

Saçlarda Biriken Ağır Metallerin Analizleri ile İlgili Yöntem ve Uygulamalar

Elif VARHAN ORAL

Dicle Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Temel Eczacılık Bilimleri Bölümü, Analitik Kimya ABD, 21280 Diyarbakır, Türkiye, evarhan@dicle.edu.tr-ORCID: 0000-0003-1537-1050

ÖZET

Gelişmekte olan teknolojiyle birlikte artan çevre kirliliği nedeniyle insanların ağır metallere maruziyeti giderek artmaktadır. Çalışmalar, saç örneklerinin ağır metallere maruziyeti değerlendirmek için bir belirteç olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Bu yüzden son zamanlarda saçlarda biriken ağır metallerin tayinleri ile ilgili çalışmaların sayısı artmaktadır. Bu çalışmada, insan saçında biriken bazı ağır metal içeriklerinin araştırılması ile ilgili literatürlerin incelenip derlenmesi amaçlanmıştır.

İncelenen literatürlerde saç örneklerinin element içeriklerinin belirlenmesinde en çok kullanılan spektrometrik tekniklerin, enstrümental nötron aktivasyon analizi (INNA), X-ışını floresans spektrometresi (XRF), elektrotermal atomik absorpsiyon spektrometresi (ET-AAS), alevli atomik absorpsiyon spektrometresi (FAAS), atomic floresans spektrometresi (AFS), soğuk buhar atomik absorpsiyon spektrometresi (CV-AAS), hidrür oluşturmali atomik absorpsiyon spektrometresi (HG-AAS), indüktif olarak eşleşmiş plazma optik emisyon spektrometrisi (ICP-OES) ve indüktif olarak eşleşmiş plazma kütle spektrometrisi (ICP-MS) olduğu gözlenmiştir. Ayrıca, ağır metallerin vücutta yarattığı toksik etkilerin belirlenebilmesi için, saç, tırnak, idrar, tükürük, gaita, diş gibi biyolojik örneklerden faydalanılabileceği fakat saçların büyüme aşamasında biriken metallerin oranını yansıttığı için ve depolanabildikleri için son derece önemli materyaller olduğu bu nedenle, insanların ağır metallere maruziyetini belirlemede saç analizlerinin önemli olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Biyoizleme, biyolojik materyal, insan sağlığı, spektrometrik yöntemler.

ABSTRACT

Methods and Applications Related to the Analysis of Heavy Metals Accumulated in Hair

People's exposure to heavy metals is gradually increasing due to increasing environmental pollution with developing technology. Studies have shown that hair samples can be used as a marker to assess exposure to heavy metals. Therefore, the number of studies on the determination of heavy metals accumulated in hair has been increasing recently. In this study, it was aimed to review and compile the literature studies on the investigation of some heavy metal contents accumulated in human hair.

In the literature reviewed, the most commonly used spectrometric techniques in determining the elemental contents of hair samples are; neutron activation analysis (INNA), X-ray fluorescence spectrometry (XRF), electrothermal atomic absorption spectroscopy (ET-AAS), flame atomic absorption spectrometry (FAAS), atomic fluorescence spectrometry. (AFS), cold vapor atomic absorption spectrometry (CV-AAS), hydride formation atomic absorption spectrometry (HG-AAS), inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-OES) and inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). In addition, biological samples such as hair, nails, urine, saliva, stool, teeth can be used to determine the toxic effects of heavy metals on the body, but hair samples are extremely important materials because they

reflect the proportion of metals accumulated during the growth phase and can be stored. It was concluded that hair analyzes are important in determining the exposure to heavy metals.

Keywords: Biomonitoring, biological material, human health, spectometric methods.

1. GİRİŞ

Endüstriyel etkinlikler ve yer kabuğunun doğal bileşeni olarak bulunan ağır metallerin (kurşun, kadmiyum, civa, arsenik vb.) çevreye salınımının artması ile insanların toksik olan bu metallere maruz kalma olasılıkları da artmıştır. Çevre kirliliği açısından büyük bir sorun oluşturan ağır metallerin havayı, toprağı, suyu kirletmeleri, dolaylı yollardan ya da besin zinciri yoluyla insan sağlığını da olumsuz yönde etkilediği bilinmektedir. Bu nedenle, çevresel örneklerdeki (toprak, tortu, su vb.) bu elementlerin seviyeleri, insan sağlığı açısından potansiyel bir risk faktörü olabilir (Arainve ark., 2008; Uyar, 2013). Vücudun kimyasal bileşiminin stabilitesi, vücudumuzun normal işleyişi için en önemli ve gerekli koşullardan biridir. Çünkü çevresel, mesleki, iklimsel ve coğrafi faktörlerin veya hastalıkların neden olduğu kimyasal element konsantrasyonlarındaki sapmalar, çok çeşitli sağlık sorunlarına yol açabilir. Son yıllarda, insan biyo-substratlarındaki makro ve eser elementlerin içeriklerinin değerlendirilmesi üzerine çalışmalar giderek artmaktadır.

Biyozileme, bir vücudun element bileşimindeki eğilimleri zamanla ortaya çıkarmaya, bir hastalığın kimyasal maruziyeti ve ilerleyişi arasındaki ilişkileri belirlemeye ve bölgesel kirliliğin coğrafi dağılımını tahmin etmeye izin verir (Esteban ve Castaño, 2009). İnsan vücudundaki ağır metal konsantrasyonları hakkında bilgi elde etmek için kan, serum, idrar, saç, tırnak, diş, kıl, deri gibi biyolojik materyaller kullanılmaktadır (Esteban ve Castaño, 2009). Biyolojik indikatör olarak saç, tırnak deri gibi unsurların kullanılmalarının başlıca sebebi keratine zengin olmaları (-SH tiyol grubu içermeleri) dir. Metaller maruziyetin ölçümünde ve izlenmesinde biyolojik göstergeler kullanımında yaş, cinsiyet, yaşam tarzı gibi faktörlerin de göz önünde bulundurulması gerekmektedir (Uyar, 2013). Saçların, kan ve doku örneklerine kıyasla metal analizleri için bir takım avantajları vardır: örnekleme non-invazivdir, numunelerin taşınması kolaydır ve özel koşullar olmaksızın uzun süre saklanabilirler; hem kısa vadeli hem de uzun vadeli etkiler değerlendirilebilir ve madde birikiminin dinamikleri bu örneklerle göre belirlenebilir (Were ve ark., 2008; Esteban ve Castaño, 2009) . Aynı zamanda saçlar metalotiyonein (metal bağlayan, sistince zengin aromatik amino asitler içermeyen düşük molekül ağırlığına sahip protein) yapısına sahiptir. Metalotiyoneinler metallerle karşı affinite gösterirler. Bu sayede Zn, Pb, Cd, As, Co, Ni gibi ağır metaller metalotiyoneinlere bağlanabilmektedirler (Uyar, 2013).

