



Balık Dokularında Biriken Ağır Metallerin Tespiti İçin Yeni Nesil Kullan-At Sensör Geliştirilmesi

Nanobilim ve Nanoteknoloji Ana Bilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Erkan YILDIRIM

ORCID 0000-0003-3462-2564

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Aziz Kolkıran

Ocak 2022

İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü öğrencisi **Erkan Yıldırım** tarafından hazırlanan “**Balık Dokularında Biriken Ağır Metallerin Tespiti İçin Yeni Nesil Kullan-At Sensör Geliştirilmesi**” başlıklı bu çalışma tarafımızca okunmuş olup, yapılan savunma sınavı sonucunda kapsam ve nitelik açısından başarılı bulunarak jürimiz tarafından YÜKSEK LİSANS / DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

ONAYLAYANLAR:

Tez Danışmanı: **Dr. Öğr. Üyesi Aziz KOLKIRAN**
İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi
Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi
Mühendislik Bilimleri Bölümü
Biyomühendislik Anabilim Dalı

Jüri Üyeleri:

Prof. Dr. Hüseyin ÇELİKKAN
Gazi Üniversitesi
Fen Fakültesi
Kimya Bölümü
Analitik Kimya Anabilim Dalı

Prof. Dr. Mustafa CAN
İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi
Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi
Mühendislik Bilimleri Bölümü
Biyomühendislik Anabilim Dalı Başkanı

Savunma Tarihi: 26/01.2022

Yazarlık Beyanı

Ben, **Erkan Yıldırım**, başlığı “**Balık Dokularında Biriken Ağır Metallerin Tespiti İçin Yeni Nesil Kullan-At Sensör Geliştirilmesi**” olan bu tezimin ve tezin içinde sunulan bilgilerin şahsıma ait olduğunu beyan ederim. Ayrıca:

- Bu çalışmanın bütünü veya esası bu üniversitede Yüksek Lisans / Doktora derecesi elde etmek üzere çalıştığım süre içinde gerçekleştirilmiştir.
- Daha önce bu tezin herhangi bir kısmı başka bir derece veya yeterlik almak üzere bu üniversiteye veya başka bir kuruma sunulduysa bu açık biçimde ifade edilmiştir.
- Başkalarının yayımlanmış çalışmalarına başvurduğum durumlarda bu çalışmalara açık biçimde atıfta bulundum.
- Başkalarının çalışmalarından alıntıladığımda kaynağı her zaman belirttim. Tezin bu alıntılar dışında kalan kısmı tümüyle benim kendi çalışmamdır.
- Kayda değer yardım aldığım bütün kaynaklara teşekkür ettim.
- Tezde başkalarıyla birlikte gerçekleştirilen çalışmalar varsa onların katkısını ve kendi yaptıklarımı tam olarak açıkladım.

Tarih: .../01/2022

Balık Dokularında Biriken Ağır Metallerin Tespiti İçin Yeni Nesil Kullan-At Sensör Geliştirilmesi

ÖZ

Günümüzde, endüstri ve tarım sektöründe yapılan faaliyetler sonucu sulardaki ağır metal seviyeleri artmaktadır. Sucul organizmaları etkileyen ağır metaller kara ve suda yaşayan organizmaların vücutlarında toksik madde birikimine neden olmaktadır. Ayrıca, sulardaki müsilaj kitle içerisinde toksin ve ağır metal seviyesi yüksek olduğundan balıkların insanlar tarafından tüketimi oldukça tehlikelidir. Özellikle Hg^{+2} , Cd^{+2} , Cu^{+2} ve Pb^{+2} ağır metalleri, yüksek toksisite ve besin zincirindeki birikme eğilimlerinden dolayı insan sağlığını tehdit etmektedir. Balıklardaki toksik ağır metal birikimi güvenli seviyeleri aştığında ve bu balıklar tüketildiğinde insan sağlığı için önemli risk oluşturmaktadır. Bu ağır metaller, insan vücudunda kronik zehirlenme, Alzheimer hastalığı, kanser gibi ciddi sağlık sorunlarına yol açmaktadır. Balık tarafından vücuda solungaç, deri ve sindirim yoluyla alınan ağır metallerin tayini genel olarak İndüklenmiş Plazma Kütle Spektroskopisi (ICP-MS) ve Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi (AAS) ile yapılmaktadır. Fakat bu analitik yöntemler uzun analiz süresi, yüksek maliyet, komplike teknik içerme gibi dezavantajlara sahiptir. Bu tezde, bu dezavantajlardan yola çıkılarak balıklardaki ağır metallerin kısa sürede ve yüksek hassasiyetle belirlenmesi için bir elektrokimyasal biyosensör geliştirilmiştir. Bu çalışmada *Dicentrarchus Labrax*, *Mullus Barbatius*, *Liza Ramada*, *Pagellus erythrinus* gibi deniz canlılarının yaş ayrıştırma yöntemi ile kas doku ve solungaçlarından alınan örnekler analiz edilmiştir. Bu sistem ağır metallerin elektrokimyasal olarak tayini için tek kullanımlık sensör ve ona bağlı analiz cihaz platformundan oluşmaktadır. Bu sensör sistemini klasik yöntemlerden ayıran en önemli özellik üç elektrotun da ana malzemesinin grafen oksit olmasıdır. Kalem grafit elektrotlar (PGE) elektrokimyasal yöntem kullanılarak grafen oksit ile modifiye edilmiştir. Elektrokimyasal grafen modifiye elektrotların ağır metallere karşı olan sensör duyarlılığı incelenmiştir.

Yapılan alışmada Pb^{+2} , Cu^{+2} , Hg^{+2} ve Cd^{+2} için tayin limiti sırasıyla 0,04 mg/L, 0,75 mg/L, 0,56 mg/L ve 0,03 mg/L'dir. Balıklarda bulunan ağır metallerin (Pb^{+2} , Cu^{+2} , Hg^{+2} ve Cd^{+2}) eş zamanlı multiplex tayini tek kullanımlık ip platformunda grafen elektrotlar vasıtasıyla gerçekleştirilmiştir.

Anahtar Sözcükler: Grafen, Elektrokimyasal sensör, Ağır metaller, Kalem grafit elektrot

Development of a New Generation Disposable Sensor for the Detection of Heavy Metals Accumulated in Fish Tissues

Abstract

Nowadays, heavy metal levels of water increase as a result of the activities made in the industry and agricultural sector. Heavy metals which affect the aquatic organisms cause the accumulation of toxic substances in the bodies of land and water organisms. In addition, the consumption of fish by humans is quite dangerous, since the level of toxins and heavy metals in the mucilage mass in the waters is high. Especially Hg^{+2} , Cd^{+2} , Cu^{+2} , and Pb^{+2} heavy metals threaten human health due to high toxicity and accumulation tendencies in the nutrient chain. When the toxic heavy metal accumulation in fish exceeds safe levels and these fish are consumed significant risk for human health. These heavy metals lead to serious health problems such as chronic poisoning, Alzheimer's disease, cancer in the human body. The determination of heavy metals taken by fish through gill, skin, and digestion is generally carried out by Induced Plasma Mass Spectroscopy (ICP-MS) and Atomic Absorption Spectroscopy (AAS). However, these analytical methods have disadvantages such as a long-term analysis, high cost, the inclusion of complicated techniques. In this thesis, based on these disadvantages, an electrochemical biosensor has been developed in order to determine the heavy metals in fish in a short time and with high precision. In this study, the samples were obtained from the muscle tissue and gills of marine species with the method of wet decomposition such as *Dicentrarchus Labrax*, *Mullus Barbatius*, *Liza Ramada*, *Pagellus erythrinus* were analyzed. This system consists of a disposable sensor and its connected analysis device platform for the electrochemical determination of heavy metals. The most important feature that differentiates this sensor system from the classical methods is that the main material of the three-electrode is graphene oxide. Pencil graphite electrodes (PGE) were modified with graphene oxide using the electrochemical

method. The sensor sensitivity against heavy metals of electrochemical graphene-modified electrodes was investigated. In the study, the Limit of Detection (LOD) for Pb^{+2} , Cu^{+2} , Hg^{+2} and Cd^{+2} was 0.04 mg/L, 0.75 mg/L, 0.56 mg/L and 0.03 mg/L respectively. The simultaneous multiplex determination of heavy metals (Pb^{+2} , Cu^{+2} , Hg^{+2} and Cd^{+2}) in fish was performed by graphene electrodes on the disposable chip platform.

Keywords: Graphene, Electrochemical sensor, Heavy metals, Pencil graphite electrode.

Aileme

Yüksek lisans başvurumu yapmakta beni yüreklendiren ve tez çalışmam süresince her zaman desteklerini esirgemeyen eşim Emine YILDIRIM, kızım Seyhan İrem YILDIRIM, ablam Gönül YILDIRIM ve annem Seyhan YILDIRIM iyi ki varsınız. Yüksek lisans ders ve tez aşamaları sırasında işyerimde desteklerini esirgemeyen Cem KUZUCU, Kasım KARABACAK, Kemal EKİN, Selçuk KOCAMAN, Meltem EKMEKÇİ ve Mehtap GÜRBÜZ'e sonsuz teşekkür ederim.

Teşekkür

Bu tez çalışmamda rehberlik yapan, bilgi birikimini esirgemeyen danışman hocam sayın Dr. Öğr. Üyesi Aziz KOLKIRAN'a teşekkürlerimi sunarım. Yüksek lisans eğitim sürem boyunca deneyimlerini, yardımlarını ve bilgi birikimini esirgemeyen, çalışmaların tamamlanabilmesi adına gerekli maddi ve manevi tüm desteği veren değerli hocam Dr. Melike KARAKAYA'ya derin şükran duyduğumu belirtmek isterim. Tez çalışmamda yapıcı fikirleri ve sürekli destekleri için Prof. Dr. Hüseyin ÇELİKKAN'a kendisi Ankara'da olmasına rağmen aradaki mesafeleri hissettirmedeği ve araştırma boyunca bilgi deneyimlerinden sonuna kadar yararlandığı için teşekkür ederim.

