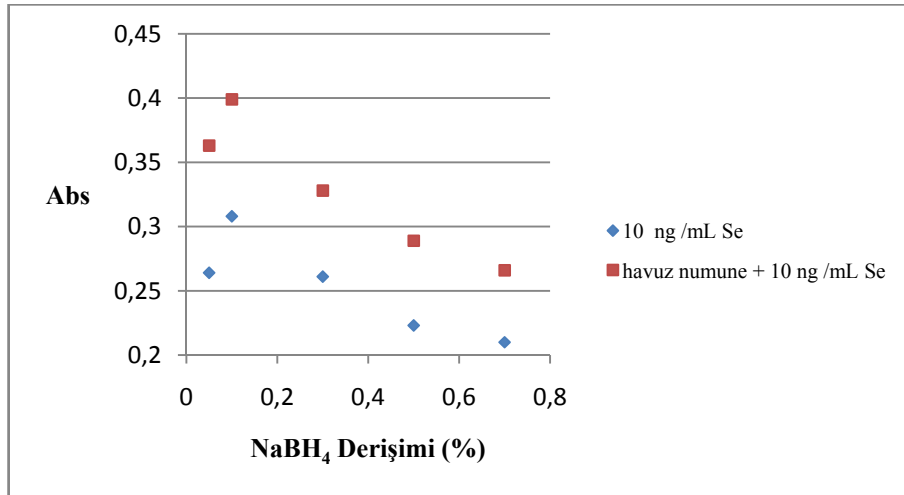


% 0,05 – 0,7 (m/v) aralığındaki NaOH çözeltilerinde, % 0,05 – 0,7 (m/v) aralığında NaBH<sub>4</sub> çözeltileri hazırlandı (Çizelge 3.4). 10 ng/mL' lik Se standardı ve hazırlanan havuz çözeltisi ile NaBH<sub>4</sub> derişiminin etkisi incelendi. Hidroklorik asit çözeltisinin derişimi (6M), azotun akış hızı (150 mL/dk), ölçüm süresi (4saniye), pompa hızı (30) ,

ölçüm geciktirme süresi (60) sabit tutularak farklı NaBH<sub>4</sub> derişimlerinde 10 ng/mL' lik Se için ve havuz numunesi için absorbands değerleri elde edilerek NaBH<sub>4</sub> derişimlerine karşı grafiğe geçirildi. En yüksek absorbands değeri veren NaBH<sub>4</sub> derişimi en uygun koşul olarak belirlendi.

**Çizelge 3.3.** NaOH ve NaBH<sub>4</sub> 'ün Selenyum absorbandsına etkisi

| NaOH<br>Derişimi(%)<br>(m/V) | NaBH <sub>4</sub><br>Derişimi(%)<br>(m/V) | Absorbans<br>(10ng/mL Se) | Absorbans<br>(Havuz+10ng/mL Se) |
|------------------------------|---|---------------------------|---------------------------------|
| 0,05                         | 0,05                                      | 0,264                     | 0,363                           |
| 0,1                          | 0,1                                       | 0,308                     | 0,399                           |
| 0,3                          | 0,3                                       | 0,261                     | 0,328                           |
| 0,5                          | 0,5                                       | 0,223                     | 0,289                           |
| 0,7                          | 0,7                                       | 0,210                     | 0,266                           |



**Şekil 3.5.** NaOH ve NaBH<sub>4</sub> derişimlerinin absorbands etkisi



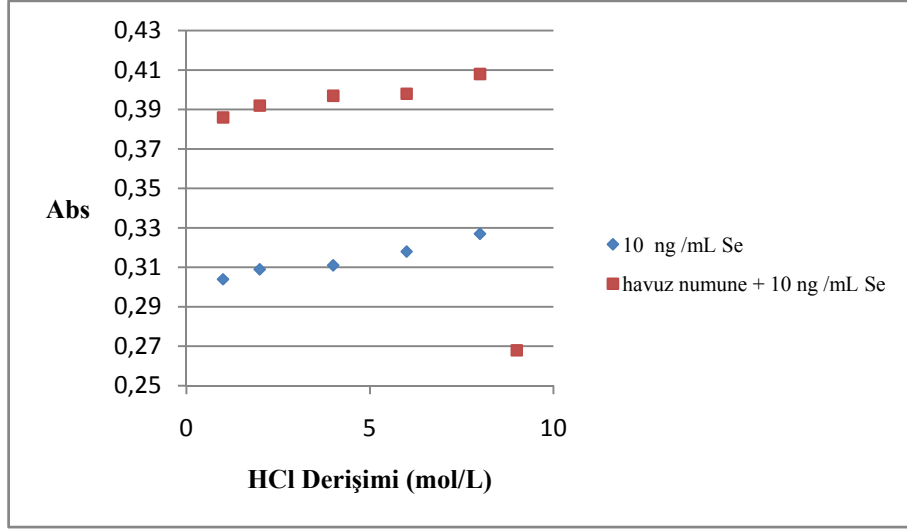
Havuz ve 10 ng/mL selenyum çözeltisi ile yapılan analizler sonucunda grafikten de görüldüğü üzere en uygun NaBH<sub>4</sub> derişimi % 0,1 (m/v) NaBH<sub>4</sub> olarak tespit edilerek sonraki analizlerde kullanıldı.

### 3.2.1.2.2. HCl derişiminin belirlenmesi

En uygun HCl derişimi için 1-9 M derişim aralığında HCl çözeltileri hazırlandı ve 10 µg/L' lik Se standardı ile en uygun asit derişimi belirlendi. Sodyum bor hidrür çözeltisinin derişimi (% 0,1(m/v)) , azotun akış hızı (150 mL/dk), ölçüm süresi (4saniye), pompa hızı (30) , ölçüm geciktirme süresi (60) sabit tutularak farklı HCl derişimlerinde 10 ng/mL' lik Se için ve havuz numunesi için absorbands değerleri elde edilerek HCl derişimlerine karşı grafiğe geçirildi.

**Çizelge 3.4.** HCl derişiminin Se absorbandsına etkisi

| HCl Derişimi<br>(M) | Absorbans<br>(10ng/L Se) | Absorbans<br>(Havuz+10ng/mL Se) |
|---------------------|--------------------------|---------------------------------|
| 1                   | 0,304                    | 0,386                           |
| 2                   | 0,309                    | 0,392                           |
| 4                   | 0,311                    | 0,397                           |
| 6                   | 0,318                    | 0,398                           |
| 8                   | 0,327                    | 0,408                           |
| 9                   | 0,240                    | 0,268                           |



**Şekil 3.6.** HCl derişiminin Se absorbansına etkisi

En yüksek absorbans değeri veren HCl derişimi 8M olarak belirlendi (Şekil 3.6). Ancak bu derişimde asit kullanılması sistemde bazı aksaklıklara neden olduğundan en uygun HCl derişimi 6M HCl olarak tespit edilerek analizlerde kullanıldı.

