

**ANKARA'DAKİ TATLI SU KAYNAKLARINDA NİTRİTİN KİRLİLİĞİNİN
VE GÖNÜLLÜ KİŞİLERDE METHEMOGLOBİN DÜZEYİ İLE
İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Buket ER

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ**

126042

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TE. YÖNETİMİ VE KÜLTÜR
BOKSİNGERİYON MERKEZİ**

**EYLÜL 2002
ANKARA**

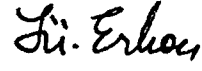
126042

Buket ER tarafından hazırlanan ANKARA'DAKİ TATLI SU KAYNAKLARINDA NİTRİTİN KİRLİLİĞİNİN VE GÖNÜLLÜ KİŞİLERDE METHEMOGLOBİN DÜZEYİ İLE İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI adlı bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.



Prof. Dr. Meral TORUN

Tez Yöneticisi



Doç. Dr. Figen ERKOÇ

Tez Yöneticisi

Bu çalışma, jürimiz tarafından Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir:

Başkan

: Prof. Dr. Kaye Yildiz

Üye

: Doç. Dr. Nevih Keskin

Üye

: Doç. Dr. Figen ERKOÇ (Danışman) Li. Erkoç

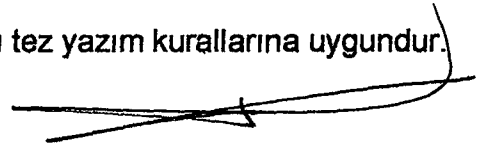
Üye

: _____

Üye

: _____

Bu tez, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygundur.



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	v
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	vi
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	vii
ŞİMGELER VE KISALTMALAR.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. MATERYAL VE METOD.....	29
2.1. Materyal.....	29
2.1.1. Su numunelerinin analiz yeri.....	29
2.1.2. Su numunelerinin temini.....	29
2.1.3. Kan numunelerinin analiz yeri.....	29
2.1.4. Kan numunelerinin temini.....	29
2.2. Metod.....	30
2.2.1. Sularda nitrit tayini.....	30
2.2.1.1. Deney metodu.....	30
2.2.1.2. Spektrofotometrik ölçüm.....	30
2.2.1.3. Deney reaktifleri.....	30
2.2.1.4. Nitrit tayini için kalibrasyon grafiğinin hazırlanması.....	31
2.2.1.5. Numunelerin işlenmesi ve absorbens değerlerinin okunması.....	32
2.2.1.6. Sonucun değerlendirilmesi.....	32
2.2.2. Methemoglobin düzeyi tayini.....	32
2.2.2.1. Deney metodu.....	32
2.2.2.2. Spektrofotometrik ölçüm.....	33
2.2.2.3. Deney reaktifleri.....	33
2.2.2.4. Kan numunelerin işlenmesi ve absorbens değerlerinin okunması.....	34
2.2.2.5. Sonucun değerlendirilmesi.....	35
3. DENEYSEL BULGULAR VE TARTIŞMA.....	36
3.1. Deneysel Bulgular.....	36
3.2. Tartışma.....	40
4. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	46
KAYNAKLAR.....	47
ÖZGEÇMİŞ.....	54

**ANKARA'DAKİ TATLI SU KAYNAKLARINDA NİTRİTİN
KİRLİLİĞİNİN VE GÖNÜLLÜ KİŞİLERDE METHEMOGLOBİN
DÜZEYİ İLE İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI
(Yüksek Lisans Tezi)**

Buket ER

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Eylül 2002**

ÖZET

Bu çalışmada Ankara ili sınırlarındaki içme ve kullanma suyu olan tatlı suların nitrit kirliliğini ve muhtemel toksik etkisi olan methemoglobin düzeyinin artması araştırılmıştır.

Ankara'nın değişik semt ve ilçelerinden 10'u kuyu 50'si şebeke suyu olmak üzere 60 su numunesinde zirkonil klorür spektrofotometrik metoduyla nitrit tayini yapılmıştır. Şebeke sularında nitrit tespit edilememekle birlikte 2 kuyu suyunda 0,6537 mg/l ve 0,075 mg/l olmak üzere nitrit tayin edilmiştir. Bu değerler Anonim, (1988), Çizelge 1.1'de verilen değerlerin üzerindedir.

Bebeklerde methemoglobin düzeyinin tayini için Gazi Üniversitesi pediatri kliniğindeki 10 sağlam bebeğin methemoglobin düzeyleri hemolizatta kontrol grubu olarak tayin edilmiş ve bahsedilen kuyuların yakın çevresinde oturan 18 bebeğin methemoglobin düzeyi deney grubu olarak tayin edilmiştir. Bu grupta alt yapısı tamamlanmadan önce yoğun kuyu suyu kullanımı olan Gölbaşı ilçesinden de alınan bebekler dahildir.

Deney grubunun methemoglobin düzeyleri ile kontrol grubunun düzeyleri arasında t-testi kullanılarak yapılan analizde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı.

Bilim Kodu : 401.01.05

Anahtar Kelimeler : Su, kirlilik, nitrit, spektrofotometrik metod, methemoglobin

Sayfa Adedi : 62

Tez Yöneticisi : Doç. Dr. Figen ERKOÇ ve Prof. Dr. Meral TORUN



**NITRITE LEVELS IN THE FRESH WATER RESOURCES OF ANKARA
AND INVESTIGATION OF ITS RELATIONSHIP TO METHEMOGLOBIN
LEVELS IN VOLUNTEERS**

(M. Sc. Thesis)

Buket ER

**GAZİ UNIVERSITY
INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY**

September 2002

ABSTRACT

Nitrite pollution in potable fresh water resources within the city of Ankara was investigated with possible relationship to methemoglobin levels in babies.

Water samples consisted of 10 well samples and 50 municipal tap water from different districts of Ankara. Nitrite determinations were made spectrophotometrically by using the zirconyl chloride method. Tap water samples had no nitrite; but 2 well samples had nitrite levels of 0.6537 mg/l and 0.075 mg/l. These values are above the levels set by the Turkish Natonal Legislation (Anonymous, 1988).

Methemoglobin levels in the hemolysate were determined in the control group babies ($n=10$). These were healthy babies admitted for routine check-up at Gazi University Pediatrics Clinic. Experimental group consisted of 18 babies living in the close vicinity of the above mentioned wells. This group also contended babies from Gölbaşı town,

where well water use was widespread before the infrastructure was completed.

The methemoglobin levels of the control group and experimental group were not statistically significant using Student's t-test.

Science Code : 401.01.05

Keywords : Water, pollution, nitrite, spectrophotometric metod, methemoglobin.

Number of pages : 62

Thesis Advisors : Doç. Dr. Figen ERKOÇ and Prof. Dr. Meral TORUN

TEŞEKKÜR

Araştırma konusunun seçiminde ve çalışmanın her aşamasında mesleki bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen danışman hocam Doç. Dr. Figen ERKOÇ'a, ikinci danışman hocam Prof. Dr. Meral TORUN'a, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesinde materyalleri temin etmemizde yardımını esirgemeyen Prof. Dr. Ufuk BEYAZOVA'ya, bilgilerinden faydalandığım Dokuz Eylül Üniversitesi öğretim üyelerinden Prof.Dr. Füsün ŞENGÜL'e, Gazi Üniversitesi Sağlık Meslek Yüksek Okulundan Öğr. Gör. Gamze KARAKOÇ'a ve Adnan Menderes Üniversitesinden Yard. Doç. Dinçer BİLGİN'e, laboratuvarındaki çalışmalarımda yardımcı olan Eczacılık Fakültesi Araştırma Görevlisi Dr. Aymelek GÖNENÇ'e ve Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji A.B.D teknisyeni Salime TARİHÇİ'ye, tez çalışmalarım boyunca destek olan anneme, babama ve özellikle ablam Çiğdem ER'e sonsuz teşekkürü bir borç bilirim.

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 1.1. Nitrat ve nitritlerin fizikokimyasal özellikleri.....	4
Çizelge 1.2. Kıt'a içi su kaynaklarının sınıflarına göre nitritin ve nitratın azot değeri cinsinden (mg/l) kalite kriterleri.....	12
Çizelge 1.3. Methemoglobinemiye neden olan bazı oksidanlar.....	26
Çizelge 3.1. Şebeke ve kuyu suyu nitrit miktarları.....	36
Çizelge 3.2. Methemoglobin düzeyleri tayin edilen bebeklerin cinsiyetlerine göre dağılımı.....	38
Çizelge 3.3. Kontrol grubu bebeklerin cinsiyetleri, yaşları ve methemoglobin düzeyleri.....	38
Çizelge 3.4. Deney grubu bebeklerin cinsiyetleri, yaşları ve methemoglobin düzeyleri.....	39
Çizelge 3.5. Kontrol grubu bebeklerle deney grubu bebeklerin methemoglobin düzeylerine ait istatistiksel değerlendirme.....	40
Çizelge 3.6. Ankara içme suyu kalitesi ortalama değerleri.....	45

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. Azot çevrimi.....	7
Şekil 1.2. Hemin yapısı.....	19
Şekil 1.3. NADH-methemoglobin redüktaz yolu.....	21
Şekil 1.4. NADPH-methemoglobin redüktaz yolu.....	22
Şekil 3.1. Kalibrasyon grafiği.....	37



SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamalarıyla birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
A	Absorbans
nm	Nanometre
Kısaltmalar	
ASKİ	Ankara Su ve Kanalizasyon İdaresi
LC ₅₀	Uygulandığı organizmaların yarısını öldüren doz
FAD	Flavin adenin dinükleotid
FAO	Dünya Gıda ve Tarım Örgütü
G6PD	Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz
MCL	Maksimum kontaminasyon düzeyi
NADH	Nikotin adenin dinükleotid
NADPH	Nikotin adenin dinükleotid fosfat
ppm	Milyonda bir kısım
TSE	Türk Standartları Enstitüsü
U.S. EPA	Amerikan Çevre Koruma Ajansı
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

1. GİRİŞ

Hücredeki bütün hayatsal olaylar su içinde meydana gelir ve susuz bir hayat düşünülemez. Dünya yüzeyinin dörtte üçü sularla kaplı olup dünyadaki toplam suyun %97,6'sı denizlerde, %2,4'ü de karalarda bulunmaktadır. Karalarda bulunan suyun ancak %10 kadarı teorik olarak kullanılabilir tatlı su potansiyelini oluşturmaktadır ki bu da 3-4 milyon km³tür (İleri, 2000).

Yukarıda da görüldüğü gibi yeryüzünde su pek çoktur. Ancak, içme suyu azdır. Mevcut içme suyu kaynakları da artan nüfus, hızla gelişen endüstri ve yok olan ormanlar nedeniyle günden güne ihtiyacı karşılamaktan uzak kalmıştır. İçme suları yeraltı ve yerüstü kaynakları olmak üzere ikiye ayrılırlar. Yeraltı suları, genellikle alınıp doğrudan içilebilen sulardır. Yerüstü suları ise nehir, dere, çay, göl ve baraj sularıdır. Yerleşim yerleri civarındaki yerüstü kaynakları genellikle kirlidir. Kirlilik dereceleri daha çok geçtikleri, üzerinde bulundukları topraklara, yakınlarında bulunan fabrikalara ve yerleşim birimlerine bağlıdır. Özellikle büyük yerleşim birimlerine yakın olanları önemli ölçüde kirlidir. Deniz suyu gibi bunlar da alınıp doğrudan içilemezler. İçilebilmeleri için bir takım arıtma işlemlerinden geçmeleri gerekir (Gündüz, 1998).

Su kirliliği, su kalitesinin dolayısıyla su ortamının doğal dengesinin bozulması demektir aynı zamanda suyun normal durumundan ne kadar uzaklaştığını halk sağlığına etkisini veya ekolojik etkilerini belirtir. Suyun kalitesi, potansiyel kullanımın belirlenmesinde temel kuraldır. Günümüzde suyun başlıca kullanım yerleri tarım ve endüstri alanlarıyla evsel gereksinimlerdir. Evlerde kullanılan su, sağlığa zararlı olan pestisitleri, hastalık yapan ajanları ve ağır metal gibi maddeleri içermemeli, tadı ve kokusu güzel olmalı, ayrıca su tesisatlarına ve ev aletlerine zarar vermeyecek şekilde olmalıdır (Akman vd., 2000).

Su, pek çok canlının yaşam ortamı, pek çoğunun da yaşamını sürdürmesi için temel maddelerden biri olduğu için, su kirliliği insan başta olmak üzere, tüm canlıların sağlığını olumsuz yönde etkiler. Kirliliğin belli değerlerin üstüne çıkması çeşitli hastalık ve ölümlere neden olur (Özdemir, 1997).

Günümüzde gelişmekte olan ülkelerde tüm hastalıkların %80'i ve ölümlerin üçte biri kirli sulardan kaynaklanmaktadır (İleri, 2000).

Azotlu madde ihtiva eden ve nitrata çevrilebilen insan ve hayvansal kaynaklı organik atıklar önemli birer azot kaynağıdır. Yağmur suyu, yapay sulama sistemleri, yeraltı ve yerüstü su hareketleri ile bu kaynaklarda oluşan nitratların, nitritlerin içme ve kuyu sularına karışması mümkündür. Ayrıca endüstriyel inorganik atıklar, tarımda kullanılan yapay gübreler de yüzeye yakın yeraltı suları ile yeryüzü su kaynaklarında nitrat konsantrasyonlarının artmasına neden olur.

Nitratın insanlara toksisitesi sadece nitrite indirgenmesi sonucu olur. Nitritin insanlar üzerindeki en önemli biyolojik etkisi, normal hemoglobinin oksidasyonla methemoglobine çevrilmesidir. Bu durumda dokulara oksijen taşınmaz. Methemoglobin düzeyinin %10'a ulaştığı klinik durum methemoglobinemi adını alır (WHO, 1996).

Methemoglobineminin %60 ile %85 düzeylerine ulaşmasında ölüm meydana gelir. 1945 yılından beri %8'i ölümcül durumda olan 2000 methemoglobinemi olayı dünya literatürlerinde rapor edilmiştir (WHO, 1984; Askew and Finelli, 1994; Mason, 1996).

Çocuklarda kazanılmış methemoglobinemi nedeni olan en önemli çevresel etki kuyu sularının yüksek nitrat miktarları içermesidir (Dean et al., 1992). 6 aya kadar olan çocuklarda methemoglobinemi riski çok yüksektir. Yeni doğan çocuklarda NADH-sitokrom b₅ redüktaz aktivitesi yetişkinlerin %50-60'ı civarındadır ve bağırsak pH'ları oldukça yüksektir. Bu durumlar bağırsak

organizmalarıyla nitratın nitrite dönüşümü için uygun ortamı sağlar. Methemoglobinin hiçbir durumunun, büyük çocukların ve yetişkinlerin yüksek miktarda nitrat içeren kuyu sularını içmesi nedeniyle direkt oluşmadığı rapor edilmiştir. Nitrit tuzlarının mideye alınmasıyla öldürücü zehirlenmeler oluşur (McKnight et al., 1999; Zeman et al., 2002a).