Bu çalışmadaki amacımız, saçlarda biriken bazı ağır metallerin içeriklerinin araştırılması ile ilgili literatürlerin incelenip derlenmesidir.

2. BULGULAR ve TARTIŞMA

2.1. Ağır Metaller

Atom numarası 20'den büyük olan metaller ağır metal olarak bilinmektedir. Ağır metallerin yoğunlukları 5 g/cm^3 'ten büyüktür. Ağır metaller canlı organizmasında birikme potansiyeline sahiptir. Ağır metal birikmesi belli bir sınırı aşınca canlı için toksik etki gösterir. Bu nedenle ağır metallerin kullanım alanlarındaki işlemlere dikkate etmek gerekir. Bahsi geçen ağır metallerin esansiyel olanlarının belirli derişimleri canlılar için gerekli iken, fazlası yine toksik etki yapar. Klinik Laboratuvar Standartları Ulusal Komitesi (NCCLS), periyodik cetveldeki biyolojik eser elementlerini, esansiyel majör elementler, esansiyel eser elementler, esansiyel

olmayan toksik elementler ve tedavi amacıyla kullanılan elementler olmak üzere dört gruba ayırmıştır (Fraga, 2005; Ergin, 2019). Esansiyel major elementlere, sodyum, potasyum, kalsiyum, magnezyum, demir, fosfor, kükürt, klor, silisyum örnek olarak verilebilir. Esansiyel eser elementlere, vanadyum, krom, mangan, kobalt, molibden, çinko, bakır, nikel, selenyum, flor, iyot örnek olarak verilebilir. Esansiyel olmayan toksik elementlere, kurşun, kadmiyum, alüminyum, berilyum, arsenik, cıva, talyum örnek olarak verilebilir. Tedavi amaçlı kullanılan elementlere ise, lityum, platin ve altın örnek olarak verilebilir (Fraga, 2005; Ergin, 2019).

2.2. Saçın Yapısı

İnsan saç derisi, karmaşık bir iç yapıya sahip biyo-sentezlenmiş bir materyaldir. Yetişkin insan saçı yaklaşık 20-180 µm genişliğindedir ve genellikle yaklaşık 90 cm uzunluğa kadar uzar. Kutikül, korteks ve medulla dahil olmak üzere birçok katmandan oluşur. Bu katmanlar, hücre zarı kompleksi ile birbirine bağlanır.

Pul Tabakası (Kutikül): Saçın dış koruyucu örtüsüdür. Saçın uç kısmına doğru kiremit şeklinde dizilmiş yassı hücre tabakalarından oluşmuştur. Renksiz ve şeffaftır. Pul tabakası çok dayanıklı keratinden oluşmasına rağmen hava, tarama, fırçalama ve kimyasal işlemlerin etkisi ile zamanla yıpranıp dökülebilir (Bayram, 2011).

Lif Tabakası (Korteks): Saç bünyesindeki bütün hücrelerin %80'inin toplandığı en sert ve en önemli bölüm lif tabakasıdır. Temel iç yapıyı oluşturur. Bir çok korteks hücresinden meydana gelir. İlik tabakasını çepeçevre sarar. Çok sert bir tabaka olup saça elastikiyetini kazandırır (Bayram, 2011)

İlik tabakası (Medulla): Saç telinin tam ortasında bir fitil gibi boydan boya uzanır. Saç telinin ucuna doğru ilik hücreleri seyrekleşir. İlik tabakası yumuşak süngerimsi bal peteği görünümündeki hücre ve hava boşluklarını içerir (Bayram, 2011).

2.3. Vücuttan Saça Madde Girişi

Vücuda alınan maddenin saça olan geçişi olgun kıl hücresine dışarıdan kimyasal, ilaç ya da tozların difüzyonuyla, termal papillayı beslemekte olan kan akışında meydana gelen aktif ya da pasif difüzyonla ve son olarak ter ya da diğer salgılarla büyüyen olgun kıl fiberlerine difüzyonla olmaktadır (Çakılbahçe Haliloğlu, 2020).

2.4. Saç Analizleri

Saçın ilk element analizi 1858'de Hoppe tarafından yapılmış ve mezardan çıkarılan cesetlerin saçlarında As belirlenmiştir. Daha sonra 1945 yılında saçın mineral içeriğinin insan vücudundaki eser elementlerin varlığını yansıtabileceği öne sürülmüştür. Ancak, kan ve idrar analizinin tercih edildiği sonraki yıllarda elementel saç analizi ilgi görmemiştir. 1960'lı yıllarda beslenme alanındaki araştırmacılar tarafından saç analizinin faydası yeniden keşfedilmiştir. Yeni analitik tekniklerin gelişmesiyle birlikte saç analizine ilişkin yeni bakış açıları ortaya çıkmıştır. Günümüzde, birçok gelişmenin ardından saç analizi, toksikolojik, beslenme, klinik, arkeolojik ve adli araştırmalarda çeşitli uygulamalarla tamamlayıcı bir test olarak iyice yerleşmiştir (Pozebon ve ark., 2017; Sachs, 1997; Bencze, 1990; Goull ve ark., 2014). Saç analizlerinden elde edilen veriler, toksik ve/veya temel elementlere maruziyetin izlenmesinde faydalıdır. Analiz verilerinden kesin sonuçlara varabilmek için saç örnekleme, yıkama ve numune işleme prosedürleri dikkate alınmalıdır. İnsan saçı analizi, iyi tanımlanmış konsantrasyon aralıkları dikkate alınarak metallere ve metaloidlere maruz kalma durumunu veya bunların eksikliğini belirlemenin bir yolu olarak kabul edilmiştir. Saç analizleri

sonucunda, bir elementin konsantrasyonunun belirlenen aralıkların dışın a çıkması durumunda genellikle daha fazla araştırma yapılması gerekir. Ancak saç bileşiminin yaş, cinsiyet, saç rengi, etnik ve coğrafi köken, beslenme vb. faktörlerden dolayı değişiklik göstermesinden kaynaklı olarak çoğu zaman referans konsantrasyonunu ayarlamak zor olmuştur. Dolayısıyla referans değerleri oluştururken, yaş ve cinsiyeti ayrı ayrı ele almanın yanı sıra, bir ülke veya bölge içinde ayrı gruplar yapılarak araştırma yapılmalıdır (Pozebon ve ark., 2017; Tamburo ve ark., 2015).