Yüksek lisansa başlamam, tez çalışması araştırmasında ve literatür araştırma çalışmamda destek olan değerli hocam Doç.Dr.Gamze SÜPÜREN MENGÜÇ'e teşekkür ederim.

Tez çalışmamda gerek cihaz, sarf ve kimyasal malzeme temini ve gerekse çalışma ortamı sağladığı için BioNanoGen Teknoloji Geliştirme Sanayi ve Ticaret A.Ş.'ye, yönetim kurulu üyeleri ve teknik bilgilerini esirgemeyen teknik personeline teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarımın süresince ortak çalışmalarda bulunduğum Müfide SOYSAL'a teşekkür ediyorum.

İçindekiler

Yazarlık Beyanı.....	ii
Öz.....	iii
Abstract.....	v
Teşekkür.....	viii
Şekiller Listesi.....	xiii
Tablolar Listesi.....	xvii
Kısaltmalar Listesi.....	xviii
Semboller Listesi.....	xx
1. Giriş.....	1
1.1. Ağır Metaller.....	3
1.1.1. Kadminyum (Cd).....	3
1.1.2. Kurşun (Pb).....	3
1.1.3. Bakır (Cu).....	4
1.1.4. Cıva (Hg).....	5
1.2 Ağır Metallerin Ekosisteme Etkileri.....	5
1.3 Ağır Metallerin İnsanlar Üzerindeki Etkisi.....	6
1.4 Balıklarda Yaş Yakma.....	6

1.5	Elektroanalitik Kimya	7
1.5.1	Elektroanalitik Yöntemler	7
1.5.2	Voltametri Yöntemi	9
1.5.3	Voltametri Kullarılan Önemli Teknikler	10
1.5.3.1	Dönüşümlü (üçgen) Voltametri (CV)	11
1.5.3.2	Sıyırma Voltametri (SV)	13
1.5.3.3	Diferansiyel Puls Voltametri (DPV)	15
1.5.4	Voltametik Sistemlerde Kullarılan Elektrotlar	15
1.6	Yüzey Analiz Teknikleri	16
1.6.1	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrumu (FTIR)	16
1.6.2	X Işınları Kırınımı (XRD)	17
1.6.3	Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM)	18
1.6.4	İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometre (ICP MS)	18
2.	Literatür Araştırması	20
3.	Materyal ve Yöntem	24
3.1	Kimyasal Malzemeler	24
3.2	Kullarılan Cihazlar	25
3.3	Çözeltilerin Hazırlanması	32
3.3.1	Asetat Tamponunun Hazırlanması	32
3.3.2	Grafen Oksitin Hazırlanma Aşaması	32
3.4	Kalem Grafit Elektrotların Hazırlanma İşlemleri	33

3.4.1	Grafit Elektrotun Temizlenme Aşaması.....	33
3.4.2	Grafit Elektrotun Şartlandırma Aşaması.....	33
3.5	Kalem Ucu Grafit Elektrotların Fiziksel Ve Kimyasal Modifikasyon İşlemi	34
3.5.1	Fiziksel Kalem Ucu Modifikasyonu	34
3.5.2	Kimyasal Kalem Ucu Modifikasyonu.....	35
3.6	Elektrokimyasal Analiz İçin Stok Metallerin Hazırlanma Prosedürü.....	36
3.6.1	Cu^{+2} Metalinin Hazırlanma İşlemi	36
3.6.2	Cd^{+2} Metalinin Hazırlanma İşlemi	36
3.6.3	Pb^{+2} Metalinin Hazırlanma İşlemi	37
3.7	Balıklarda Yaş Yakma Yöntemi	37
3.8	Balık Dokularında Ağır metallerin Elektrokimyasal Yöntem ile Tayini	43
4.	Deneysel Bulgular Ve Tartışma	46
4.1	PGE Elektrotlarının FTIR Spekturumları	46
4.2	PGE Elektrotlarının XRD Spekturumları.....	48
4.2.1	İşlem Görmemiş Grafit Elektrot.....	48
4.2.2	Şartlandırılmış Grafit Elektrot.....	49
4.2.3	Grafen Oksit (GO) Modifiye Elektrot.....	49
4.2.4	Elektro Kimyasal Grafen Oksit Modifiye Elektrot	50
4.3	PGE Elektrotlarının SEM Görüntüleri	51
4.4	PGE Elektrotlarının ICP-MS Analizi.....	54
4.5	Stok Ağır Metallerinin Elektrokimyasal Analizi	55

4.5.1	Pb ⁺² İyonu Tayini	55
4.5.2	Cu ⁺² İyonu Tayini	57
4.5.3	Hg ⁺² İyonu Tayini	59
4.5.4	Cd ⁺² İyonu Tayini	61
4.6	Balık Örneklerinin Elektrokimyasal Analiz Sonuçları	62
4.6.1	Kefal Solungaç Dokusunun Elektrokimyasal Analizi.....	63
4.6.2	Kefal Kas Dokusunun Elektrokimyasal Analizi	64
4.6.3	Levrek Solungaç Dokusunun Elektrokimyasal Analizi.....	65
4.6.4	Levrek Kas Dokusunun Elektrokimyasal Analizi.....	66
4.6.5	Barbun Solungaç Dokusunun Elektrokimyasal Analizi.....	67
4.6.6	Barbun Kas Dokusunun Elektrokimyasal Analizi	68
4.6.7	Mercan Solungaç Dokusunun Elektrokimyasal Analizi	69
4.6.8	Mercan Kas Dokusunun Elektrokimyasal Analizi.....	70
5. Sonuçlar	72
Kaynaklar	74
Özgeçmiş	79

Şekiller Listesi

Şekil 1.1: Elektroanalitik tekniklerin sınıflandırılması	9
Şekil 1.2: Voltametri de kullanılan potansiyele karşı zaman uyarı sinyalleri.....	11
Şekil 1.3: CV uyarma sinyali	12
Şekil 1.4: Tek elektronlu oksidasyon-redüksiyonun voltamogramı	12
Şekil 1.5: Sıyırma yöntemlerinde potansiyel-zaman grafiği.....	14
Şekil 1.6: Diferansiyel darbe voltametrisi (DPV) tekniğinde darbe uygulamasının şeması.....	15
Şekil 1.7: Voltametrik yöntemlerde hücre A) Karbon pasta elektrot (CPE), B) Perde baskılı karbon(grafit) elektrot (SPCE), C)Kalem grafit elektrot (PGE). D) 3'lü Elektrot sistemi	16
Şekil 1.8: X-ışınlarının kristal tarafından kırılma şekli.....	17
Şekil 3.1: Potansiyostat Cihazı.....	25
Şekil 3.2: Üçlü elektrot sistemi	26
Şekil 3.3: Hassas Terazi	26
Şekil 3.4: Ultra saf su cihazı	27
Şekil 3.5: Ultrasonik Banyo	27
Şekil 3.6: Etüv cihazı	28
Şekil 3.7: Mikropipet	28
Şekil 3.8: Isıtıcılı Manyetik Karıştırıcı.....	29
Şekil 3.9: FTIR analiz cihazı.....	29

Şekil 3.10: X ışını Kırınımı (XRD) Cihazı	30
Şekil 3.11: Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM).....	30
Şekil 3.12: İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometre (ICP MS)	31
Şekil 3.13: Yaş yakma cihazı (MARS6).....	31
Şekil 3.14: Grafit elektrodun şartlandırılması.....	34
Şekil 3.15: Fiziksel Kalem Ucu Modifikasyonu	35
Şekil 3.16: Kimyasal Kalem Ucu Modifikasyonu	36
Şekil 3.17: DicentrarchusLabrax(Levrek) boyu.....	37
Şekil 3.18: Mullus Barbatu (Barbun) boyu	37
Şekil 3.19: LizaRamada (Kefal) boyu.....	38
Şekil 3.20: PagellusErythrinus (Mercan) boyu	38
Şekil 3.21: DicentrarchusLabrax Kilo Ölçümü.....	38
Şekil 3.22: Mullus Barbatu Kilo Ölçümü.....	39
Şekil 3.23: LizaRamada Kilo Ölçümü	39
Şekil 3.24: PagellusErythrinus Kilo Ölçümü.....	39
Şekil 3.25: DicentrarchusLabrax Kas Dokusu	40
Şekil 3.26: Mullus Barbatu Kas Dokusu	40
Şekil 3.27: Liza Ramada Kas Dokusu	41
Şekil 3.28: PagellusErythrinus Kas Dokusu	41
Şekil 3.29: DicentrarchusLabrax Solungaç Dokusu	41
Şekil 3.30: MullusBarbatu Solungaç Dokusu.....	42

Şekil 3.31: Liza Ramada Solungaç Dokusu.....	42
Şekil 3.32: PagellusErythrinus Solungaç Dokusu.....	42
Şekil 3.33: Kullan at platformunun şematiği	44
Şekil 4.1: Şartlandırılmış kalem grafit elektrot için FTIR Spektrumu.....	46
Şekil 4.2: Daldırma yöntemiyle elde edilen kalem grafit elektrot FTIR Spektrumu .	47
Şekil 4.3: Elektrokimyasal grafit modifiye kalem elektrot FTIR Spektrumu.....	48
Şekil 4.4: İşlem görmemiş grafit elektrot için XRD Spektrumu.....	48
Şekil 4.5: Şartlandırılmış kalem grafit elektrot için XRD spektrumu.....	49
Şekil 4.6: Daldırma yöntemi ile Grafen oksit modifiye elektrot için XRD spektrumu	50
Şekil 4.7: Elektro Kimyasal Grafen Oksit Modifiye Elektrot XRD spektrumu	51
Şekil 4.8: İşlem görmemiş grafit elektrotun SEM görüntüsü	52
Şekil 4.9: Şartlandırılmış kalem grafit elektrotun SEM görüntüsü.....	52
Şekil 4.10: Grafen oksit (daldırma) yöntemi ile modifiye elektrotun SEM görüntüsü	53
Şekil 4.11: Elektrokimyasal grafen oksit modifiye elektrotun SEM görüntüsü	53
Şekil 4.12: Pb ⁺² Metali Kalibrasyon Grafiği.....	56
Şekil 4.13: Pb ⁺² Metali tepe akım sonuçları.....	57
Şekil 4.14: Cu ⁺² Metali Kalibrasyon Grafiği	58
Şekil 4.15: Cu ⁺² Metali tepe akım sonuçları	59
Şekil 4.16: Hg ⁺² Metali Kalibrasyon Grafiği	60
Şekil 4.17: Hg ⁺² Metali tepe akım sonuçları	61