Bu çalışmada, Ankara'daki içme ve kuyu sularında nitrit kirliliğinin muhtemel toksik etkisiyle bebeklerde methemoglobin düzeyinin yükselmesinin araştırılması amaçlanmıştır. Yapılan literatür taramasında bu konuda yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Nitrat ve nitritlerin oluşumu

Nitrat ve nitritler, su ve gıdalarda iki şekilde bulunur. Bunlar eksojen ve endojen olarak nitelendirilebilir. Eksojen olanlar, et ve süt ürünlerinde olduğu gibi kalite düzenleyici olarak ürünlere dışarıdan katılan nitratlar ve nitritler olup, bu amaçla kullanılan nitrat ve nitritlere bilimsel kurallar dahilinde yasal kısıtlamalar getirilmesi, bunlardan doğabilecek risklerin en düşük düzeyde tutulmasını sağlayabilmektedir. Ancak endojen nitrat ve nitritler, yem ve yem hammaddeleri ile su ve bitkisel gıdalarda doğal olaylar sonucu meydana gelirler. Bu nedenle böyle gıdalardaki nitrat ve nitrit içeriğinin denetimi mümkün olmamaktadır. Dolayısıyla ikinci yoldan oluşan nitrat ve nitritler, gıda güvenliği ve hijyeni açısından daha büyük önem taşımaktadır (Büyükyörük, 1995). Nitrat ve nitritlerin fizikokimyasal özellikleri Çizelge 1.1'de verilmiştir (Tomar, 1999).

Çizelge 1.1. Nitrat ve nitritlerin fizikokimyasal özellikleri

Özellik	Nitrat	Nitrit
Asit	Kuvvetli asit HNO_3 ; $\text{pKa}=-1,3$	Zayıf asit HNO_2 ; $\text{pKa}=3,4$
Tuzlar	Suda iyi çözünür	Suda iyi çözünür
Reaktif	Reaktif değil	Reaktiftir. Hemoglobindeki Fe^{+2} 'yi Fe^{+3} 'e oksitler. Nitrozatlar, değişik aminler amidler gibi başlıca aminleri okside ederler.
Azot Dönüşümü	1 mg NO_3^-/l = 0,226 mg $\text{NO}_3^--\text{N}/\text{l}$	1 mg NO_2^-/l = 0,304mg $\text{NO}_2^--\text{N}/\text{l}$

Endojen nitratlar ve nitritler azot çevriminin doğal parçası olarak oluşurlar (WHO, 1996).

Azot canlı tabiat için çok önemli bir elementtir. Çünkü, canlı yapısında bulunan bütün amino asitler, nükleik asitler ve aminler azotlu organik bileşiklerdir (Gündüz, 1998).

Yapay gübreleme bir yana bırakılacak olursa tek azot (N) kaynağı atmosferdir. Atmosferde %78 oranında azot vardır (Fetter, 1999; Boşgelmez vd., 2000). Bu haliyle atmosfer ekosistem için önemli bir azot kaynağı olarak düşünülebilir. Bununla beraber havadaki azottan doğrudan doğruya yararlanabilen pek az canlı organizma vardır. Leguminosae ile simbiyotik yaşayan bazı bakteriler ve cyanobacteria, atmosferdeki azotu tespit eder. *Leguminosae* ile simbiyotik yaşayan bakteriler bitkilerin saçak köklerine girer ve nodüllerin oluşmasına yol açar ve azot burada tespit edilir. Bitki ile bakteri arasındaki bu simbiyotik ilişki havadaki azotun toprakta tespit edilmesinde başlıca rolü oynamaktadır. Bununla beraber, bazı serbest yaşayan bakteriler

de azotun tespit edilmesinde katkıda bulunur. Aerobik *Azotobacter* ve anaerobik *Clostridium* türleri ve fotootrofik bakteriler, karasal ekosistemde toprakta olduğu kadar deniz ve tatlı su ekosisteminde de oldukça yaygındır (Şişli, 1999).

Rhizobium cinsinden bakteri türleri, *Fabaceae* familyası bitkilerinin köklerinde, simbiyotik ilişki sonucu bitkiden enerji sağlayarak, havada gaz halinde bulunan moleküler azotun tesbitini gerçekleştirir. Amonyum iyonu glutamat ve glutamin sayesinde amino asitlerin yapısına katılabilir. Azot fiksasyonunun reaksiyonu genel olarak aşağıda verilmiştir.



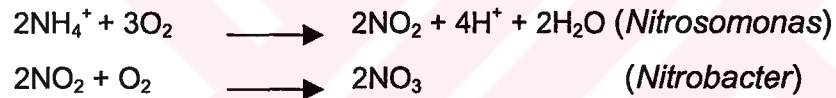
Bu reaksiyonlardaki ATP moleküllerinin sayısı halen tartışmalı olup kesin sayı bilinmemektedir. Ancak çok miktarda ATP harcandığı kesindir Amonyumun bir kısmı, bitkilerin amino asit sentezlemesi için bitkinin faydalanmasına sunulur. (Stryer, 1995; Şişli, 1999).

Yonca, çayır üçgülü, bakla, mercimek, fasulye, bezelye, soya fasulyesi, fiğ ve bazı yem bitkileri gibi baklagillerin azot tespit etme kapasitesi, başka bitkiler tarafından topraktan uzaklaştıran miktarı karşılayacak kadar büyüktür. Biyolojik azot tespiti, fotosentezden sonra, dünyadaki en önemli biyokimyasal çevrim olarak kabul edilebilir (Boşgelmez vd., 2000).

Ekosistemden azotun uzaklaşması belli başlı 3 yolla olur: Yıkanma, ürünün kaldırılması ve denitrifikasyon. Yıkanma ile suda eriyebilen nitratlar yitirilir. Genel olarak ekosistemlerde ürünün kaldırılması ekosistemi etkileyecek önemli bir düzeyde olmaz. Ekosisteme giren canlı ve döküntüler buradan uzaklaşanlarla az çok denge halindedir. Denitrifikasyon, *Pseudomonas* ve bazı funguslarda olduğu gibi, nitratın oksijen kaynağı olarak kullanılması söz konusu olduğu zaman ortaya çıkmaktadır. Önemli miktarlardaki nitratın azota dönüşümü ancak tam ya da kısmi anaerobik toprak koşulunda ortaya çıkar

(Şişli, 1999). Azot çevriminde genel olarak kayıp ve katılma, nitrat düzeyinde olur. Ekosistemin otçul besin zincirinde esas azot alınımı nitrat halindedir. Bu besin zincirinde azotun izlediği yol, proteinlerin ve amino asitlerin parçalanma ürünü olan ve üre, ürik asit biçiminde boşaltıma uğrayan maddelerden amonyağa doğrudur. Bakteri faaliyeti ile nitrifikasyon denen işlem, yani amonyaktan nitratlara doğru bir dönüşüm meydana gelir (Şişli, 1999).

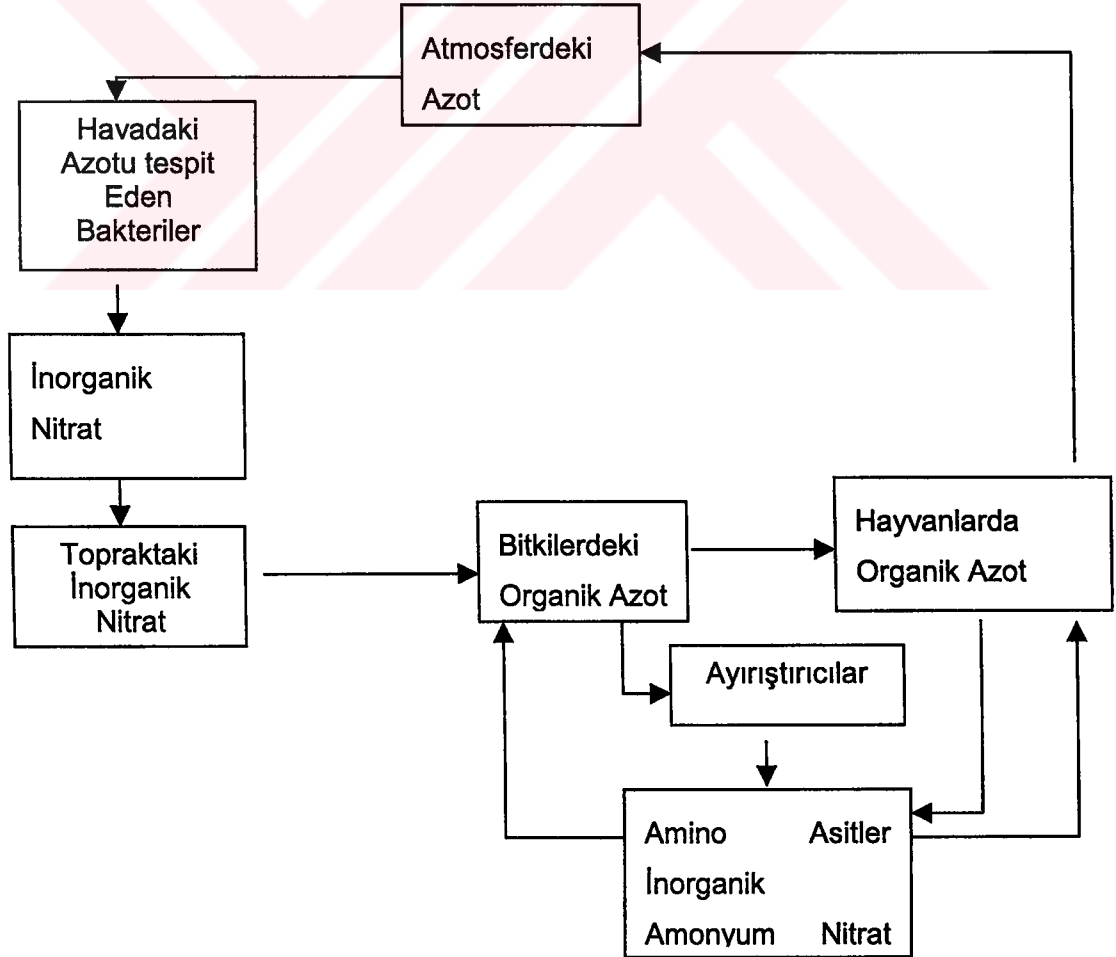
Nitrifikasyon olayı sırasında enerji meydana gelir, bu enerji *Nitrosomonas* ve *Nitrobacter* gibi bazı nitrifikasyon bakterilerinin yaşamsal olaylarında kullanılır (Tomar, 1999). Amino asit sentezi; bakteriler (bazı amino asitleri), hayvanlar (bazı amino asitleri), bitkiler (proteinlerin yapımı için gerekli bütün amino asitleri) tarafından gerçekleştirilir.



Organizmalarda depo edilen azot; hayvan boşaltım maddeleri, ölü organizma ve organizma kısımları (yapraklar) ile toprağa döner. Hayvan dışkıları (idrarla karışık) üre bakımından zengindir $[(\text{NH}_2)_2\text{CO}]$. Bu madde, birçok organizmada protein metabolizması ürünüdür. Ölü organizmalardaki proteinler, bakteriler ve çürükçül funguslar tarafından amino asit ve başka kalıntıları yıkılır. Üre, amino asit ve diğer yıkım ürünleri, başka bir grup bakteri tarafından amonyağa çevrilir. Bu basamağa aminifikasyon denir (Stiling, 1999; Şişli, 1999; Boşgelmez vd., 2000).

Bu şekilde tesbit edilen azot, herhangi bir şekilde esas kaynağı olan moleküler forma (N_2) dönmeyecek olsaydı, şimdiye kadar tükenmiş olurdu. Denitrifikasyon bakterileri denen bir grup bakteri nitratları, azot okside (N_2O) ve azota dönüştürür. Başka bakteri faaliyeti ya da fotokimyasal yolla azot oksit moleküler azota çevrilir. Böylece azot çevriminin atmosferik halkası tamamlanır. Başka bir denitrifikasyon yolu da, bakteri faaliyeti ile nitratların nitritlere, nitritlerin amonyağa dönüştürülmesidir (Şişli, 1999; Tomar, 1999).

Azot çevriminde dönüşümler, herhangi bir canlı devreye girmeksizin de gerçekleşebilir. Organik maddelerin parçalanmasıyla oluşan amonyağın (NH_3) bir kısmı, gaz halinde atmosfere karışır. Amonyak atmosferdeki su buharında eriyerek amonyum (NH_4^+) iyonlarını oluşturur. Azot, atomik oksijenle temas edince, nitrik oksit (NO) meydana gelir. Nitrik oksit volkan faaliyeti, şimşek çakması sırasında ortaya çıkan enerji ile oluşur. Bu oksitin hidroliz ürünü olan nitrik asit (HNO_3) yağmurlarla yeryüzüne taşınır (Şişli, 1999; Tomar, 1999). Nitrik asit ya asit yağmurlarını oluşturur ya da amonyak gibi bazı moleküllerle birleşerek nitratları meydana getirir. Her iki halde de yeryüzüne tesbit edilmiş azot sağlanır (Şişli, 1999). Azot çevrimi Şekil 1.1'de verilmiştir (Özdemir, 1997).



Şekil1.1. Azot çevrimi (Özdemir, 1997)

Nitratlar ve nitritler genelde sebzelerden ve içme sularından yüksek miktarlarda alınırlar (Shiamada, 1989; Amr and Hadidi, 2001). Ispanak, marul, lahana, kereviz gibi sebzelerin nitrat miktarı yüksektir. Diğer sebzelerde miktar düşüktür fakat fazla miktarda tüketildiklerinde kişiler yine yüksek miktarda nitrat alırlar (Ellis et al., 1998).

İşlem görmüş etler de nitrit ve nitrat kaynaklarıdır ayrıca mandıra ürünlerinde ve balıklarda da düşük miktarlarda bulunabilirler. Et ürünleri her kilogramlarında ortalama 2-945 mg nitrat ve 0,2-64 mg nitrit içermektedir. Mandıra ürünleri her kilogramlarında 3-24 mg nitrat ve 0,2-1,7 mg nitrit içermektedir. Sodyum nitrit yiyecek koruyucu maddesi olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. Sebzeler ve meyveler de her kilogramlarında 200-2500 mg nitrat içermektedirler. Nitrat içeren sebzeler gübre kullanımından, yetiştirilme koşullarından ve yiyeceklere yapılan bazı işlemlerden etkilenirler (WHO, 1996).

Ispanak gibi yüksek miktarda nitrat içeren bazı sebzeler evde pişirildikten sonra bekleyince bakteriyel kontaminasyondan dolayı nitratlar nitritlere indirgenir (McKnight et al., 1999).

Nitrat ve nitrit iyonları suda yüksek oranda çözünürdür. Birçok katyonla suda çözünen tuzlar oluştururlar. Oral yolla alınan nitratlar proksimal ince bağırsakta absorbe edilirler. Bağırsağın proksimal ucuyla alınan nitrat böbreklerle de plazmadan temizlenir. Normal şartlarda tükürük 8-12 mg/l nitrit içerir. Oral yolla alınan nitratın yaklaşık %25'i aktif olarak tükürükte salgılanır. Bu nitrat ağızdaki bakteriler tarafından nitrite çevrilir ve mide asitleri tarafından nitrik okside çevrilir (Tannabeum et al., 1978; Ellis et al., 1998).

İnce barsakta heterotrofik nitrifikasyonla oluşan nitritin bir kısmı kana geçer, bir kısmı da daha aşağı bölgelerde tepkimeye girerek nitrozaminlerin oluşumunda kullanılır (Tannenbaum et al., 1978).

Ruminantlara nitratlı bileşikler verilerek yapılan denemelerde koyun ve sığırların rumeninde nitratlar amonyağa indirgenirken, nitritler bir ara ürün olarak şekillenir. Fazla miktarda nitrat alındığında, nitritin amonyağa indirgenme hızı, nitratın nitrite indirgenme hızından daha yavaş olduğundan nitrit birikimi olur. Ruminantlarda rumen sıvısının mikroflora içeriği ile pH durumu ve karbohidrat varlığının söz konusu indirgenme etkinliği üzerinde, önemli paya sahip olduğu ortaya konmuştur (Büyükyörük, 1995).

