

Araştırma Makalesi/Research Article (Original Paper)

Enerji Dağılım X-Ray Floresan Spektroskopisi İle Bitki Besin Elementi Analizleri

Kağan Tolga CİNİSLİ, Müdahir ÖZGÜL*

Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak ve Bitki Besleme Bölümü, Erzurum, Türkiye
*e-posta: mozgul@atauni.edu.tr

Özet: Son yıllarda tarımsal üretimde yaşanan küresel dalgalanmalar mevcut tarım teknolojilerin sorgulanmasına neden olmuştur. Özellikle ülkemizde bitki besin elementi analizleri konusunda halihazırda analiz yöntemlerinin ağır maliyeti ve hammadde konusunda dışa bağımlılık üretici ve araştırmacılarımızın belini bükmektedir. Bu sorunların çözümü adına alternatif teknolojilerin geliştirilmesi amaçlanarak yaptığımız çalışmada günümüzde popüler olan X-ışını teknolojilerinden yararlanılmış, bitkilerin toplam besin elementi içeriklerinin belirlenmesinde mevcut yöntemlere göre daha düşük maliyetle ve pratik bir şekilde yapılabileceği hedeflenmiştir. Bu doğrultuda, ülkemizde yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan çay, lahana ve mısır bitkilerinin X ışını floresan tekniğiyle çalışan EDXRF cihazıyla kuru bitki okumaları yapılmış Kalsiyum (Ca), Potasyum (K), Magnezyum (Mg), Kükürt (S), Demir (Fe), Bakır (Cu), Çinko (Zn), Mangan (Mn), Fosfor (P) elementlerinin mg/kg cinsinden değerleri tespit edilmiştir. Eş zamanlı olarak bu bitki örnekleri ICP cihazında da okutulmuştur. ICP okumaları referans kabul edilerek EDXRF cihazı ICP-OES cihazına göre korelasyonu sağlanmıştır. Bu korelasyonda her element için lineer regresyon analizi yapılarak re-slope ve intercept değerleri belirlenmiştir. Her bir bitki için belirlenen bu değerler EDXRF cihazına yüklenerek elde edilen formül yardımıyla tahmini ICP değerleri hesaplanmıştır. Yapılan istatistiksel hesaplamalar sonucunda r² değerleri p<0.05 p<0.01 düzeyinde yakınlık tespit edilmiştir. Sistemin doğruluğunu kontrol etmek amacı ile sertifikalı referans bitki materyalleri kullanılmış, yapılan analizler sonucunda %81-119 arasında geri kazanımlar elde edilmiştir. Bu oranlar sertifikalı materyaller ile EDXRF cihazı arasındaki okumalarda pozitif ilişkiler görmemize sebep olmuştur. Böylelikle bu teknolojinin entegrasyonu bitki besin elementi analizleri için laboratuvar bağımlılığı azaltmakta, aynı zamanda düşük maliyet ve zamandan tasarruf edilerek hem tarımsal yetiştiricilik açısından üretici ve araştırmacılar için önemli bir kaynak olma niteliği taşımaktadır.

Anahtar kelimeler: Besin, EDXRF, ICP, Maliyet, Metot

Energy Dispersion X-Ray Fluorescence Spectroscopy for Plant Nutrient Analysis

Abstract: Global fluctuations in agricultural production in recent years has led to the questioning of existing agricultural technologies. Plant nutrient analyses on the cost and methods of analysis, especially in our country currently heavy dependence on raw materials manufacturer and bends the back of our researchers. For this purpose, in the work we do that are popular in recent years X-ray technology, taking advantage of a lower cost compared to the existing methods of the plants of total and elemental that can be done in a practical way, it is aimed. Our work in this direction, in our country, widely cultivated tea, cabbage, and corn plants, X-ray fluorescence EDXRF technique working with plant dry readings made with the device Calcium (Ca), potassium (K) magnesium (Mg), sulfur (S) Iron (Fe), Copper (Cu), zinc (Zn), Manganese (Mn), Phosphorus (P) of the elements mg/kg denominated in the values were determined. Simultaneously, the samples of this plant are given in the ICP device. The device adopted by reference readings EDXRF ICP ICP-OES according to the correlation device is provided. This correlation by linear regression analysis for each element in re-slope and intercept values were determined. The formula determined for each plant estimated values obtained by EDXRF-ICP values were calculated with the help of installing the device. Statistical calculations performed as a result of the r² values p<0.05 p<0.01 at the level of proximity have been identified. Plant certified reference materials used to verify the accuracy of the system with the aim of your analysis results %81-119 between the feedback has been obtained. Positive relationships between these rates with certified materials EDXRF has been the reason we see the device in reading. Thus, the integration of this technology for plant nutrient analysis laboratory by eliminating the dependence, low cost and time saving in terms of agricultural production and producers and is intended to be an important resource for researchers.