Şekil 4.18: Cd ⁺² Metali için Kalibrasyon Grafiği	62
Şekil 4.19: Kefal Balığının Solungaç Dokusundaki Cu ⁺² ve Pb ⁺² Metalinin Elektrokimyasal Analizi.....	64
Şekil 4.20: Kefal Balığının Kas Dokusundaki Cu ⁺² Metalinin Elektrokimyasal Analizi.....	65
Şekil 4.21 : Levrek Balığının Solungaç Dokusundaki Cu ⁺² Metalinin Elektrokimyasal Analizi.....	66
Şekil 4.22 : Levrek Balığının Kas Dokusundaki Cu ⁺² Metalinin Elektrokimyasal Analizi.....	67
Şekil 4.23 : Barbun Balığının Solungaç Dokusundaki Cu ⁺² Metalinin Elektrokimyasal Analizi.....	68
Şekil 4.24 : Barbun Balığının Kas Dokusundaki Cu ⁺² Metalinin Elektrokimyasal Analizi.....	69
Şekil 4.25: Mercan Balığının Solungaç Dokusundaki Cu ⁺² Metalinin Elektrokimyasal Analizi.....	70
Şekil 4.26: Mercan Balığının Kas Dokusundaki Cu ⁺² ve Hg ⁺² Metalinin Elektrokimyasal Analizi.....	71

Tablolar Listesi

Tablo 3.1: Kimyasal maddeler	24
Tablo 3.2: Yaş Yakma Metodu Aşamaları.....	43
Tablo 4.1: Ağır Metallerin ICP-MS Analizi (Levrek)	54
Tablo 4.2: Ağır Metallerin ICP-MS Analizi (Barbun).....	54
Tablo 4.3: Ağır Metallerin ICP-MS Analizi (Kefal).....	55
Tablo 4.4: Ağır Metallerin ICP-MS Analizi (Mercan)	55
Tablo 4.5: Pb ⁺² Metalinin Elektrokimyasal Analiz Sonuç Verileri.....	56
Tablo 4.6: Cu ⁺² Metalinin Elektrokimyasal Analiz Sonuç Verileri	58
Tablo 4.7: Hg ⁺² Metalinin Elektrokimyasal Analiz Sonuç Verileri	60
Tablo 4.8: Cd ⁺² Metalinin Elektrokimyasal Analiz Sonuç Verileri.....	62
Tablo 4.9: Balık Örnekleri Genel Tablo	63
Tablo 4.10: Kefal Balığı Solungaç Dokusunun için Elektrokimyasal Analiz Verileri	64
Tablo 4.11: Kefal Balığı Kas Dokusunun Elektrokimyasal Analiz Verileri.....	65
Tablo 4.12: Levrek Balığı Solungaç Dokusunun Elektrokimyasal Analiz Verileri...	66
Tablo 4.13: Levrek Balığı Kas Dokusunun Elektrokimyasal Analiz Verileri	67
Tablo 4.14: Barbun Balığı Solungaç Dokusunun Elektrokimyasal Analiz Verileri ..	68
Tablo 4.15: Barbun Balığı Kas Dokusunun Elektrokimyasal Analiz Verileri.....	69
Tablo 4.16: Mercan Balığı Kas Dokusunun Elektrokimyasal Analiz Verileri	71

Kısaltmalar Listesi

2D	İki Boyutlu
AAS	Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi
AdSV	Adsorptif Sıyırma Voltametrisi
AE	Yardımcı Elektrot
ASV	Anodik Sıyırma Voltametrisi
AuNPs-GCE	Altın Nanoparçacık Modifiye Camsı Karbon Elektrotlar
CPE	Karbon Pasta Elektrot
CSV	Katodik Sıyırma Voltametrisi
CV	Dönüşümlü Voltametri
CV-AAS	Soğuk Buharlı Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi
DPV	Diferansiyel Puls Voltametrisi
FAAS	Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrometresi
FTIR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrumu
GFAAS	Grafit Fırınlı Atomik Absorpsiyon Spektrometresi
GO	Grafen Oksit
ICP-MS	İndüklenmiş Plazma Kütle Spektroskopisi
LAPS	Işık Adreslenebilir Potansiyometrik Sensör
LAPS	Altın Nanoparçacık Modifiye Camsı Karbon Elektrotlar
LOD	Gözlenebilme Sınırı
PGE	Kalem Grafit Elektrot
RE	Referans Elektrot
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
SGE	Katı Altın Elektrot

SPCE	Perde Baskılı Karbon(grafit) Elektrot
WE	Çalışma Elektrodu
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
XRD	X Işını Kırınımı Spektroskopisi

Semboller Listesi

i_{pc}	Katodik Akım
E_{pc}	Katodik Tepe Potansiyeli
i_{pa}	Anodik Akım
$^{\circ}C$	Santigrat Derece
E_{pa}	Anodik Tepe Potansiyeli
mg	miligram
E	Uygulanan potansiyel
N	Dalga boyu sayısı
eV	Elektron Volt
nm	Nanometre
t	Zaman [s]
μm	Mikrometre
μL	Mikrolitre

Bölüm 1

1. Giriş

Nüfusun hızla artmasıyla birlikte insanların şehirlere göç etme oranının artması, ekosisteme zarar verilmesi ve endüstriyel atıkların suları kirletmesi Dünya genelinde sularda problemlere neden olmaktadır. Suların kirlenmesine neden olan maddelerin insanların hayatını biyolojik ve fizikokimyasal yollar ile olumsuz yönde etkilemektedir. Bu nedenle bu maddeler dünya üzerinde araştırmacılar için merak konusu olmuştur [1].

Ekolojik dengeyi bozan kirleticilerden en önemlisi ağır metallerdir. Ağır metaller yer kabuğunda doğal olarak yer alan ve bozunma özelliğine sahip olmayan bileşiklerdir. Ülkemizde sanayi tesisleri yoğun bir şekilde bulunmaktadır. Bu tesislerde (maden işletmeleri, demir-çelik, krom, bakır gibi metallerin kullanıldığı endüstri alanları, boya, tekstil, kimya ve otomotiv sanayi) gerçekleşen üretim faaliyetleri sonucunda ortaya çıkan kimyasal ve endüstriyel atıklar, soğutma suları arıtma işlemi uygulanmadan denize ulaşmaktadır. Bu atıklar, içerdikleri kimyasal maddeler ve ağır metaller sebebiyle, arıtma tesislerinde yeterince arıtılamamaktadır. Bu durum sonucunda sulardaki toksik ağır metal oranı yüksek seviyelere çıkmaktadır [2].

Sularda kirliliğe neden olan maddeler bu ekosistemdeki anlular tarafından çeşitli yollarla bünyesine alınmaktadır. Ağır metaller ortamdan solungaç ve deri yoluyla alınmakta ve vücuda alınan ağır metaller, ilk olarak taşıyıcı proteinlere bağlanır ve daha sonra kan vasıtasıyla doku, organlara taşınmaktadır. Dokulardaki metal bağlayıcılar proteinler vasıtasıyla bağlanma gerçekleştirerek yüksek konsantrasyonlara çıkabilmektedir [3]. Balıklardaki ağır metal birikimi en çok

solungaçlarda görülmektedir. Bunun nedeni ağır metale sahip solunum suyu ile solungaç tabakasının etkileşim halinde olmasıdır [2].

Canlılar toksik özelliğe sahip ağır metallere maruz kaldığında vücutlarında birtakım sorunlar meydana gelir. Ağır metaller (Cd^+ , Pb^+ , Hg^+ , Al^+ , Cu^+) yüksek oranda toksik olduğu için ve besin zincirinde vücutta yüksek miktarda biyobirikime neden olduğu için önemli çevre problemlerine sebep olmaktadır. Gereğinden fazla vücuda alınan temel olmayan ağır metaller balıkların vücudunda ciddi problemlere sebep olmaktadır. Ağır metallere en yüksek toksisiteye sahip metaller kurşun, civa ve kadmiyumdur. Bu metallere her konsantrasyonda zehirlilik etkiye sahiptir [4,5].

Son yıllarda ülkemizdeki sularda meydana gelen müsilaç problemi balıklar ve insanlar için büyük tehdit oluşturmaktadır. Müsilaça sebep olan canlı organizmaların bakır, kurşun gibi yüksek toksisiteye sahip ağır metal varlığında bir cevap olarak ortama organik madde saldığı bilinmektedir. Ayrıca müsilaç kitle içerisinde toksinler ve ağır metallere seviyesi yüksek olduğundan sularda yaşayan balıkların insanlar tarafından tüketimi oldukça tehlikelidir. Balıklardaki ağır metaller güvenli seviyeleri aştığında ve bu balıklar tüketildiğinde insan sağlığında ciddi bir sorun oluşturur. Bu nedenle gıda güvenliğini sağlamak amacıyla balıklarda ağır metal tespiti gün geçtikçe önem kazanmaktadır.

İçerisinde bulunduğumuz tüm bu sorunlar göz önüne alındığında, bu tez çalışması kapsamında, balıklardaki ağır metallere tespitinde yaygın olarak kullanılan klasik analiz yöntemlerinden farklı olarak yeni nasıl kullan at sensör platformu geliştirilmiştir. Bu tek kullanım özelliğine sahip elektrokimyasal sensör sisteminde klasik metodlardan farklı olarak kullanılan üç elektrodun da ana malzemesi grafitir. Grafit elektrot yüzeyleri elektrokimyasal yöntem kullanılarak grafen oksit ile modifiye edilmiştir. Balıklarda bulunan ağır metaller (Hg^+ , Cd^+ ve Pb^+) geliştirilen tek kullanımlık kullan at çip platformu ile grafen elektrotlar vasıtasıyla eş zamanlı olarak düşük konsantrasyonlarda tespit edilmiştir.