2.5. Saç Örneklerinin Toplanması ve Yıkaması

Bireyin mevcut durumunun değerlendirilmesi istendiğinde, saçın gelişim aşamasında (anagen) bulunan en fazla sayıda folikülü toplanmalıdır. Çünkü papilla kan, lenf ve hücre dışı sıvı dolaşımı yoluyla organizmanın geri kalanıyla yakın temas halindedir. İnsanlarda standartlaştırılmış toplama yeri boynun hemen üzerindeki ense kısmıdır (Pozebon ve ark., 2017). Genellikle polietilen, titanyum veya tantaldan yapılmış makaslar kullanılarak kafa derisinden 10 mm'ye kadar aralıklı parçalar toplanır. Bununla birlikte, birçok çalışmada, saçta paslanmaz çeliği oluşturan elementler (özellikle Fe, Mn, Ni ve Cr) belirlendiğinde de paslanmaz çelik makas kullanıldığı görülmüştür (Carneiro ve ark., 2011; Drobyshev, ve ark., 2017; González-Muñoz ve ark., 2018; Peña-Fernández ve ark., 2016; Tian ve ark., 2016; Luo ve ark., 2015; Vibol ve ark., 2015; Kordas ve ark., 2010; Phan ve ark., 2013; Sahoo ve ark., 2015; Pozebon ve ark., 2017). Bu şekilde toplanan numune, makası oluşturan unsurlarla kirlenmiş olabilir ve bu da sonuçların doğruluğunu tehlikeye atabilir. Saçın dayanıklı bir malzeme olduğu göz önüne alındığında, saç örnekleri plastik bir kaptaki kolayca saklanabilir. Saç analizi ile ilgili en büyük zorluklardan biri endojen kirleticileri eksojen kirleticilerden ayırt etmektir. Bu anlamda incelenen saçların yıkanmasının sadece dış kirleticileri uzaklaştıracak şekilde yapılması gerekmektedir. Endojen kontaminasyon, organizmaya giren ve büyümesi sırasında saç yapısına katılan maddelere uzun süre maruz kalmaktan kaynaklanırken, eksojen kontaminasyon, saçın duman, kozmetik ürünler, ter, toplama ve saklama sırasındaki kullanımı vb. ile temasından kaynaklanır. Farklı bağlanma ve etkileşim biçimleri (güçlü veya zayıf), yıkama sırasında farklı kayıplara yol açabilir. Bu nedenle geniş aralıkta çoklu element tayini için bir yıkama prosedürü bulmak pratik değildir. Bu anlamda saçların yıkanmasında kullanılan farklı reaktif ve solventlerin de numuneye paralel olarak analiz edilmesi gerekmektedir (Eastman ve ark., 2012). Bazı dış elementler (çoğunlukla Hg) saça güçlü bir şekilde yapışır ve bunları bertaraf etmek için etkili yıkama prosedürlerinin değerlendirilmesi gerekmektedir. Benzer şekilde, yıkama sonrasında saçta kalan kir parçacıkları da eser element sonuçlarını yanıltma potansiyeline sahiptir. Genellikle metilen klorür ve aseton gibi organik çözücüler yalnızca yüzeydeki kirliliği giderirken, sulu çözeltiler veya metanol (saçları şişiren) ekstraktlarının saç matriksinden bileşenleri temizlediği bildirilmektedir (Bencze, 1990; Cooper ve ark., 2012). Endojen element içeriğini etkilemeden eksojen kontaminasyonu tamamen ortadan kaldıracak hiçbir yıkama prosedürü yoktur. Bu nedenle, karşılaştırılabilir sonuçlar elde etmek için Uluslararası Atom Enerjisi Ajansı (IAEA) tarafından standartlaştırılmış bir yıkama prosedürü önerilmiştir. Önerilen prosedür 5-10 dk yıkamadan oluşur (manuel veya mekanik çalkalama altında) sırasıyla aseton, su, su, su ve aseton ile yıkanması ve her 5-10 dakikalık yıkamadan sonra yıkama sıvısının boşaltılması şeklindedir (Ryabukhin ve ark., 1978). Raposo ve ark. arıtılmış suyun saçın yıkanması için yeterli bir "yıkama reaktifi" olduğunu ve su ile eksojen kaynaklı Al, Fe, Cu, Mn, Cr ve Pb gibi elementler uzaklaştırılırken, diğer elementlerin (örneğin Hg) uzaklaştıramadığını bildirmişler. Buna ek olarak IAEA prosedürü ile Hg dahil olmak üzere endojen eser elementlerin miktarlarının düşürüldüğü, yüzeydeki kir ve yağın ise ultra saf su ile daha iyi uzaklaştırıldığı bildirilmiştir. Yıkama işlemlerinin aseton ile yapıldığında ise asetonun saç üzerinde biriken ancak kısmi saç oluşumuna neden olan katı parçacıkları uzaklaştırdığı fakat saçın kılcal yapısını mikro ölçekte tahrip ettiği SEM-EDX ile

tespit edilmiştir (Pozebon ve ark., 2017, Raposo, 2014). Ohmori, etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) ile yıkamanın yalnızca yüzeye yapışmış dış elementleri uzaklaştırmakla kalmadığını Mg ve Ca gibi iç elementleri de uzaklaştırdığını bildirmiştir. Buna karşılık EDTA ile yıkamalarda endojen Cu, Zn, Co ve Hg elementlerinin keratinde buluna S ile EDTA'ya göre daha güçlü kompleksler oluşturduğu için zayıf bir şekilde uzaklaştırıldığı tespit edilmiştir (Ohmori, 1984).

Sonuç olarak yapılan literatürler incelendiğinde, çok farklı yıkama prosedürlerinin kullanıldığı tespit edildi. Bazı prosedürlerde saç örneklerinin, yalnızca deterjanla (genellikle Triton) yıkandığı, bazılarında ise şampuan ve hatta tek başına su ile yıkandıkları görüldü. Bunlara ek olarak Triton X-100 + 1 M HNO₃, EDTA, metilen klorür, aseton, su ve aseton, su ve metanol (Pozebon ve ark., 2017; Eastman ve ark., 2012; Ryabukhin ve ark., 1978; Raposo, 2014; Ohmori, 1984) gibi çok çeşitli yıkama prosedürlerinin de mevcut olduğu tespit edildi.