Tannenbaum et al., (1978), insanların idrar ve gaitaları ile dışarı atılan nitrat azotunun, diyetle alınan miktarlardan çok fazla olduğunu ayrıca doğal ortamda olduğu gibi, insan bağırsağında da azotlu bileşiklerden mikrobiyolojik yolla nitrat oluştuğunu, oluşan nitratın bir kısmının nitrite indirgendiğini yaptıkları çalışmada saptamışlardır.

Nitrat ve nitrit kaynakları

İnsanlar, yaşamsal ve ekonomik ihtiyaçları için suyu, su döngüsünden alırlar ve kullandıktan sonra tekrar aynı döngüye geri verirler. Bu işlemler sırasında, suya karışan maddeler, suyun fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerini değiştirmekte ve suyun kalitesinin bozulmasına neden olmaktadır (Özdemir, 1997).

Uygarlığın gelişmesiyle, insanın suya yaptığı etkiler gittikçe artmış ve giderek kaynakların sürekliliğini etkileyecek boyutlara ulaşmıştır. Özellikle yirminci yüzyılın başından başlayarak, hızla gelişen sanayiler, bir yandan üretim sürecinde çıkarttıkları atıklarla, diğer yandan oluşturdukları yerleşim merkezlerinde ortaya çıkan atıklarla, suları önemli ölçüde kirletmeye başlamışlardır (Özdemir, 1997).

Sudaki nitrit, amonyağın yükseltgenmesi veya nitratın indirgenmesinden meydana gelir. Proteinli bazı organik maddelerin biyolojik olarak bozunmasından da nitrit meydana gelir. Ancak nitrit oksijen bulunan ortamda

kararlı olmayıp, yükseltgenerek nitrat haline dönüşür. Bu nedenle, aerobik ortamda tabii sulara kısa bir zaman için bulunur (Giritlioğlu, 1975).

Diklorofenoksi asetik asit türevi herbisitlerin tarımda kullanılması sonucu bitkilerde, hayvanlar için zehirli olabilecek miktarlarda, nitrat birikebilmektedir. Nitratin organik ve inorganik formlarına fosil yakacakların yanma ürünleri ile kimya endüstrisinin atıklarında da rastlanır. Bunlar akciğer yolu ile vücut tarafından absorbe edilebilmektedir. Nitratlar patlayıcıların üretiminde de kullanılan maddelerdir. Bu nedenle patlayıcı madde endüstrisine ait atıklarda gerek atmosferde, gerekse toprakta nitrat bulunmasına neden olabilmektedir (Büyükyörük, 1995).

İnsan faaliyetleriyle serbest kalan besinler su kirliliğine neden olur. Kirlenmeye neden olan iki önemli besin kaynağı fosfor ve azottur. En az fosfor ve azot yoğunluğu ormanlık alanların su akıntılarında bulunur. Gübrelerin, deterjanların ve atıksu arıtma tesislerinin ürünleri nedeniyle şehir sularında bu besin maddelerinin yoğunluğu fazladır. Bununla beraber en fazla fosfor ve azot yoğunlukları gübrelenmiş tarım arazilerinin olduğu tarımsal alanlardır (Akman vd., 2000).

Dünyanın her yerinde ziraat yapılan alanlarda gün geçtikçe daha fazla miktarda gübre kullanılmaktadır. Bunların esas maddesi amonyum nitrat ve fosfat, amonyak, potasyum tuzları ve süper fosfattır. Gübrelerin günden güne daha fazla kullanılmasının zararlı tarafı bunların drenaj suyu içerisine sızmasıdır (Kor, 1974). Böylece hayvan gübreleriyle sular kirlenerek nitrat içerebilirler (Dusdieker et al., 1994).

Yeraltı sularındaki ve yeryüzü sularındaki nitrat miktarı normalde düşüktür fakat suların insan ve hayvan atıkları ile kirlenmesi, çöplerin boşaltılması sonucu en yüksek seviyelere ulaşabilir (WHO, 1998).

Eğer su çok miktarda nitrat içeriyorsa bunun anlamı suyun uzun zaman önce kirlenmiş olduğudur. Çünkü yeni dökülen atık lağım suları önemli seviyede

amonyak miktarına sahiptir. Daha sonra amonyak nitritlere ve nitratlara okside olur (Tomar, 1999).

Yeraltı sularındaki nitrat miktarları mevsimlere göre değişebilir. Yaz öncesi ve sonbaharda bitkilere gübre uygulamasından sonra nitrat miktarları yüksek seviyelere ulaşabilmektedir. 1993 yılında Wisconsin'de yapılan bir araştırma da Nisan, Mayıs, Haziran aylarında kırsal alanlardaki kuyu sularında ve sığ sularda nitratın en yüksek seviyeye ulaştığı rapor edilmiştir (Knobloch and Proctor, 2001). Sonbahar ve kış yağmurları topraktan nitratın uzaklaşmasına neden olur. Sonbaharın sonlarında ve kış mevsiminde toprağa doğal olarak nitrat eklenmesi olmaz, çünkü soğuk hava minerilazasyon ve nitrifikasyon aşamalarının oluşumunu engeller (Oruç, 1999).

Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) normalde nitrat seviyesi 4-9 mg/l ve nitrit seviyesi 0,3mg/l'yi geçmez fakat tarımsal çalışmalar sonucunda değişiklik gösterebilmektedir. 1986 yılında 40 yerüstü ve 568 yeraltı suyunda yapılan çalışmada nitrat konsantrasyonunun 10 mg/l geçtiği görülmüştür. Nitrit seviyeleri tayin edilmemiş fakat 3,3 mg/l'nin üzerinde olduğu tahmin edilmektedir (WHO,1996).

Ülkemizdeki içme sularının kalite kriterleri, Doğal Kaynak, Maden ve İçme Suları ile Tıbbi Suların İstihsalı, Ambalajlanması ve Satışı Hakkındaki Yönetmelik ile; içme ve kullanma sularında nitratı 45 mg/l, kaynak sularında 25 mg/l'yi geçmeyecek şekilde, nitriti içme sularında 0,05'i geçmeyecek ve kaynak sularında ise bulunmayacak şekilde sınırlandırılmıştır (Anonim, 1997). Türk Standartları normlarının verildiği TS 266'ya göre içme ve kullanma sularında nitrit bulunmamalıdır (Anonim, 1984). Ayrıca kıt'a içi su kaynaklarının sınıflandırılmasında Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği, nitrat ve nitrit için maksimum miktarları Çizelge 1.2'de gösterildiği şekilde sınırlandırmaktadır (Anonim, 1988).

Çizelge 1.2. Kıt'a içi su kaynaklarının sınıflarına göre nitritin ve nitratın azot değeri cinsinden (mg/l) kalite kriterleri (Anonim, 1988).

Sınıfı	Kalite açıklaması	Nitrit	Nitrat
1.Sınıf	Yüksek kaliteli su	< 0,002	< 5
2.Sınıf	Az kirli su	< 0,01	< 10
3.Sınıf	Kirlenmiş su	< 0,05	< 20
4.Sınıf	Çok kirli su	> 0,05	> 20

Nitritin sağlık üzerine etkileri ve önemi

Sudaki nitrit insan ve hayvanların sağlığını tehdit eder ve ötrifikasyona neden olabilir (Howarth et al., 2000; Hunter, 2001).

Dünya Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO), insanların günlük diyetleriyle alabilecekleri nitrat ve nitrit miktarlarını 5 mg nitrat/kg ve 0,2 mg nitrit/kg vücut ağırlığı olarak kabul etmiştir (Oruç, 1999).

Nitratın insandaki toksik etkisi nitrite indirgenmesinden kaynaklanır. Nitritin en büyük toksik etkisi hemoglobini methemoglobine çevirmesidir (WHO, 1998). Sodyum nitrit toksik etki gösterdiğinde aşırı methemoglobin oluşabilmektedir (Sun et al., 1995). 1962 yılında koruyucu madde olarak sodyum nitrit kullanılan balıkların tüketilmesiyle üç kişide methemoglobineminin olduğu, 33 mg/lkg sodyum nitrit almış olan bir hastanın da öldüğü bildirilmiştir (Oruç, 1999).

Nitroso bileşikler insanlar ve değişik türde hayvanlar için güçlü karsinojenik etkiye sahip bileşiklerdir (Gibson and Ioannides, 1981). Mutajenik ve karsinojenik nitrozaminler sindirim esnasında nitritler ve sekonder aminlerin reaksiyonundan oluşabilmektedir (Heckman et al., 1997).

Hava ve su kaynaklarındaki ciddi kirlenme kanserden ölümün artmasına yol açabilir ve bu kirlilikler arasında içme suyundaki nitrat ve nitritte yer almaktadır (Han et al., 1997).

Nitratla kirletilmiş suların mide kanseri riskini arttırdığı İspanya, Çin, Tayvan'da yapılan uzun dönem çalışmalarla gösterilmiştir. Burada öne sürülen mekanizma alınan nitratın nitrite dönüşmesi ve nitritin de karsinogenik nitrozaminlere dönüştüğü şeklindedir. Nitrat içeren suların uzun süre kullanılmasının diabet, kanser ve tiroid hastalıklarının oluşmasıyla ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir (Knobeloch et al., 2000).

İspanya'da yapılan bir çalışmada içme suyundaki nitrat seviyesinin artmasıyla, gastrik ve prostat kanseri gibi hastalıklardan ölüm oranının arttığı bulunmuştur (Gelberg et al., 1999).

Ellis et al., (1998), diyetle alınan nitrit ve nitratın plazmada ve idrarda ölçümünü gerçekleştirmişlerdir. Enfeksiyon, mide-bağırsak hastalıkları, hipertansiyon, böbrek ve kalp hastalıkları, iltihabi hastalıklar, merkezi sinir sistemi hastalıkları gibi değişik klinik durumların görülme sıklığına çevresel nitritin ve nitratın etkilerini incelemişler ve bu hastalıkların sıklığı ile içme suyundaki nitrat miktarı arasındaki ilişkinin tartışmalı olduğunu belirtmişlerdir.

Grant et al., (1996); Knobeloch et al., (2000), Hindistan'da yapılan bir çalışmada kuyu sularında yüksek miktarda nitrat bulunan bölgelerde kadınlarda düşükler olduğunu ve bu kadınların kuyu suyu içmeyi bıraktıklarında gebeliklerinin doğumla sonuçlandığını belirtmişlerdir.

Halk sağlığı uzmanlarına göre çocuk methemoglobinemisi nitratlı suların kullanılmasından kaynaklanmaktadır (Knobeloch and Proctor, 2001).

İlk defa 1945'de Comly tarafından açıklanan kuyu suyu methemoglobinemisi, 2-4 aylık süt çocuklarında dudak kenarlarında, el ve ayak parmaklarından başlayarak zamanla yüze ve bütün vücuda yayılan gri-mavi siyanozla beliren klinik tablodur (Güray, 1976). Nitritlerin hemoglobinle doğrudan reaksiyonunun methemoglobin oluşturduğu bilinmektedir. Hunter Comly'e göre, pek çok çocukta nitrat ile kirletilmiş sulardan dolayı methemoglobinemi

görülmektedir. Gastrointestinal bölgelerdeki bakteriyel infeksiyonlarla nitratlar nitritlere çevrilir. Böylece oluşan nitrat türevi nitritler, hemoglobin ile reaksiyona girerek methemoglobini oluştururlar (Avery, 1999). Dr. Hunter Comly tarafından iki yeni doğanın mamalarının kuyu suyu ile hazırlanmasından sonra hastalandıkları tespit edilmiştir. Comly bu kuyulardaki nitrat-N konsantrasyonlarının 90-ve 150 mg/l olduğunu belirtmiştir (Knobeloch et al., 2000).

Knobeloch et al., (2000), mavi bebek sendromunu yeni doğanların eritrositlerindeki hemoglobinin (Fe^{+2}) methemoglobine (Fe^{+3}) okside olmasıyla oluşan potansiyel öldürücü bir durum olarak tanımlamıştır. Çünkü methemoglobin oksijen taşıyamaz ve bu durum sonucu siyanoz oluşur. Methemoglobinemi ile ilişkili en yaygın çevresel etken nitratla kirlenmiş sulardır. Amerika'da 1979-1996 yılları arasında altı yeni doğanın methemoglobinemi nedeniyle öldüğünü bildirmişlerdir.

Bebeklerin su kaynaklarından nitrata maruz kalmalarını en aza indirebilmek amacıyla ABD Çevre Koruma Ajansı (U.S. EPA) halka sunulan içme kullanma sularında maksimum kontaminasyon seviyesini (MCL) 45 ppm nitrat veya 10 ppm nitrat-N olarak sınırlandırmıştır (Craun et al., 1981; Avery, 2001).

Fan and Steinberg, (1996), Nitratın methemoglobinemi oluşumuna etkisindeki temel noktayı göstermek için içme sularında nitrat standartları ayarlamaları yapıldığını belirtmişlerdir. MCL'si 45 ppm (mg/l) nitrat veya 10 sudaki nitrat veya nitrit seviyesi yüksek olduğu zaman hayvanda toksik etki görüldüğünü bildirmişlerdir.

Zeman et al., (2002b), Transilvanya'da yaptıkları çalışmada 2-6 aylık bebeklerin aldıkları gıdalardan ve içtikleri sulardan etkilenmelerini incelemişlerdir ve nitratlı su nedeniyle bebeklerin risk altında olduklarını belirtmişlerdir. Aynı çalışmada 2-6 aylık bebekler için nitritin toksik

miktarlarını düşük, orta ve yüksek dozlar olmak üzere tespit etmişlerdir. Buna göre, günlük nitrit miktarının yaklaşık 0,1 mg/kg olmasının düşük doz, 0,1-1,5 mg/kg olmasının orta doz ve 1,5'dan fazla olmasının ise bebekler için yüksek doz olduğunu bildirmişlerdir.

Knobeloch and Proctor, (2001), Amerika'da her yıl yaptıkları taramalarda çocuklarda methemoglobin düzeylerini ve etkilerini araştırmışlardır. Etkilenmiş çocuklarda siyanoz görüldüğü ve zihinsel açıdan değişim görülebildiğini bildirmişlerdir. Wisconsin'de halk sağlığı ile ilgili bölüm değişik durumlarda görülebilen çocuk methemoglobinemisi ile ilgili sürekli takip çalışmaları yapmaktadır.

Gupta et al., (1999), içme sularındaki nitrat konsantrasyonu, sitokrom b₅ redüktaz eksikliği ve sürekli oluşan ağız yaraları arasında önemli bir bağlantı olduğunu göstermişlerdir. İçme sularındaki yüksek nitrat konsantrasyonunun sitokrom b₅ redüktaz aktivitesinin indüklemesinin ağız yaralarının oluşmasına neden olabileceğini belirtmişlerdir. Aynı çalışmada içme sularında nitrat konsantrasyonunun artmasının 6 aya kadar olan çocuklardaki methemoglobinemiye neden olduğunu rapor etmişlerdir.

Knobeloch et al., (2000), Polonya'daki zehir bilgi merkezinde 14 yıllık araştırma sonucu 239 methemoglobinemili yeni doğan tespit etmiş ve bunların %90'nın nedenini kirlenmiş suların kullanılmasına bağlamışlardır.

Ayebo et al., (1997), 1990-1994 yılları arasında Romanya'nın Transilvanya bölgesinde doğan her 100,000 canlı doğumda 24 ile 363 arasında methemoglobinemi durumunun görüldüğünü ve methemoglobininin ana nedeninin de kirlenmiş kuyu sularının bebek maması hazırlanmasında kullanılması olduğunu belirtmişlerdir (Knobeloch et al., 2000).