1.1. Ağır Metaller

Ağır metal olarak bilinen elementler, periyodik cetvelin, üçüncü ya da daha yüksek periyod kısmında bulunan metallerdir. Genel itibari ile zehir ihtiva eden ve çevre kirliliğine sebep olan tüm metaller ağır metal sınıfına girmektedir. Ağır metalleri tanımlayacak olursak, fiziksel özellik yönünden; yoğunluğu 5 g/cm³ ten daha yüksek metallerdir. Bu gruba krom, kadmiyum, kurşun, cıva, demir, kobalt, nikel, bakır, ve çinko gibi 60'tan fazla metal dâhildir. Metallerin doğaya ve ekolojik sistem üzerine olan etkilerinden bahsederken aslında metalin ait bulunduğu grubun ele alınması ve bu özelliğin vurgulanması biyolojik etki açısından önemlidir [6].

1.1.1. Kadmiyum (Cd)

Kadmiyum varolan başka ağır metallerin aksine sulu ortamda en kolay şekilde çözünebilen elementtir. Bu sebepten dolayı doğada hızlı bir şekilde yayılırlar ve insan metabolizmasının ihtiyaç duyduğu elementler arasında yer almazlar. Sudaki yüksek çözünme özelliğinden nedeniyle Cd⁺² halinde deniz canlıları ve bitkiler tarafından biyolojik sistemlere katılır [7].

Cd seviyesi insan vücudunda yaş ilerledikçe artış göstermekte ve 50 yaşından sonra insan vücudunda azalmaktadır. Yeni doğmuş bebeklerin vücudunda kadmiyuma rastlanmaz ve kadmiyum, cıva ve kurşunun aksine plasenta veya kan vasıtasıyla anne karnındaki bebeğe geçmemektedir.

Kadmiyum özellikle karaciğer ve böbrekte birikirler. İlerleyen yaşlarla böbreklerde biriken ağır metal yüksek tansiyona ve aynı zamanda böbrek yetmezliği ya da karaciğer yetmezliğine sebep olabilmektedir. Kronik kadmiyum zehirlenmesinde akciğer ve prostat kanseri ortaya çıkmaktadır. Diğer taraftan dişlerin dökülmesi, kansızlık ve koku kaybı da kadmiyum metalinin önemli etkilerindedir. Dünya sağlık örgütü sınıflandırmasına göre kadmiyum 1. sınıf kanserojendir [7].

1.1.2 Kurşun (Pb)

Kurşun (Pb) ekosistem de ve kullanım yerlerine bağlı olarak endüstriyel faaliyetler sonucunda, ekosistemde sıklıkla bulunan, rengi mavimsi veya gümüşü olabilen bir

metaldir [8]. Kurşun (Pb), çevreye farklı nedenlerden giriş yaptığında, öteki pek çok metale göre doğada daha uzun kalabilmektedir. Bu metal aynı zamanda sucul ortamda yaşayan organizmalar için toksik özellik sergilemektedir. Sedimentte bağlı olarak bulunan kurşunun, dip de yaşayan canlılar tarafından tüketildiğinde ve vücut da birikime neden olabileceği vurgulanmaktadır [9]. Düşük yoğunlukta dahi toksik etkiye neden olduğu bilinen kurşun (Pb^{+}), saç levha, kablo ve tel imalatında, kaplamada, patlayıcı fitili üretiminde, kauçuk endüstrisinde çok geniş şekilde kullanılan bir metal türüdür [10]. Kurşun elementinin balıklar üzerinde çok fazla etkileri vardır. Yumurtada bulunan sarı kısmın emilimi ve yumurtadan çıkma bilme oranında azalmaya neden olarak üremeyi negatif yönde etkilediği, dolaşım ve iskelet sistemlerinde bozulmalara sebep olduğu saptanmıştır [11].

1.1.3 Bakır (Cu)

Bakır (Cu), ekosistemde karbonat, oksit ve sülfür gibi mineraller halinde yer almaktadır. İnsanlar bitkiler ve hayvanlar gibi organizmalarda var olan proteinle bağ yapmaktadır. İlaveten, bağışıklık sisteminin ve kalp fonksiyonlarının düzenlenmesinde, oksidaz enzimlerinin meydana gelmesinde, dokulardaki pigmentasyonda ve omuriliğin miyelinizasyonunda neden olmaktadır [12]. Bakır, vücutta ince bağırsak kısmında emilmektedir. Karaciğerin serüloplazmin yapısına nüfus eder ve kana salgılanır. Plazma yapısı içerisindeki mevcut bakırın %95'inden fazlası serüloplazmin yapısında yer alır ve böylelikle dokulara kadar taşınmaktadır.

İnsan kullanımı neticesinde meydana çıkan bakır kirliliği, emisyonla, atmosferik depositlerle, tarımsal alanlarda kullanılan pestisitlerle, hayvansal dışkılarının gübre olarak değerlendirilmesiyle, diğer nedense maden ve kömür yataklarının varlığı dolayısıyla oluşmaktadır [13]. Ayrıca, bakır sülfatın tarımsal alanda mücadele aracı olarak fungusit, herbisit ve algisit olarak kullanılmaktadır. Türkiye'deki tarımsal alanda yaygın olarak kullanılmaktadır [14].

Bakır (Cu)'ın sucul alanda fazla yer alması, özellikle etkili olduğu bakteri, deniz yosunları, mantarlar ve balıklarda zehirleyici özelliği ön plana çıkmaktadır. Balıklar metabolizmasına bakırın nüfus etmesi genellikle solungaçlar ve tüketilen besinler yolu ile olmaktadır. Bakırlı ortamda balıkların bulunma zamanı fazlalaştıkça, balıklar üzerinde toksik etkiler meydana gelir ve letal olmayan derişimlerde bakır

aktif organ ve dokularda birikime neden olur. Balık metabolizmasında bakırın en fazla birikim gösterdiği organ karaciğerdir [9].

1.1.4 Cıva (Hg)

Cıva (Hg), düşük sıcaklıkta uçucu bir element özelliğine sahip olduğundan oda sıcaklığında devamlı buharlaşabilen tek elementtir. Buharlaşmanın olduğu alanda zehir etkisi ortaya çıkar. Cıvanın döküldüğü yüzeye toz kükürt serpilmesi gerekmektedir. Cıva Hg^{+1} ve Hg^{+2} gibi farklı bileşikleri bulunmaktadır. Organik, metalik ya da inorganik formlarda bulunmaktadır. Elektrik iletkenliği iyi olmasının yanında ısı iletkenliği kötüdür. Cıva, farklı metallerle çok kolay alaşım yapmaktadır. Bu alaşımlar “amalgam” olarak bilinir. Cıvaya elektrik akımı uygulandığında neon, kripton, argon, ksenon gibi soy gazlarla birleşebilir. Cıvanın zararlı özelliği canlıların besin zincirine büyüyerek birikebilmesine “biyolojik büyüme” denilmektedir. Cıva besin yoluyla etkileşiminde daha çok organik cıva bileşikleri sorumludur [15].

1.2 Ağır Metallerin Ekosisteme Etkileri

Ağır metaller, içerdikleri yüksek yoğunluktan dolayı düşük konsantrasyonda bile toksik ve zehirleyici etkileri ortaya çıkmaktadır. Bu nedenden dolayı Ağır metaller ABD Çevre Koruma Ajansı tarafından, 650 toksik madde ve kirletici maddenin yer aldığı listede 129 tane öncelikli çevre kirleticilerin arasında bulunmaktadır [16].

Fabrikalar, tarım ve hayvancılık uygulamaları, endüstri kuruluşları, enerji santrallerin işletmesi sonucu açığa çıkan, içinde ekolojik sisteme ve sağlığa negatif yönde etki eden kimyasal maddeleri barındıran kirli sular; akarsu, yer altı suları, göl, ve denizlerde meydana gelen metal kirliliğinin en önemli sebeplerindendir [17].

Sucul yaşam alanlarda, kimyasal kirlenmenin nedeni olan ağır metaller çeşitli kaynaklardan ortaya çıkabilmeleri, ortam şartlarına dayanım göstermeleri, canlıların vücutlarında yüksek miktarda birikmeleri sebebiyle diğer kimyasal kirleticilere nazaran ön sıralarda yer almaktadır [18].

1.3 Ağır Metallerin İnsanlar Üzerindeki Etkisi

Ağır metaller vücuda çevresel faktörler ile girerler. Bu ağır metaller vücuda girerek birikime yol açar ve bunun sonucunda insan vücudunda önemli sağlık problemlerine yol açar.

Kurşun vücutta yumuşak dokulara ve organlara (karaciğer, böbrekl, kas) nüfuz etmektedir. Vücuttaki kurşun daha sonra kemiklere ve dişlere geçiş yaparak buralarda depolanmaktadır [19]. Kurşunun vücutta etkilediği organlar şunlardır. Beyinde; şiddetli nörolojik bozukluk, duyuşal defisit IQ ve öğrenme güçlüğü, Kalpte; hipertansiyon, iskemik kalp rahatsızlığı, Böbreklerde; kronik inflamatuvar böbrek hastalığı, işlev kaybı, Dokularda; anemi, sistemin işleyişinde bozulma, Kadınlarda; anormal döl, Erkeklerde; sperm sayısında azalma gibi birçok rahatsızlığa neden olmaktadır [20].

Bakır ağır metali, vücutta biriken ve dokularda sahip olduğu konsantrasyon seviyeleri kritik noktaya ulaştığında zararlı etki göstermektedir. Bakır metali insanların karaciğer ve böbrekleri dahil birçok dokusunda patolojik sorunlara neden olmaktadır. Bakır bileşikleri fazla miktarda vücuda alındığında böbrekte birikmeye başlar ve ciddi hasarlar verebilir. Sinir sistemi ve kalp damar hastalıklarına da neden olduğu yapılan çalışmalar sonucunda görölmüştür [20].