2.6. Saçların Çözünürleştirme Teknikleri

Yıkamış ve kurutulmuş saç örnekleri daha küçük parçalara kesilir veya çözünürleştirme işleminden önce öğütülerek toz haline getirilir. Yeterli miktarda saçın (en az <100 mg) sağlanması gerekmektedir. Kütlenin azalmasıyla birlikte azalan homojenlik, hatalı ve kesin olmayan sonuçlara yol açmaktadır. Bilindiği gibi analit kaybı, kontaminasyon ve/veya girişimler de sonuçların analitik doğruluğunun azalmasına neden olabilir. Literatürler incelendiğinde çözünürleştirme işlemlerinin bir ısıtıcı üzerinde açık sistem olarak veya mikrodalga yöntemi ile çok çeşitli asitler ve asit karışımları (HNO₃, farklı oranlarda HNO₃:H₂O₂ veya HNO₃:HClO₄ gibi) kullanılarak yapıldığı tespit edildi. (Chakraborti ve ark., 2013; Chojnacka ve ark., 2010; Wozniak ve ark., 2016; Czerny ve ark., 2014; Tamburo ve ark., 2015; Barbieri ve ark., 2011; Karimi ve ark., 2012; Fang ve ark., 2019).

2.7. Saçlarda Biriken Ağır Metallerin Tayin Teknikleri

Literatürde yapılan çalışmalar incelendiğinde, saç örneklerindeki metallerin içeriğinin, enstrümental nötron aktivasyon analizi (INNA) (Kucera ve Kofronova, 2011), X-ışını floresans spektrometresi (XRF) (Gerhardsson ve ark., 2002), elektrotermal atomik absorpsiyon spektrometresi (ET-AAS), (Baysal ve Akman., 2010; Olmedo ve ark., 2010;), alevli atomik absorpsiyon spektrometresi (FAAS) (Mehra ve ark., 2010; Lakshmi Priya ve ark., 2011; Shah ve ark., 2011), atomic floresans spektrometresi (AFS) (Ni ve ark., 2011), soğuk buhar atomik absorpsiyon spektrometresi (CV-AAS) (Chojnack ve ark., 2010; Michalak ve ark., 2012; Pozebon ve ark., 2017), hidrür oluşturma atomik absorpsiyon spektrometresi (HG-AAS) (Lakshmi Priya ve ark., 2011; Chakraborti ve ark., 2013; Lemire ve ark., 2009; Pozebon ve ark., 2017), indüktif olarak eşleşmiş plazma optik emisyon spektrometresi (ICP-OES) (Nasli-Esfahani ve ark., 2011; Chojnacka ve ark., 2010; Wozniak ve ark., 2016) ve indüktif olarak eşleşmiş plazma kütle spektrometresi (ICP-MS) (Przybylowicz ve ark., 2012; Oyoo-Okoth ve ark., 2012; Karimi ve ark., 2012) gibi çok çeşitli spektrometrik yöntemlerle yapıldığı tespit edildi. Yukarıda listelenen yöntemlerin birbirlerine göre her birinin avantajlarının ve dezavantajlarının olduğu görüldü. Literatürler incelendiğinde, ICP-OES'in genellikle yüksek konsantrasyonlardaki elementlerin analizleri için kullanıldığı, ICP-MS'in ise eser ve ultra eser elementler için kullanıldığı görüldü (Zaichick ve Zaichick, 2010; Peña-Fernández ve ark., 2016). Nötron aktivasyonu analizi, çoklu element tayinleri için çok uygun bir yöntem olmasına rağmen enstrümantasyonun maliyetinden dolayı büyük ölçekli rutin taramalar veya örneklerin rutin analizleri için kolayca erişilebilir olmadığı tespit edildi (Pozeban ve ark., 2017). Lam ve Salim, ısıtmalı elektrotermal buharlaştırma (IH-ETV) sistemini ICP-MS'e bağlayarak (IH-ETV-ICP-MS) yeni bir indüksiyon önermiştir. Bu yöntemin, tek bir insan saçı telinde metallerin

ve metaloidlerin çok düşük konsantrasyonlarda doğrudan çoklu element analizi için olanak tanıyacağını bildirmişler. Ancak önerdikleri yöntem, örnek miktarının sınırlı olduğu durumlarda çok faydalı olsa da, yalnızca sınırlı sayıda element (Hg, Cd, Pb ve Zn) için uygulanabilirliği kanıtlanmıştır. Rutin analiz uygulamasında olası zorluklar, yani saç tellerinin küçük alt örneklerine kesimi gibi nedenlerden dolayı bu teknik saç analizi için ilerleme kaydetmemiştir (Lam ve Salim, 2007).

Yukarıda bahsedilen teknikler, ICP-MS ile karşılaştırıldığında, ICP-MS'in geniş dinamik doğrusal aralık, çoklu element analizleri, yüksek hassasiyet, düşük saptama limitleri gibi avantajlarının mevcut olduğu görülmektedir (Pozebon ve ark., 2017).

2.8. Saçlarda Biriken Ağır Metaller ve Analizleri ile ilgili Literatür Özetleri

Golasik ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, kanser teşhisini desteklemek için kanser riski ile element durumu arasındaki ilişkinin yanı sıra kanser riski ile beslenme, sigara ve içme alışkanlıkları gibi dış faktörler arasındaki ilişki araştırılmıştır. Bu amaçla, Larenks kanserli hastalardan ve sağlıklı deneklerden aldıkları saç ve tırnak örnekleri incelenmiştir. Toksik metallerin (Cd, Co ve Pb) yanı sıra temel elementlerin analizleri (Ca, Cr, Mg, Zn, Cu, Mn ve Fe), indüktif olarak eşleşmiş plazma atomik emisyon spektrometrisi (ICP-OES) ve kütle spektrometrisi (ICP-MS) ile yapılmıştır. Ölçümler sonucunda kanserli hastaların saçlarında Zn (0.15 mg/kg), Cr (1.40 µg/g), Cd (0.48 µg/g) ve Pb (1.94 µg/g) seviyelerinin kontrol grubuna göre daha yüksek; kontrol grubunun saçlarında ise Ca (5.50 µg/g), Mg (0.73 µg/g), Cu (34.63 µg/g), Fe (0.37 µg/g), Mn (4.04 µg/g) ve Co (0.21 µg/g) seviyelerinin kanser hastalarına göre daha yüksek olduğu bulunmuştur. Saç örneklerinde araştırılan elementlerin analizinden elde ettikleri sonuçlara göre kanser riskini tahmin etmek ve hastalığın erken taranması için saçların yararlı araçlar olabileceği belirtilmiştir (Golasik ve ark., 2015).