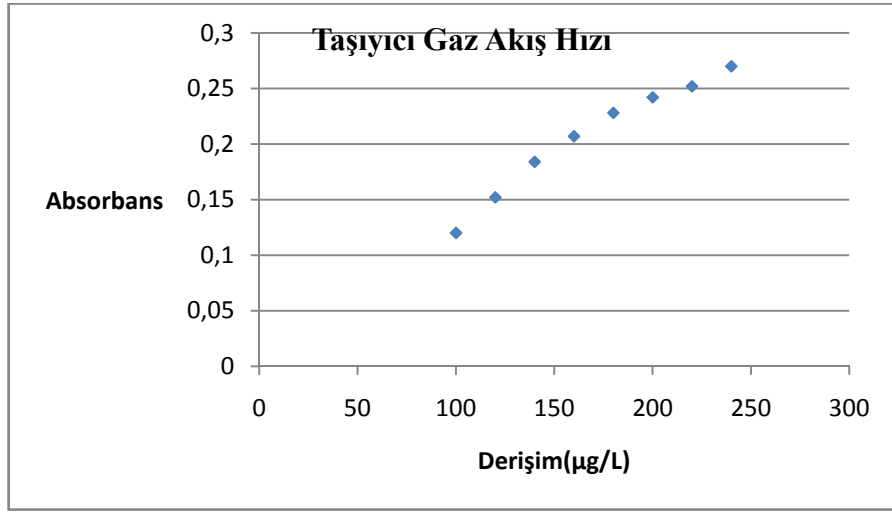
### 3.2.1.2.3. Azot gazı akış hızının belirlenmesi

HGAAS' de taşıyıcı gaz olarak ortamdaki diğer maddelerle tepkimeye girmeyen (inert) bir gaz kullanılmaktadır. Bunun için genellikle argon veya azot gazı tercih edilir. Bu çalışmada azot gazı kullanılmıştır. En yüksek absorbansı veren azot gazının akış hızının en uygun değerini belirlemek için en uygun derişimleri tespit edilmiş olan NaBH<sub>4</sub> ve HCl kullanılarak argon akış hızı belirlendi.

100, 120, 140, 160, 180, 200, 220 ve 240 mL/dk'lık azot gazının akış hızlarında 10 ng/mL'lik Se çözeltisi ve havuz numunesi için absorbans değerleri elde edildi ve azot gazının akış hızı değerlerine karşı grafiğe geçirildi. (Şekil 3.7). En yüksek absorbans değerini veren akış hızı belirlendi. Buna göre en uygun azot gazı akış hızı 160mL/dk olarak tespit edildi.

**Çizelge 3.5.** Azot gazının akış hızının Se absorbansına etkisi

| <b>Azot Akış Hızı<br/>(mL/dk)</b> | <b>Absorbans<br/>(10 ng/mL Se)</b> | <b>RSD%</b> |
|-----------------------------------|------------------------------------|-------------|
| 100                               | 0,120                              | 1,4         |
| 120                               | 0,152                              | 0,1         |
| 140                               | 0,184                              | 1,6         |
| 160                               | 0,207                              | 0,1         |
| 180                               | 0,228                              | 0,3         |
| 200                               | 0,242                              | 0,1         |
| 220                               | 0,252                              | 1,1         |
| 240                               | 0,270                              | 0,2         |



**Şekil 3.7.** Azot gazının akış hızının Se absorbansına etkisi

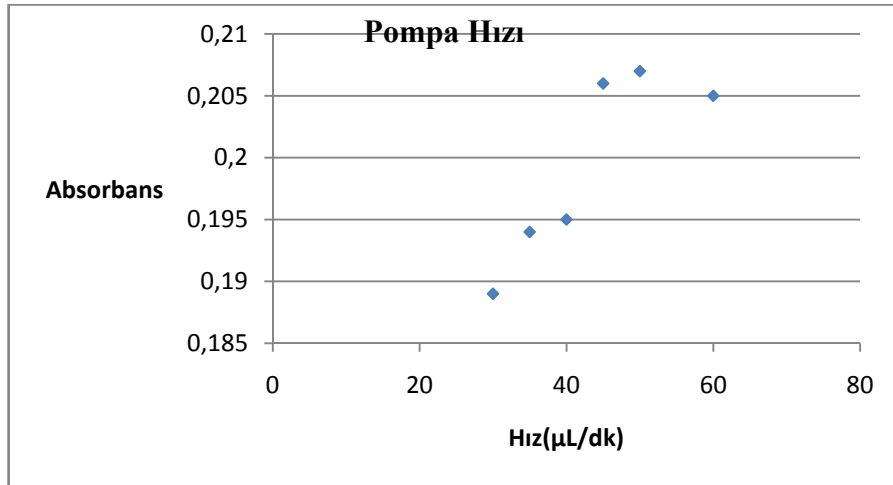
Her elemente ait maksimum absorbansı veren belirli bir gaz akış hızı vardır. Düşük akış hızı daha uzun ölçüm geciktirme süresine neden olur. Azot gazı akış hızı arttıkça okunan absorbans değeri artmasına rağmen en uygun değer olarak %RSD 'ye bakılarak ve fazla gaz israfını önlemek amacıyla 160 mL/dk seçildi.

#### 3.2.1.2.4. Pompa hızının belirlenmesi

HGAAS sisteminde pompa hızının da analiz sonuçlarını etkileyeceği düşünülerek bu parametrenin de en uygun çalışma koşulları gerçekleştirildi. Pompa hızı 30, 35, 40, 45, 50 ve 60 değerlerinde 10 ng/mL Se çözeltisi ile denenerek okunan absorbans değerleri ile grafiğe geçirildi.

Çizelge 3.6. Pompa hızının Se absorbansına etkisi

| Pompa Hızı | Absorbans (10 ng/mL Se) | RSD% |
|------------|-------------------------|------|
| 30         | 0,189                   | 0,7  |
| 35         | 0,194                   | 3,4  |
| 40         | 0,195                   | 0,5  |
| 45         | 0,206                   | 1,3  |
| 50         | 0,207                   | 0,5  |
| 60         | 0,205                   | 0,6  |



Şekil 3.8. Pompa hızının Se absorbansına etkisi

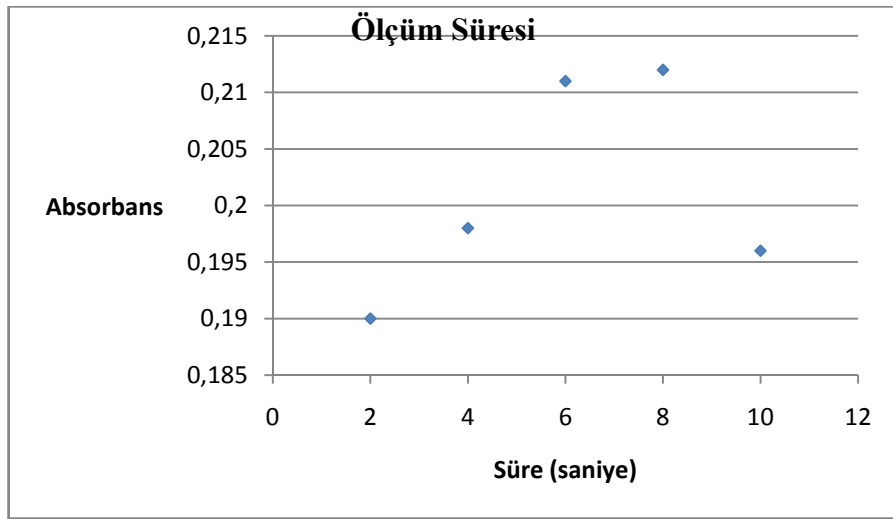
45 mL/dk, 50 mL/dk ve 60 mL/dk pompa hızı değerlerinde benzer absorbanslar elde edilmesine rağmen kendi içindeki tekrarlarında sapması en az olan 50 değeri optimum olarak kabul edildi.