Cıva vücuda alındığı zaman ciddi epidemik zehirlenmelere sebep olmaktadır. Cıva zehirlenmesi sonucu insanlarda tükürük artışı, ishal ve nörolojik bozulmalar meydana gelmektedir. Metalik cıva canlı vücuduna alındığında hızla kana karışarak beyin dâhil bütün dokulara rahatlıkla ulaşır ve beyinde birikir. Aynı zamanda görmede güçlük, el ve kollarda titreme, unutkanlık gibi belirtilerde görölmektedir. Böbrek yetmezliği, karaciğerin işleyişinde bozukluk gibi birçok sağlık sorununa neden olur [20].

1.4 Balıklarda Yaş Yakma

İçinde bulunduğumuz dönemde ağır metal tespitinde çoğunlukla spektroskopik, voltametrik veya kromatografik yöntemler kullanılmaktadır. Balıklarda ve canlı organizmalarda ağır metal saptanması için çeşitli biyosensörlerin kullanıldığı

aplikasyonlar vardır. Daha önce yapılmış bir çalışmada Kastamonu dolaylarında yakalanmış balıklardaki ağır metalleri tespit etmek için balıklardan alınan örneklerle yaş yakma işlemi uygulandıktan sonra ICP-OES spektrofotometresi kullanmışlardır [21]. Farklı bir diğer çalışmada Pakistan kıyılarından alınan balık numunelerinin böbrek, kas ve solungaç dokularına yaş yakma yöntemi uygulanmışlardır. Uygulama neticesinde numunelerin (Cd), (Pb), ve (Cr) gibi ağır metallerin tayin edilmesi için atomik absorpsiyon spektrofotometresi tekniğinden faydalanmışlardır [22]. Meucci ve ark. Atlantik denizinden yakalanan balıkların kas dokularını hidroklorik asitte ve hidrojen peroksit muamele ettikten sonra cıva, kurşun ve bakır tespit etmede elektrokimyasal sensörden faydalanmıştır. Uygulamada ekran baskılı grafit elektrodu cıva ile muamele etmişler ve altın temelli elektrotlarla analiz gerçekleştirmişlerdir [23]. Sherigara ve ark., cıva ile muamele edilmiş karbon pasta elektrotlarını çalışma elektrodu olarak, Ag/AgCl elektrodunu referans elektrodu olarak kullanarak elektrokimyasal ve fiziksel yöntemle, Cu, Cd ve Pb metallerinin tespitini yapmışlardır. Diferansiyel puls anodik sıyırma ve Anodik sıyırma voltametriyi yöntemlerinden yararlanılmıştır. Düşük derişimler de ağır metallerin tayini sonucu alınabilmiştir [24]. Giacomino ve ark. balıklarda gerçekleştirdiği çalışmada cıva bulgusu için altın nanoparçacık ve katı altın elektrotlardan oluşan camsı karbon elektrotlar kullanmışlardır. Bu uygulamada anodik sıyırma voltametriyi (ASV) yönteminden yararlanılmıştır. Çalışmanın doğruluk derecesi için AAS'den faydalanmışlardır[25].

1.5 Elektroanalitik Kimya

Elektroanalitik kimya; çözeltinin elektrokimyasal bir gözde elektriksel özelliklerinin test edilmesi ve test edilen bu özelliklerinden faydalanarak maddelerin kalitatif ve kantitatif analizine dayalı yöntemleri içeren, Analitik Kimya biliminin önemli bir koludur. Maddelerin elektrokimyasal özelliklerini analiz amacıyla kullanılan yöntemlere de elektroanalitik yöntemler adı verilir [26]

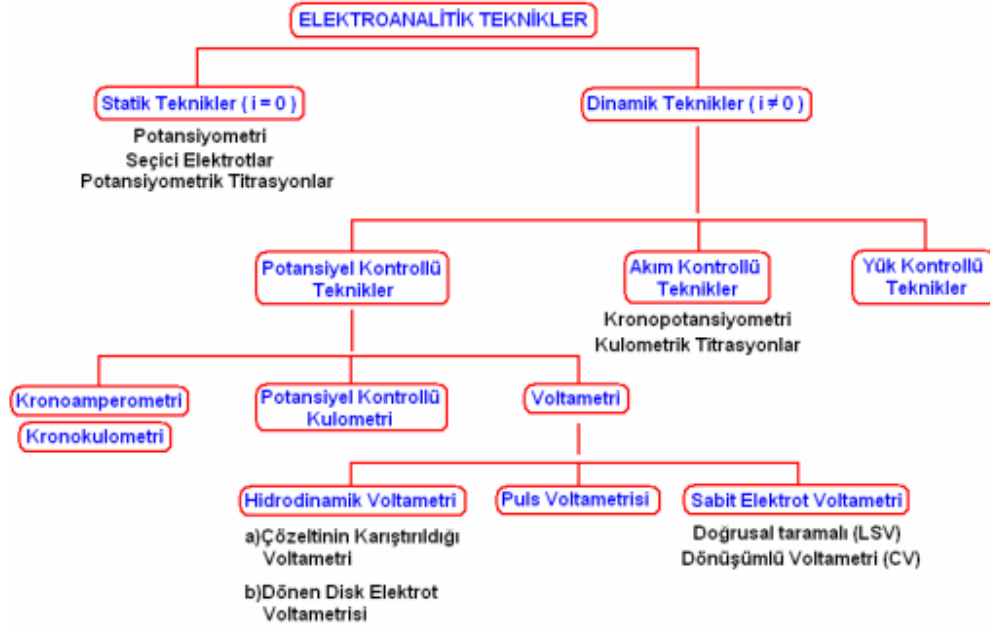
1.5.1 Elektroanalitik Yöntemler

Elektrokimyasal reaksiyonlarda, yükseltgenme (elektron verme)– indirgenme(elektron alma) tepkimeleri ile sözü edilen ve elektrokimyasal hücre adı

verilen bir gözdemeydana gelir. Bir elektrokimyasal reaksiyonun ortaya çıkması için, kontrolü yapılacak maddeyi içeren ve elektriksel iletkenliği sağlayabilecek bir solüsyon (tampon çözelti), malzemenin kimyasal dönüştürmeye maruz bırakıldığı elektrot sistemi (çoğunlukla üçlü elektrot sistemi) ve elektrotların birbiri ile iletimi sağlayan bir çevirim sistemi (transdüser) lüzumludur. Hücre içerisinde bulunan iyon ve molekül halindeki malzeme katot elektrodunda elektron alarak indirgenmektedir. İndirgeme ile ilerleyen anot elektrodunda ise iyon veya molekül halindeki madde ya da elektrot malzemesinin kendisi elektron vererek yükseltgenir. Bununla birlikte elektrotlarda reaksiyona giren her bir tür, dış devrede belli sayıda elektronun tranferine sebep olur. Elektrik akımı elektrik yükünün iletimi sebebiyle ortaya çıkar. Hücre içerisinde yer alan elektrotları birbirine bağlanmasını sağlayan devre içerisinde yer alan metalkısımlarda elektrik yükü elektronlar vasıtasıyla taşınır. Metal elementelerde yer alan değerlik elektronları, bir örgü düzeni içinde bulunan ve belli bir frekans ile titreşen metal iyonları arasında serbest şekilde hareket ederek yükü iletirler. Solüsyon ise elektrik yükünün iletilmesi bu bölgede yer alan iyonlar tarafından gerçekleştirilmektedir. Metal elementlerdeki elektronların elektrik yükünü iletmesi neticesinde iyonik iletkenlik oluşur.

Elektroanalitik yöntemlerin artıları;

- Hızlı yapilebilme ve tekrar edilebilirlikleri oranları yüksektir,
- Analizlerde faydalanılan cihazlar diğer yöntemlerde faydalanılan cihazlara göre daha uygun fiyatlıdır,
- Analiz edilmek istenilen malzemenin çok düşük tayin sınırlarına kadar ilerlenebilir,
- Ortaya çıkan elektrokimyasal ölçme sonuçları çoğu kez bir elementin ya da moleküle özel bir yükseltgenme basamağı için spesifiktirler [27]



Şekil 1.1: Elektroanalitik tekniklerin sınıflandırılması

1.5.2 Voltametri Yöntemi

Voltametri, tam konsantrasyon polarizasyonu koşulları altında bir elektrokimyasal hücrede gelişen bir akımın ölçülmesi prensibine dayanır. Sıfıra yaklaşım ve polarizasyonun olmadığı yerde akımlarda potansiyometrik ölçümler yapılır. Ayrıca, voltametride minimum analit tüketimi gerçekleşir, oysa elektrogravimetride ve kulometride esasen analitin tamamı başka bir duruma dönüştürülür. Voltametri, sulu ortamda inorganik iyonları ve bazı organik türleri belirlemek için kimyagerler tarafından yaygın olarak kullanılmaktadır.

