

UYGULAMA NOTU

Atomik Absorpsiyon Spektrofotometre

A001

AA ile İnsan Tam Kan Örneklerinde Soğuk Buhar ile Atomlaştırma (HVG) Tekniği ile Civa Analizi

HAZIRLAYAN

Yük. Kimyager Hakan AKTAŞ
Ant Teknik Cihazlar Ltd. Şti.

KONU:

İnsan tam kan örneklerinde AA - soğuk buhar ile atomlaştırma (HVG) tekniği ile civa analizi

ÇALIŞMANIN AMACI:

Bu prosedür tam kan örneklerinde civa miktarının AA ile saptanması amacıyla kullanılacak olan soğuk buhar ile atomlaştırma yöntemini açıklamaktadır.

Çevremizde civa maruz kalma olasılığı hatırı sayılı derecede bulunmaktadır. Örneğin, pek çok elektrik prizinde civa bir iletici olarak kullanılır. Eski evlerdeki termostatlar elemental civa içerirler. Civa kağıt hamur ve kağıt endüstrisinde beyazlatıcı olarak yaygın kullanılır; kağıt fabrikalarından açığa çıkan atık sıvılar bilinen civa kaynaklarıdır. Civa üretim endüstrisinde plastik sentezinde katalizör olarak kullanılır ve güçlü bir fungusit olduğundan lateks boyalar ve kirliliği engelleyici boyalarda sık bulunur. Deniz ürünlerinde de eser miktarlarda civa vardır. Ticari yolla satılan, yemek açısından emniyetli olan balıklarda civa miktarı 0,3 µg/g' dan azdır. Fakat bazı av balıkları 2 µg/g' dan fazla civa içerirler ve düzenli olarak bunlar ile beslenilirse vücutta civa birikimine yol açabilirler. Civa diş amalgam kitlesinin yaklaşık % 50' den fazlasını oluşturur. Doğada en büyük civa kaynağı granit kayalardan olan sızıntılardır; bu kaynak doğadaki civa birikiminin % 50' sinden sorumludur.

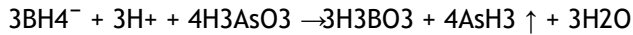
Kanda ve idrarda bulunan civa miktarı toksisite derecesi ile korelasyon gösterir. Normal tam kan civa düzeyi genelde 10 µg/L' den düşüktür. Meslekleri nedeni ile ılımlı miktarlarda civa maruz kalan bireylerde kanda rutin olarak 15 µg/L' ye varan civa düzeyleri belirlenir. Tam kan civa düzeyi 50 µg/L' den yüksek ise anlamlı maruziyete işaret etmektedir. WHO' ya (Dünya Sağlık Örgütü) göre günlük idrar ekskresyonunun 50 µg' dan yüksek olması önemli miktarlara maruz kalındığının işaretidir.

Bu analiz metodu; insan tam kan örneklerini kapsar.

METOD ve MATERYALLER:

Hidrür ile Atomlaştırma (Soğuk Buhar Tekniği)

Hidrür atomlaştırma teknikleri arsenik, civa, kalay, selenyum, antimon, bizmut elementlerinin hidrür buharları şeklinde atomlaştırıcıya verilmesi yoluyla gerçekleştirilir. Bu elementlerin oldukça toksik olmaları sebebiyle düşük derişimlerinin tayininde hidrür atomlaştırıcılar kullanılır. Hidrür reaksiyonunu genellikle akış-enjeksiyon sistemi kullanılarak taşıyıcı reaktif (HCl), indirgen (NaBH₄ veya SnCl₂) ve analit çözeltisinin karışması sonucunda gerçekleşir. Yalnızca civa analizi için indirgen olarak SnCl₂ kullanılarak daha düşük deteksiyon limitleri elde edilebilir.



Bir peristaltik pompa yardımıyla çekilen taşıyıcı reaktif ve indirgen analit çözeltisi ile karıştırılır ve karışma bloğuna (separatör) gönderilir. Karışma bloğundan gaz - sıvı ayırıcısına gelen hidrür buharları atomlaşmanın gerçekleşeceği 'T' tüpe (absorption cell) taşıyıcı argon gazı ile taşınır.