Gellein ve ark. tarafından yapılan çalışmada, sağlıklı beş kişinin saç telleri kafa derilerinden başlayarak 1 cm uzunluğunda parçalara kesilmiştir. Yüksek çözünürlüklü indüktif olarak eşleşmiş plazma kütle spektrometrisi (HR-ICP-MS) kullanarak, insan saçının tek telinde Ag, As, Au, Cd, Cu, Hg, Fe, Pb, Se, Sr, U ve Zn olmak üzere 12 elementin analizi yapılmıştır. Analiz sonuçları sırasıyla; 0.195, 0.007, 0.01, 0.041, 76.5, 0.235, 13.3, 1.00, 0.39, 0.0014, 0.059 ve 190 µg/g olarak bulunmuştur. Eser element profillerinden elde ettikleri bilgilere göre insan saçının bir biyobelirteç olarak potansiyelini doğruladığı belirtilmiştir (Gellein ve ark., 2008).

Fang ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, Huainan Şehrindeki sakinlerin saçlarındaki ağır metal kirliliği seviyesini belirlemek için 174 kişiden saç örnekleri toplanılmıştır. Toplam 0.4 g saç numunesi, gece boyunca 10 mL nitrik asit ve 2 mL perklorik asit içinde bekletilmiştir. Ertesi gün, numuneler neredeyse kuruyana kadar (yani çözelti şeffaf hale gelene kadar) sıcak bir plaka üzerinde ısıtılmıştır. Soğuttukları numuneler, % 2.5 nitrik asit ile ve 50 mL distile su ile seyreltilmiş ve indüktif olarak eşleşmiş plazma-optik emisyon spektrometresi (ICP-OES, PE, 7000 DV) ile ağır metallerin analizleri yapılmıştır. Analiz sonuçlarına göre insan saçındaki ortalama Cr, Pb, Cu, Fe, Zn ve As konsantrasyonları sırasıyla 1.56, 6.41, 14.96, 31.13, 166.54 ve 1.07 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Saçtaki ağır metal içeriğinin cinsiyete ve yaşa göre değiştiği, saçtaki Pb konsantrasyonunun yaş arttıkça azaldığı tespit edilmiştir. En yüksek Pb konsantrasyonu, 0 ile 10 yaşları arasındaki çocuklarda 7.23 mg/kg olarak, 70 yaşından büyük bireylerde ise 2.93 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Bu nedenle çocukların diğer yaşlara göre Pb kirliliğine karşı daha duyarlı olduğu sonucuna varılmıştır. Saçtaki Cr, Fe, Zn ve As seviyelerinin de (özellikle Fe) yaşla birlikte arttığını, 70 yaşından büyük bireylerde sırasıyla; 1.94, 1.50, 40.98 ve 190.48 mg/kg iken, Cr, As ve Fe seviyelerinin 11-20 yaş grubu arasındaki bireylerde ise 1.41, 0.95 ve 26.12 mg/kg olduğu belirlenmiştir. Erkek saçında Cr, Pb, Fe ve As içeriklerinin kadınlara göre daha yüksek olduğu (Erkeklerde

sırasıyla 1.74, 6.94, 32.58, 1.18 mg/kg; kadınlarda ise 1.36, 5.81, 29.47 ve 0.95 mg/kg) Cu ve Zn da durumun tam tersi olduğu, (Erkeklerde 13.5 ve 147.8 mg/kg kadınlarda ise 16.64 ve 88.06 mg/kg) tespit edilmiştir. Cr, Cu, As ve Zn içerikleri açısından cinsiyetler arasında önemli farklılıklar olduğu belirlenmiştir. Çalışma sonucunda, bölge sakinlerinin saçlarındaki ağır metal içeriklerinin yerel çevrenin ve nüfusun özellikleriyle yakından ilişkili olduğu belirtilmiştir (Fang ve ark., 2019).

Baker ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, Irak'ın Kerbela kentinde yaşayan farklı sigara içme biçimleri (aktif ve sigara içmeyenler) olan kişilerden saç örnekleri alınarak kimyasal analizleri yapılmıştır. Saç örnekleri 3 ile 70 yaş arasındaki 236 kişiden (32 kadın, 204 erkek) elde edilmiştir. Çalışmada, cinsiyet ve sigara alışkanlığının etkisi de incelenmiş ve elde edilen sonuçlar literatürde yayınlanmış değerlerle karşılaştırılmıştır. Kadın saçında Na (146±151 mg/kg), Mg (157±89 mg/kg) ve Ca (1708±606 mg/kg) seviyelerinin erkeklere göre daha yüksek olduğu ve erkek saç örneklerinin ise daha yüksek Fe (44±44 mg/kg) seviyelerine sahip olduğu bulunmuştur. Sigara içen insanların saçlarında içmeyenlere göre daha yüksek Mg (71±116 mg/kg), Ca (981±488 mg/kg) seviyeleri tespit edilirken, sigara içmeyen bireylerde de içenlere göre daha yüksek Na (114±114 mg/kg), Fe (47±60 mg/kg) seviyeleri tespit edilmiştir. (Baker ve ark., 2018).

Nasli-Esfahani ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, ilk kez diabetes mellitus hastaları ve kontrol grubunun saç, tırnak, idrar ve serumda bulunan altı eser elementin (Zn, Cu, Mg, Mn, Cr, Se) konsantrasyonları analiz edilmiştir. Analizler, indüktif olarak eşleşmiş plazma atomik emisyon spektroskopisi (ICP-OES) ile gerçekleştirilmiştir. Tahran Üniversitesi Tıp Bilimleri Hastanesinden diyabetik hastalar (n = 150) ve sağlıklı kontrol grubu. (n = 151) için numuneler alınmıştır. Saç örnekleri üzerinde yapılan analizler sonucunda diyabet hastalarının kontrol grubuna göre Mg (145.64±8.99 µg/g) ve Cu (22.55±4.54 µg/g) seviyelerinin yüksek olduğu; kontrol grubunun ise diyabet hastalarına göre Zn (211.41±11.53 µg/g), Se (1.57±0.74 µg/g), Mn (4.60±1.42 µg/g) ve Cr (4.36±1.03 µg/g) seviyelerinin daha yüksek olduğunu bulunmuştur. Saçlarda elementlerin yüksek birikimi nedeniyle özellikle Cr, Se ve Mn analizleri için saçın iyi bir biyolojik örnek olduğu bildirilmiştir (Nasli-Esfahani ve ark., 2011).