Voltametri terimi, voltamperometriden türetilmiştir, ve akımın bir fonksiyonu olarak ölçüldüğünü ifade eder örneğin elektrot potansiyeli. Herhangi bir elektrokimyasal hücrenin iki elektrota ihtiyacı var, eğer her iki elektrotta akan akımın büyüklüğünü belirleseydi kesin analitik bilgiyi belirlemek imkansız olurdu. Bu nedenle, bir elektrot, diğer elektrottan çok daha küçük yapılır. Böylece akan akım bu bir tek elektrot tarafından sınırlandırılır. Bu elektrot, çalışma elektrotu olarak adlandırılır ve diğer (daha büyük) elektrot, yardımcı elektrot olarak adlandırılır. Bir elektrokimyasal

hücrenin sadece iki elektrotta ihtiyacı olmasına rağmen çalıştırmak için, üçüncü bir elektrot tanıtmak çok faydalıdır: bu üçüncü elektrot bir referans elektrottur, yani bir bilinen ve sabit bir elektrot potansiyeline sahip elektrot. Hiçbir akım bu elektrotu geçmemelidir akım bu durumda potansiyeli değiştirir ve muhtemelen bu elektrotta zarar verir. Referans elektrot çalışma elektrotunun potansiyelini kontrol etmek için bu iki elektrot arasındaki voltajı ölçer. Çalışma elektrotlu bir hücre (WE), bir yardımcı elektrot (AE) ve bir referans elektrot (RE) üç elektrotlu hücre olarak adlandırılır. Çalışma elektrotunun Elektrolit/elektrot arayüzündeki potansiyel fark bir potansiyostat yardımıyla kontrol edilir. Çoğu potansiyostatlar, yardımcı ve çalışma elektrotları arasında bu voltajı uygulayan bir geri besleme devresi kullanır, çalışma elektrodunun potansiyeli değerle tam olarak eşleşir olmalıdır. Genellikle çalışma elektrodu topraklanır, böylece potansiyeli kontrol edilir. Voltametri, günümüzde tüm akımın elektrotun bir fonksiyonu olarak ölçüldüğü potansiyel teknikler için genel bir terimdir. Gelişiminin başında POLAROGRAFİ adı verilen voltametrik tekniğin mucidi Jaroslav vardı Heyrovsky' vardır [28,29].

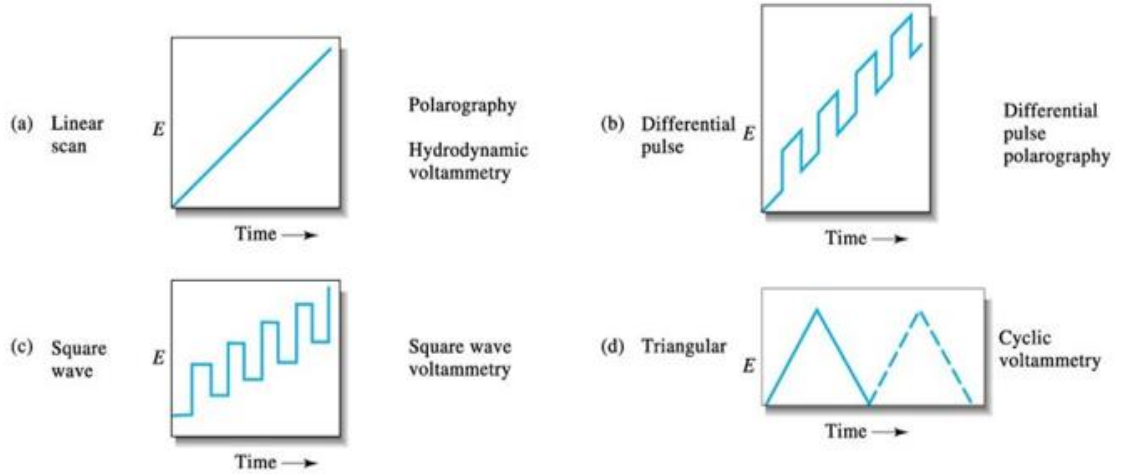
1.5.3 Voltametrinde Kullanılan Önemli Teknikler

Voltametrinde kontrolümüz altında üç önemli deneysel parametre vardır: çalışan elektrotta uyguladığımız potansiyeli nasıl değiştirdiğimiz, akımı ne zaman ölçmeyi seçtiğimiz ve çözeltiyi karıştırmayı seçip seçmememiz. Şaşırtıcı olmayan bir şekilde, birçok farklı voltametrik teknik vardır. Bu bölümde birkaç önemli örneği ele alıyoruz.

Geliştirilecek ilk önemli voltametrik teknik olan polarografi, çalışma elektrotu olarak damlayan cıva elektrotunu kullanır. Elektrokimyasal hücreden akan akım, doğrusal bir potansiyel rampası uygulanırken ölçülür.

Polarografi, metal iyonlarının ve inorganik anyonların analizi için yaygın olarak kullanılır. Polarografiyi karboniller, karboksilik asitler ve karbon-karbon çift bağları gibi kolayca indirgenbilir veya oksitlenebilir fonksiyonel gruplara sahip organik bileşikler için de kullanabiliriz.

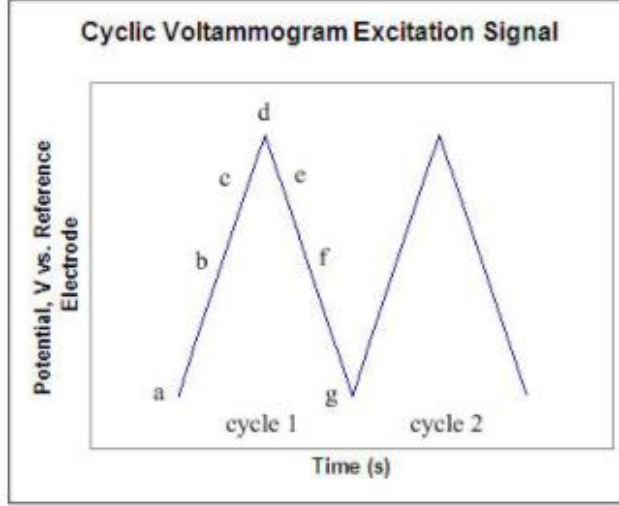
Voltametri tekniğinde doğrusal taramalı, kare dalga, diferansiyel puls, üçgen dalga olmak üzere 4 farklı tip uyarma sinyali Şekil 1.2'de verilmiştir.



Şekil 1.2: Voltamtride kullanılan potansiyele karşı zaman uyarı sinyalleri

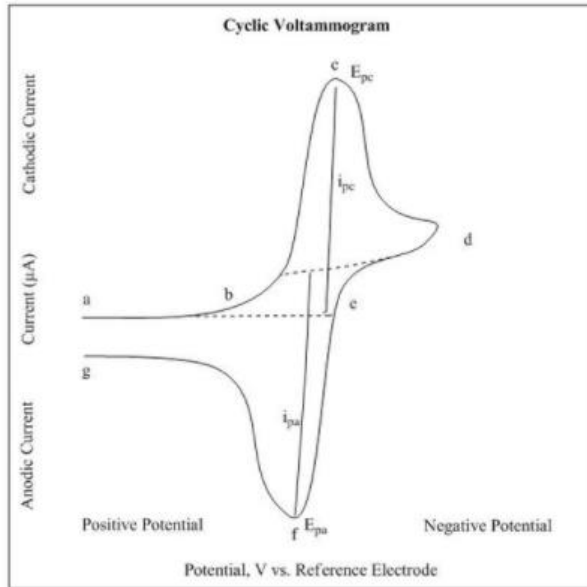
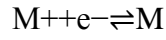
1.5.3.1 Dönüşümlü (üçgen) Voltametri (CV)

Döngüsel Voltametri (CV), voltajın Nernst denklemi tarafından tahmin edilenden fazla olduğu koşullar altında bir elektrokimyasal hücrede gelişen akımı ölçen elektrokimyasal bir tekniktir. CV, çalışan bir elektrotun potansiyelini döndürerek ve ortaya çıkan akımı ölçerek gerçekleştirilir. Çalışma elektrodunun potansiyeli, sabit bir potansiyeli koruyan bir referans elektroda karşı ölçülür ve elde edilen uygulanan potansiyel, Şekil 1.3' deki gibi bir uyarma sinyali üretir. Şekil 1.3'deki ileriye doğru taramada, potansiyel ilk önce daha büyük bir potansiyelden (a) başlayıp daha düşük bir potansiyelde (d) biten negatif olarak tarar. Potansiyel ekstrema (d) anahtarlama potansiyeli olarak adlandırılır ve voltajın bir analitin oksidasyonuna veya indirgenmesine neden olacak kadar yeterli olduğu noktadır. Ters tarama (d)'den (g)'ye doğru gerçekleşir ve potansiyelin pozitif olarak tarandığı yerdir. Şekil 1.3, (a)'dan (d)'ye meydana gelen tipik bir indirgemeyi ve (d)'den (g)'ye meydana gelen oksidasyonu göstermektedir. Bazı analitlerin önce oksidasyona uğradığını, bu durumda potansiyelin ilk önce pozitif olarak taranacağını not etmek önemlidir. Bu döngü tekrarlanabilir ve tarama hızı değiştirilebilir. Uyarma sinyalinin eğimi, kullanılan tarama hızını verir [30].



Şekil 1.3: CV uyarma sinyali

Potansiyel taramalar sırasında çalışma elektrodundaki akım ölçülerek döngüsel bir voltamogram elde edilir. Şekil 1.4, tek bir elektron indirgeme ve oksidasyondan kaynaklanan döngüsel bir voltamogramı göstermektedir. Aşağıdaki tersinir reaksiyonu göz önünde bulundurulur:



Şekil 1.4: Tek elektronlu oksidasyon-redüksiyonun voltamogramı

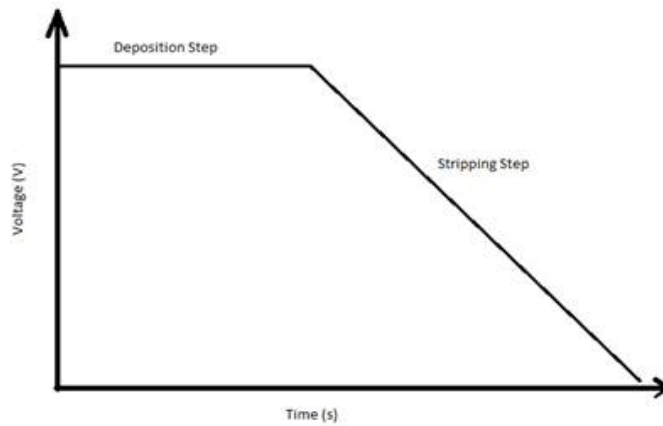
Şekil 1.4' de, indirgeme işlemi (a) başlangıç potansiyelinden (d) anahtarlama potansiyeline kadar gerçekleşir. Bu bölgede potansiyel negatif taranarak bir azalmaya neden olur. Ortaya çıkan akıma katodik akım (i_{pc}) denir. Karşılık gelen tepe potansiyeli (c)'de meydana gelir ve katodik tepe potansiyeli (E_{pc}) olarak adlandırılır. Elektrot yüzeyindeki tüm substratlar azaltıldığında E_{pc} 'ye ulaşılır. Anahtarlama potansiyeline (d) ulaşıldıktan sonra, potansiyel (d)'den (g)'ye pozitif olarak taranır. Bu anodik akım (i_{pa}) ile sonuçlanır ve oksidasyon meydana gelir. (f)'deki tepe potansiyeli, anodik tepe potansiyeli (E_{pa}) olarak adlandırılır ve elektrot yüzeyindeki tüm substratlar oksitlendiğinde ulaşılır [31].