Güray, (1976), İstanbul şehri sınırları içinde kuyu suyu kullanılan 20 bölgeden alınan 100 kuyu suyunun kantitatif tayininde nitrat seviyelerinin "Amerika

Halk Sağlığı Örgütü" tarafından nitratlar için konulmuş maksimum sınırların üzerinde olduğunu bulmuştur. Bu bölgelerde, nedeni bilinmeyen bebek ölümlerinin kuyu suyu methemoglobinemisinden olabileceğini düşündüğünü belirtmiştir.

Küçük çocuklarda ve bebeklerde methemoglobinemi, ıspanak tüketimi sonucu nitritin toksisite göstermesiyle de meydana gelebilir (Demirel et al., 1999).

Jesus et al., (2001), 1993-1998 yılları arasında İspanya'nın Barakaldo şehrindeki Cruces hastanesinin pediatrik acil servis bölümünde 7 tane methemoglobinemili çocuk görüldüğünü ve bu çocukların yeşil sebze tüketimi sonucunda siyanoz olduğunu belirtmişlerdir.

Avery, (1999), nitrat ile kirlenmiş sulardan kaynaklanan methemoglobinemi de diyarenin en önemli ilk semptom olarak önem taşıdığı rapor edilmiştir. Ayrıca diyarenin genetik anormal hemoglobin veya ilaçlardan kaynaklanan methemoglobininin tipik semptomu olmadığı belirtilmiştir.

1940 yılında, 4 sağlıklı 2 günlük ve 6 aylık bebekler arasında yapılan bir araştırmada, yaklaşık 100 ppm nitrat-N içeren suyla hazırlanan mamaları tüketen bu bebeklerin methemoglobin düzeylerinin en yüksek %7,5'a ulaştığı ve bebeklerde siyanoz görülmediği rapor edilmiştir. Buna göre, hastahane kayıtlarında nitratla kirlenmiş sudan yapılan mama ile beslenen bebeklerde methemoglobininin görülme bağlantısı en yüksek %11 seviyesinde olarak tespit edilmiştir. Çocuklarda methemoglobin seviyesinin ciddi biçimde yükselmesi her gün 12 mg nitrit-N alınması ile gerçekleşir (Avery, 2001).

İnsanlardan başka diğer canlılar da nitrat ve nitrit kirliliğinden olumsuz yönde etkilenebilmektedir.

Hayvanlar tür ve yaşa bağlı olarak nitrat ve nitritle zehirlenmeye karşı farklı duyarlılıklara sahiptirler. Çiftlik hayvanlarından en duyarlı olanları sırasıyla sığır, koyun, keçi ile at ve domuz gibi tek mideli hayvanlardır. Genç hayvanlar genellikle daha duyarlıdırlar. Ruminantların rumenlerinde nitratı nitrite çeviren bakterilerin bulunması, atların ve tavşanların sekumlarının büyük ve rumen gibi nitratın nitrite çevrilmesine uygun olması nitratla zehirlenmeye karşı daha duyarlı olmalarına neden olur. Hayvanların içme sularında bulunan nitrat ve nitrit miktarları da önemlidir. Çiftlik hayvanlarının içme sularında maksimum kabul edilebilir nitrat konsantrasyonu 445 ppm nitrat iyonu veya 100 ppm nitrat azotu olarak bildirilmektedir. Nitrat ve nitrit ile zehirlenmede semptomların şiddeti methemoglobin düzeyine bağlı olarak değişir (Oruç, 1999).

Bir grup fareye sodyum nitrit verilmesiyle lösemi gelişiminin önemli derecede hızlandığı görülmüştür. Sodyum nitritin in vivo ve in vitro deneylerle mutajenitesi tayin edilmiştir (Heckman et al., 1997; Abuharfeil et al., 2001).

Clostridium botulinum infeksiyonlarını engellemek amacıyla et ürünlerine nitrit eklenmekte; ancak yüksek seviyelerde kullanıldığında methemoglobin oluşabildiği; potansiyel akut toksisitesi olabileceği rapor edilmiştir. Diğer mekanizma da muhtemelen güçlü karsinojenik aktivitesi olan nitrozaminlerin muhtemel oluşmasında rol oynadıklarıdır. Amin ve nitritlerin birleşerek hayvanlarda tümör oluşturduğu testlerle görülmüştür (Belitz and Grosch, 1997).

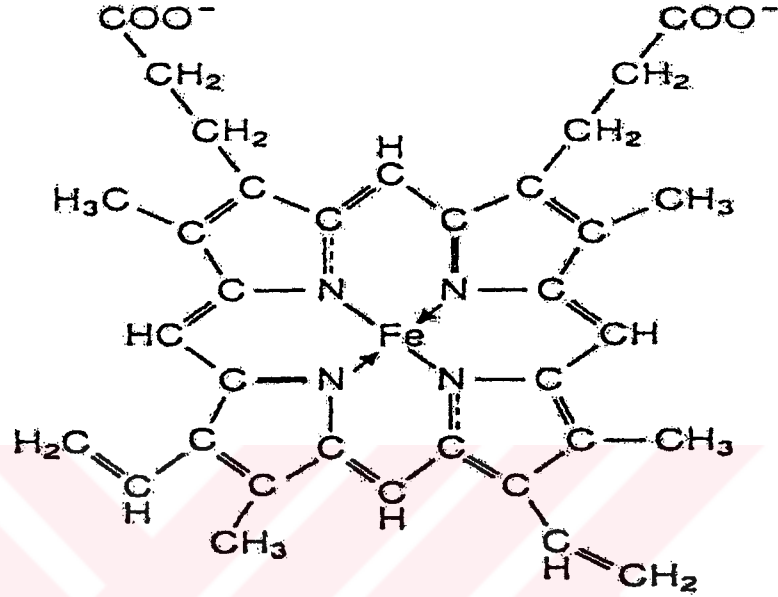
Nitratlı bileşiklerin insanlar ve balıklar üzerinde methemoglobinemi ve kansere neden olan olumsuz etkileri bildirilmiştir. Sazan balığı, kedi balıkları, salmonid türü balıklar ve diğer bazı balık türlerinde nitrit toksisite çalışmaları yapılmıştır. Nitrit toksisitesini anlamamanın en kolay yolu balıkların kanlarının incelenmesidir. Örneğin, kedi balıklarında nitritin methemoglobinemiye neden olduğu görülmüştür. Balığın kanı çukolata rengini almış ve balık methemoglobinemi semptomları göstermiştir. Ayrıca nitritin bazı amfibi

türlerinin larvalarının ölümlerine neden olduğu bildirilmiştir. Çeşitli araştırmalar sonucu klor ve tuzun balık methemoglobinemisi tedavisinde etkili olduğu tespit edilmiştir. (Konikoff, 1975; Anonymous, 1980; Tomasso et al., 1980; Palachek and Tomasso, 1984; Hilmy et al., 1987; Rodrigues and Tarazona, 1994; Anuradha and Subburam, 1995; Schoore et al., 1995; Marco et al., 1999).

Hemoglobin biyokimyası ve fizyolojisine genel bakış

Hemoglobin omurgalı hayvanlarda ve insanda eritrositler içinde bulunan 66,000 molekül ağırlığında tetramerik konjuge bir proteindir. Her alt birimde kovalent olmayan bağlarla yerleşmiş bir hem grubu (prostetik grup) bulunur. Hemoglobin molekülü dört polipeptid zinciri taşır. Bunlardan ikisi alfa, diğer ikisi beta zinciri adını alırlar (Berkarda vd., 1983; Noyan, 1996).

Hem grubu, protoporfirin IX halkası ve +2 değerlikli demir (ferro) iyonundan oluşur. Fe^{+2} iyonunun altı koordinasyon pozisyonundan dördü tetrapirrol halkasının azotları tarafından doldurulmuştur. Beşinci ve altıncı koordinasyon bölgeleri halka düzlemine dik bir eksenle yer alır. Bunlardan biri ile globin zincirinin histidin yan zincirine koordine edilir. Boş kalan altıncı koordinasyon pozisyonuna oksijen bağlanır. Şekil 1.2'de hemin yapısı gösterilmektedir (Mathews and van Holde, 1990; Linne and Ringsrud, 1992; Stryer, 1995).



Şekil.1.2. Hemin yapısı

Hemoglobinin iki temel işlevi vardır:

1. Oksijenin solunum organlarından periferel dokulara taşınması.
2. Karbon dioksit ve protonların atılımı için periferel dokulardan solunum organına taşınması.

Hemoglobin molekülünde dört demir atomu bulunduğundan, dört oksijen molekülünü bağlayabilir. Gerek oksijenin bağlanması ve gerekse oksijenin dokulara verilmesi çok hızlı reaksiyonlardır. Oksijen plazmaya geçtiğinde erir ve arkasından, eritrositlerdeki hemoglobin bu oksijenin hemen hepsini (%97) kendisine bağlar. Böylece oksihemoglobin oluşur. Hemoglobinle birleşen oksijen miktarı, plazmadaki oksijenin kısmi basıncı ile doğru orantılıdır. Oksijen basıncıyla hemoglobinin oksijen bağlama kapasitesi arasındaki bağlantıyı oksijen hemoglobin dissosiyasyon eğrisi gösterir ve eğri "S" Hemoglobin molekülünde demir %0,34 kadardır. Demir hemoglobinin fonksiyonel ve önemli parçasıdır, çünkü oksijen buraya bağlanıp

taşınmaktadır. Hemoglobin değeri (% gram olarak verilir) yetişkinlerden kadınlarda yaklaşık %14 ve erkeklerde %16'dır. Yenidoğanların hemoglobinleri doğumu takip eden haftalarda %11 grama kadar düşer (Berkarda vd., 1983).

Methemoglobin biyokimyası fizyolojisi ve oluşumu

Methemoglobin, normalde indirgenmiş Fe^{+2} durumunda olan demir yerine, Fe^{+3} 'e okside olmuş demirin bulunduğu bir hemoglobin türevidir. Methemoglobin deoksihemoglobinden oluşur ve oksijen taşıma ve bağlama kapasitesine sahip değildir (Ruch and Fulton, 1961; Wintrobe et al., 1981; Powers, 1989; Turgeon, 1999; Jesus et al., 2001).

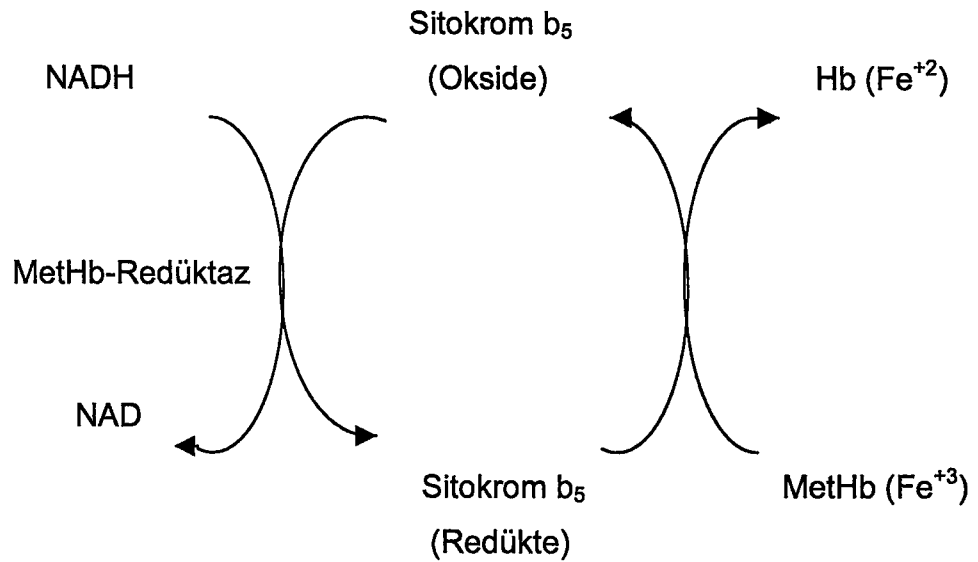
Normalde toplam hemoglobinin %1'inden daha azı methemoglobin olarak eritrositlerde bulunur (Firkin et. al., 1989; Hoffman et al., 2000). Ancak sağlıklı çocuklar ve yetişkinlerin kanında %1-3 aralığında değerler toksisite belirtisi göstermeden bulunabilmektedir (Wintrobe et al., 1981; Bick, 1996).

Hemoglobinin oksijen taşıma kapasitesi demir atomunun oksidasyon haline bağlıdır. Deoksihemoglobin halindeki demire oksijen bağlanması daha kolay olur. Oksihemoglobin, demirden oluşan ferrik-süperoksit ($Fe^{+3}-O_2$) bir elektron taşınmasıyla oluşur. Bu hemoglobinin otooksidasyonu ile çok yavaş ve kendiliğinden oluşur. Geri Fe^{+2} haline dönüşüm olmayınca methemoglobinemi görülür. Ferrik hemlere oksijen bağlanamaz. Hemoglobin tetramerindeki ferro hemlerinin oksijen çekimi (affinite) artmıştır. Bunun sonucu, oksijen eğrisi sola doğru kaymış ve oksijen açığa çıkışı azalmıştır (Hoffman et al., 2000). Bazı kimyasal maddeler otooksidasyon olayını arttırabilmektedir (Firkin et al., 1989).

Methemoglobin üretim hızı bazı faktörlere bağlıdır:

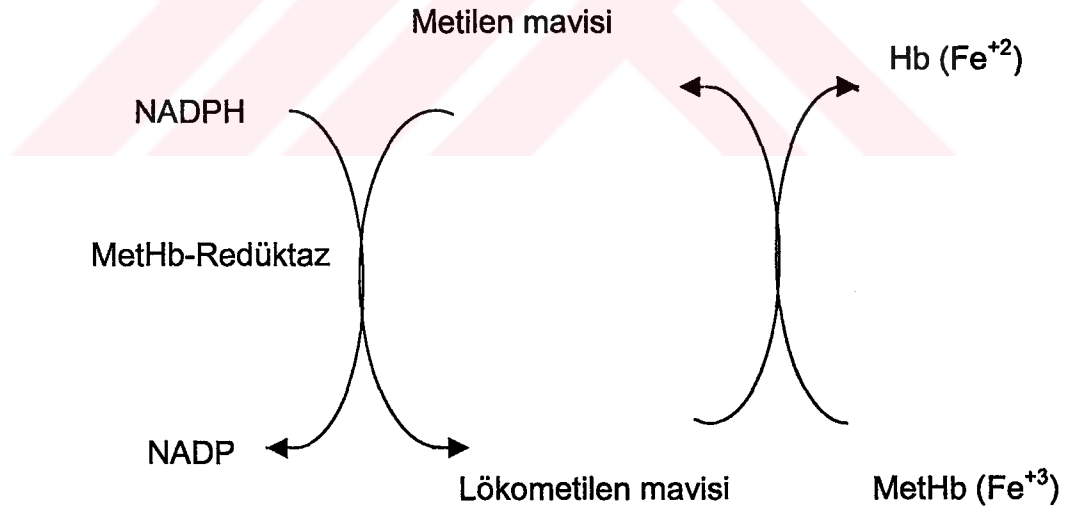
1. Methemoglobinemi yapan bileşiklerin eritrositlere ve kan dolaşımına giriş oranı ve yayılımı.
2. Söz konusu bileşiklerin vücut metabolizmasına etkisi.
3. Potansiyel oksidasyonun artması veya azalmasıyla söz konusu kimyasal bileşiklerin ara bileşiklere dönüşme derecesi.
4. Bileşiklerin vücuttan atılımı.
5. Eritrositlerdeki hemoglobinlerden methemoglobinin hemoglobine geri indirgenebilme oranı. Bu faktörlerin etkisi farklı insanlarda farklı olabilmektedir (Wintrobe et al., 1981).