Key words: Nutrient, EDXRF, ICP, Cost, Methods

Giriş

Bu teknik ile bitki analizlerinde yeni bir dönem başlayarak maliyet, zaman ve işgücü açısından büyük avantajlar elde edilecektir. Mevcut yöntemlere göre herhangi bir kimyasal kullanım zorunluluğunun olmaması bu teknolojinin en büyük avantajları arasındadır. Bu sayede çoğunlukla ithal ettiğimiz kimyasalların kullanımını azaltarak ülke ekonomisine de katkıda bulunacaktır. Bu yöntemin geliştirilmesi ile bitkinin gelişim periyodu boyunca mutlak gerekli besin elementi seviyelerinin takibinde laboratuvar analizlerine bir alternatif olarak ulusal ve uluslararası düzeyde önem arz etmektedir.

Bitki gelişimi ve metabolizması için mutlak gerekli olan elementler, bitki besin elementi olarak adlandırılmıştır. Bitkilerde, yaklaşık 50 adet element içeriği bilinmekle beraber, bunların ancak belli bir bölümünün büyüme ve metabolizma için kullanıldığı tespit edilmiştir. Elementler bitki beslenmesi ile doğrudan ilgili olup, bitki gelişme periyodunda kendine özgü etkiye sahiptir. Toprağın jeokimyasal özellikleri bitkilerin besin elementlerinden yararlanma durumu, çevre kirliliği ve gübreleme açısından son derece önemlidir (Queralt 2005). Bitkilerdeki besin konsantrasyonları kolorimetrik yöntemlerde dahil olmak üzere alev emisyon fotometrisi, alevli atomik absorpsiyon spektrometresi (FAAS), indüktif eşleşmiş plazma atomik emisyon spektrometresi (ICP-OES) ve indüktif eşleşmiş plazma kütle spektrometresi (ICP-MS) gibi birçok yöntemle yapılmaktadır (Fifield ve Haines 1997). Fakat bu yöntemler günümüz teknolojisine kıyasla işgücü, zaman ve maliyet açısından birtakım problemler oluşturmaktadır. Bu yöntemler genellikle, kuru külleme (örneğin yakma) veya ıslak külleme (güçlü asitler ile sindirim) ile devam edip sonra numune matrisinin, yok edilmesini gerektirir. Örnek hazırlama genellikle sıkıcı ve zaman alıcı ve sürekli dikkat gerektiren bir işlemdir. Bu durum bazen uygulanan prosedürün zaman zaman sınırlandırılmasına neden olur iken, analizler esnasında kullanılan kimyasalların zararlı etkileri de önemli handikaplarından biridir (Noda 2006). Bu nedenle enerji dağılımlı X-ışını floresan (EDXRF) tekniği ile yapılan elementel analizlerin diğer yöntemlere olan uyumluluğu, araştırmacıların dikkatini çekmiş ve yapılan çalışmalar ile, bitki analizleri için ümit verici bir teknik olduğu sonucuna varılmıştır (Clark 1992; Miah et al. 1999). Bu tekniğin direkt olarak katı numuneler üzerinde analizinin gerçekleştirilmesi olasılığı; çoklu-element özelliği, nitel yarı nicel ve nicel saptamalar yapması, geniş, dinamik bir aralığa sahip olması, düşük maliyetiyle bitki analizlerine olanak sağlaması X-ışını floresan spektroskopisinin önemli bir teknik olduğunu ortaya koymaktadır (Marguí et al. 2009). EDXRF tekniği bitkilerin element kompozisyonu belirlemede başarı ile uygulandığını (Chuparina ve Gunicheva 2003; Marguí et al. 2009), toprak kirliliğini belirlemedeki başarısı (Orescanin et al. 2003; Aslan ve ark. 2004; Marguí et al. 2005; Necemer et al. 2008) ve tarım sektöründe (Noda et al. 2006; Oliveira et al. 2006; Gratão et al. 2008; Maity et al. 2010) toz örneklerin pelet şeklinde uygulandığını kanıtlamışlardır.

Materyal ve Metot

Çalışma için ülkenin farklı alanlarında yetiştirilen mısır, çay ve lahana bitkileri toplanarak ICP-OES ve EDXRF cihazlarında eş zamanlı olarak okutulmuştur. Kalsiyum (Ca), Potasyum (K), Magnezyum (Mg), Kükürt (S), Demir (Fe), Bakır (Cu), Çinko (Zn), Mangan (Mn), Fosfor (P) elementlerinin mg/kg cinsinden değerleri belirlenmiştir. Belirlenen bu veri setlerine lineer regresyon analizi yapılarak EDXRF cihazına yüklenecek katsayılar hesaplanmıştır.

Kullanılan Alet ve Ekipmanlar

Bu çalışmada ICP – OES Perkin Elmer OPTİMA 8000, Thermo Scientific Portable XI3t XRF GOLD Series cihazı, CEM MARS yakma ünitesi, Bilyeli değirmen ve Etüvler kullanılmıştır.

Kullanılan Kimyasal Maddeler

HNO₃ (%65, Sigma-Aldrich, puriss. Pa), HClO₄ (70 %, Merck, p.a.) , High Purity Nitrogen (N), High Purity Argon (Ar), Demir (Fe), Bakır (Cu), Çinko (Zn), Mangan (Mn), Magnezyum (Mg), Kalsiyum (Ca), Potasyum (K), Fosfor (P), Kükürt (S) standartları kullanılmıştır.