1.5.3.2 Sıyırma Voltametri (SV)

Sıyırma voltametri teknikleri, yaygın olarak kullanılan elektroanalitik tekniklerin herhangi birinin en düşük tespit limitine sahiptir. Numune hazırlama minimaldir ve hassasiyet ve seçicilik mükemmeldir. En sık kullanılan üç varyasyon, katodik sıyırma voltametri (CSV), anodik sıyırma voltametri (ASV), ve adsorptif sıyırma voltametrisidir (AdSV). İlk olarak, numune çözeltisindeki analit türleri, çalışan bir elektrot üzerinde veya içinde konsantre edilir. Elde edilebilecek istisnai hassasiyetle sonuçlanan bu çok önemli ön-konsantrasyon adımıdır. İkinci aşamada, önceden konsantre edilmiş analit ölçülür veya potansiyel bir taramanın uygulanmasıyla elektrottan sıyırılır. Sıyırma adımı için herhangi bir sayıda potansiyel dalga formu kullanılabilir (yani, diferansiyel darbe, kare dalga, doğrusal tarama veya merdiven). En yaygın olanı, şarj akımına karşı ayırım nedeniyle diferansiyel darbe ve kare dalgadır. Bununla birlikte, kare dalga, diferansiyel darbeye göre daha hızlı tarama hızı ve artan hassasiyet gibi ek avantajlara sahiptir. Voltametriyi sıyırmak için tercih edilen elektrot genellikle cıvadır. İlgilenilen türler ya anodik sıyırma voltametrisinde olduğu gibi amalgamlar oluşturarak cıvaya indirgenebilir ya da katodik sıyırma voltametrisinde olduğu gibi çözünmeyen bir cıva tuzu tabakası oluşturmak üzere adsorbe edilebilir. Sıyırma voltametri, eser miktar analizi için çok hassas bir tekniktir. Herhangi bir nicel teknikte olduğu gibi, tekrarlanabilir sonuçların elde edilebilmesi için özen gösterilmelidir. Sabit tutulması gereken önemli koşullar arasında elektrot yüzeyi, karıştırma hızı ve biriktirme süresi yer alır. Kontaminasyonu en aza indirmek için her türlü çaba gösterilmelidir.

ASV, eser metal tayini için en yaygın şekilde kullanılır ve trilyon başına parça aralığında pratik bir saptama sınırına sahiptir. Bu düşük tespit limiti, nispeten ucuz enstrümantasyon kullanarak aynı anda dört ila altı eser metali belirleme yeteneği ile birleştirilmiştir. Numune çözeltisindeki metal iyonları, belirli bir süre boyunca yeterince negatif potansiyel uygulanarak bir cıva elektrotunda konsantre edilir. Bu birleştirilmiş metaller daha sonra uygulanan potansiyel pozitif yönde taranarak cıvadandan sıyrılır (oksidlenir). Ortaya çıkan tepe akımları, i_p , her metale özgü tepe potansiyelinin (E_p) konumu ile numune çözeltisindeki her metalin konsantrasyonu ile orantılıdır. Cıva kullanımı, ASV'nin çalışma aralığını 0 ile -1.2 V arasında sınırlar. Kare dalga voltametri gibi darbe teknikleri ile birlikte ince Hg filmlerin veya Hg mikroelektrotların kullanılması, ASV'nin tespit sınırlarını önemli ölçüde azaltabilir.

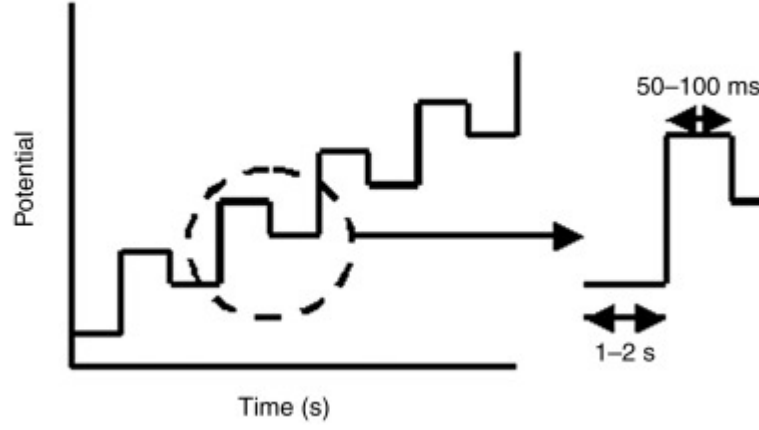
CSV, cıva iyonu ile çözünmeyen tuzlar oluşturan maddeleri belirlemek için kullanılabilir. Bu tür maddeleri içeren bir çözeltide bir cıva elektrotuna nispeten pozitif bir potansiyelin uygulanması, cıva elektrotunun yüzeyinde çözünmeyen bir film oluşmasına neden olur. Bu yöntem, halojenürler, selenid ve sülfür gibi inorganik anyonları ve MoO_4^{2-} ve VO_3^- gibi oksianyonları belirlemek için kullanılmıştır. Ek olarak, nükleik asit bazları gibi birçok organik bileşik de çözünmeyen cıva tuzları oluşturur ve CSV ile belirlenebilir. Sıyırma teknikleri için potansiyel-zaman grafiği Şekil 1.5'de verilmiştir [32].



Şekil 1.5: Sıyırma yöntemlerinde potansiyel-zaman grafiği

1.5.3.3 Diferansiyel Puls Voltametri (DPV)

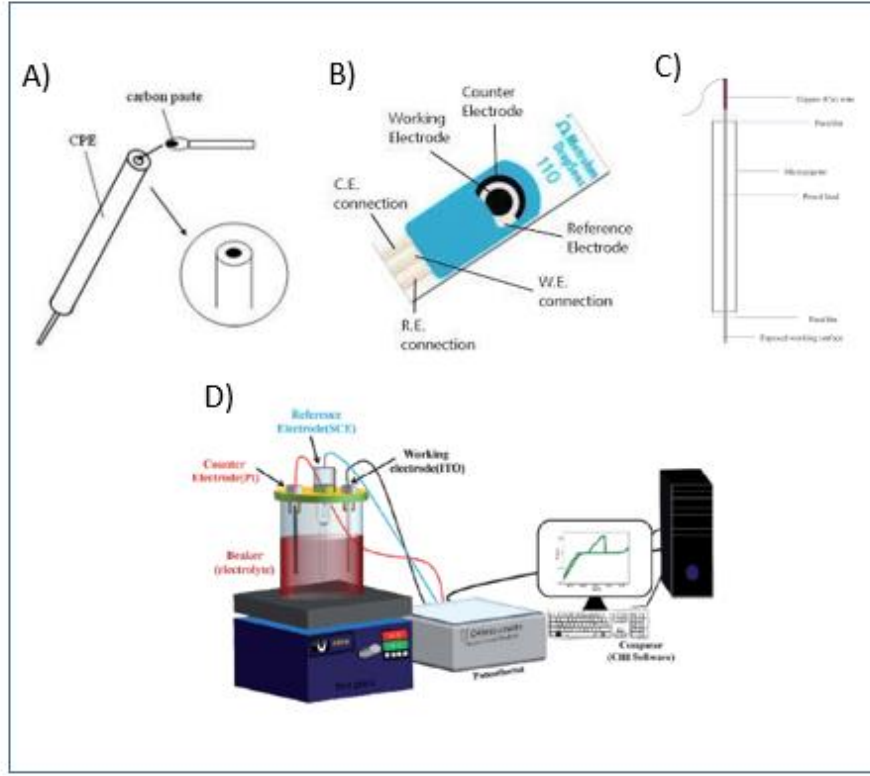
Diferansiyel puls voltametri (DPV), doğrusal bir rampa potansiyeli üzerinde genlik potansiyeli darbelerinin uygulanmasını içeren bir tekniktir. DPV'de, faradaik reaksiyonun olmadığı ve elektrota uygulandığı bir baz potansiyel değeri seçilir. Temel potansiyel, eşit artışlarla darbeler arasında artırılır. Darbe uygulamasından hemen önce ve darbe sonunda akım ölçülür ve aralarındaki fark kaydedilir. Şekil 1.6, DPV'deki darbe şeklini gösterir [33].



Şekil 1.6: Diferansiyel darbe voltametri (DPV) tekniğinde darbe uygulamasının şeması

1.5.4 Voltametrik Sistemlerde Kullanılan Elektrotlar

Voltametrik sistemler ya üç elektrottan ya da iki elektrottan oluşur. Çalışma elektrotu, yardımcı elektrot ve referans elektrot, Şekil 1.7'de gösterildiği gibi hedef analitin saptanması aşamasında birlikte çalışır [34].