İndirgen methemoglobinin, hemoglobine geri dönüşümünü sağlayacak çeşitli mekanizmalar olmasına rağmen sadece NADH-sitokrom b_5 redüktaz ile kataliz edilen reaksiyonlar fizyolojik olarak önemlidir. Sitokrom b_5 redüktaz elektron alıcısı işlevi olan, kovalent olmayan şekilde bağlı prostetik FAD grupları içeren methemoglobin redüktaz olarak bilinir. NADH, glikoliz esnasında oluşur. Sitokrom b_5 indirgenmesinden oluşan elektronlar methemoglobine taşınır, demir atomu ferro haline döner (Şekil 1.3).



Şekil1.3. NADH-methemoglobin redüktaz yolu (Hoffman et al., 2000)

NADPH bağılı methemoglobin indirgenmesi mekanizması askorbik asit ve glutatyon'dan elektronların doğrudan hem'e taşınmasıdır. NADPH bağılı methemoglobin redüktazda endojen elektron alıcısı eksiktir ve böylece fizyolojik olarak hareketsizdir. Metilen mavisini gibi ekzojen olarak verilen elektronla aktive edilebilir. Böylece enzim, metilen mavisini, methemoglobini non-enzimatik olarak hızlıca indirgeyebilen lökometilen mavisine dönüştürür. (Şekil 1.4). (Wintrobe et al., 1981; Özer, 1985; Hoffman et al., 2000). G6PD, NADP'nin NADPH'a redüksiyonunu sağlar. Eritrositlerde, G6PD eksikliğinde, pentoz fosfat yolu aktivitesi düşer ve bu nedenle NADPH deposu da azalır. Böylece hücrelerde metilen mavisini methemoglobin indirgenmesini hızlandıramaz. Sonuçta bu şekildeki eritrositler, peroksit, süperoksit gibi endojen oksidanlara ve methemoglobin oluşturan maddelere duyarlıdır (Vural, 1996).



Şekil 1.4. NADPH-methemoglobin redüktaz yolu (Hoffman et al., 2000)

6 aya kadar olan bebeklerde methemoglobinemi riski çok yüksektir (Droste, 1997; Avery, 1999; Knobloch et al., 2000; Zeman et al., 2002a). 2-6 aylık bebeklerde methemoglobineminin riskinin yüksek olmasının nedenleri aşağıda belirtilmiştir:

- 1- Bebeklerde toplam vücut sıvısının miktarı erişkinlere oranla 3 defa daha fazladır. Buna ilave olarak bebeklerde mide asiditesi, pH= 5-7 arasındadır ki bu da nitratı redükte eden bakterilerin geniş miktarda yaşamasına imkan veren bir ortam yaratmaktadır.
- 2- Bebeklerde methemoglobini hemoglobine çeviren methemoglobin redüktaz enzimi düşüktür (Güray 1976; Wintrobe et al., 1981; Knobloch et al., 2000).
- 3- Doğumda predominant olarak bulunan fetal hemoglobinin (HbF) yetişkinlerdeki hemoglobin A'ya (HbA) göre daha çabuk okside olabilmesi de methemoglobinemi oluşması nedenidir (Demirel et al., 1999).

Methemoglobinin ilk belirtileri solunum zorluğundan kaynaklanan siyanozdur. Methemoglobin konsantrasyonunun %10'dan büyük olması durumunda kan çikolata kahvesi rengini alır ve hastalarda karakteristik mavi-gri deri rengi görülür. Bebeklerin deri renkleri mavi-gri renginde olduğu için methemoglobinemi "mavi bebek sendromu" olarak da bilinir (Griffin et al., 1997; Knobloch and Proctor, 2001).

Methemoglobinin %30-%45'e ulaşması durumunda kalbin hızlı atması, baş ağrısı, baş dönmesi, nefes darlığı, kas kasılması ve bitkinlik görülür (Knobloch and Proctor, 2001; Firkin et al., 1989). Semptomlar doku seviyesindeki oksijen yetersizliğinin yansımasıdır. Methemoglobin, toplam hemoglobinin %50'si düzeyine ulaştığında bilinç kaybı, koma ve ölüm birbirini hızlı bir şekilde takip eder (Hoffman, 2000).

Methemoglobinemi kalıtsal veya kazanılmış (toksik) olarak iki şekilde görülür. Kalıtsal methemoglobinemi iki şekilde olur. Bunlar; NADH-bağlı enzimin eksikliği ve hemoglobin anormallliği olan Hemoglobin M'in bulunmasıdır (Firkin et al., 1989).

Kalıtsal methemoglobinemide, methemoglobin redüktaz enzimi eksikliği otozomal resesif koşullarda olur. Klinik olarak siyanoz ile methemoglobin düzeyinin %40'a ulaştığı görülmüştür (Delamore and Liu Yin, 1990).

1948 yılında Almanya'da Hörlein ve Weber kalıtsal methemoglobinemili bir ailede spektroskopik olarak normal methemoglobinden farklı bir methemoglobin tesbit ettiler. Bu methemoglobine 1955'de Singer "Hemoglobin M" adını verdi. Klinikte hemoglobin M hastalığı siyanozdan başka belirtilere neden olmaz (Gerede, 1979).

Kalıtsal methemoglobineminin farklı şekilleri tanımlanmıştır. Dominant kalıtsal methemoglobinemi mutasyonlar sırasında α veya β globin zincirinde kalıtsal oksidasyona yol açılmasıyla oluşur. Resesif kalıtsal methemoglobinemide, NADH-sitokrom b_5 redüktaz azlığında, açığın eritrositler ile kısıtlanması veya yaygınlaştırılması sonrasında doğum öncesi kesin ve doğru tanı bulunur. Sonuç olarak, resesif kalıtsal methemoglobinemide sadece bilinen durum sitokrom b_5 açığının tekrarlanmasıdır (Beauvais, 2000).

Methemoglobinin toksik haline, methemoglobinin oksidasyonunu hızlandıran kimyasal bileşikler ve ilaçlar neden olur. Evlerde ve endüstride kullanılan kimyasal bileşikler ve çeşitli tedavici edici ilaçlar hemin halkasının oksidasyon kapasitesini 100'den 1000 kata kadar arttırabilirler. Bu nedenle de kaçınılmaz olarak eritrositlerde hemoglobin azalır. Methemoglobineminin en önemli hali kimyasal maddelerden etkilenmesiyle kandaki hemoglobin otooksidasyon oranının artmasıdır. Kazanılmış veya toksik methemoglobinemiye neden olan kimyasallardan nitrit bileşikleri özellikle bilinen ve yaygın olanlarıdır. Toksik methemoglobineminin çevrede çok sık görülmesinin nedeni nitratlardır. Nitratlar ne hemoglobini ne de redüktaz enzimini doğrudan etkilemez fakat midedeki sindirim sırasında nitritlere çevrilirler (Firkin et al., 1989; Dean et al., 1992; Knobloch, 2000).

Kazanılmış veya toksik methemoglobineminin kapsamı kimyasal bileşimin özelliğine, dozuna ve maruz kalındığının öğrenilmesine kadar geçen süreye (keşfedilme süresine) bağlıdır. Bazı maddeler hemoglobini doğrudan oksidasyon kapasitesine sahiptir. Methemoglobinemi toksik maddenin yüksek dozda alınmasıyla oluştuğu gibi aynı zamanda sitokrom b₅ enzim eksikliği olanlarda normal uygulanma dozlarında alınmasıyla da oluşabilir (Hoffman et al., 2000).

Toksik methemoglobinemi akut veya kronik olabilir (Raphael, 1983). Akut durumlarda toksik etkenlerin enjeksiyonu ile 1-2 saat içinde siyanoz gelişir. Akut zehirlenmelerde konsantrasyon %60-70'i bulabilir. Kronik durumlarda neden olan kimyasalların uzaklaştırılması ile methemoglobin hemoglobine geri çevrilir (Firkin et al., 1989).

Methemoglobinemiye neden olan bazı oksidanların listesi Çizelge 1.3'de verilmiştir (Wintrobe et al., 1981; Tietz et al., 1990; Askew and Finelli, 1994).

Çizelge 1.3. Methemoglobinemiye neden olan bazı oksidanlar

Direkt Etkililer	İndirekt Etkililer
Teropötik maddeler	Sulfonamidler
Amil nitrit	Prontosil
Etil nitrit	Sulfametezol
Sodyum nitrit	Sulfanilamid
Amonyum nitrat	Sulfapiridin
Gümüş nitrat	Dapsone
Bizmut subnitrat	Anilin Boyalar
Nitrogliserin	İşaret mürekkepleri
Kinonlar	
Evsel kullanılan endüstriyel maddeler	Diğer muhtelif bileşikler
Yüksek nitrat içeren sular	Asetalinid
Yüksek nitrat içeren yiyecekler	Aminobenzen
Butil nitrat içeren oda spreyleri	Aminofenol
Potasyum klorür	Benzokain
Nitroz gazları	Nitrobenzen
Sigara	Nitrotoluen
	Fenasetin
	Prilokain
	Piridium
	Rezorsin
	Toluendiamid
	Trinitrotoluen
	Lidokain
	Naftalin

1966-1998 yılları arasında yapılan çalışmalar, çocuklar ve yetişkinlerde sünnet için kullanılan bazı lokal anesteziklerin kullanımının güvenli olmadığını ve bu konunun bu deri ile normal derinin karşılaştırılması yapılmadığı şeklinde açıklamaktadır (Essink-Tjebbes et al., 1999).

Sünnetten önce deriye topikal olarak uygulanan analjezik lidokain-prilokain kreminin (EMLA) yenidoğanlardaki methemoglobin düzeylerine etkisinin saptanması amacıyla 10 sağlıklı yenidoğan erkek bebeğin sünneti gözlemlenmiş ve 1 gram EMLA'nın yeni doğan sünneti için topikal uygulanmasının methemoglobin düzeyini arttırdığı fakat normal sınırları geçmediği görülmüştür (Law et al., 1996).

0-3 aylık bebeklerin sünnetinde prilokain-lidokain kombinasyonundan oluşan EMLA kremi çok iyi bir analjeziktir fakat bazı durumlarda methemoglobinemiye neden olabildiğinden dikkatli kullanılmalıdır (Anonymous, 2000).

Anilinin, mürekkeplerin, gümüş nitrat içeren kremlerin, bazı ilaçların, nitrit içeren tatlandırıcıların çocuklarda methemoglobinemiye yol açtığı bilinmektedir (Nathan and Oski, 1981; Wintrobe et al., 1981; Law et al., 1996).

Tedavi

Methemoglobineminin normal tedavisi farklı sürelerde %1'lik metilen mavisi çözeltisinin birden iki miligrama kadar hastaya enjekte edilmesi ile gerçekleşir (Goldman and Bennett, 2000). Bu tedavi hızlı ve tam olarak gerçekleştirilmelidir. Gerekli olan doz çocuklarda 2 mg/kg, daha büyük çocuklarda 1,5 mg/kg ve yetişkinlerde 1 mg/kg'dır. Toplam doz 7 mg/kg'ı geçmemelidir. Tedavide askorbik asit de 0,5-1,0 g damar içi antioksidan olarak uygulanır (Firkin et al., 1989; Griffin, 1997; Demirel et al., 1999).

Kara vd., (1998), lokal anestezi olarak kullanılan prilokain'in methemoglobinemiye yol açtığını belirtmişlerdir. Yenidoğanlarda prilokain gibi lokal anesteziğin uygulamasının potansiyel tehlike oluşturduğunu ve öldürücü olaylara yol açabileceğini belirtmişlerdir. 4,5-5 ml prilokain'in lokal anestezi olarak bebeğe enjekte edilmesinden 90 dk sonra çocuğun deri renginin koyulaştığı 2 saat sonra da mavileştiğinin görüldüğünü belirtmişlerdir. Kanındaki methemoglobin miktarı 2,52 g/dl (%20,4) olarak bulunan bu bebeğe her yarım saatte 1 mg/kg olmak üzere 4 kez metilen mavisi verilerek tedavi uygulandığını ve sonraki gün bebeğin kanındaki methemoglobin seviyesinin 0,03 g/dl yani %5'e düştüğü belirtilmiştir .

Methemoglobin seviyesini düşürmek için oral veya parenteral olarak verilebilen askorbik asit metilen mavisinden daha az etkilidir (Calabrese et al., 1983).

G6PD eksikliği olan hastalarda potansiyel hemoliz gelişmesinden dolayı metilen mavisi kullanılmaz. Bu durumda tedavide askorbik asit kullanılır (Goldman and Bennett, 2000). Hemoglobin M tedavisinde askorbik asit veya metilen mavisi kullanılmaz (Ludlam, 1990).

2. MATERYAL VE METOD

2.1. Materyal

2.1.1. Su numunelerinin analiz yeri

Bu çalışmada suda nitrit tayini Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı ve Analitik Kimya Anabilim Dalı Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

2.1.2. Su numunelerinin temini

Bu çalışmada Ankara il sınırlarındaki değişik semt ve ilçelerden alınan 10'u kuyu, 50'si çeşme suyu olmak üzere toplam 60 su numunesi materyal olarak kullanılmıştır. Numuneler 100 ml'lik, temiz, cam şişelere alınarak laboratuvarlara getirilmiş ve aynı gün analizleri yapılmıştır.

2.1.3. Kan numunelerinin analiz yeri

Kanda methemoglobin düzeyi tayini Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

2.1.4. Kan numunelerinin temini

Methemoglobin düzeyinin tayini için Gazi Üniversitesi Hastahanesi Pediatri Polikliniğinde sağlık taraması yapılan ve velilerinden izin alınan 10 bebeğin venöz kan atıklarından kontrol grubu için heparinli kılcal tüplere kan numunesi alınmıştır. Bahsedilen kuyuların yakın çevresinden ve Gölbaşı ilçesinden gönüllü velilerin rızası ile 18 bebeğin topuk ve elden heparinli kılcal tüplere kan alınmıştır. Bu grup deney grubu olarak değerlendirilmiştir.

2.2. Metod

2.2.1. Sularda nitrit tayini

2.1.1.1. Deney Metodu

Bu çalışmada sularda nitrit tayini için zirkonil klorür spektrofotometrik metodu kullanılmıştır (Gabbay et al., 1977; Şengül ve Türkman, 1998). Kullandığımız metod basit ve hızlı, hassas bir mikro tayin metodudur. Metodun esası, asidik ortamda zirkonil iyonları ile resorsinolün reaksiyonu sonucu şelat oluşumuna dayanır. Oluşan şelatın absorbanşı 347 nm'de ölçülür.

2.2.1.2. Spektrofotometrik Ölçüm

Şelatın absorbanşı 347 nm'de Shimadzu marka UV-160A model spektrofotometre ile 1 cm'lik kuvars küvetler kullanılarak ölçülmüştür.

2.2.1.3. Deney Reaktifleri

Bu çalışmada kullanılan çözeltilerin tüm kimyasal maddeleri analitik saflıktadır.

Çözelti A

Resorsinol (Merck; $C_6H_6O_2$)	1 g
Zirkonil klorür oktahidrat (Acros; $C_{12}OZr.8H_2O$)	1,1 g
Derişik hidroklorik asit (J.T. Baker; HCl)	7,5 ml
Bidistile su	500 ml

Çözelti B

Sodyum sülfat (Merck; Na_2SO_4)	1 g
------------------------------------	-----

Sodyum asetat trihidrat (J.T. Baker; $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) 1,5 g

Bidistile su 500 ml

Çözelti A ve çözelti B, $+4^\circ\text{C}$ koyu renkli cam şişelerde saklanmıştır.

Nitrit standartı için stok çözelti

Etüvde 24 saat kurutulan 0,5 g sodyum nitrit'den 0,3749 g hassas terazi ile tartıldı.