Metot Kalibrasyonu İçin Bitki Örneklerinin Toplanması

Lahana (*Brassica oleracea*) bitkisi için Doğu Anadolu Bölgesi Erzurum; Hasankale (39°58',46.9956" N, 41°40',32.0016" E), Aşkale-Cinis (59° 34' 00 N, 40° 51' 00 E), Çay (*Camellia sinensis*) bitkisi için Karadeniz Bölgesi Rize ili; Buzlupınar (40°57',43.524'' Kuzey 40°47',13.3728" Doğu), Kaptanpaşa (40°57', 38 Kuzey 40°47',15" Doğu), Haremtepe Köyü (41° 2', 22.92'' Kuzey, 40°43', 44.8248" Doğu), Aşıklar köyü (41° 4',

16.0896" Kuzey, 40°, 48', 11.4372" Doğu), toplanmıştır. Mısır (*Zea mays*) örnekleri için Akdeniz Bölgesi Kahramanmaraş ili Ferihs (37°, 33', 28" Kuzey, 36°, 53', 43" Doğu), Orhangazi (37°, 37', 0.2 Kuzey, 36°, 43', 40 Doğu), Yenicekale (37°, 35', 46" Kuzey, 36°, 37', 52" Doğu) olarak seçilip toplanmıştır. Lahanalar baş ağarmaya başladığı andan itibaren örtü yaprakların orta damarlarından örnekler toplanmıştır (Tyler and Lorenz 1962), Çay örnekleme zamanı olarak 21 Mayıs 2014 de bu alanlardan örnekler alınmıştır. Örnekler toplanırken yeni çay sürgünlerinin üzerindeki ikinci genç yapraklardan numune alınmıştır (Barua and Deb 1960; Lin 1963). Mısır bitkisi için püskülleme zamanında en alttaki koçanın karşısında ve altında bulunan ilk yaprak alınmıştır (Krantz and Chandler 1951). (*Zea mays*) Her alandan 200 yaprak örneği alınmış alt örnekleme yapılarak 50 adete düşürülmüştür

Kullanılan Referans Bitki Numuneleri

Bu yöntemin hassaslığı ve gerçekliği doğrulamak amacıyla Tütün yaprağı (Instute of Nucleer Chemistry Warsaw Polland), Çim tozu (European Reference Material), Elma Yaprığı (European Reference Material), Saman Tozu (European Communities Bureouf of Reference Material) standart referans maddeler seçilmiştir. Bu tarz analitik cihazlarla ilgili standart materyallerini seçerken mümkün olduğu kadar farklı bitki standartlarıyla çalışmak, cihazın farklı bitki ekstraktlarından aynı elementleri tanınmasının sonuca yansıyan cihazdan gelen hata miktarını azaltmada oldukça önemlidir.

Çizelge 1. Kullanılan standart referans materyallerin (SRM) µg g⁻¹ cinsinden içerikleri verilmiştir

Elementler	Elma Yaprığı NIST 1515	Tütün Yaprığı IC-INCT-OBTL-5	Saman Tozu BCR -129	Çim Tozu ERMCD-120
Ca	15260 ± 200	39960 ± 1042	6400 ± 100	6300* ± 75
K	16100 ± 200	22710 ± 76	33800 ± 80000	34000 ± 150
Mg	2710 ± 25	8530 ± 34	1450 ± 40	1600 ± 90
Fe	83 ± 5	1490* ± 90	114 ± 10	1800 ± 25
Cu	5.64 ± 0.24	10.1 ± 0.4	10 ± 0.2	10.2 ± 0.5
Zn	12.5 ± 0.3	52.4 ± 1.8	32.1 ± 1.7	30.5 ± 1.1
Mn	54 ± 3	180 ± 6	72* ± 8	82 ± 4
P	1390* ± 15	1700 ± 12	2360* ± 70	2800* ± 60
S	1800* ± 15	4550 ± 91	3160 ± 40	3400* ± 20

*Sertifikalı olmayan değerler.

EDXRF Analizi İçin Çözelti ve Numunelerin Hazırlanması

Öğütülmüş bitki örnekleri 2'şer gram tartılarak 32 mm çapında polietilen kap içerisinde paketlenerek 4 µ kalınlığında polipropilen X-Ray (TF-240-255) film ile kaplandı. Numuneler bir X-ışını floresan spektrofotometresi olan Portable Thermo Niton XI3t EDXRF cihazında 360 saniye olarak üç farklı noktadan ışınlanmıştır. Al, Mo, Cu filtrelerden Soil mode main range aralığında Fe, Cu, Zn, Mn tüp voltajı 35 kilovolt (kV), tüp akımı 100 mikroamper (µA)'e göre 30 saniye okuma P, S, Mg elementleri Mininig mode light range aralığında hafif aralık tüp voltajı 15 (kV) tüp akımı 200 mikroamper (µA) 60 saniye okuma, Mininig mode low range aralığında ise Ca ve K elementleri 30 saniye boyunca ışınlama ile ölçümleri yapılmıştır. X-ışını spektrumlarını elde etmek için XRF thermo software HH-XRF-8.4A programı kullanılmıştır (Margui ve Voutchkov 2018).