Varhan Oral tarafından yapılan çalışmada, Diyarbakır'da yaşayan sigara içen erkeklerden (10 kişi) ve içmeyenlerden (10 kişi) alınan saç örneklerinde Cd, Pb, Cu, Fe gibi eser elementlerin analizleri yapılmıştır. Saç örnekleri, Uluslararası Atom Enerjisi Ajansı tarafından önerilen standart bir prosedürle yıkanmıştır. Daha sonra numuneler, bir fırında 110 °C'de 16 saat kurutulmuştur. Kurutulan örnekler, mikrodalga fırında kapalı kaplarda HNO₃-H₂O₂ (3:1) karışımı ile çözünürleştirilmiştir. Eser element analizleri, indüktif olarak eşleşmiş plazma-kütle spektrometresi (ICP-MS) tekniği kullanılarak yapılmıştır. Bu çalışmada sigara içenlerde sigara içmeyenlere göre Cd (0.140±0.04 µg/g), Pb (1.85±0.05 µg/g) ve Fe (42.59±1.28 µg/g) elementlerinin konsantrasyonlarının oldukça yüksek olduğu tespit edilmiştir. Yöntemin doğruluğu, standart ekleme yöntemi uygulanarak değerlendirilmiştir. Analitik geri kazanım değerlerinin % 91.2 ile % 104.6 arasında ve R değerlerinin 0.99'dan yüksek olduğu tespit edilmiştir (Varhan Oral, 2016).

Al-Farsi ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, Umman'ın başkenti Maskat'ta yaşayan otizimli çocukların saç örneklerinde ağır metallerin ve temel minerallerin düzeyleri tespit edilmiştir. Saç örnekleri, 27 tane otizimli ve kontrol grubu olarak ta 27 tane sağlıklı çocuktan toplanmıştır. Analizler, indüktif olarak eşleşmiş plazma-kütle spektrometresi (ICP-MS) ile gerçekleştirilmiştir. Pb, Al, Si, Mo, V, Cr, Cd, Co, Ni, B ve Ba seviyeleri otizimli çocuklarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Aynı zamanda temel mineraller olan S, Na, Mg, K, Zn ve Fe seviyeleri otizimli çocukların saç örneklerinde kontrol grubuna göre daha yüksek bulunurken Ca ve Cu seviyeleri daha düşük bulunmuştur. Çalışmalarından elde ettikleri sonuçların, dünyanın farklı yerlerinde yapılan önceki çalışmalardan elde edilen verileri doğruladığı bildirilmiştir (Al-Farsi ve ark., 2013).

Przybylowicz ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, sağlıklı 24 kadın ve 18 erkekte toplanan saç, el ve ayak tırnaklarındaki Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Ni, Pb ve Zn konsantrasyonları ölçülmüştür. Saç örnekleri, başın arkasından toplanarak, su (iki kez), Triton X-100 (bir kez), su (kabarıkklar kaybolana kadar birkaç kez), metanol (bir kez) ve son olarak metanol ile ultrasonik bir banyoda 15 dakika süreyle yıkanmıştır. Yıkama işleminin ardından, numuneler teflon kaplara alınarak üzerlerine 5 mL derişik HNO₃ ilave edilmiş ve gece boyunca oda sıcaklığında bekletilmiştir. Daha sonra numuneler mikrodalga fırında çözünürleştirilmiştir. Çözünürleştirilen numuneler 10 mL'lik balon jöjelere aktarılıp su ile seyreltilerek analize hazır hale getirilmiştir. Analizler indüktif olarak eşleşmiş optik emisyon spektrometresi (ICP-OES) ve indüktif olarak eşleşmiş plazma-kütle spektrometresi (ICP-MS) ile gerçekleştirilmiştir. Analiz sonucunda, kadınların saçındaki Ca, Cu, Mg, Zn, Co ve Ni seviyeleri erkeklerin saçındakinden daha yüksek, Cd, Cr, Ni ve Fe seviyeleri ise daha düşük tespit edilmiştir (Przybylowicz ve ark., 2012).

3. SONUÇ

Saç örneklerindeki metallere içeriğinin tespiti için çok sayıda spektrometrik tekniklerin geliştirildiği bu tekniklerin her birinin kendine göre avantajının ve dezavantajının olduğu, fakat yukarıda bahsedilen teknikler arasında ICP-MS'in, birden fazla metal seviyesini aynı anda belirleyebilmesi, düşük saptama limitleri, yüksek güvenilirliği ve daha az miktarda saç numuneleri ile analiz yapılabilmesi gibi avantajlarının mevcut olduğu görülmüştür. Ayrıca insan saçının büyüme aşamasında biriken maddeler ve eser elementler arasındaki bileşimi ve oranları yansıttığı için bilgilendirici malzemeler olduğu, saçların kan ve doku örneklerine kıyasla kolay örnekleme, numunelerin daha kolay taşınması, özel koşullar olmaksızın uzun süre saklanabilmeleri, hem kısa vadeli hem de uzun vadeli etkilerin değerlendirilebilmesi gibi avantajlarının olduğu belirlenmiştir. Aynı zamanda, insan saçında bulunan eser elementlerin analizleri ile bir bireyin beslenme durumu ve maruziyeti hakkında geriye dönük bilgileri ortaya çıkarma potansiyeline sahip olduğunu, saçın uzunlamasına segmentlerinin büyüme döneminde vücut yükünü yansıtabileceğini, insan saçının tek bir telindeki eser element profillerini analiz ederek insan saçının maruz kalma veya beslenme durumunu gösterme potansiyelinin değerlendirilebileceği bildirilmiştir.

Hastalıkların klinik teşhisi için saç biyobelirteç olarak kullandığımızda, güvenilir sonuçlar elde edebilmek için çeşitli dış faktörleri (çevreye maruz kalma, hava, toprak, su ve gıda kalitesi, yaşam tarzı alışkanlıkları ve beslenme farklılıkları) dikkate almamız gerektiği ve saç analizlerinde laboratuvar metodolojilerinin ve prosedürlerinin (yıkama, ayrıştırma ve belirleme) kesin doğrulukla standartlaştırılmasının, çalışmalar arasındaki konsantrasyon seviyelerinin karşılaştırılabilirliğini arttıracak sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

Al-Farsi, Y.M., Waly, M.I., Al-Sharbaty, M.M., Al-Shafae, M.A., Al-Farsi, O. A., Al-Khaduri, M. M., Gupta, I., Quhtit, A., Al-Adawi, S., Al-Said, M.F, Deth, R.C., 2013. Levels of heavy metals and essential minerals in hair samples of children with autism in Oman: a case-control study. *Biological Trace Element Research*, 151:181-186.

Arain, M.B., Kazi, T.G., Jamali, M.K., Jalbani, N., Afridi, H.I., Shah, A., 2008. Total dissolved and bioavailable elements in water and sediment samples and the iraccumulation in *Oreochromis mossambicus* of polluted Manchar Lake. *Chemosphere*, 70(10):1845-1856.

Baker, J.A., Ward, N.I., 2018, May. Determination of minor elements of human scalp hair from Karbala, Iraq. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 1032, No. 1, p. 012067). IOP Publishing.