### 3.2.1.2.5. Ölçüm süresinin belirlenmesi

Belirlenen en uygun koşullar kullanılarak ölçüm süresi için 2, 4, 6, 8 ve 10 saniye değerleri denendi.

**Çizelge 3.7.** Ölçüm süresinin Se absorbansına etkisi

| Ölçüm süresi(sn) | Abs   | RSD% |
|------------------|-------|------|
| 2                | 0,19  | 0,3  |
| 4                | 0,198 | 1    |
| 6                | 0,211 | 0,3  |
| 8                | 0,212 | 1,8  |
| 10               | 0,196 | 0,4  |



**Şekil 3.9.** Ölçüm süresinin Se absorbansına etkisi

En yüksek absorbans değeri veren ölçüm süresi olarak 6 saniye belirlendi (Şekil 3.9).

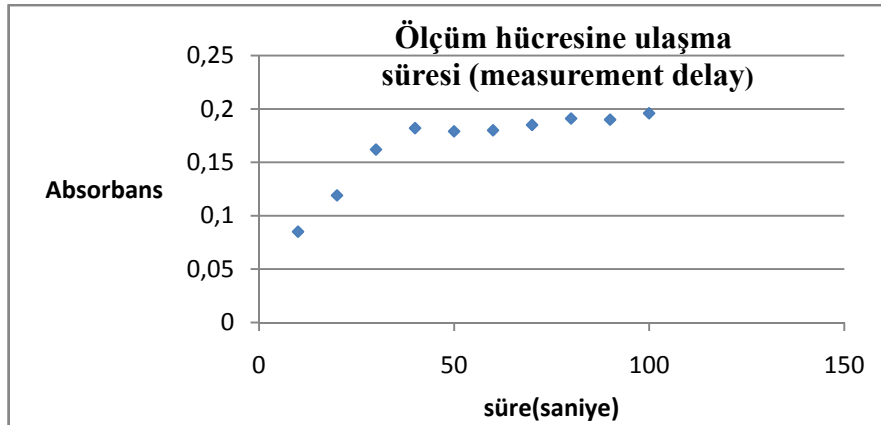
### 3.2.1.2.6. Ölçüm hücresine ulaşma süresinin (measurement delay) belirlenmesi

HGAAS sisteminde numunenin gaz-sıvı ayrımının gerçekleştiği reaksiyon kabına ulaşması için gerekli süre ölçüm geciktirme süresini ifade eder. Burada reaksiyon belirli bir süre sonunda kararlı hale geldiğinde uygun sinyal okunması gerçekleştirilebilir.

Bu çalışmada ölçüm hücresine ulaşma süresinin (10-100 saniye aralığında) 10 ng/mL Se çözeltisi ile absorbans değerleri elde edildi ve ölçüm geciktirme süresini değerlerine karşı grafiğe geçirildi. (Şekil 3.10). En yüksek absorbans değerini veren ölçüm geciktirme süresini belirlendi.

**Çizelge 3.8.** Ölçüm hücresine ulaşma süresinin Se absorbansına etkisi

| Ölçüm hücresine ulaşma süresi (saniye) | 10    | 20    | 30    | 40    | 50    | 60    | 70    | 80    | 90    | 100   |
|--|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Absorbans (10ng/mL Se)                 | 0,085 | 0,119 | 0,162 | 0,182 | 0,179 | 0,180 | 0,185 | 0,191 | 0,190 | 0,196 |



**Şekil 3.10.** Ölçüm hücresine ulaşma süresinin Se absorbansına etkisi

Ölçüm hücresine ulaşma süresini 10-100 aralığında denendi çünkü 110 değeri kullanılmaya çalışıldığında cihaz bu değeri kabul etmeyerek hata verdi. Görüldüğü gibi absorbans değerleri 60'dan sonra düzensiz bir artış gösterdiğinden en uygun değer olarak 60 kabul edildi.

### 3.2.1.3. HGAAS ile selenyum tayininde girişim etkilerinin incelenmesi

#### 3.2.1.3.1. Girişim etkileri

##### 3.2.1.3.1.1. Numune bileşenlerinin etkisi

Öncelikle numunelerdeki girişim yapabileceği tahmin edilen elementlerin minimum ve maksimum miktarları ICP-MS ve FAAS ile belirlendi.

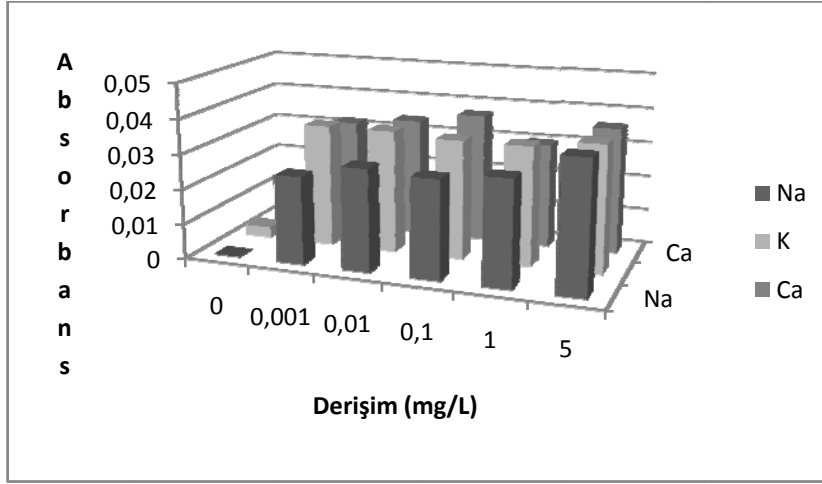
Çizelge 3.9. ICP-MS ile belirlenen en az ve en yüksek element miktarları

| Element                   | Na   | K    | Ca   | Mg   | Zn    | Mn     | Fe    | Cu     | Ni     | Al                    |
|---------------------------|------|------|------|------|-------|--------|-------|--------|--------|-----------------------|
| <b>Minimum</b><br>(mg/g)  | 4,37 | 1,42 | 0,14 | 0,33 | 0,006 | 0,0026 | 0,009 | 0,0014 | 0,0001 | 9,74x10 <sup>-5</sup> |
| <b>Maksimum</b><br>(mg/g) | 6,46 | 3,44 | 0,56 | 1,04 | 0,07  | 0,12   | 0,095 | 0,045  | 0,0005 | 0,0012                |