ICP-OES Analizi İçin Çözelti ve Numunelerin Hazırlanması

Öğütülmüş bitki 0,35 g tartılarak üzerlerine 4 ml HNO₃ (%65, Sigma-Aldrich, puriss. Pa), 2 mL HClO₄ (70%, Merck, p.a.) ilave edilip örnekler CEM MARS yakma ünitesinde 10 dk'da 180°C'ye ulaşır 10 dk, 15 dk'da 170°C ulaşır 15 dk, tekrar 0 dk'da 180°C'ye ulaşır 10 dk bekletilmiştir. Yakma süresi boyunca buhar basıncı 1200 KPa'da sabitlenmiştir. ICP-OES cihazının kalibrasyonu için belirli konsantrasyonlarda Ca, K, Mg, Fe, Cu, Zn, Mn, P, S standartları hazırlanarak cihazda okutulmuştur (Kaçar 1972).

ICP-OES kalibrasyon standartlarının hazırlanışı

Bu cihaz için Zn, Mn, Cu, Fe, Ca, S, P, K elementleri için stok solüsyonlardan her bir element için 0, 2, 5, 10, 20,50 ve 100 ppm olacak şekilde kalibrasyon çözeltileri hazırlandı.

Veri Analizi

Elde edilen veri setleri SPSS-22 paket programı kullanılarak istatistiksel analizleri yapıldı (Yıldız ve Bircan 1993).

Bulgular

EDXRF Cihazında Standart Referans Materyallerin Geri Kazanımları

Cihazların analiz performansları değerlendirilirken, yapılan geri kazanım değerlerini hesaplamak oldukça önem arz etmektedir. Cihazların performanslarını değerlendirmek için yapılan validasyonlar sonucu sertifikalı referans materyaller ile mutlaka geri kazanımlarının yapılması gerekmektedir. Çünkü bu tarz analitik cihazlardan alınan sonuçların doğruluğu üzerine etki eden birçok parametre vardır. Bunlar cihazın bulunduğu ortam şartları, kimyasal ve numune hazırlıkların gelen hatalar payları vb. sorunların verilecek sonuca yansımaması adına cihazlar için kullanılan çeşitli validasyon çalışmaları vardır. Bu validasyon uygulamaları yukarıda bahsetmiş olduğum hata paylarının eliminasyonu için gündeme alınıp her türlü analitik cihaz için kullanılmalıdır. Bu validasyon programları içinde sertifikalı materyaller vasıtasıyla yani içeriği bilinen numuneler cihazlarda okutularak yüzde olarak ne kadar doğru bir okuma yani geri kazanım elde edildiği hesaplanmalıdır. Çünkü cihazın kalibrasyonu ve bu kalibrasyon sonucu elde edilen korelasyonların doğruluğunu kontrol etmek için gereklidir.

Her bir farklı standart referans materyallerin çizelge 2 de gösterilen EDXRF cihazı tarafından tesbit edilen Sertifikalı Referans materyalin (\pm standart sapma) geri kazanım ve element konsantrasyonları ($\mu\text{g g}^{-1}$ DW; $n = 100$) hesaplanmıştır. ayrı ayrı EDXRF cihazında analizi yapılarak. Kalsiyum (Ca), Potasyum (K), Magnezyum (Mg), Kükürt (S), Demir (Fe), Bakır (Cu), Çinko (Zn), Mangan (Mn), Fosfor (P) elementleri ppm olarak hesaplanmış, okumalar her SRM'e göre on defa tekrar edilerek okutulmuştur. EDXRF cihazında elde edilen geri kazanım değerleri, % 81-119 arasında olması sertifikalı materyaller ile EDXRF okumaları arasında pozitif bir ilişki gözlemlememize neden oldu. Böylelikle elde edilen geri kazanım değerleri cihaz performansının olumlu yönde akredite edildiğinin bir göstergesi olmuştur.

Çizelge 2. EDXRF cihazı tarafından tesbit edilen Sertifikalı Referans materyalin (\pm standart sapma) geri kazanım ve element konsantrasyonları ($\mu\text{g g}^{-1}$ DW; $n = 100$)