Bidistile su 250 ml

Bu çözelti 1000 mg/l nitrit iyonuna eşdeğerdir.

Standart nitrit çözeltisi

Stok nitrit çözeltisi (Merck; NaNO_2) 1 ml

Bidistile su 99 ml

Bu çözelti kullanılacağı gün hazırlanmıştır.

Kör çözelti

Bidistile su 2 ml

Çözelti A 4 ml

Çözelti B 4 ml

2.2.1.4. Nitrit tayini için kalibrasyon grafiğinin hazırlanması

Kalibrasyon standartları hazırlamak için ilk olarak 7 adet deney tüpüne 0-0,06-0,2-0,4-0,6-0,8-1 ml standart nitrit çözeltisi konulmuştur ve her biri iki paralelli olarak saf suyla 2 ml'ye tamamlanmıştır. Her tüpe 4'er ml çözelti A ve 4'er ml çözelti B ilave edilip iyice karıştırılmıştır. pH'ları kontrol edilmiştir (pH aralığı 1,3-2,4 olacak şekilde). Reaksiyonun tamamlanması için 3 dakika

beklenmiştir. Süre sonunda 1 cm'lik küvetler içinde spektrofotometreye konan her sulandırmadaki nitrit çözeltilerinin 347 nm dalga boyundaki absorbens değerleri kör çözeltiliye karşı okunmuştur.

Çözeltilerdeki nitrit konsantrasyonları x-eksenine, absorbens değerleri y-eksenine işaretlenmiştir ve bunların kesişme noktaları birleştirilerek kalibrasyon grafiği hazırlanmıştır. Her seri nitrit tayininden önce yeni kalibrasyon grafiği çıkarılmıştır.

2.2.1.5. Numunelerin işlenmesi ve absorbens değerlerinin okunması

Numuneler iki paralelli çalışılmıştır. Bu amaçla; 3 adet deney tüpünün ikisine 2'şer ml su numunesi, birisine 2 ml bidistile su konulup, üzerlerine 4'er ml çözeltili A ve 4'er ml çözeltili B ilave edilip iyice karıştırılmıştır. Daha sonra pH'ları kontrol edilmiştir. Bu metod için optimum pH aralığı 1,3-2,4 olduğundan numunelerin pH'ları bu aralığa uygun ayarlanmıştır. Reaksiyonun tamamlanması için oda sıcaklığında 3 dakika beklenmiştir. Süre sonunda 1 cm'lik küvetler içinde spektrofotometreye konan her numunenin 347 nm dalga boyundaki absorbens değerlerinin aritmetik ortalaması alınarak, numunenin absorbensı saptanmıştır.

2.2.1.6. Sonucun değerlendirilmesi

Numunelerin okunan absorbensına karşılık gelen nitrit konsantrasyonu mg/l olarak, daha önceden nitrit standartları ile hazırlanmış kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak bulunmuştur.

2.2.2. Methemoglobin düzeyi tayini

2.2.2.1. Deney metodu

Bu çalışmada kanda methemoglobin düzeyinin tayini için Tietz metodu kullanılmıştır (Tietz et al., 1987). Metodun prensibi methemoglobinin absorbands spektrumunun 630-635 nm'de küçük bir karakteristik tepe göstermesine dayanmaktadır. Siyanürün eklenmesi methemoglobini siyanmethemoglobine dönüştürerek bu tepeyi elimine eder. Zijlstra and Buursma, (1997), uluslararası siyanmethemoglobin standartı çalışmalarında insan hemoglobini yerine çok benzer absorbands veren sığır hemoglobinin standart olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

2.2.2.2. Spektrofotometrik ölçüm

Kanda methemoglobin düzeyinin tayini için Shimadzu marka UV-1208 model spektrofotometre 635 nm dalga boyuna ayarlanmış ve 1 cm'lik kuvars küvetler kullanılarak absorbands ölçülmüştür.

2.2.2.3. Deney reaktifleri

Bu çalışmada kullanılan tüm kimyasal maddeler analitik saflıktadır.

Potasyum ferrisiyanid çözeltisi

Potasyum ferrisiyanid (Merck; $K_3Fe(CN)_6$) 2,0 g

Distile su 10 ml

Çözelti 4°C de kahverengi şişede en az 1 yıl saklanabilmektedir.

Potasyum siyanür çözeltisi

Potasyum siyanid (Merck; KCN) 500 mg

Distile su 10 ml

Bu çözelti “zehir” uyarısı ile etiketlenerek 20°C de en az 4 ay süre ile saklanmıştır.

Fosfat tamponu

Dipotasyum hidrojen fosfat (Merck; K_2HPO_4) 17,1 g

Potasyum dihidrojen fosfat (Merck; KH_2PO_4) 10,2 g

Distile su 1000 ml

Kullanım için her iki çözeltiden 200'er ml alınmıştır.

pH 6,6

Bu çözelti 4°C'de saklanmış ve bulanıklık gösterdiği zaman atılmıştır. En az her 3 ayda bir yeni tampon hazırlanmıştır.

Kör çözelti

Fosfat tamponu 1,5 ml

Distile su 1,5 ml

2.2.2.4. Kan numunelerinin işlenmesi ve absorbanlarının okunması

0,1 ml kan alınarak 3,9 ml distile su içeren tüpe konulmuş ve hemolizat elde edilmesi amacıyla vortekslenerek karıştırılmıştır. Bu karışıma 4 ml fosfat tamponu eklenmiş ve tekrar iyice karıştırılmıştır. 2 deney tüpü alınarak bu tüplere 3'er ml hemolizat konulmuştur.

Birinci tüpte hemolizatın köre karşı 635 nm'de absorbanı ölçülmüş bu değer A_1 değeri olarak kaydedilmiştir. Daha sonra bu tüpe 0,1 ml KCN ilave edilmiştir ve tüp 3 kez ters düz edilerek 5 dakika bekletilmiştir. Süre sonunda 635 nm'de köre karşı ölçülen absorban A_2 değeri olarak kaydedilmiştir.

İkinci tüpe 0,1 ml potasyum ferrisiyanid konulmuştur. Üzeri parafilm ile örtülerek 3 kez ters düz edilmiştir. 2 dakika beklendikten sonra köre karşı ölçülen absorban A_3 değeri olarak kaydedilmiştir. Daha sonra bu tüpe 1,1 ml

KCN ilave edilmiştir ve tüp 3 kere ters düz edilerek 5 dakika bekletilmiştir. Süre sonunda ölçülen absorbans A_4 olarak kaydedilmiştir.

2.2.2.5. Sonucun değerlendirilmesi

Hemolizatta methemoglobin yüzde hesabı aşağıdaki formülle yapılmıştır.

$$\text{Methemoglobin (\%)} = \frac{A_1 - A_2}{A_3 - A_4}$$

Verilerden yararlanılarak kontrol grubu ve deney grubu bebeklerin methemoglobin düzeyi ortalamaları arası fark Student t-testi kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. İstatistiksel değerlendirme bilgisayar ortamında SPSS versiyon 10.0 programı kullanılarak yapılmıştır.

3. DENEYSEL BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Deneysel Bulgular

Ankara ili sınırlarındaki değişik semt ve ilçelerden toplanan 10'u kuyu 50'si şebeke olmak üzere toplam 60 su numunesine nitrit tayini ve 10 kontrol 18 deney grubu olmak üzere velilerinden izin alınan 28 bebeğin kanında methemoglobin düzeyi tayin edilmiştir.

Suda nitrit tayini için zirkonil klorür spektrofotometrik metodu kullanılmış ve numuneler iki paralelli olarak aynı gün içerisinde analiz edilmiş sonuçlar nitrit konsantrasyonu olarak mg/l cinsinden bulunmuştur. Şebeke ve kuyu sularının nitrit miktarlarının yüzdesel değeri Çizelge 3.1'de gösterilmiştir.

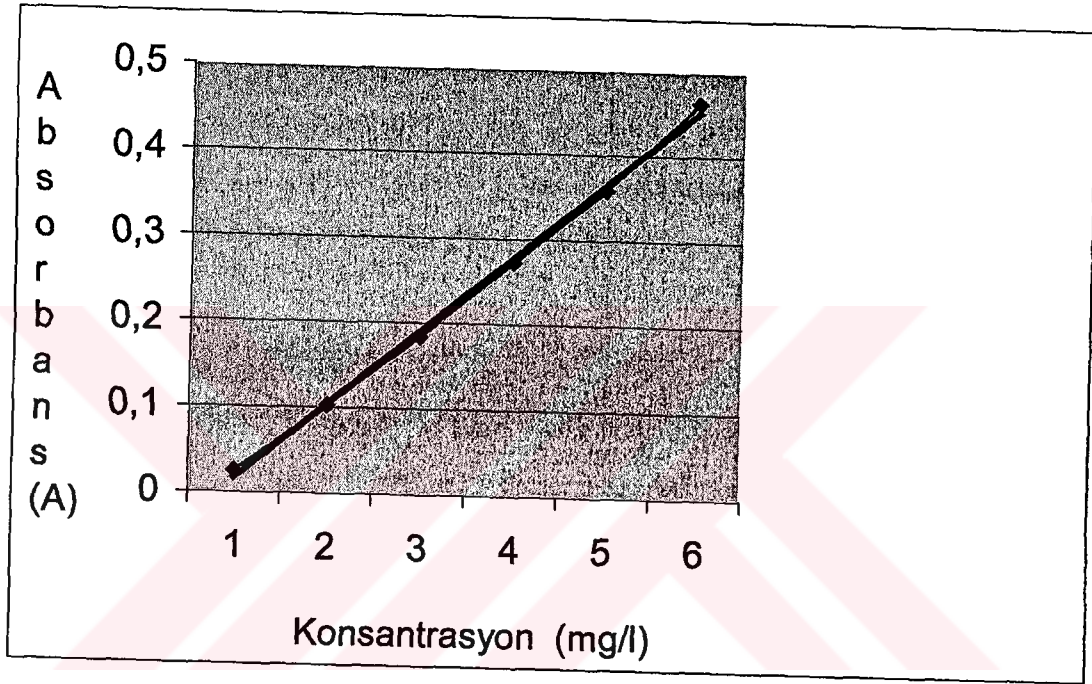
Çizelge 3.1. Şebeke ve kuyu suyu nitrit miktarları

Şebeke suyu			Kuyu suyu		
Frekans (f)	Yüzde (%)	Nitrit NO ₂ mg/l	Frekans (f)	Yüzde (%)	Nitrit NO ₂ mg/l
50	%83,33		10	%16,67	%3,34

Nitrit tayini için zirkonil klorür metodu kullanılmasının nedenleri; kullanılan diğer metotlara göre renk kalıcılık süresinin uzun olması, üç dakika gibi kısa sürede sonuç vermesi, kullanılan kimyasalların toksisitesinin diğer nitrit tayini metodlarında kullanılan kimyasallardan düşük olması ve mikro ölçekte tayin yapmaya uygun bir metod olmasındandır.

Nitrit tayini için kullanılan metod en az 0,03 mg/l'ye kadar nitrit tayini için uygundur. Spektrofotometrede numune ölçümleri yapılmadan önce daha önce materyal ve metod bölümünde de bahsedildiği gibi kalibrasyon için standartlar hazırlanmış ve 347nm'de okutulmuştur.

Standartların okutulmasıyla elde edilen verilerden $R^2=0,9977$ olarak bulunmuştur ve kalibrasyon grafiği hazırlanmıştır. Hazırlanan kalibrasyon grafiği okunan su numunelerinin değerlerini hesaplamak için kullanılmıştır. Şekil 3.1'de kalibrasyon grafiği görülmektedir.



Şekil 3.1. Kalibrasyon grafiği

Kalibrasyon grafiğinde:

- Deneyle okunan değerdir.
- Hesapla elde edilen yaklaşım doğrusudur.

Bebek kanında methemoglobin düzeyi tayini için Tietz metodu kullanılmıştır. Kanlar pıhtılaşmayı önlemek için heparinli kılcal tüplere alınmış ve bir saat içerisinde analizler yapılarak % methemoglobin olarak methemoglobin düzeyleri tayin edilmiştir. Hoffman et al., (2000), methemoglobininin laboratuvarındaki tayininin spektrofotometredeki absorbansının analizinin üzerine kurulduğunu ve kan bekletildiği zaman methemoglobin seviyesi artma eğilimi gösterdiği için numunelerin bekletilmeden taze olarak analiz edilmesi gerektiğini belirtmiştir.

Bebeklerde methemoglobin düzeyleri tayini için kontrol ve deney grubu olmak üzere iki grup oluşturulmuştur. Çizelge 3.2’de methemoglobin düzeyleri tayin edilen bebeklerin cinsiyetlerine göre dağılımı gösterilmektedir. Oluşturulan kontrol ve deney gruplarının verileri Çizelge 3.3 ve Çizelge 3.4’de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Methemoglobin düzeyleri tayin edilen bebeklerin cinsiyetlerine göre dağılımı

	Erkek (E)		Kız (K)		Toplam	
Grup	Frekans (f)	Yüzde (%)	Frekans (f)	Yüzde (%)	Frekans (f)	Yüzde (%)
Kontrol	3	%30	7	%70	10	%100
Deney	7	%38,9	11	%61,1	18	%100

Çizelge 3.3. Kontrol grubu bebeklerin cinsiyetleri, yaşları, ağırlıkları, methemoglobin düzeyleri

Sayı	Cinsiyet Kız (K) Erkek (E)	Yaş (ay)	Ağırlık (g)	Methemoglobin Düzeyleri (%)
1	K	4,5	7700	2,058
2	K	4,5	8720	0,050
3	E	4	6600	1,88
4	K	4,5	7810	1,5
5	K	4	7200	0
6	E	4	7370	3,5
7	E	4	7900	0
8	K	4	7730	0,36
9	K	9	7400	0
10	K	2	6000	0

Çizelge 3.4. Deney grubu bebeklerin cinsiyetleri, yaşları, ağırlıkları ve methemoglobin düzeyleri

Sayı	Cinsiyet Kız (K) Erkek (E)	Yaş (ay)	Ağırlık (g)	Methemoglobin düzeyi (%)
1	K	6	7890	0,072
2	E	4,5	8040	1,77
3	K	4	6800	0,94
4	K	7	8220	0
5	E	4	7020	0
6	K	6	8500	0
7	E	4	5900	2,16
8	K	4	5860	3,9
9	E	4	6800	1,62
10	K	4	6020	0,04
11	E	4	7020	0,11
12	K	4	7160	0
13	K	10	8500	0
14	K	3	6800	0
15	E	9	9	0
16	E	2	5300	0
17	K	4	6700	6,67
18	E	2	6000	0

Çizelge 3.2 ve Çizelge 3.3'de belirtilen verilerden yararlanılarak kontrol grubu ve deney grubu bebeklerin methemoglobin düzeyi ortalamaları arası fark istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Çizelge 3.5'de bu istatistiksel değerlendirme verilmiştir.

Çizelge 3.5. Kontrol grubu bebeklerle deney grubu bebeklerin methemoglobin düzeylerine ait istatistiksel değerlendirme

	N	Ortalama	Standart Sapma	t-test
Kontrol	10	0,9348	1,2321	0,969
Deney	18	0,9601	1,7894	

$P > 0,05$ ve fark anlamsızdır.

Yapılan istatistiksel hesaba göre kontrol grubu bebeklerin methemoglobin düzeyleri ile deney grubu bebeklerin methemoglobin düzeyleri arasındaki fark anlamsız olarak bulunmuştur.