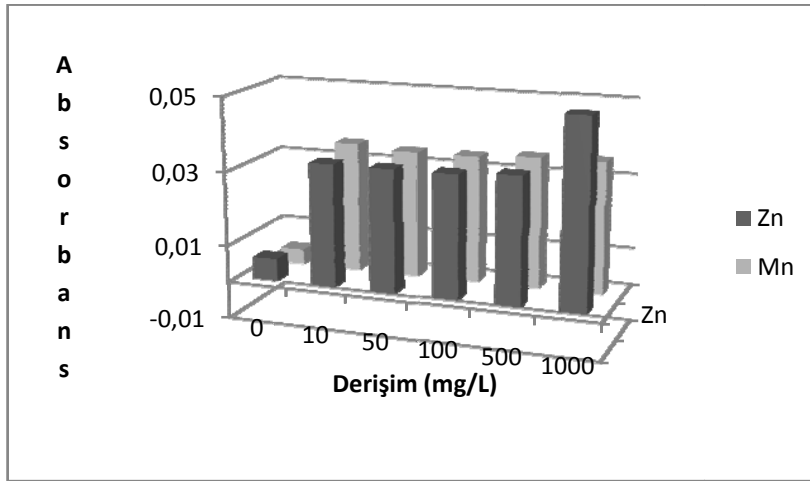
Çizelge 3.10. FAAS ile belirlenen en az ve en yüksek element miktarları

| Element                   | Na   | K    | Ca   | Mg   | Zn    | Mn    | Fe    | Cu     |
|---------------------------|------|------|------|------|-------|-------|-------|--------|
| <b>Minimum</b><br>(mg/g)  | 3,67 | 1,59 | 0,2  | 0,78 | 0,001 | 0,054 | 0,032 | 0,0009 |
| <b>Maksimum</b><br>(mg/g) | 5,22 | 2,95 | 2,38 | 2,53 | 0,16  | 0,11  | 0,18  | 0,089  |

Yöntemin kontrolü amacıyla selenyum tayini sırasında girişim yapabilecek elementlerin etkisi de incelendi. Numunelerde bulunması tahmin edilen Na, K, Ca, Mg, Zn ve Mn 'ın girişim etkisini incelemek amacıyla 10 ng/mL selenyum içeren çözeltilere artan derişimlerde girişim yapabilecek tür ilave edilerek selenyum tayinine olası girişimleri incelendi.

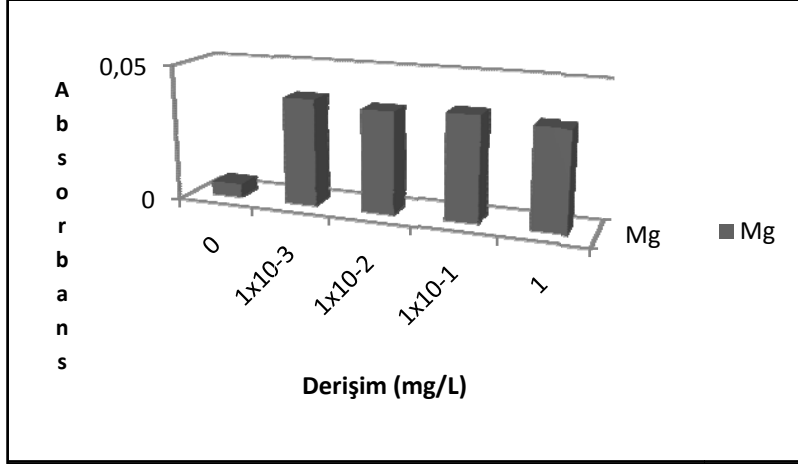


Şekil 3.11. Na, K, Ca derişiminin Se absorbansına etkisi



Şekil 3.12. Zn, Mn derişiminin Se absorbansına etkisi

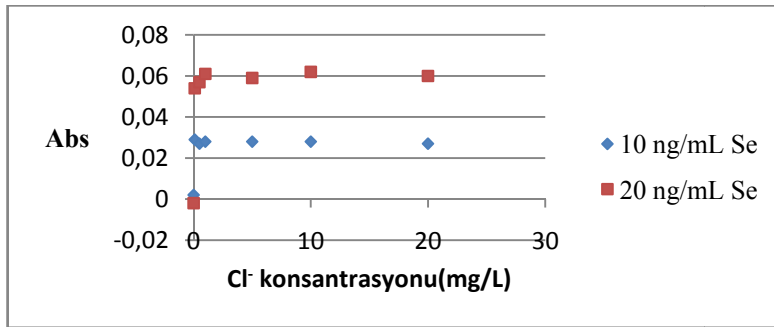




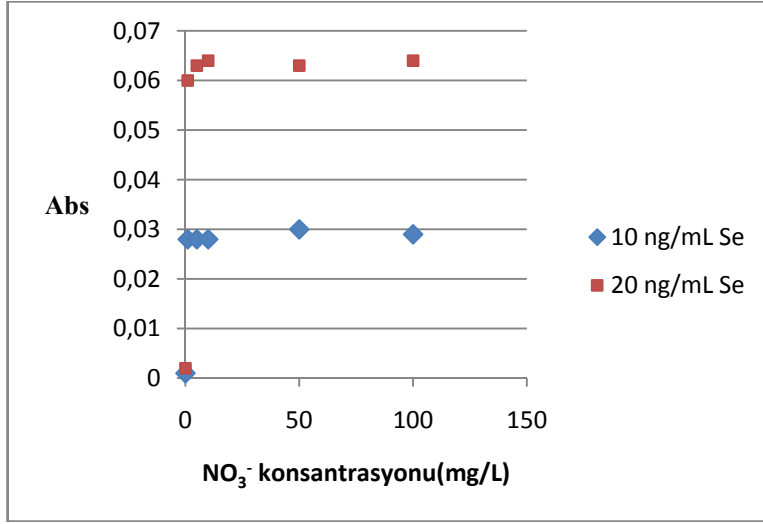
Şekil 3.13. Mg derişiminin Se absorbansına etkisi

### 3.2.1.3.1.2. Kullanılan asit etkileri

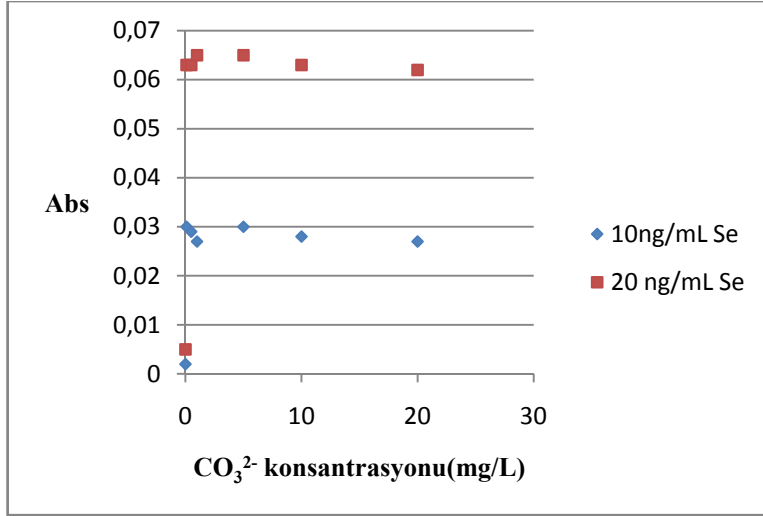
Çalışmada numunelerin çözünürleştirilmesi sırasında kullanılan asitlerin selenyum analizine girişim etkilerinin incelenmesi amacıyla analitik saflıktaki katılardan hazırlanan  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  ve  $\text{H}_2\text{O}_2$  çözeltileri artan derişimlerde 10 ve 20 ng/mL Se çözeltilerine eklenerek okunan absorbansa karşı derişim değerleri grafiğe geçirildi.