		Ca	K	Mg	Fe	Cu	Zn	Mn	p	S
NIST-1515	Bu çalışma	16500 \pm 400	15600 \pm 300	ND	93 \pm 11	ND	ND	60 \pm 2	1249* \pm 148	2158 \pm 87
	Sertifikalı Değerler	15260 \pm 200	16100 \pm 200	2710 \pm 5	83 \pm 5	5.64 \pm 0.24	12.5 \pm 0.3	54 \pm 3	1390 \pm 15	-
	Elma Gerikazanı (%)	108	96	-	112	-	-	111	89	-
IC-INCT-OBTL-5	Bu çalışma	37700 \pm 500	19100 \pm 300	7965 \pm 124	1579 \pm 73	ND	44 \pm 12	197 \pm 9	1507 \pm 178	4358 \pm 162
	Sertifikalı Değerler	39960 \pm 1042	22710 \pm 76	8530 \pm 34	1490* \pm 90	10.1 \pm 0.4	52.4 \pm 0.8	180 \pm 6	1700 \pm 2	4550 \pm 91
	Tütün Gerikazanı (%)	108	84	93	105	-	83	109	88	95
BCR-129	Bu çalışma	6600 \pm 309	31300 \pm 400	TE	99 \pm 2	TE	28 \pm 2	TE	2287 \pm 19	3780 \pm 162
	Saman Tozu Sertifikalı Değerler	6400 \pm 100	33800 \pm 800	1450 \pm 40	114* \pm 10	10.0* \pm 0.2	32.1 \pm 0.7	72 \pm 8	2350 \pm 70	3160 \pm 40
	Gerikazanı (%)	103	92	-	86	-	87	-	96	119
ERMC D-120	Bu çalışma	7178 \pm 50	36320 \pm 354	TE	1690 \pm 75	TE	30 \pm 2	75 \pm 3	2642 \pm 24	3600.2 \pm 80
	Çim Tozu Sertifikalı Değerler	6300* \pm 75	34000* \pm 150	1600* \pm 90	1800* \pm 25	10.2 \pm 0.5	30.5 \pm 0.1	82 \pm 4	2800* \pm 60	3400* \pm 20
	Gerikazanı (%)	113	106	-	93	-	98	91	94	105

*Sertifikalı olmayan; TE-Tespit edilemeyen.

Lahana (Brassica oleracea copitata) Bitkisi İçin EDXRF Cihazına Yüklenecak Katsayılar

Farklı alanlardan toplanan 50 adet lahana bitkisi çizelge-3 gösterildiği gibi elementel analiz karşılaştırmaları ($\mu\text{g g}^{-1}$), ve EDXRF /ICP-OES ICP-OES ve EDXRF cihazları ile analiz edilerek K, Ca, Cu, Fe, Mn, S, Zn değerleri $\mu\text{g g}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. Elde edilen veri setlerine her bir element için ayrı ayrı istatistiki analizler yapılmış A: intercept, B: slope ve R² değerleri hesaplanmıştır. Hesaplamalar sonucunda iki cihaz arasında $p < 0.05$ ve $p < 0.01$ düzeyinde yüksek korelasyonlar ortaya çıkmıştır. Ca, Cu ve S elementlerinin intercept değeri istatistiki açıdan $p < 0.01$ düzeyinde önemliyken K, Fe, Mn değerleri $p < 0.05$ düzeyinde önemli olduğu tespit edilmiştir. Slope değerleri ise tüm elementler için $p < 0.01$ düzeyinde önemlidir.

Çizelge 3. Lahana (*Brassica oleracea copitata*) bitkisinde elementel analiz karşılaştırmaları ($\mu\text{g g}^{-1}$), ve EDXRF /ICP-OES cihazına ait regresyon analiz parametreleri (n=50).

Element	Element Aralığı ($\mu\text{g g}^{-1}$)	LR Analiz Parametreleri		
		R ²	A	B
K	66800-151813	0.9526	-4530,513*	0,4703**
Ca	18666-23444	0.965	-1252,531**	0,853 **
Cu	17,5-7,9	0.9412	9,531**	1,002**
Fe	6014 -6700	0.9843	-1711,24*	1,153**
Mn	256,4-87,1	0.938	28,74*	2,614**
S	19828-3114	0.9126	6857,209**	4,165**
Zn	26,5-28	0,9290	2,932**	0,8420**

Regresyon Analizi: LR model $ICP = A + B*EDXRF$ method (A: intercept, B: slope). * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$.

Çay Bitkisi İçin EDXRF Cihazına Yüklenecak Katsayılar

Farklı alanlardan toplanan 50 adet çay bitkisi çizelge 4 de elementel analiz karşılaştırmaları ($\mu\text{g g}^{-1}$), ve EDXRFve /ICP-OES cihazına ait regresyon analiz parametreleri (n=50) verilmiştir. ICP-OES ve EDXRF cihazları ile analiz edilerek K, Ca, Cu, Fe, Mn, S, Zn değerleri $\mu\text{g g}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. Elde edilen veri setlerine her bir element için ayrı ayrı istatistiki analizler yapılmış A: intercept, B: slope ve R² değerleri hesaplanmıştır. Hesaplamalar sonucunda iki cihaz arasında $p < 0.05$ ve $p < 0.01$ düzeyinde yüksek korelasyonlar elde edilmiştir. K, Mn ve Fe elementlerinin intercept değeri istatistiki açıdan $p < 0.01$ düzeyinde önemliyken P, Ca, S, Zn değerleri $p < 0.05$ düzeyinde önemli olduğu tespit edilmiştir. Slope değerleri ise tüm elementler için $p < 0.01$ düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4. Çay (*Camellia sinensis*) bitkisinde elementel analiz karşılaştırmaları ($\mu\text{g g}^{-1}$), ve EDXRFve /ICP-OES cihazına ait regresyon analiz parametreleri (n=50).