3.2. Tartışma

Methemoglobinemi kalıtsal veya kazanılmış (toksik) olabilmektedir. Gibson 1940 yılında, İrlanda'da iki ailede doğuştan methemoglobinemi hastalığını incelemiştir. Gibson, eritrositlerdeki NADH-bağlı enzimin methemoglobin azalmasından sorumlu olduğunu ve bu enzimin doğuştan methemoglobinemi olan hücrelerde eksik olduğu sonucuna varmıştır. Bu deneyler Kiese'nin ilk çalışmaları ile doğrulanmış ve genişletilmiştir. Kiese aynı zamanda glukoz ve laktoz tüketimiyle methemoglobin azalması arasındaki ilişkiyi de göstermiştir (Nathan and Oski, 1981).

Bazı lokal anesteziklerin uygulanmaları, ilaçlar, çevresel etkenler sonucu özellikle bebekler olmak üzere tüm insanlarda kazanılmış methemoglobinemi görülebilmektedir. Söz konusu oksidanlardan kaynaklanan bazı vakalara aşağıda örnekler verilmiştir.

Duncan and Kabrinsky, (1983), 4,8 kg ağırlığındaki bir kız çocuğuna yapılan cerrahi müdahalede 6,7 mg/kg prilokain verilmesinin kanda %37 methemoglobin düzeyi tespit edilmesine neden olduğunu rapor etmişlerdir.

Prematüre bebeklerde benzokain ve prilokain uygulamalarının methemoglobinemi olaylarına yol açtığını rapor etmişlerdir (Griffin; 1997; Ergenekon ve ark., 1999).

Mandel, (1989), sağlıklı 11 günlük bebeğin sünnetinde 0,2 ml %4 prilokaine'in kullanılmasından sonra bebekte siyanoz ve diğer klinik belirtilerin oluştuğunu rapor etmiştir.

Demirel et al., (1999), çalışma ortamlarında aniline maruz kalan biri 37 diğeri 54 yaşında olan 2 methemoglobinemi vakası rapor etmişlerdir. Hastaların methemoglobin düzeyleri sırasıyla %65 ve %50 olarak tespit edilmiştir. Methemoglobinemi semptomları göstererek tedavi altına alınmışlar ve kurtarılmışlardır.

Evde oluşan bir methemoglobin vakası Dean et al., (1992), tarafından incelenmiştir. Pinacea familyasına ait bir ağacın 150-250⁰C'de fenol, creosol, parafin, pren ve kresen gibi yağlarından kaynaklanan toksisite sonucu 10 haftalık bir bebekte siyanoz, huzursuzluk gibi ilk semptomlar daha sonra methemoglobin seviyesinin öldürücü seviyeye kadar ulaştığını ve bebeğin kurtarıldığını bildirilmiştir.

Bruning and Kaneene, (1993), Sodyum nitritin yüksek dozda alınması sonucu 2'si yetişkin ve 1'i çocuk olmak üzere üç kişinin öldüğünü rapor etmişlerdir.

Yapılan otopsi sonucunda bu kişilerin beyin ve böbreklerinde çok miktarda sodyum nitrit biriktiği tespit edilmiştir.

Gıdalar ve içme sularının nitratlar ve nitritlerle kontaminasyonu kansere ve methemoglobinemiye neden olabilmektedir.

Dusdieker et al., (1994), değişik bebek gıdalarında nitrat konsantrasyonlarını iyon kromatografisi yöntemi ile tanımlamışlardır. Karışık sebzelerde, muzda, havuçta, bahçe sebzelerinde, ıspanakta, yeşil fasulye ve pancarlarda nitrat seviyesinin 45 ppm'i geçtiğini tespit etmişlerdir.

Santillana et al., (1996), İspanya'da 710 gıda örneğinde yaptıkları çalışmada işlem görmüş etlerin en yüksek 36 µg/g nitrit içerdiğini ve sebzelerin en yüksek 88 µg/g nitrat içerdiğini saptamışlardır (Ellis et al., 1998).

Kuzey Çin'de tuzlanmış balıklarda bulunan bir miktar uçucu N-nitrozaminlerin nazofaringeal kanser oluşumu ile pozitif bağlantılı olduğu rapor edilmiştir (Heckman et al., 1997).

Knobeloch and Proctor, (2001), 1990-1999 yılları arasında Wisconsin'de 8 methemoglobinemili çocuğun durumunu incelemişler ve bu çocuklardan üçünde nitratlı kuyulardaki sulardan mama hazırlandığını tespit etmişlerdir. Diğer 5 olayın faktörlerinin ise yanlış ilaç kullanımı veya kalıtsal enzim eksikliği olabileceğini düşündüklerini belirtmişlerdir. Methemoglobinemili bu çocukların erken tedavi ile kurtarıldıklarını belirtmişlerdir.

Oruç, (1999), Bursa yöresinde sığırların yemlerinde, içme sularında ve rumen içeriğinde nitrat, nitrit ve kanda methemoglobin düzey tayini yapmıştır. Çalışmada kullandığı 28 içme suyunda ortalama olarak yaklaşık 6,58 ppm nitrat ve 0,035 ppm nitrit belirlemiştir. 52 sığır kanında methemoglobin düzeylerini ortalama olarak yaklaşık %2,64 olarak belirlemiştir. İçme sularındaki nitrat ve nitrit seviyeleri hayvanların sağlığı açısından bir risk

oluşturmadığını fakat numunelerin %21'indeki nitrat konsantrasyonunun insanlar için belirtilen sınır değerlerini aştığını bildirmiştir. Sığırların methemoglobin düzeylerini normal limitler içinde (%0-3) bulmuştur. Nitrit konsantrasyonları açısından bakıldığında bulgularımızın araştırmacının bulgularından biraz daha düşük olduğu görülmektedir fakat araştırmacının tespit ettiği miktarlarında sağlık riski oluşturmayacak miktarlar olması nedeniyle bulgularda paralellik vardır. Araştırmacının kanda methemoglobin düzeyi bulguları da bizim bulgularımızla paralellik göstermekte ve belli sınırı geçmeyen nitrit düzeylerinin methemoglobinemiye neden olmadığı görülmektedir.

Büyükyörük, (1995), Ankara bölgesi askeri birliklerinde 25'i çeşme ve 25'i kuyu suyu olan numunenin nitrat ve nitrit tayinini yapmıştır. Nitrit analizi yapılan çeşme sularının %12'sinde kuyu sularının %36'sında çok düşük seviyede nitrit tayin etmiştir. Çalışmamızdaki bulguların araştırmacının bulgularından daha düşük olmasını geçen zaman göz önüne alındığında alt yapıların daha düzeldiği ve Ankara ili sularının daha iyi kontrol altında tutulduğu şeklinde açıklayabiliriz.

Güray, (1970), Ankara şehir suyunda 1970 yılında yaptığı araştırmada 49 numuneden 34'ünde nitrit bulunduğunu bildirmiştir. Tayinler kalitatif yapıldığından miktar belirtilmemiştir. Güray'ın bulguları ile bu çalışmada saptanan değerler farklıdır. Nitrit değerlerinin fazla olması Ankara'nın 1970 yılında mevcut olan su şebekesindeki ve alt yapısındaki yetersizliklerden ayrıca bölgedeki tarım arazilerinin o zaman fazla olması şeklinde açıklanabilir.

Yavuz vd., (1993), Ankara Bölgesindeki hayvan işletmelerinde içme suyu olarak kullanılan kuyu sularında yaptıkları araştırmada 55 numunenin %81'inde 0,6-16 ppm arasında, ortalama 0,94 ppm düzeyinde nitrit saptadıklarını bildirmişlerdir. Çalışmamızdaki nitrit değerlerinin araştırmacıların bulduğu değerlerden düşük olması numune alınan hayvan işletmelerinde,

Eğilmez, (1990), Konya bölgesi kuyu sularında çalıştığı 18 numunenin 14 numunesinde 0,5-12,666 mg/l arasında ortalama 1,04 mg/l düzeyinde nitrit bulmuştur. Bulgularımızın araştırmacının bulgularından daha düşük olması Konya Bölgesinin yoğun tarım faaliyeti olması ve geniş tarım arazilerinde yüksek oranda yapay gübre kullanılması ve evsel atık suların foseptiklerle bertaraf edilmesiyle açıklanabilir.

Karakoç vd., (1984), Eskişehir içme ve kullanma sularında yaptıkları araştırmada 198 şebeke suyunda nitrat ve nitrit saptayamamalarına karşın 1716 kullanma suyundan 402'sinde nitrit tayin etmişlerdir. Tayinlerde kalitatif metod kullanılmıştır. Çalışmamızdaki kantitatif analiz sonuçları ile araştırmacıların bulgularının farklı olması, kullanılan metodun farklılığı, alt yapı eksikliği, foseptik kullanımı ve bölgesel farklılıklar şeklinde açıklanabilir.

Çalışmamızda şebeke sularında nitrit tespit edilememiştir; ve Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliğine göre (Çizelge 1,2) Ankara'nın şebeke suları nitrit bakımından yüksek kaliteli sulara dahil edilmektedir. Kuyu sularında iki numunede nitrit tayin edilmiştir (mevzuatta kuyu suları ile ilgili ayrı bir düzenleme bulunmamaktadır). Ancak su kalitesi ile ilgili daha genel bir değerlendirme yapılabilmesi için adı geçen Yönetmeliğin sınıflandırma ile ilgili diğer kriterlerine de bakılmalı ve mikrobiyolojik analiz sonuçları da değerlendirilmelidir.

Kuyu sularında nitrit tespit edilmesi, şebeke sularının klorla dezenfekte edilmesi şeklinde açıklanabilir. Dezenfeksiyon amacıyla kullanılan klor biyolojik aktiviteyi etkileyerek nitrit içeriğinin azalmasına neden olabilmektedir.

Analizleri yaptığımız dönemlere rastlayan ASKİ'ye ait şebeke suyu kalitesi ortalama değerleri Çizelge 3.6'da verilmiştir.

Çizelge 3.6. Ankara içme suyu kalitesi ortalama değerleri
<http://www.aski.gov.tr> (ASKİ'den alınmıştır).

Parametre	Ortalama değer	TSE 266 tavsiye edilen değer
Renk	5	5
Bulanıklık	0,4	5
Tortu	Tortusuz	Tortusuz
pH	7,54	7,00-8,50
Toplam çözünmüş madde (mg/l)	141	En çok 1500
Sertlik (°fr)	8,5	En çok 50
Klorür	14,0	En çok 600
Toplam demir	0,1	En çok 1
Alüminyum	0,05	En çok 0,2
Amonyak ve nitrit	Yok	Yok
Organik madde	1,3	En çok 3,5
Bakiye klor	0,8	En az 0,5
100 ml'de bakteri adet	0	0

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sudaki nitritin neden olduğu methemoglobin düzeyinin yükselmesi sonucu ortaya çıkan methemoglobinemi hastalığı Ankara'daki şebeke sularının nitrit bakımından temiz olması açısından sağlık riski oluşturmamaktadır. Ankara ili içme suyu şebekesinin atık numune alınan tüm yerleşim bölgelerine ulaşmış olması, kuyu sularının yoğun olduğu bölgelerde, halk sağlığı uzmanları ve kontrol elemanlarının yaptığı uyarılar sonucu Ankara'da yaşayan ailelerin temiz içme ve kullanma sularını kuyu suyu gibi tehlikeli olabilecek kaynaklara tercih etmeleri giderek kuyu suyu kullanımının önemsiz sayılabilecek derecede azalmasına ve hatta tamamen vazgeçilmesine neden olmuştur.

Suda nitritin bulunması özellikle 6 aya kadar olan bebeklerde özel risk oluşturarak methemoglobinemi hastalığına neden olmaktadır. Methemoglobinemi öldürücü sonuçlara neden olabilen bir hastalıktır. Bu nedenle;

1. Kuyu sularına kanalizasyondan veya dış kaynaklı bakteri bulaşması riski yüksek olduğundan bu sular içme ve kullanma kaynağı olarak kullanılmamalıdır.
2. Halk sağlığı uzmanları ve sağlık ocağı personeli tarafından yenidoğan ve bebeklerin aileleri bu konuda uyarılarak bilinçlendirilmeye devam edilmelidir.
3. Kuyular rutin analizlerle kontrol altında tutulmalıdır.
4. Şehri temsil edebilecek belli noktalar seçilmeli ve buralar belli süre aralıklarıyla, suda nitrit analizler yapılarak kontrol edilmelidir.
5. Klor nitrit seviyesini düşürdüğünden, sulara klorlama yapılırken ara ara yüksek dozda klorlama yapılmalıdır.
6. İçme ve kullanma sularının depolandığı durumlarda; depolar da suda nitrit seviyeleri için rutin olarak analizle kontrol altında tutulmalıdır.

KAYNAKLAR

- Abuharfeil, N., Sarsour, E. and Hassuneh, M., 2001, The effect of sodium nitrite on some parameters of the immune system, **Food and Chem. Toxicol.**, 39, 119-124.
- Akman, Y., Ketenoğlu, O., Evren, H., Kurt L. ve Düzenli S., 2000, Çevre Kirliliği, **Palme Yayıncılık**, Ankara.
- Amr, A. and Hadidi, N., 2001, Effect of cultivar and harvest date on nitrate (NO₃) and nitrite (NO₂) content of selected vegetables grown under open field and greenhouse conditions in Jordan, **J. Food Compon. Analys.**, 14, 59-67.
- Anonim, 1984, İçme ve kullanma suları, TS 266, **TSE**, Ankara.
- Anonim, 1988, Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği, **Resmî Gazete**, sayı: 19919.
- Anonim, 1997, Doğal Kaynak, Maden ve İçme Suları ile Tıbbi Suların İstihsalı, Ambalajlanması ve Satışı Hakkındaki Yönetmelik, **Resmî Gazete**, sayı: 23144.
- Anonymous, 1980, Brown blood disease continues to cause problems in catfish, **For Fish Farm.**, 1-2.
- Anonymous, 2000, Lidocaine+prilocaine before 3 months of age: new indication. Correct use is crucial, **Prescribe Int.**, 9, 77-79.
- Anuradha, S. and Subburam, V., 1995, Role of sewage bacteria in methemoglobin formation in *Cyprinus carpio* exposed to nitrate, **J. Environ. Biol.**, 9., 175-179.
- Askew, G.L. and Finelli, L., 1994, Boilerbaisse: an outbreak of methemoglobinemia in New Jersey in 1992, **Pediatrics**, 94, 381.
- Avery, A.A., 1999, Infantile methemoglobinemia: reexamining the role of drinking water nitrates, **Environ. Health Pers.**, 107, 583-586.
- Avery, A., 2001, Cause of methemoglobinemia: illness versus nitrate exposure, **Environ. Health Pers.**, 109, A12-A13.
- Beauvais, P., 2000, Hereditary methemoglobinemias, **Arch. Pediatr.**, 7, 513-518.
- Belitz, H.D. and Grosch, W., 1999, Food chemistry, **Springer**, Germany.
- Berkarda, B., Müftüoğlu, A.Ü. ve Ulutin O.N., 1983, Kan hastalıkları, **Ar Basım Yayın ve Dağıtım**, İstanbul.