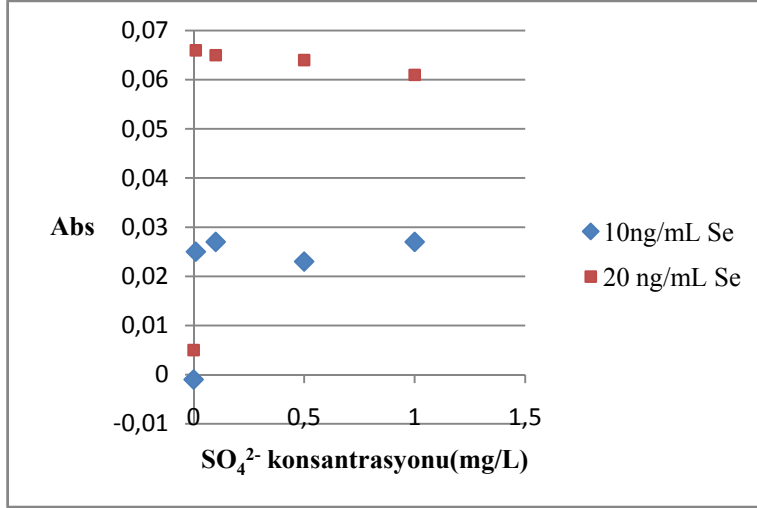
Şekil 3.14. Klorür ( $\text{Cl}^-$ ) anyonunun girişim etkisi



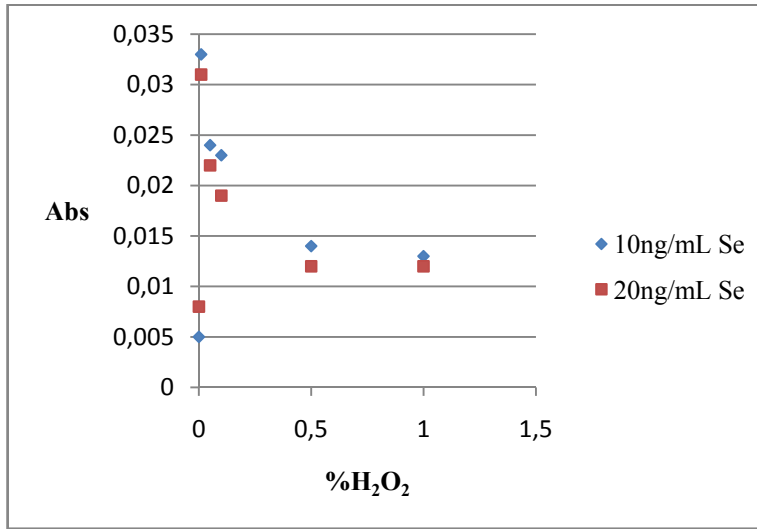
Şekil 3.15. Nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) anyonunun girişim etkisi



Şekil 3.16. Karbonat ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) anyonunun girişim etkisi

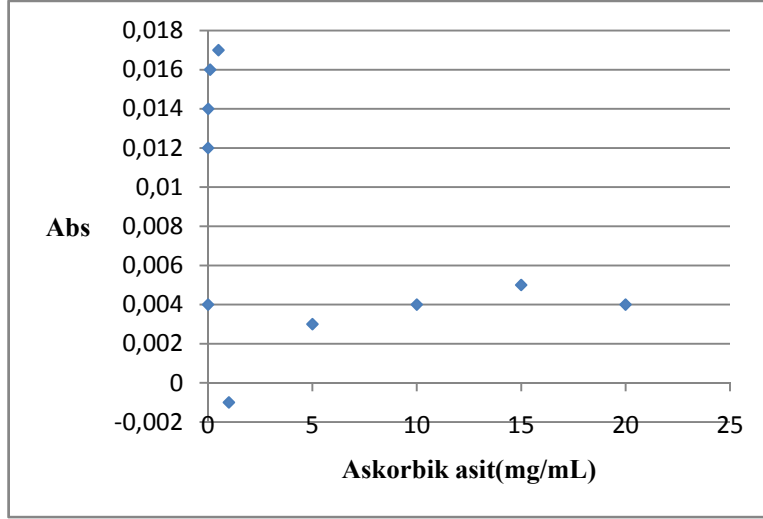


**Şekil 3.17.** Sülfat (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) anyonunun girişim etkisi



**Şekil 3.18.** H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> girişim etkisi

Ekmek yapımında koruyucu madde olarak sıklıkla kullanılan askorbik asidin seleniyuma karşı girişim etkisinin incelenmesi amacıyla aynı şekilde 10 ve 20 ng/mL selenyum çözeltilerine artan derişimlerde askorbik asit ilave edildi. Okunan absorbans değerleri farklı derişimlerde askorbik aside karşı grafiğe geçirildi.

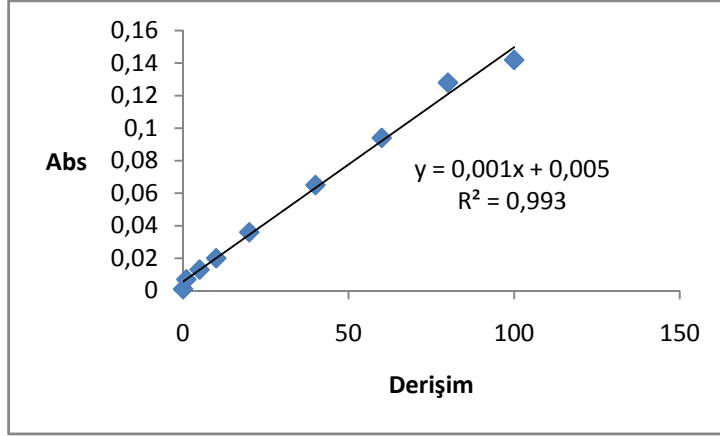


**Şekil 3.19.** Askorbik asidin girişim etkisi

Grafik incelendiğinde düşük derişimlerde eklenen askorbik asidin selenyum ile daha fazla girişim yaptığı görüldü.

#### **3.2.1.4. Belirlenen en uygun çalışma koşullarında HGAAS ile selenyum analizleri**

Çalışmada gerçekleştirilen en uygun çalışma koşulları sonrası açık sistem ve kapalı sistem çözünürleştirme ile hazırlanan numunelerin analizine başlandı. Öncelikle numunelerde selenyum derişiminin tespitinde kullanılacak kalibrasyon denklemi için 0,5 ng/mL, 1 ng/mL, 5 ng/mL, 10 ng/mL ve 20 ng/mL, 40 ng/mL, 60 ng/mL'lik Se(IV) kalibrasyon çözeltileri deneyin yapılacağı gün Se(IV) ara stok çözeltilisinin uygun oranlarda seyreltilmesiyle hazırlandı. Belirtilen numune hazırlama aşamalarından sonra elde edilen kalibrasyon denklemi grafik ile verildi. (Şekil 3.20)



**Şekil 3.20.** Selenyum kalibrasyon grafiği

Açık sistem çözünürleştirme kullanılarak hazırlanan numunelerde çözünürleştirme sırasında selenyum kaybı ve kullanılan asit girişimlerinden dolayı HGAAS ile tespit edilemedi. Mikrodalga çözünürleştirme ile hazırlanan numunelerde selenyum analiz sonuçları ise çizelge 3.12’de görülmektedir.