Element	Element Aralığı ($\mu\text{g g}^{-1}$)	LR Analiz Parametreleri		
		R ²	A	B
P	2200 - 4300	0.9860	-75.200*	0,494**
K	24769 -39376	0.9820	-523.341**	0.642**
Ca	9940 -13305	0.9960	79.33*	0.7334**
Fe	324.7 – 722.8	0.9980	0.625**	1.0004**
S	3740-6847	0.9870	-303.798*	0.5991**
Zn	42.92 – 44.6	0.9670	-3.053*	1.030**
Mn	1583 - 4629	0.8970	200.329**	0.299**

Regresyon Analizi: LR model, $ICP = A + B*EDXRF$ metot (A: intercept, B: slope). * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; öd: önemli değil.

Mısır (Zea mays) Bitkisi İçin EDXRF Cihazına Yüklenecak Katsayılar

Farklı alanlardan toplanan 50 adet mısır bitkisi çizelge 4 de elementel analiz karşılaştırmaları ($\mu\text{g g}^{-1}$), ve EDXRFve /ICP-OES cihazına ait regresyon analiz parametreleri (n=50) verilmiştir. ICP-OES ve EDXRF cihazları ile analiz edilerek K, Ca, Cu, Fe, S, Zn değerleri $\mu\text{g g}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. Elde edilen veri setlerine her bir element için ayrı ayrı istatistiki analizler yapılmış A: intercept, B: slope ve R² değerleri hesaplanmıştır. Hesaplamalar sonucunda iki cihaz arasında $p < 0.05$ ve $p < 0.01$ düzeyinde yüksek korelasyonlar elde edilmiştir.

K, P, Fe ve S elementlerinin intercept değeri istatistiki açıdan $p < 0.01$ düzeyinde önemliyken Ca ve Zn değerleri $p < 0.05$ düzeyinde önemli olduğu tespit edilmiştir. Slope değerleri ise tüm elementler için $p < 0.01$ düzeyinde önemlidir.

Çizelge 5. Mısır (*Zea mays*) bitkisinde elementel analiz karşılaştırmaları ($\mu\text{g g}^{-1}$), ve EDXRF /ICP-OES cihazına ait regresyon analiz parametreleri (n=50).

Element	Element Aralığı($\mu\text{g g}^{-1}$)	LR Analiz Parametreleri		
		R ²	A	B
P	4137-9137	0.9500	-4110,0030**	0,9030**
K	74633-114711	0,9160	7770,556**	0,5831**
Ca	19500-29780	0.9840	-372,888*	0,6700**
Fe	5628-8228	0.9580	-1793,297**	0,9020**
S	20660-8540	0.9675	-6659,425**	3,199**
Zn	20-69,8	0.9850	1,12*	0,9503**

Regression analysis: LR model, ICP = A + B*EDXRF method (A: intercept, B: slope). * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$.

Formül Oluşturulması

EDXRF ve ICP-OES cihazı Lahana, Mısır ve Çay bitkisinde yapılan elementel analizler sonucunda veri setlerine lineer regresyon analizi yapılmıştır. Elde edilen yüksek korelasyonlar sonucu EDXRF cihazında yapılan okumalar ICP-OES cihazına göre tahmin edilmesi için formül oluşturulmuştur.

$$ICP_{\text{sonuç}} = A + B * EDXRF_{\text{okuma değeri}}$$

ICP sonuç; ICP cihazında okunan elementin $\mu\text{g g}^{-1}$ olarak değeri,

EDXRF okuma değeri; Portable Thermo Niton X13t cihazında okunan elementin $\mu\text{g g}^{-1}$ olarak değeri;

A; İntercept ; Bu değer istatistiki olarak yapılan regresyon analizi sonucu nisbi olarak her elementin belirlenen okuma aralığının dışına çıkması durumunda ortaya çıkacak hata paylarının hata payının eliminasyonuna yönelik hesaplanan değer

B; Slope ; Yapılan istatistik analizi sonucu Icp cihazında belirlenen her elementin EDXRF cihazında okuması esasında hesaplanan elementler için girilmesi gereken katsayıları ifade etmektedir.