- Bick, R.L., 1996, Hematology clinical and laboratory practise, **Mosby Company**, St. Louis, ABD.
- Boşgelmez, A., Boşgelmez, İ.İ., Paslı, N., Savaşçı, S. ve Kaynaş, S., 2000, Ekoloji I, **Başkent Klşe ve Matbaacılık**, Ankara.
- Bruning, C.S. and Kaneene, J.B., 1993, The effects of nitrate, nitrite and N-nitroso compounds on human health: A review, **Vet. Human Toxicol.**, 35, 521-538.
- Büyükyörük, İ., 1995, Ankara bölgesi askeri birliklerinde içme ve kullanma sularında nitrat ve nitrit miktarlarının saptanması, **A.Ü. Sağ. Bil. Enst., Yük. Lis. Tezi**, Ankara.
- Calabrese, E.J., Moore, G.S. and McCharthy, M.S., 1983, The effect of ascorbic acid on nitrite-induced methemoglobin formation in rats, sheep, and normal human erythrocytes, **Regul. Toxicol. Pharmacol.**, 3, 183-184.
- Craun., G.F., Greathouse, D.G. and Gunderson D.H., 1981, Methaemoglobin levels in young children consuming high nitrate well water in the United States, **Int. J. Epidemiol.**, 10, 309-317.
- Dean, B.S., Lopez, G. and Krenzelok, E. P., 1992, Environmentally-induced methemoglobinaemia in an infant, **Clinical Toxicology**, 30, 127-133.
- Delamore, I.W. and Lin Yin, J.A., 1990, Haematological aspects of systemic disease, **Bailliere Tindall**, London.
- Demirel, H., Koster, V.S., Koot, M.J., Ponssen, H.H. and van Vliet., A.C.M., 1999, **The Netherlands Journal of Medicine**, 55, 19-22.
- Droste, R.L., 1997, Theory and practice of water and wastewater treatment, **John Wiley & Sons**, New York, ABD.
- Duncan, P.G. and Kabrinsky, N., 1983, Prilocaine induced methaemoglobinaemia in a new-born infant, **Anesthesiology**, 59, 75-76.
- Dusdieker, L., Getchell, J.P., Liarakos, T.M., Hausler, W.J. and Dungy, C.I., 1994, Nitrate in baby foods, **Arch Pediatr. Adolesc. Med.**, 148, 490-494.
- Eğilmez, İ., 1990, Konya bölgesi sularında nitrat, nitrit ve nitrozamin düzeyleri, **S. Ü. Sağ. Bil. Enst., Yük. Lis. Tezi**, Konya.
- Ellis, G., Adatia, I., Yazdanpanah, M. and Makela, K.S., 1998, Nitrite and nitrate analyses: a clinical biochemistry perspective, **Clin. Biochem.**, 31, 195-220.
- Ergenekon, E., Atalay, Y., Koç, E. ve Türkyılmaz C., 1999, Methemoglobinaemia in premature infant secondary to prilocaine, **Acta Paediatr.**, 88, 236.

- Essink-Tjebbes, C.M., Hekster, Y.A., Liem, K.D. and van Dongen, R.T.M, 1999, Topical use of local anesthetics in neonates, **Pharm. World Sci.**, 21, 173-176.
- Fan, A.M. and Steinberg, V.E., 1996, Health implicatons of nitrate and nitrite in driking water: An update on methemoglobinemia occurence and reproductive and developmental toxicity, **Regulatory Toxicol. Pharmacol.**, 23, 35-43.
- Fetter, C.W., Contaminant hydrogeology, 1999, **Prentice Hall**, Wisconsin, ABD.
- Firkin, F., Chesterman, C., Penington, D. and Rush, B., 1989, De Gruchy's clinical haematology in medical pratice, **Black Scientific Publications**, Boston.
- Gabbay, J., Almong, Y., Davidson, M. and Donagi, A.E., 1977, Rapid spectrophotometric micro-determination of nitrites in water, **Analyst**, 102, 371-376.
- Gelberg, H.K., Church, L., Casey, G., London, M., Roerig., D.S., Boyd, J. and Hill, M., 1999, Nitrate levels in drinking water in rural New York State, **Environ. Res.**, 80, 34-40.
- Gerede, S., 1979, Eponimik hematoloji, **İstanbul Yayınevi**, İstanbul.
- Gibson, G.G. and Ioannides, C., 1981, Safety evalutation of nitrosatable drugs and chemicals, **Taylor and Francis LTD**, London.
- Griffin, J.P., 1997, Methaemoglobinaemia, **Adverse Drug React. Toxicol. Rev.**, 16, 45-63.
- Giritlioğlu, T., 1975, İçme suyu kimyasal analiz metodları, **İller Bankası**, İstanbul.
- Goldman, L. and Bennett, J., 2000, Cecil Textbook of medicine, 1, **W.B. Saunders Co.**, Philadelphia.
- Grant, W., Steele, G. and Isiorho, S.A., 1996, Spontaneous abortions possibly related to ingestion of nitrate-contaminated well water-LaGrange Country, Indiana,1991-1994, **Morb. Mortal Wkly Rep.**, 45, 569-572.
- Gupta, S.K., Gupta, R.C., Seth, A.K., Gupta, A.B., Tech, M., Bassin, J.K., Gupta, D.K. and Sharma, S., 1999, Epidemiological evaluation of recurrent stomatitis, nitrates in drinking water, and cytochrome b₅ reductase activity, **Amer. J. Gastroenterol.**, 94, 1808-1812.
- Gündüz,T., 1998, Çevre sorunları, **Gazi Kitabevi**, Ankara.
- Güray, Ö., 1971, Ankara şehir suyunun 1970 yılındaki durumu ve bu suların sağlık değerleri, **A.Ü. Tıp Fakültesi Mecmuası**, 23, (2), 350-359.

- Güray, Ö., 1976, İstanbul şehir sularında methemoglobinemi sebebi olarak nitrat araştırması, **İ.Ü. Tıp Fakültesi Mecmuası**, 39, 473-488.
- Han, C., Jing, J.X. and Sun, G.X., 1997, Study of environmental pollution and damage of cytogenetic materials in urban residents, **Zhong. Liu. Zazhi**, 18, 83-85.
- Heckman, C.W., Campos, J.L. and Hardoim, E.L., 1997, Nitrite concentration in well water from Pocone, Mato Grosso, and its relationship to public health in rural Brazil, **Bull. Environ. Contam. Toxicol.**, 58, 8-15.
- Hilmy, A.M., El-Domiaty, N.A. and Wershana, K., 1987, Effect of sodium chloride and calcium chloride on nitrite induced methemoglobinemia in Clarias lazera, **Water Air Soil Pollut.**, 33, 57-63.
- Hoffman, R., Benz, E.J., Shattil, S.J., Furie, B., Cohen, H.J., Silberstein, L.E. and McGlave, P., 2000, Hematology basic principles and practice, **Churchill Livingstone**, New York.
- Howarth, T.W., Anderson, D., Cloem, J., Elfring, C., Hopkinson, C., Lapointe, B., Malone, T., Marcus, N., McGlathery, K., Sharpley, A. and Walker, D., 2000, Nutrient pollution of coastal rivers, bays and sea. **Issues Ecol.**, 7, 1-14.
- Hunter, W.J., 2001, Use of vegetable oil in a pilot-scale denitrifying barrier, **J. Contam. Hydrol.**, 53, 119-131.
- Ileri, R., 2000, Çevre biyoteknolojisi, **Değişim Yayınları**, Adapazarı.
- Jesus, S.E., Javier, B.F. and Santiago, M.R., 2001, Methemoglobinemia and consumption of vegetables in infants, **Pediatrics**, 107, 1024-1029.
- Kara, A., Yiğit, Ş., Aygün, C. ve Oran, O., 1998, Toxic methemoglobinemia after injection of prilocaine in a newborn, **Turkish J. Pediatrics**, 40, 589-592.
- Karakoç, İ., Serter, A. ve Hatipoğlu, N., 1984, Eskişehir içme ve kullanma sularının bakteriyolojik, fiziksel ve kimyasal nitelikleri ve kontaminasyon kaynakları, **Tübitak Mühendislik Araştırma Grubu**, Proje No: Tag-493, Ankara.
- Konikoff, M., 1975, Toxicity of nitrite to channel catfish, **Prog. Fish Cult.**, 37, 96-98.
- Knobeloch, L., Salna, B., Hogan, A., Postle, J. and Anderson, H., 2000, Blue babies and nitrate-contaminated well water, **Environ. Health Pers.**, 108, 675-678.
- Knobeloch, L. and Proctor, M., 2001, Eight blue babies, **Wisconsin Medical Journal**, 100, 43-47.

- Kor, M.N., 1974, Çevre sağlığı ve teknolojisi, **İstanbul Teknik Üniversitesi Matbaası**, Gümüşsuyu.
- Law, R.M.T., Halpern, S., Martins, R.F., Reich, H., Innanen, V. and Ohlsson A., 1996, Measurement of methemoglobin after EMLA analgesia for newborn circumcision, **Biol. Neonate**, 70, 213-217.
- Linne, J.J. and Ringsrud, K.M., 1992, Basic techniques in clinical laboratory science, **Mosby Year Book**, St. Louis.
- Ludlam, C. A., 1990, Clinical haematology, **Churchill Livingstone**, New York.
- Mandel, S., 1989, Methaemoglobinaemia following neonatal circumcision, **JAMA**, 261, 702.
- Marco, A., Quilchano, C. and Blaustein, R. A., 1999, Sensivity to nitrate and nitrite in pond-breeding amphibians from the pasific northwest, USA, **Environ. Toxicol. Chem.**, 18, 2836-2839.
- Mason, C.F., 1996, Biology of freshwater pollution, **Longman**, New York.
- Mathews, C.K. and Van Holde, K.E., 1990, Biochemistry, **The Benjamin-Cummings Publishing Company**, California, s216-236.
- McKnight, G.M., Duncan, C.W., Leifert, C., and Golden, M.H., 1999, Dietary nitrate in man: friend or foe? **British J. Nutrition**, 81, 349-358.
- Nathan, G.B. and Oski, F.A., 1981, Hematology of infancy and childhood, **W. B. Saunders Company**, Philadelphia.
- Noyan, A., 1996, Fizyoloji ders kitabı, **Meteksan Yayınları**, Ankara.
- Oruç, H.H., 1999, Bursa yöresinde sığırların yemlerinde, içme sularında ve rumen içeriğinde nitrat, nitrit ve kanda methemoglobin düzeylerinin araştırılması, **U.Ü. Sağ. Bil. Enst. Y. Lis. Tezi**, Bursa.
- Özdemir, Ş., 1997, Temel ekoloji bilgisi ve çevre sorunları, **Hatiboğlu Yayınları**, Ankara.
- Özer, A., 1985, Pratik hematoloji, **Bilgehan Basımevi**, İzmir.
- Palachek, R.M. and Tomasso, J.R., 1984, Toxicity of nitrite to channel catfish (*Ictalurus punctatus*), *Tilapia* (*Tilapia aurea*), and largemouth bass (*Micropterus salmoides*): Evidence for nitrite exclusion mechanism, **Can. J. Fish Aquat. Sci.**, 41, 1739-1744.
- Powers, L.W., 1989, Diagnostic hematology clinical and technical principles, **Mosby Company**, St. Louis.

- Raphael, S.S., 1983, Medical laboratory technology, fourth edition, **W. B. Saunders Company**, Philadelphia.
- Rodriguez-Moreno, P.A. and Tarazona, J.V., 1994, Nitrite-induced methemoglobin formation and recovery in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) at high chloride concentrations, **Bull. Environ. Contam. Toxicol.**, 53,113-119.
- Ruch, T.C. and Fulton, J.F., 1961, Medical Physiology and biophysics, **W. B. Saunders Company**, Philadelphia.
- Schoore, E.J., Simco, B.A. and Davis, K.B., 1995, Responses of blue catfish and channel catfish to environmental nitrite, **J. Aquat. Anim. Health**, 7, 304-311.
- Shimada, T., 1989, Lack of teratogenic and mutagenic effects of nitrite on mouse fetuses, **Arch. Environ. Health**, 44, 59-63.
- Stiling, P., 1999, Ecology- therioes and applications, **Prentice Hall**, New Jersey.
- Stryer, L., 1995, Biochemistry, **W. H. Freeman and Company**, New York.
- Sun, P., Borowitz, J.L., Kanthasamy, A.G., Kane, M.D., Gunasekar, P.G. and Isom G.E., 1995, Antagonism of cyanide toxicity by isosorbide dinitrate: possible role of nitric oxide, **Toxicology**, 104, 105-111.
- Şengül, F. ve Türkman A., 1998, Su ve atıksu analizleri, **Altındağ Grafik Matbaacılık**, TMMOB Çevre Mühendisleri Odası, İzmir.
- Şişli, M.N., Çevre bilim ekoloji, 1999, **Gazi Kitabevi**, Ankara.
- Tannenbaum, S.R., Fett, D., Young, V.R., Land, P.D. and Bruce W.R., 1978, Nitrite and nitrate are formed by endogenous synthesis in the human intestine, **Science**, 200 ,1487-1488.
- Tietz, N.W., Aldrich, J., Coiner, D., Conn, R.B., Kowalczyk, R.S., Lehmann, H.P., Pruden, E.L. and Whitley, R.J., 1987, Fundamentals of clinical chemistry, **W.B. Saunders Company**, Philadelphia.
- Tietz, N.W., Finley, P.R. and Pruden, E.L., Clinical guide to laboratory tests., 1990, **W.B. Saunders Company**, Philadelphia.
- Tomar, M., 1999, Quality assessment of water and wastewater, **Lewis Publishers**, London.
- Tomasso, J.R., Wright, M.I., Simco, B.A. and Davis, K.B., 1980, Inhibition of nitrite-incuced toxicity in channel catfish by calcium chloride and sodium chloride, **Prog. Fish. Cult.**, 42,144-146.
- Turgeon, M.L., 1999, Clinical hematology, **Lippincott Williams & Wilkins**, St.

Louis.

Uçar, S., 1990, Tekirdağ içme suyu, kuyu suyu, kaynak suyu, deniz suyu, bakteriyolojik kirlilik ve nitrit aranması üzerine bir araştırma, **T.Ü. Fen Bil. Enst., Yük. Lis. Tezi**, Tekirdağ.

Vural, N., 1996, Toksikoloji, **Ankara Üniversitesi Basımevi**, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları No: 73, Ankara.

Wintrobe, M.M., Lee, G.R., Boggs, D.R., Bithell, T.C., Foerster, J., Athens, J.W. and Lukens, J.N., 1981, Clinical hematology, **Lea & Febiger**, Philadelphia.

World Health Organization, 1984, Health hazards from nitrates in drinking-water, environmental health 1, **World Health Organization**, Copenhagen.

World Health Organization, 1996, Guidelines for drinking-water quality health criteria and other supporting information, **World Health Organization**, Geneva.

World Health Organization, 1998, Guidelines for drinking-water quality Addendum to volume 1 recommendations, **World Health Organization**, Geneva.

Yavuz, H., Kaya, Ş. ve Akar, F., 1993, Hayvanlarda içme suyu olarak kullanılan kuyu sularında nitrat ve nitrit düzeyleri, **A.Ü. Vet. Fak. Derg.**, 40 (1), 16-22.

Zeman, L.C., Kross, B. and Vlad, M., 2002a, A nested case-control study of methemoglobinaemia risk factors in children of Transylvania, Romania, **Environ. Health Pers.**, 110, 817-822.

Zeman, L.C., Vlad, M. and Kross, B., 2002b, Exposure methodology and findings for dietary nitrate exposures in children of Transylvania, Romania, **J. Exp. Anal. Environ. Epidemiol.**, 12, 54-63.

Zijlstra, W.G. and Buursma A., 1997, Spectrophotometry of hemoglobin: absorption spectra of bovine oxyhemoglobin, deoxyhemoglobin, carboxyhemoglobin, and methemoglobin, **Comp. Biochem. Physiol.**, 118B, 743-749.

ÖZGEÇMİŞ

1975 yılında Mersin'de doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Mersin'de tamamladı. 1994 yılında Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nü kazandı. 1998 yılında bu bölümden mezun oldu. 2000 yılında Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Programını kazandı.

T.C. YÖKSEKÖĞRETİM KURULU
BAKIMLIYATYON MERKEZİ