**Çizelge 3.11.** HGAAS ile yapılan Se analiz sonuçları (n=3)

| Numune         | Se (µg/g) |
|----------------|-----------|
| Kepek ekmeği 1 | 0,7±0, 1  |
| Kepek ekmeği 2 | 0,6±0, 1  |
| Kepek ekmeği 3 | 2,1±0,1   |
| Kepek ekmeği 4 | 1,5±0,1   |
| Kepek ekmeği 5 | 0,6±0,1   |
| Beyaz ekmek 1  | 1,1±0, 1  |
| Beyaz ekmek 2  | 0,2±0, 1  |
| Beyaz ekmek 3  | 1,3±0,1   |
| Beyaz ekmek 4  | 0,3±0,1   |
| Beyaz ekmek 5  | 0,5±0,1   |

**Çizelge 3.11.** HGAAS ile yapılan Se analiz sonuçları (n=3) (devamı)

| Numune                   | Se ( $\mu\text{g/g}$ ) |
|--------------------------|------------------------|
| Çavdar ekme $\text{k}$ 1 | 0,3 $\pm$ 0, 1         |
| Çavdar ekme $\text{k}$ 2 | 0,6 $\pm$ 0, 1         |
| Çavdar ekme $\text{k}$ 3 | 0,2 $\pm$ 0, 1         |
| Çavdar ekme $\text{k}$ 4 | 1,4 $\pm$ 0,1          |
| Çavdar ekme $\text{k}$ 5 | 0,3 $\pm$ 0,1          |
| Simit                    | 0,2 $\pm$ 0,1          |
| Açma                     | 1,8 $\pm$ 0,1          |

**Çizelge 3.12.** HGAAS ile yapılan un ve referans maddelerde Se analiz sonuçları (n=3)

| Numune  | Se ( $\mu\text{g/g}$ ) |
|---|------------------------|
| Kepek un  | 1,2 $\pm$ 0,1          |
| Beyaz un  | 0,3 $\pm$ 0,1          |
| Çavdar un   | 1,3 $\pm$ 0,1          |
| Çinko katmalı un                                      | 1,3 $\pm$ 0,1          |
| Standart Referans<br>Madde(un)<br>(1567a wheat flour) | 1,2 $\pm$ 0,1          |
|   | 1,1 $\pm$ 0,2          |
| Kuru maya   | 0,7 $\pm$ 0,1          |
| Yaş maya  | 0,1 $\pm$ 0,1          |

**Çizelge 3.13.** Evde yapılan ekmeklerde Se analiz sonuçları (n=3)

| Numune (Kendi yaptığımız) | Se ( $\mu\text{g/g}$ ) |
|---------------------------|------------------------|
| Kepek ekme $\text{k}$     | 1,8 $\pm$ 0,1          |
| Beyaz ekme $\text{k}$     | 1,0 $\pm$ 0,1          |

**Çizelge 3.13.** Evde yapılan ekmeklerde Se analiz sonuçları (n=3)(devamı)

| <b>Numune (Kendi yaptığımız)</b>                            | <b>Se (µg/g)</b> |
|---|------------------|
| <b>Kepek ekmek<br/>(Se katkılı maya ile<br/>hazırlanan)</b> | 2,2±0,1          |
| <b>Beyaz ekmek<br/>(Se katkılı maya ile<br/>hazırlanan)</b> | 1,3 ± 0,1        |

### 3.2.2. ICP-MS ile element analizleri

Kullanılan cihaza ait bazı parametreler aşağıdaki tabloda gösterilmektedir.

**Çizelge 3.14.** ICP-MS için aletsel değişkenler

|                      |              |
|----------------------|--------------|
| <b>RF Power</b>      | <b>1559W</b> |
| <b>Smpl Depth</b>    | 7.7mm        |
| <b>Carrier Gas</b>   | 0.9L/min     |
| <b>Makeup Gas</b>    | 0.2L/min     |
| <b>S/C Temp</b>      | 2degC        |
| <b>Extract 1</b>     | 4.7V         |
| <b>Extract 2</b>     | -112V        |
| <b>Omega Bias-ce</b> | -14V         |
| <b>Omega Lens-ce</b> | 0.8V         |
| <b>Cell Entrance</b> | -30V         |
| <b>QP Focus</b>      | 5V           |
| <b>Cell Exit</b>     | -30V         |
| <b>OctP Bias</b>     | -6V          |
| <b>QP Bias</b>       | -3V          |

Farklı derişimlerdeki elementlerin aynı anda analizine olanak sağlayan ICP-MS de numune içerisindeki elementler ICP kısmında iyonlaştırıldıktan sonra kütle

spektroskopisine gönderilerek kütle/yük oranlarına göre ayrılıp ölçülür. Numunelerin ICP-MS analizleri hizmet alımı şeklinde Bursa Gıda Kontrol ve Merkez Araştırma Enstitüsünce gerçekleştirilmiştir.

**Çizelge 3.15.** Ekmek ve unlu mamullerde ICP-MS ile yapılan bazı elementlerin analiz sonuçları

| <b>Numune</b>           | <b>Al(mg/g)</b> | <b>Mn(mg/g)</b> | <b>Fe(mg/g)</b> | <b>Cu(mg/g)</b> | <b>Zn(mg/g)</b> |
|-------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| <b>Kepek ekmeği 1</b>   | 0,01            | 0,02            | 0,03            | 0,01            | 0,01            |
| <b>Çavdar ekmeği 1</b>  | 0,01            | 0,01            | 0,02            | 0,01            | 0,01            |
| <b>Beyaz ekmeği 1</b>   | 0,01            | 0,01            | 0,02            | 0,01            | 0,01            |
| <b>Beyaz ekmeği 2</b>   | 0,01            | 0,02            | 0,03            | 0,01            | 0,02            |
| <b>Kepek ekmeği 2</b>   | 0,01            | 0,03            | 0,03            | 0,01            | 0,02            |
| <b>Çavdar ekmeği 2</b>  | 0,01            | 0,01            | 0,04            | 0,01            | 0,03            |
| <b>Beyaz ekmeği 3</b>   | 0,04            | 0,01            | 0,01            | 0,01            | 0,01            |
| <b>Kepek ekmeği 3</b>   | 0,01            | 0,03            | 0,03            | 0,01            | 0,01            |
| <b>Çavdar ekmeği 3</b>  | 0,03            | 0,01            | 0,04            | 0,01            | 0,01            |
| <b>Simit</b>            | 0,01            | 0,01            | 0,02            | 0,01            | 0,01            |
| <b>Açma</b>             | 0,01            | 0,01            | 0,01            | 0,01            | 0,01            |
| <b>Beyaz un</b>         | 0,01            | 0,01            | 0,03            | 0,01            | 0,02            |
| <b>Kepekli un</b>       | 0,01            | 0,02            | 0,02            | 0,01            | 0,01            |
| <b>Çavdar unu</b>       | 0,01            | 0,01            | 0,02            | 0,01            | 0,01            |
| <b>Çinko katmalı un</b> | 0,03            | 0,12            | 0,09            | 0,04            | 0,16            |
| <b>Yaş maya</b>         | 0,01            | 0,01            | 0,01            | 0,01            | 0,03            |
| <b>Kuru maya</b>        | 0,01            | 0,01            | 0,03            | 0,01            | 0,06            |