Tartışma ve Sonuç

Ülkemizde yaygın olarak yetiştirilen lahana, mısır ve çay bitkileri iki cihazda da okutularak Ca, K, Mg, S, Fe, Cu, Zn, Mn, P içerikleri $\mu\text{g g}^{-1}$ olarak tespit edilmiştir. Bu veri setlerine Lineer regresyon analizi yapılarak iki cihaz arasında uyumluluk değerlendirilmiştir. Çünkü ICP sonuçlarının tahmin edilebilmesi için EDXRF cihazının kalibrasyon kısmında intercept ve slope katsayı değerleri girilmelidir. Böylelikle EDXRF cihazıyla analiz edilen üç farklı bitkinin tahmini ICP sonuçları hesaplanabilecektir. İstatistiki analizler sonucunda elde edilen yüksek r^2 değerleri iki cihaz arasındaki ilişkinin son derece uyumlu olduğunun göstergesidir. İstatistiki hesaplamalar sonucu ortaya çıkan bitki türüne ait intercept ve slope değeri EDXRF cihazına yüklenerek ürün bazında ICP sonuçları tahmin edilmiştir. EDXRF cihazının kontrolleri standart sertifikalı materyallerle yapılarak geri kazanımlar hesaplanmıştır. Çizelge 4.1 de verilen geri kazanım değerleri yüzde 81 ile 119 arasındadır. Örneğin NIST 1515 elma yaprağı standardında kalsiyum değeri $15260 \pm 200 \mu\text{g g}^{-1}$ olarak sertifikalandırılmıştır. EDXRF cihazı ile yaptığımız ölçümlerde elma yaprağı için cihazımız bu değeri $16500 \pm 400 \mu\text{g g}^{-1}$ olarak okumuş ve yüzde 108 olarak geri kazanım elde edilmiştir. Standart olarak uluslararası literatürlerde geri kazanımların 80 ile 120 arasında olması elde edilen geri kazanımların başarılı olduğunun göstergesidir (Magnusson B et al 2013). Farklı bir örnek daha verecek olursak IC- OBTL -5 tütün yaprağında sertifikalı çinko değeri $52.4 \pm 1.8 \mu\text{g g}^{-1}$ olarak tespit edilmiş EDXRF cihazı ile yaptığımız okumada $44 \pm 12 \mu\text{g g}^{-1}$ olarak bulunarak yüzde 83 geri kazanım elde edilmiştir. Yaptığımız çalışma sonucunda bitkiye türüne özel bu değerler tespit edilip cihaza yüklenmiştir. Böylelikle EDXRF cihazında bitkiler okutulurken bu katsayılar vasıtası ile korelasyonu sağlanan bitki özel tahmini ICP sonuçları elde edilecektir. Örneğin Çizelge 4.3 de çay bitkisinde yapılan EDXRF cihazında yapılan okumada kalsiyum değeri $10000 \mu\text{g g}^{-1}$ olarak okunduğu durumda, Çizelge 4.3'deki Ca elementinin intercept ve slope değerlerini baz alırsak; ICP sonuç = $79,33 + 0,7334 * 10000$ yapılarak $7413 \mu\text{g g}^{-1}$ ICP-OES değeri elde edebiliriz. Katsayıların cihaza yüklenmesi ile cihaz otomatik olarak tahmini ICP sonuçlarını hesaplayarak verecektir. Burada önemli olan olarak bir diğer husus elementler için tespit edilen aralıklarıdır. Söz konusu korelasyonlar bu aralıklara göre çalışılmıştır. Örneğin Çizelge 4.4 de mısır

bitkilerinde 4137-9137 µg g⁻¹ arasında fosfor miktarı tespit edilmiştir. Bu katsayıların uygulanması için bitkinin ihtiva ettiği fosfor miktarı bu aralıkta olmalıdır. Çalışmada, ICP yöntemleri ile yapılan bitki analizlerine alternatif olarak, X-Ray teknolojisinin entegrasyonu amaçlanmıştır. Bu yeni teknoloji ile ICP yöntemine nazaran maliyet ve zamandan tasarruf edilmiş, argon, azot gibi tehlikeli gazların kullanımı ortadan kaldırılarak güvenlik riskleri minimize edilmiştir. Geleneksel standart hazırlama prosedürleri ve buna bağlı oluşacak hata payları ortadan kaldırılmıştır. Bu teknolojinin yaygınlaşması ile ICP yönteminde kullanılan standart bağımlılığı ortadan kaldırılarak ulusal ölçekte ülke ekonomisine katkı sağlanacaktır. Ayrıca bu sistemlerin taşınabilir olması bitki elementel analizlerinde laboratuvar bağımlılığını azaltarak, bitkinin yetişme ortamında analizine imkan tanıyacaktır. Böylelikle yaş bitkilerde elementel analizlerin yapılmasına imkan tanınarak besin elementi noksanlıkları anında tespit edilip oluşabilecek ürün kayıp riski azaltılacaktır. Yaş bitki analizlerinde yapılan çalışmalarımız devam etmekte olup, doktora aşamasında daha detaylı ortaya konacaktır. Bu çalışma sonucunda Karadeniz bölgesi Rize ilinde yetiştirilen çay bitkisinde, Akdeniz bölgesi Maraş ili için Mısır, Doğu Anadolu bölgesinde yetiştirilen lahanalar bitkilerinin ICP yöntemi ile yapılan elementel analizlerine alternatif olabileceği tespit edilmiştir. Araştırmamız sonucunda çay, mısır ve lahanalar bitkileri için bulunan intercept ve re-slope değerleri taşınabilir EDXRF cihazlarına yüklendikten sonra 120 saniye gibi kısa bir zamanda kimyasal ve gaz kullanmadan bitkinin elementel içeriği belirlenmiştir. Bu metodun entegrasyonu ile bölge üreticileri daha düşük maliyetle bitki analizi yaptırabilecek, besin elementi noksanlığından kaynaklı yaşanabilecek sorunların anında tespiti ile ürün kaybı minimize edilip verim ve üretim potansiyeli artacaktır. Ayrıca bu metod ile araştırmacılarımızda hızlı, pratik ve düşük maliyetle bitki analizleri yapabileceklerdir.