Barbieri, F.L., Cournil, A., Souza Sarkis, J.E., Bénéfice, E., Gardon, J., 2011. Hair trace elements concentration to describe polymetallic mining waste exposure in Bolivian Altiplano. *Biological Trace Element Research*, 139:10-23.

Bayram, V., 2011. Saç ve saçlı derinin sağlığını etkileyen faktörler, *Anadolu Bil Meslek Yüksekokulu Dergisi*. 22:66-70.

Baysal, A., Akman, S., 2010. Determination of lead in hair and its segmental analysis by solid sampling electrothermal atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 65(4):340-344.

Bencze, K., 1990. What contribution can be made to biological monitoring by hair analysis?: Part 1, *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 337:867-876.

Carneiro, M.F.H., Moresco, M.B., Chagas, G.R., de Oliveira Souza, V.C., Rhoden, C.R. Barbosa, F., 2011. Assessment of trace elements in scalp hair of a young urban population in Brazil, *Biological Trace Element Research*, 143: 815-824.

Chakraborti, D., Rahman, M.M., Murrill, M., Das, R., Patil, S.G., Sarkar, A., Yendigeri, S., Ahmed, R., Das, K.K., 2013. Environmental arsenic contamination and its health effects in a historic gold mining area of the Mangalur greenstone belt of North eastern Karnataka, India. *Journal of Hazardous Materials*, 262: 1048-1055.

Chojnacka, K., Zielińska, A., Michalak, I., Górecki, H., 2010. The effect of dietary habits on mineral composition of human scalp hair. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 30 (2):188-194.

Coelho, P., Costa, S., Silva, S., Walter, A., Ranville, J., Sousa, A. C., Costa, C., Coelho, M., García-Lestón, J., Pastorinho, M.R., Laffon, B., Pásaro, E., Harrington, C., Taylor, A., Teixeira, J.P., 2012. Metal(loid) levels in biological matrices from human population sex posed to mining contamination—Panasqueira Mine (Portugal). *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 75(13-15):893-908.

Cooper, G.A., Kronstrand, R., Kintz, P., 2012. Society of Hair Testing guidelines for drug testing in hair. *Forensic Science International*, 218(1-3): 20-24.

Czerny, B., Krupka, K., Ożarowski, M., Seremak-Mrozikiewicz, A., 2014. Screening of trace elements in hair of the female population with different types of cancers in Wielkopolskaregion of Poland. *The Scientific World Journal*, 1-15.

Çakılbağ Haliloğlu, Z., 2020. ICP-MS İle Saç Örneklerinde Element Tayini, Yüksek Lisans Tezi, Bursa Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Bursa.

Drobyshev, E.J., Solovyev, N.D., Ivanenko, N.B., Kombarova, M.Y., Ganeev, A.A., 2017. Trace element biomonitoring in hair of school children from a polluted area by sector field inductively coupled plasma mass spectrometry, *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 39:14-20.

Eastman, R. R., Jursa, T. P., Benedetti, C., Lucchini, R. G., Smith, D.R., 2013. Hair as a biomarker of environmental manganese exposure. *Environmental Science & Technology*, 47(3): 1629-1637.

Ergin, İ., 2019. Saç Boyalarında ve Boyanmış Saç Örneklerinde Ağır Metal Tayini, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Esteban, M., Castaño, A., 2009. Non-invasive matrices in human biomonitoring: A review *Environment International*, 35:438–449.

Fang, F., Wang, Y., Zhu, Z., Yao, Y., Lin, Y., Wang, J., 2019. Distribution characteristics and influencing factors of heavy metals in scalp hair of Huainan urban residents. *Environmental Monitoring and Assessment*, 191:1-10.

Fraga, C.G., 2005. Relevance, essentiality and toxicity of trace elements in human health. *Molecular Aspects of Medicine*, 1(26):235–244.

Gellein, K., Lierhagen, S., Brevik, P. S., Teigen, M., Kaur, P., Singh, T., Trond, P.F., Syversen, T., 2008. Trace element profiles in single strands of human hair determined by HR-ICP-MS. *Biological Trace Element Research*, 123:250-260.

Gerhardsson, L., Englyst, V., Lundström, N. G., Sandberg, S., Nordberg, G., 2002. Cadmium, copper and zinc in tissues of deceased copper melter workers. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 16(4):261-266.

Golasik, M., Jawień, W., Przybyłowicz, A., Szyfter, W., Herman, M., Golusiński, W., Florek, E., Piekoszewski, W., 2015. Classification models based on the level of metals in hair and nails of laryngeal cancer patients: diagnosis support or rather speculation?. *Metallomics*, 7(3):455-465.

González-Muñoz, M.J., Peña, A., Meseguer, I., 2008. Monitoring heavy metal contents in food and hair in a sample of young Spanish subjects, *Food and Chemical Toxicology*, 46:3048-3052.

Goull, J.P., Saussereau, E., Mahieu, L., Guerbet, M., 2014. Current role of ICP-MS in clinical toxicology and forensic toxicology: a metallic profile, *Bioanalysis* 6:2245-2259.