ANALİTİK KOŞULLAR:

1. AAS (Shimadzu AA-7000)
2. HVG-1 Hidrür Buhar Jeneratör Ünitesi
3. Mikrodalga Fırın
4. Sertifikalı Referans Materyal: (CRM) Seronorm Trace Element Whole Blood

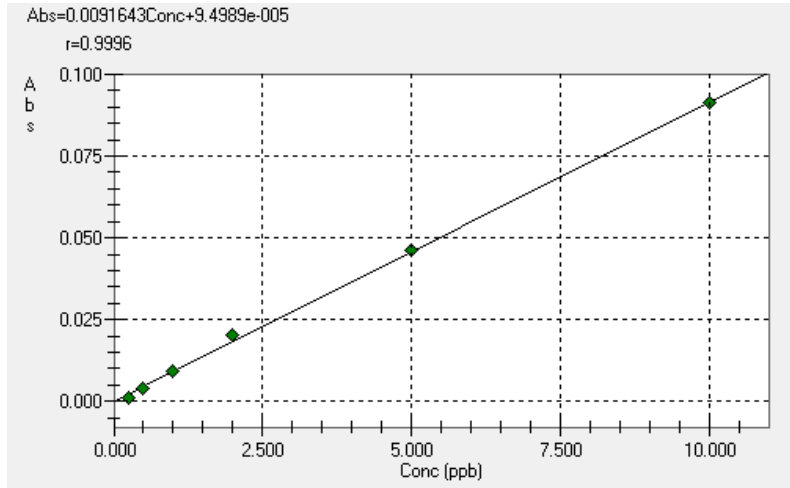
KULLANILAN KİMYASALLAR VE KİMYASALLARIN HAZIRLANIŞI:

- Merck Titrisol Civa standart solüsyonu (1g/l)
- Merck Hidrojen Peroksit
- Merck Sodyum Hidroksit, 1.06462
- Merck Hidroklorik Asit , 1.00314, % 37, d = 1,19 kg/L
- Merck Nitrik Asit 1.00441,%65(w/v), d = 1,40 kg/L
- Merck Sodyumborhidrür 1.015669

Çözelti ve Kimyasal Hazırlama :

- Civa standart solüsyonu (Titrisol) 1L lik balon jojeye aktarılarak ultra saf ile hacmine tamamlanır. Elde edilen ana stok standart 1000 mg/l=1000 ppm 'dir.
- İndirgen Çözelti : % 0,2 (w/v) NaBH₄ ile % 0,05 (w/v) NaOH : 2 g NaBH₄ ve 0,5 g NaOH tartılarak 1 L saf su içinde çözüldü. (HVG ünitesi için)
- Seyreltme Çözeltisi % 2 (v/v) HNO₃ : 31 mL % 65' lik d = 1,41 g/mL derisik HNO₃ den alınarak 1 L' ye saf su ile tamamlandı.
- Taşıyıcı Çözelti olarak kullanılacak % 3' lük (v/v) HCl çözeltisi 1 L' lik balon jojelerde hazırlandı. (% 3 (v/v) HCl : 81 mL % 37' lik d = 1,18 derisik HCl den alınarak 1 L' ye saf su ile tamamlandı.)

Standart kalibrasyon grafiği için standartları hazırlanırken 1000 mg/L civa standartından, önce 100 kat seyreltilerek 10 mg/L birinci ara standart çözeltisi hazırlandı. Daha sonra 10 mg/L birinci ara standart çözeltisi 100 kat seyreltilerek 100 µg/L' lik ikinci ara standart çözeltisi hazırlandı. 0,25 - 0,5 - 1 - 2 - 5 - 10 µg/L çalışma standartları 100 µg/L ikinci ara standart çözeltiden uygun hacim oranlarında seyreltilerek hazırlandı. Hazırlama işlemleri sırasında seyreltme işlemleri % 0,2' lik (v/v) HNO₃ çözeltisi ile yapıldı.



Örneğin seyreltme miktarları : Tam Kan için 1/10 ile 1/20 arasında seyreltme işlemi uygulanabilir.