Teşekkür

Bu çalışma Doç. Dr. Mühadir ÖZGÜL danışmanlığında Kağan Tolga CİNİSLİ'nin yüksek lisans tez çalışmasından alınmıştır.

Kaynaklar

- Aslan A, Budak G, Karabulut A (2004). The amounts of Fe, Ba, Sr, K, Ca and Ti in some lichens growing in Erzurum province (Turkey). Jour. of Quan. Spectro. And Radiative Transfer, 88: 423-431.
- Barua DN, Deb SB (1960). Variation in the nitrogen content of tea leaves. Jour. Sci. Food. Agr., 11: 366 – 370.
- Chuparina EV, Gunicheva TN (2003). Nondestructive X-ray fluorescence determination of some elements in plant materials. J.Analy. Chem., 58: 856-861.
- Clark RB, Frank KD, Zaifnejad M, Denning J (1992). X-ray fluorescence analysis of small leaf samples mixed with cellulose or boric acid. Communications in Soil Sci. and Plant Analy., 23: 569-583.
- Fifield FW, Haines PJ (1997). Environmental analytical chemistry. Blackie Aca. & Professional, London, UK.
- Gratão PL, Monteiro CC, Antunes AM, Peres LEP, Azevedo RA (2008). Acquired tolerance of tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Micro-Tom) plants to cadmium-induced stress. Annals of Applied Biology, 153: 321-333.
- Hewitt EJ (1963). Essential Nutrients Elements For Plant. In FC Steward ed. Plant Physi., vol. 3. Aca. Press, London, New York.
- Kacar, B., 1972. Bitki ve Toprağın Kimyasal Analizleri. II. Bitki Analizleri, Ank. Üniv. Ziraat Fak. Yay. 453, Uygulama Kılavuzu: 155, Ankara.
- Krantz BA, Chandler WV (1951). Lodging, leaf composition and yield of corn, asinfluenced by heavy applications of nitrogen and potash. Agron. Jour., 43: 547-552.
- Lin CF (1963). Leaf analysis as a guide to nitrogen fertilization of tea bushes.I. Bull. Pinchen Tea Expt Sta., 15: 27-42.
- Magnusson B, Näykki T., Hovind H, Krysell M (2013) Handbook for Calculation of Measurement Uncertainty in Environmental Laboratories Nordtest tecn report, 537.
- Maity JP, Kar S, Chakraborty A, Sudershan M, Santra SC (2010). Study on trace elements (using energy dispersive X-ray fluorescence technique) of edible seed from *Cicer arietinum* L. plants developed from gamma irradiated seeds and variation of yielding capacity. Jour. of Radioanalytical and Nuclear Chem., 283: 225-230.
- Marguí E, Queralt I, Carvalho ML, Hidalgo M (2005). Comparasion of EDXRF and ICP-OES after microwave digestion for element determination in plant specimens from an abandoned mining area. Analytical Chimica Acta., 549: 197-204.
- Marguí E, Queralt I, Hidalgo M (2009). Application of X-ray fluorescence spectrometry to determination and quantification of metals in vegetal material. Trends in Analytical Chem., 28: 362-372.
- Marguí E, Voutchkov M (2018). Multielement Analysis of Tea and Mint Infusions by Total Reflection X-ray Fluorescence Spectrometry, Food Analytical Methods, 11 (1): 282.

- Miah MY, Wang MK, Chino M (1999). Energy dispersive X-ray fluorescence for rapid potassium, calcium and chloride diagnosis in barley. *J. of Plant Nutri.* 22: 229-235.
- Necemer M, Kump P, Scancar J, Jacimovic R, Simcic J, Pelicon P, Budnar M, Jeran Z, Pongrac P, Regvar M, Vogel-Mikus K (2008) Application of X-ray fluorescence analytical techniques in phytoremediation and plant biology studies. *Spectrochimica Acta Part B*, 63: 1240-1247.
- Noda T, Tsuda S, Mori M, Takigawa S, Matsuuraendo C, Kim SJ, Hashimoto N, Yamauchi H (2006). Determination of the phosphorus content in potato starch using an energy dispersive X-ray fluorescence method. *Food Chem.*, 95: 632-637.
- Oliveira AL, Almeida E, Silva FBR, Nascimento VF (2006). Elemental contents in exotic Brazilian tropical fruits evaluated by energy dispersive X-ray fluorescence. *Scientia Agricola*, 63: 82-84.
- Orescanin V, Katunar A, Kutle A, Valkovic V (2003). Heavy metals in soil, grape and wine. *Journal of Trace and Microprobe Techniques*, 21: 171-180.
- Queralt I, Ovejero M, Carvalho ML, Marques AF, Labrés JM (2005). Quantitative determination of essential and trace element content of medicinal plants and their infusions by XRF and ICP techniques. *X-Ray Spectrometry*, 34: 213-217.
- Tyler KB, Lorenz OA (1962). Diagnostic nutrients needs in vegetables. *Better Crops with Plant Food*, 46: 6-13.
- Yıldız N, Bircan H (1994). Araştırma ve Deneme Metodları. Atatürk Üni. Ziraat Fak. Yay. No. 697. Erzurum.