### 3.3. Tartışma ve Sonuç

Hidrür oluşturabilen elementlerin tayininde kullanılan HGAAS cihazı ile ekmek ve unlu mamullerde selenyum tayini için gerekli optimum deneysel koşullar belirlendi ve numunelerin analizleri tespit edilen en uygun çalışma koşullarında gerçekleştirildi. Bu yöntem,  $\text{NaBH}_4$  çözeltilisi yardımı ile selenyumun hidrürü ( $\text{SeH}_2$ ) oluşturularak taşıyıcı gaz ile kuvars atomlaştırıcıya gönderilen hidrürlerin atomik absorpsiyon spektroskopisi ile tayin edilmesi prensibine dayanmaktadır.

AAS ile eser elementlerin tayini, örnek hazırlama aşamasından gelen hatalar ve deney ortamında ortaya çıkan girişimler nedeniyle daha zordur. Hidrür oluşturmali AAS tekniği Se analizi için diğ er AAS teknikleriyle karşılaştırıldığında numunenin hidrür oluşturma kabında kalması dolayısıyla alevli ve elektrotermal ısıtmalı tekniklerden daha az girişim etkisi görülmektedir. Ayrıca HGAAS tekniği ile ng/mL (ppb) seviyesinde tayin yapılabilmesi zenginleştirme işlemlerine gereksinimi azaltmaktadır.

Bu çalışmada numunelerin hazırlanmasında açık sistem ve mikrodalga ısıtmalı çözünürleştirme yöntemleri kullanıldı. Elde edilen veriler incelenerek mikrodalga ısıtmalı çözünürleştirmenin HGAAS için daha uygun olduğu belirlendi. Mikrodalga ısıtmalı çözünürleştirmenin avantajları arasında basınç kontrollü ortam kullanıldığı için daha az asit tüketimi, kapalı sistem olduğu için uçucu türlerin kayıplarının az olması yanında çevresel etkileşimleri de azaltması yer almaktadır.

Girişim etkileri incelendiğinde, Şekil 3.11.'den görüldüğü üzere 5 mg/L düzeyine kadar selenyum sinyaline Na, K, Ca türlerinin pozitif etkisi olduğu görülmektedir. Bu elementler alev ortamında oksitlerini veya hidroksitlerini oluşturabilir ve moleküler bant oluşumuna sebep olur. Bu bantların, absorpsiyon sinyalini şiddetlendirdiği bilinmektedir. Ekmek katkı maddeleri, bileşenlerine bağlı olarak ekmek üretimi esnasında veya ürün kalitesinin artırılması amacıyla kullanılmaktadır. Türk gıda kodeksi katkı maddeleri uyarınca ekmeklere ve unlu mamullere askorbik asit (E300) katılmasına izin

verilmektedir. Çalışmada askorbik asidin 5 mg/mL' nin üstünde bulunması selenyum sinyali üzerinde etkin olmadığı gözlenirken 5 mg/mL' nin altında pozitif etki gözlendi. Belirtilen elementlerin selenyum sinyali üzerine etkisi 3. Bölüm numune bileşenlerinin girişim etkileri başlığı altında ayrıntılı olarak incelendi.

Bu çalışmada HGAAS ile gerçekleştirilen selenyum analizlerine bakıldığında; ekmek ve unlu mamullerin selenyum düzeylerinin ekmek ve unun çeşidine, farklı markalara göre değişiklik gösterdiği belirlendi.

**Çizelge 3.16.** Farklı ülkelerde çeşitli yöntemler ile yapılan selenyum analiz sonuçları karşılaştırılması

| Ülke              | Örnek         | Se( $\mu\text{g/g}$ ) | Metod   | Kaynak                     |
|-------------------|---------------|-----------------------|---------|----------------------------|
| <b>İrlanda</b>    | Beyaz ekmek   | 0,07                  | HG-AAS  | Murphy ve Cashman, 2001    |
|                   | Kepek ekmek   | 0,11                  |         |                            |
| <b>Mısır</b>      | Beyaz ekmek   | 0,2-0,27              | HG-AAS  | Hussein ve Bruggeman, 1999 |
| <b>Yunanistan</b> | Beyaz ekmek   | 0,07-0,13             | HG-AFS  | Pappa ve ark. , 2006       |
| <b>Kore</b>       | Beyaz ekmek   | 0,05-0,22             | ICP-MS  | Choi ve ark., 2009         |
| <b>Türkiye</b>    | Ekmek         | 0,05                  | INAA    | Aras ve ark., 2001         |
|                   | Un            | 0,08                  |         |                            |
| <b>Türkiye</b>    | Beyaz ekmek   | 1,15                  | ICP-OES | Gülfen M., 2012            |
|                   | Kepek ekmeği  | 1,20                  |         |                            |
| <b>Türkiye*</b>   | Beyaz ekmek   | 0,2-1,5               | HG-AAS  | Buçalışmada                |
|                   | Kepek ekmeği  | 0,5-2,1               |         |                            |
|                   | Çavdar ekmeği | 0,2-1,4               |         |                            |
|                   | Un            | 0,3-1,3               |         |                            |

Çizelge 3.16'da ekmek içerisindeki Se miktarının farklı ülkelerde çeşitlilik gösterdiği görülmektedir. Bu, unların içeriğindeki selenyum düzeylerinin farklılıktan kaynaklanıyor olabilir. Kepek ununun ve beyaz un üretiminde gerçekleştirilen rafinasyon aşamaları selenyum düzeyine etki edebilir. Sonuçlara bakıldığında diğer ekmek türlerine kıyasla kepek ekmeğinin selenyum içeriğinin daha yüksek olduğu gözlenmektedir. Un üretiminde kabuk kısmı denilen kepek kısmı, buğdayın un elde edilen endosperm kısmından ayrılır. Mineral birikimi de bu kısımda olduğundan selenyum düzeyinin yüksek olması bu etkene bağlanabilir. Simit ve açma numunelerinde ise açmadaki selenyum düzeyinin daha fazla olduğu görülmektedir. Açma yapımında üzerine sürülen yumurtanın selenyum miktarının fazla olması bu farkı açıklamaktadır.

Yapılan çalışmalara göre günlük ekmek tüketimi ortalama 500 gramdır (Tas et al.,2000). Analiz sonuçları incelendiğinde, günlük tüketilen ekmek miktarı selenyum ihtiyacımızı fazlasıyla karşılıyor gibi görülmekte alınan selenyumun tamamının metabolizmaya alınamayacağına dikkat edilmelidir. Metabolizma tüketilen selenyumun yaklaşık %30'u kadarını alabileceğinden insan sağlığı açısından biyoyararlılık çalışmalarının gerçekleştirilmesi de önem taşımaktadır.