- Karimi, G., Shahar, S., Homayouni, N., Rajikan, R., Bakar, N.F.A., Othman, M.S., 2012. Association between trace element and heavy metal levels in hair and nail with prostate cancer. *Asian Pacific journal of cancer Prevention*, 13(9):4249-4253.
- Kordas, K., Queirolo, E. I., Ettinger, A. S., Wright, R. O., Stoltzfus, R. J., 2010. Prevalence and predictors of exposure to multiple metals in preschool children from Montevideo, Uruguay. *Science of the Total Environment*, 408(20):4488-4494.
- Kučera, J., Kofroňová, K., 2011. Determination of As by instrumental neutron activation analysis in sectioned hair samples for forensic purposes: chronic or acute poisoning?. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 287:769-772.
- Lakshmi Priya, M.D., Geetha, A., 2011. Level of trace elements (copper, zinc, magnesium and selenium) and toxic elements (lead and mercury) in the hair and nail of children with autism. *Biological Trace Element Research*, 142:148-158.
- Lam, R., Salin, E.D., 2007. Direct multi element determination of human hair by induction-heating electrothermal vaporization with ICP-MS, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 22:1430-1433.
- Lemire, M., Mergler, D., Huel, G., Passos, C. J., Fillion, M., Philibert, A., Guimarães, J.R.D., Rheault, I., Borduas, J., Normand, G., 2009. Biomarkers of selenium status in the Amazonian context: blood, urine and sequential hair segments. *Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology*, 19(2):213-222.
- Luo, R., Zhang, S., Xiang, P., Shen, B., Zhuo, X., Ma, D., 2015. Elements concentrations in the scalp hair of methamphetamine abusers. *Forensic Science International*, 249:112-115.
- Mehra, R.I.T.A., Thakur, A.S., Bhalla, S.E.E.M.A., 2010. Trace level analysis of chromium, manganese, cobalt and iron in human hair of people residing near heavy traffic area by biomonitoring. *International Journal of Pharma and BioSciences*, 1:57-61.
- Michalak, I., Chojnacka, K., Saeid, A., 2012. Relation between mineral composition of human hair and common illnesses. *Chinese Science Bulletin*, 57:3460-3465.
- Molina-Villalba, I., Lacasaña, M., Rodríguez-Barranco, M., Hernández, A. F., Gonzalez-Alzaga, B., Aguilar-Garduño, C., Gil, F., 2015. Biomonitoring of arsenic, cadmium, lead, manganese and mercury in urine and hair of children living near mining and industrial areas. *Chemosphere*, 124: 83-91.
- Nasli-Esfahani, E., Faridbod, F., Larijani, B., Ganjali, M. R., Norouzi, P., 2011. Trace element analysis of hair, nail, serum and urine of diabetes mellitus patients by inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy. *Journal of Diabetes and Metabolic Disorders*, 10:5.
- Ni, S., Li, R., Wang, A., 2011. Heavy metal content in scalp hair of the inhabitants near Dexing Copper Mine, Jiangxi Province, China. *Science China Earth Sciences*, 54, 780-788.
- Ohmori, S., 1984. Hair as a monitor for environmental pollution: variations in element concentrations for different lead-processing workers and different washing methods of their hair. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 84(2):451-459.

Olmedo, P., Pla, A., Hernández, A. F., López-Guarnido, O., Rodrigo, L., Gil, F., 2010. Validation of a method to quantify chromium, cadmium, manganese, nickel and lead in human whole blood, urine, saliva and hair samples by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 659(1-2):60-67.

Oral, E.V., 2016. Determination of the trace element levels in hair of smokers and non-smokers by ICP-MS. *Journal of the Turkish Chemical Society Section A: Chemistry*, 3(3):367-380.

Oyoo-Okoth, E., Admiraal, W., Osano, O., Kraak, M.H., 2012. Element profiles in hair and nails of children reflect the uptake from food and the environment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31(7):1461-1469.

Peña-Fernández, A., González-Muñoz, M.J., Lobo-Bedmar, M.C., 2016. Evaluating the effect of age and area of residence in the metal and metalloid contents in human hair and urban topsoils. *Environmental Science and Pollution Research*, 23:21299-21312.

Phan, K., Phan, S., Huoy, L., Suy, B., Wong, M. H., Hashim, J. H., Mohamed Yasin, M.S., Aljunid, M.S., Sthiannopkao, S., Kim, K. W., 2013. Assessing mixed trace elements in ground water and their health risk of residents living in the Mekong River basin of Cambodia. *Environmental Pollution*, 182:111-119.

Pozebon, D., Scheffler, G. L., Dressler, V.L., 2017. Elemental hair analysis: A review of procedures and applications. *Analytical Chimica Acta*, 992:1-23.

Przybylowicz, A., Chesy, P., Herman, M., Parczewski, A., Walas, S., Piekoszewski, W., 2012. Examination of distribution of trace elements in hair, finger nails and toenails as alternative biological materials. Application of chemometric methods. *Central European Journal of Chemistry*, 10:1590-1599.

Raposo, J.C., Navarro, P., Sarmiento, A., Arribas, E., Irazola, M., Alonso, R.M., 2014. Analytical proposal for trace element determination in human hair. Application to the Biscay province population, northern Spain. *Microchemical Journal*, 116:125-134.

Ryabukhin, Y.S., 1976. Activation analysis of hair as an indicator of contamination of man by environmental trace element pollutants (No. IAEA-RL--50). International Atomic Energy Agency.

Sachs, H., 1997. History of hair analysis, *Forensic Science International*, 84: 7-16.

Sahoo, S. K., Žunić, Z. S., Kritsanuwat, R., Zagrodzki, P., Bossew, P., Veselinovic, N., Mishra, S., Yonehara, H., Tokonami, S., 2015. Distribution of uranium, thorium and some stable trace and toxic elements in human hair and nails in Niška Banja Town, a high natural background radiation area of Serbia (Balkan Region, South-East Europe). *Journal of Environmental Radioactivity*, 145:66-77.

Shah, F., Kazi, T.G., Afridi, H.I., Kazi, N., Baig, J.A., Shah, A.Q., Khan, S., Kolachi, N.D., Wadhwa, S.K., 2011. Evaluation of status of trace and toxic metals in biological samples (scalp

hair, blood, and urine) of normal and anemic children of two age groups. *Biological Trace Element Research*, 141:131-149.

Tamburo, E., Varrica, D., Dongarr, G., 2015. Coverage intervals for trace elements in human scalp hair are site specific, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 39:70-76.

Tamburo, E., Varrica, D., Dongarrà, G., Grimaldi, L.M.E., 2015. Trace elements in scalp hair samples from patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *PLoSOne*, 10(4):e0122142.

Tian, M., Ma, X., Jia, J., Qiao, Y., Wu, T., Li, H., Liu, Y., 2016. The exposure level of heavy metals at four different locations near Gan-Ning-Mengreaches of the Yellow River, China. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, 22(8):1620-1635.

Uyar, A., 2013. Zonguldak İlindeki İnsanların Saç ve Tırnak Örnekleri Üzerinden Toplam Arsenik Konsantrasyonlarının İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi (ICP-MS) Kullanılarak Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Bülent Ecevit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Zonguldak.

Vibol, S., Hashim, J. H., Sarmani, S., 2015. Neuro behavioral effects of arsenic exposure among secondary school children in the Kandal Province, Cambodia. *Environmental Research*, 137: 329-337.

Were, F.H., Njue, W., Murungi, J., Wanjau, R., 2008. Use of human nails as bio-indicators of heavy metals environmental exposure among school age children in Kenya. *Science of the Total Environment*, 393(2-3): 376-384.

Wozniak, A., Napierala, M., Golasik, M., Herman, M., Walas, S., Piekoszewski, W., Szyfter, W., Szyfter, K., Golusinski, W., Baralkiewicz, D., Florek, E., 2016. Metal concentrations in hair of patients with various head and neck cancers as a diagnostic aid. *Biometals*, 29:81-93.

Zaichick, S., Zaichick, V., 2010. Is scalp hair valid indicator for the assessment of chemical element contents in human body?. *Trace Elem. Electroly*, 27(258):e261.