Action	Sample ID	Graph	X	M	Q	True Value (ppb)	Conc. (ppb)	Abs.
AUTOZERO								
BLK-AV								0.0003
STD-AV						0.2500	0.1272	0.0014
STD-AV						0.5000	0.4546	0.0044
STD-AV						1.0000	0.9785	0.0092
STD-AV						2.0000	2.1900	0.0203
STD-AV						5.0000	5.0605	0.0466
STD-AV						10.0000	9.9392	0.0913

Örnek ve Şahit Numune Hazırlama ;

Kör/Şahit numune için, boş mikrodalga tüplerine 5 ml Nitrik Asit (HNO₃) ve ardından 2 ml Hidrojen Peroksit (H₂O₂) ilave edilerek paralel çalışılacaksa paralel sayısı kadar bu şekilde kör numune hazırlanır. Hazırlanan bu numune tüpleri mikrodalga fırında 1 saat 200°C' de yakma işlemine tabii tutulur. Yanma işlemi bittikten sonra 30 dakika soğumaya bırakılır. Elde edilen yanmış örneğin son hacmi 20 ml olacak şekilde (5 ml %65(w/v) HNO₃ ve 2 ml Hidrojen Peroksit beraberinde) hacmine tamamlanır.

Örnek numune için , 1 ml Tam Kan örneği üzerine 5 ml Nitrik Asit (HNO₃) ve ardından 2 ml Hidrojen Peroksit (H₂O₂) ilave edilerek mikrodalga fırında yakma işlemine tabii tutulur. Yakma ve soğutma işlemleri numune için de yukarıda belirtildiği gibi yapılır. Elde edilen yanmış örneğin son hacmi 20 ml olacak şekilde (5 ml %65 (w/v) HNO₃ ve 2 ml Hidrojen Peroksit beraberinde) hacmine tamamlanır.

Kontrol Hazırlama:

Seronorm Marka (CRM) kontrolden 1 ml alınarak örnek hazırlama işlemlerinde olduğu gibi üzerine 5 ml Nitrik Asit (HNO₃) ve ardından 2 ml Hidrojen Peroksit (H₂O₂) ilave edilerek mikrodalga fırında yakma işlemine tabii tutulur. Yakma ve soğutma işlemleri numune için de yukarıda belirtildiği gibi yapılır. Elde edilen yanmış örneğin son hacmi 20 ml olacak şekilde (5 ml %65 (w/v) HNO₃ ve 2 ml Hidrojen Peroksit beraberinde) hacmine tamamlanır.

Yapılan çalışmada Seronorm Trace Element Whole Blood L-2 (LOT 1103129) kullanılmıştır. Aşağıda bu kontrollerin referans değerleri gösterilmiştir.

	litik Değer	erans Aralık
(Seronorm_Tam Kan_ L-2)	ppb (µg/L)	-22,4 ppb(µg/L)

Optik Parametreler:

Dalgaboyu :253.7 nm
Slit aralığı : 0.7 nm
Lamba Modu : BGC-D2
Lamba Akımı : 4 mA

Ölçüm Parametreleri:

Ön Çekiş Süresi: 10 sn
İntegrasyon Süresi : 3 sn
Yanıtlama Süresi : 1 sn
Akış Enjeksiyon Süresi : 5-6 ml/dk Argon ile sağlanır.

ANALİTİK SONUÇLAR

Yapılan insan tam kan kontrol çalışmalarında seronorm kontrol değeri 0.72 ppb gözlenmiş olup, DF:20 faktörüyle hesaplandığı 14,4 ppb tam kan sonuç bulunmuştur. Ayrıca hasta tam kan ve idrar sonuçları ise referans aralıklarda çıktığı gözlenmiştir.

Çalışmalarımız **Delta Analiz Laboratuvarı'nda** gerçekleştirilmiştir.

Desteklerinden dolayı kendilerine teşekkürlerimizi sunarız.

Bu Aplikasyon Notu uygulamanın gerçekleştirildiği tarihe ait bilgiler ışığında oluşturulmuştur.
Bu yayında yer alan bilgilerin referans gösterilerek başka bir yerde kullanılması Ant Teknik'in iznine tabidir.
Aplikasyon Notu Ant Teknik tarafından önceden bildirilmeksizin değiştirilebilir.