## KAYNAKLAR

- Ahmed, Y.A. , Landsberger, S., O’Kelly, D.J., Braisted, J., Gabdo, H., Ewa, I.O.B., Umar, I.M., Funtua, I.I. 2010.** Compton suppression method and epithermal NAA in the determination of nutrients and heavy metals in Nigerian food and beverages. *Applied Radiation and Isotopes*, 68 : 1909–1914.
- Bulska, E., Swiatek, J., Wierzbicka, M. 2004.** HPLC–ICP-MS speciation of selenium in enriched onion leaves –a potential dietary source of Se-methylselenocysteine. *Food C*
- Dedina, J., Tsalev, D.L. 1995.** Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry. *Willey*, Chichester, 274-310. *Chemistry*, 86:617-623.
- Demirözüt, B., Saldamlı İ., Gürsel B., Uçak, A., Çetinyokuş, F., Yüzbaşı, N. 2003.** Determination of Some Metals Which are Important for Food Quality Control in Bread. *Journal of Cereal Science* ,37:171-177.
- Ellis, D.R., Salt, D.E. 2003.** Plants, seleniuö and human health. *Current Opinion in Plant Biology*, 6: 273-279.
- Finley, W.J., Matthys, L., Shuler, T., Korynta, E. 1996.** Selenium content of foods purchased in North Dakota. *Nutr. Res.*, 16(5): 723-728.
- Gosetti, F., Frascarolo, P., Polati, S., Medana, C., Gianotti, V., Palma, P., Aigotti, R., Baiocchi, C., Gennaro ,M.C. 2007.** Speciation of selenium in diet supplements by HPLC–MS/MS methods. *Food Chemistry*, 105: 1738-1747.
- Holak, W. 1969.** Gas-sampling technique for arsenic determination by atomic absorption spectrometry. *Anal. Chem.*, 41: 1712.
- Inam, R., Somer, G. 1999.** Determination of selenium in garlic by cathodic stripping Voltammety. *Food Chemistry*, 66: 381-385.
- İzgi, B., Güçer, Ş., Jacimovic, R. 2006.** Determination of selenium in garlic (*Allium sativum*) and onion (*Allium cepa*) by electro thermal atomic absorption spectrometry. *Food Chemistry*, 99 (3): 630-637.
- İzgi, B. 2001.** Biyolojik ve Gıda Örneklerinde Selenyum Tayini ve Fraksiyonlama Çalışmaları. Doktora Tezi, UÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Bursa.
- Klapec, T., Mandic, M.L., Grgic, J., Primorac, L., Perl, A., Krstanovic, V. 2004.** Selenium in selected foods grown or purchased in eastern Croatia, *Food Chemistry*, 85 445-452.
- Lajunen, L.H.J. 1992.** Spectrochemical Analysis by Atomic Absorption and Emission, The Royal Society of Chemistry, The Bath Press.
- Mester, Z., Fodor, P. 1998.** Selenium speciation with on-column preconcentration high-performance liquid chromatography – atomic fluorescence spectrometry using ultrasonic nebulization technique. *Analytica Chimica Acta*, 386: 89-97.
- Murphy, J., Cashman, K.D. 2001.** Selenium content of a range of Irish Foods, *Food Chemistry*, 74:493-498.
- Nyarko, B.J.B., Akaho, E.H.K., Fletcher, J.J., Chatt, A. 2008.** Neutron Activation analysis for Dy, Hf, Rb, Sc and Se in some Ghanaian cereals and vegetables using short-lived nuclides and Compton suppression spectrometry. *Applied Radiation and Isotopes*, 66: 1067–1072.
- O’Brien, G., Jolley, D., Morrison, J. 2003.** Evoluation of chemical contaminant and toxicology studies, part 2-case studies of Selenium and Arsenic. *S.Pac. J. Nat.Sci.*, 21: 6-14.

- Olivas, R. M., Donard, O.F.X. 1994.** Analytical techniques applied to speciation of selenium in environmental matrices. *Analytical Chimica Acta*, 286: 357-370.
- Oliveira, A.P., Neto, J.A.G., Nobrega, J.A., Correia, P.R.M., Oliveira, V.O. 2005.** Determination of selenium in nutritionally relevant foods by graphite furnace atomic absorption spectrometry using arsenic as internal Standard. *Food Chemistry*, 93: 355-360.
- Papa, E.C., Pappa, A.C., Surai, P.F.2006.** Selenium content in selected foods from the greek market and estimation of the daily intake, *Science of The Total Environment*, 372: 100-108.
- Pekcan G, Köksal E., Küçükerdönmez Ö., Özel H., 2006.** FAO Statistics Division Working Paper Series. No. ESS/ESSA/006 e.(www.fao.org).
- Rayman, M. P. 2000.** The Importance of Selenium to human health. *Lancet*, 356:233-241.
- Reilly, C. 1998.** Selenium: A new entrant into the functional food arena. *Trends Food Sci. Techn.*, 9: 114-118.
- Singh, V., Garg, A.N. 2006.** Availability of essential trace elements in Indian cereals, vegetables and spices using INAA and the contribution of spices to daily dietary intake. *Food Chemistry*, 94:81-89.
- Simsek, A., Sarı F., Artık, N. 2004.** Selenyumun insan beslenmesi ve sağlığı açısından önemi. *Anadolu University J. of Science and Technology*, 2: 245- 251.
- Speranskaya, E.F. 1962.** Polarographic waves of Se(IV) and Te(IV). *Z. Anal. Khim.*, 17: 347.
- Stabnikova, O., Ivanov, V., Larionova, I.,Stabnikov, V., Bryszewska, M.A., Lewis, J. 2008.** Ukrainian dietary bakery product with selenium-enriched yeast. *LWT*, 41: 890-895.
- Tas, A. A., . El, S.N.2000.** Determination of nutritionally important starch fractions of some Turkish breads. *Food Chemistry* 70 : 493±497.
- Tinggi, U. 2003.** Essentiality and Toxicity of Selenium and status in Australia:a Review, *Toxicology Letters*, 137: 103-110.
- Win, D.T. 2003.** Selenium: Atomic Number 34, Mass Number 78.96. *AU J.T.* 7(1):1-7
- Wrobel, K., Wrobel, K., Kannamkumarath, S.S., Caruso, J.A., Wysocka , I.A., Smorkloj, P., Stibilj, V. 2004.** Determination of Selenium in vegetables by hydride generation atomic fluorescence spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 512: 11-17.
- Zheng, J., Goessler, W., Kosmus, W. 1998.** The chemical forms of selenium in selenium nutritional supplements: an investigation by using HPLC/ICP/MS and GF/AAS. *Trace Elements and Electrolytes*, 15(2): 70-75.

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Muazzez Ersoy

Doğum Yeri ve Tarihi : Bulgaristan - 26/02/1986

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Çemberlitaş Kız Lisesi

Lisans : Uludağ Üniversitesi-Kimya

Yüksek Lisans : Uludağ Üniversitesi-Analitik Kimya

İletişim (e-posta) :muazzezersoy1@gmail.com