Şekil 1.7: Voltametrik yöntemlerde hücre A) Karbon pasta elektrot (CPE), B) Perde baskılı karbon(grafit) elektrot (SPCE), C)Kalem grafit elektrot (PGE). D) 3'lü Elektrot sistemi

1.6 Yüzey Analiz Teknikleri

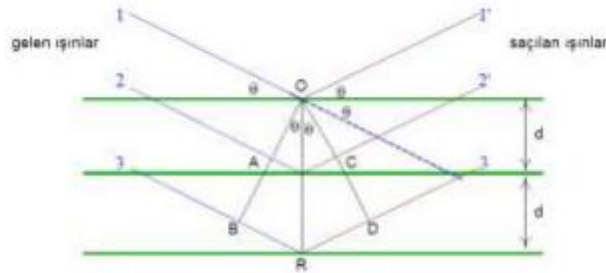
1.6.1 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrumu (FTIR)

Bir bileşiğin absorpsiyon spektrumunu belirleyen alete spektrofotometre denir. Fourier dönüşüm spektrofotometresi, geleneksel spektrofotometreye kıyasla IR spektrumunu çok daha hızlı sağlar. Cihaz, parlayan bir siyah cisim kaynağından yayılan bir IR ışınımı üretir. Daha sonra ışın, spektral kodlamanın gerçekleştiği interferometreye geçer. Farklı yol uzunluklarına sahip kırılganların interferometrede yeniden birleştirilmesi, interferogram adı verilen yapıcı ve yıkıcı girişim oluşturur. Işın numune bölmesine girer ve numune, interferogramdan numunenin benzersiz özelliği olan belirli enerji frekanslarını emer. Ardından dedektör, tüm frekanslar için aynı anda enerjiye karşı özel interferogram sinyalini ölçer. Bu arada, cihazın

çalışması için bir referans (arka plan) sağlamak üzere bir ışın üst üste bindirilir. Son olarak, istenen spektrum, interferogramın Fourier dönüşüm bilgisayar yazılımı ile numune spektrumundan arka plan spektrumunu otomatik olarak çıkarmasından sonra elde edilir [35].

1.6.2 X Işınları Kırınımı (XRD)

XRD, ultraviyole ışınlarla kıyasla daha güçlü, gama ışınından kıyasla enerjisi daha zayıf, X ışınları vasıtası ile gerçekleştirilen analiz tekniğidir. Cihaza yerleştirilen malzeme yüzeyine gönderilen X-ışınları numunenin kristal yapısına göre farklı şiddette ve farklı açılarda kırılır. Dalga verileri ve kırılma şekilleri toplanarak analiz yapılır [36]. X-ışını kırınımı; incelenen polikristallerin yapısının belirlenmesinde, kristal yapıların yapısal bozukluklarının ve tanımlanamayan malzemelerin saptanmasında (örgü sabiti geometrileri) kullanılmaktadır [37]. Belli bir kristale odaklanan Xışınları kristalin sahip olduğu düzenli yapısı tarafından saçılır; saçılım yapan ışınlar birbirinin şiddetini azaltıcı veya artırıcı etkiler yaparlar. Bu durumun sebebi saçıcı merkezler arasındaki mesafenin ışının dalga boyu benzer büyüklükte olmasıdır; bu vaziyet ışının kırılmasıyla neticelenir [38].



Şekil 1.8: X-ışınlarının kristal tarafından kırılma şekli

Katmanlı nanokompozit meteryallerde, polimerin katmanlar arasına nüfus etmesi nedeni ile katmanlar arası açılmadaki değişim nanometre seviyesindedir ve bu açılmanın büyüklüğü XRD ölçümleri ile saptanır. katmanları deforme olmuş nanokompozitlerde ise tabakalar arasına giren polimer nedeni ile katmanlar tamamen açılarak dağılır, bu değişim de XRD spektrumlarında görülen katman ile ilgili kristal

örgü piklerinin yok olması ile saptanır [39]. Polimer zincirleri dizili bozulduğunda genellikle katmanlar arası uzaklık arttığından kırılan ışınların değerleri azalır. Belirli bir seviye göstermeyen kil katmanların rastgele dağıldığı nanokompozit yapılarda, katmanlar arasında çok büyük holler olduğundan XRD diyagramlarında hiçbir kırınım piki gözlenmez. XRD analizinde arasındaki mesafe Bragg denklemi ile hesaplanır [40].

Bragg denklemi:

$$n \lambda = 2d \sin \theta$$

d : Düzlemler arası mesafe

θ : Gelen X-ışını ile kristal düzlemi arasındaki açı

n : Dalga boyu sayısı

λ : Dalga boyu

1.6.3 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

Taramalı elektron mikroskobu (SEM), malzemelerin mikro yapısını ve morfolojisini görüntülemek için yaygın olarak kullanılan yöntemlerden biridir. SEM'de, malzemeye düşük enerjili bir elektron ışını yayılır ve numunenin yüzeyini tarar. Işın malzemeye ulaştığında ve malzemeye girdiğinde, numune yüzeyinden veya yakınında fotonların ve elektronların emisyonuna yol açan birkaç farklı etkileşim meydana gelir. Bir görüntü oluşturmak için, elektron-örnek etkileşimlerinden üretilen alıcı sinyaller, kullanılan SEM moduna bağlı olarak farklı dedektör tipleri ile algılanır [41].

1.6.4 İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometre (ICP MS)

İndüktif Eşleşmiş Plazma (ICP) Kütle Spektrometrisi (MS), dünya, çevre, yaşam ve adli bilimler gibi birçok farklı araştırma alanında ve gıda, malzeme, kimya, yarı iletken ve nükleer endüstrilerde rutin olarak kullanılmaktadır. Plazmadaki yüksek iyon yoğunluğu ve yüksek sıcaklık, çeşitli özel cihazlar tarafından sunulan her tür numune ve matris için ideal bir atomizer ve element iyonlaştırıcı sağlar. Yüksek

hassasiyet (ppt-ppq), bağıl tuz toleransı, bileşikten bağımsız element tepkisi ve en yüksek nicelme doğruluğu gibi olağanüstü özellikler, eser elementleri verimli bir şekilde tespit etme, tanımlama ve güvenilir bir şekilde ölçmede ICP MS'nin rakipsiz performansına yol açar. İlgili referans bileşiklerinin artan mevcudiyeti ve yüksek ayırma seçiciliği, ICP MS'nin moleküler tanımlama kapasitesini türe özgü ayırma tekniklerine genişletir. Moleküler iyon kaynağı MS, bilinmeyen moleküllerin yapısını belirlemede uzmanlaşmış olsa da, ICP MS, ilgili ve bilinmeyen bileşiklerin hedef element odaklı keşifleri için verimli ve oldukça hassas bir araçtır [42].

Bölüm 2

2. Literatür Araştırması

Son yıllarda ulaşılabilir gıda ürünlerinin güvenilirliği açısından araştırmalar giderek artmaktadır. Ulaşılabilirliği ve içeriği bakımından besin zincirinin üst basamaklarında yeralan balığın önemi artmaktadır. Ülkemizde gerek üretimi ve gerekse yakalanması açısından ekonomik önem taşıyan balık türleri yer almaktadır. Fakat son yıllarda fabrikalaşma ve sanayileşme ile birlikte deniz ve akarsu kirliliği artmaktadır. Bununla beraber kirlilikten kaynaklı balıklarda ağır metal birikimi gözlenmektedir. Balıklarda ve su canlılarında solunğuç, kas dokusu ve iç organlarda ağır metal birikimleri tespit edilmektedir. Balıklarda ağır metal seviye ölçümleri bilim insanları tarafından yoğun olarak çalışılmaktadır. Bunun yanında iki boyutlu (2D) nanomalzemeler üzerine yapılan çalışmalar gün geçtikçe artmaktadır. İki boyutlu nanomalzemelerin farklı disiplinlerde uygulanabilirlik imkanı sağlamasından dolayı bilimsel çalışmaların yoğunlaşmasını sağlamıştır. Aynı zamanda tespitlerin hızlanması ve ilerleyen teknolojik gelişmelerle birlikte arduino gibi açık kaynak bu alanlarda sensör olarak kullanılmasına olanak sağlamaktadır. Tez çalışmasının amacı, ticari öneme sahip olan balıklarda ağır metallerin elektrokimyasal tayini için grafen oksit esaslı bir elektrot malzemesi geliştirerek biyosensör uygulamaları için geliştirilen elektrotun tayin alt limitinde önemli bir iyileşme sağlamak ve arduino gibi açık kaynaklı cihazlardan yararlanmaktır.

Literatür çalışmaları incelendiğinde üç elektrodunda yüzeyi elektrokimyasal yöntem ile Grafen oksit modifiye edilerek ve bunların arduino vasıtasıyla ağır metal tayininin yapıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır.

N. S. Resma ve ark. 2020 yılında yaptıkları çalışmada Bangladeşin Güney bölgesi yaşayanlar tarafından çoklukla tüketilen popüler çiftlik balıklarındaki esansiyel ve ağır metallerin (Zn, Cu, As, Cr ve Cd) değerleri incelenmiş. Chittagong bölgesinde

yeralan Fatickchari, Hathazari, Patiya ve Raozan Upazila'da isimli balık çiftliklerinden üç farklı balık türü (*T. nilotica*, *P. pangasius* ve *L. rohita*) toplanmıştır. Alınan örnekler Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrometresi (FAAS) ve Grafit Fırınlı Atomik Absorpsiyon Spektrometresi (GFAAS) ile incelenmiştir. Balıkların kas dokularında metallerin konsantrasyon sırası $Zn > Cu > Cr > As > Cd$ ve $16.205 \pm 0.303 > 0.874 \pm 0.037 > 0.590 \pm 0.05 > 0.042 \pm 0,003 > 0,004 \pm 0,00$ (mg/kg dw) *T. nilotica*'da, $20.324 \pm 0.697 > 1.035 \pm 0.050 > 0.577 \pm 0.074 > 0.045 \pm 0.005 > 0.006 \pm 0.000$ (mg/kg dw) *P. pangasius* ve $22.270 \pm 0.745 > 0.953 \pm 0.525 > 0.623 \pm 0.060 > 0.035 \pm 0,002 > 0,004 \pm 0,000$ (mg/kg dw) *L. rohita*'da saptanmıştır. Tespit edilen veriler, WHO/FAO tarafından önerilen izin verilen sınırlar içindedir. Çalışmada kullanılan balıkların tüketimini ilişkin insan sağlığına olası metal toksisitesi, bir dizi tehlike parametresi aracılığıyla tahmin edilmiştir. Bu çalışmada toksik olan ağır metallerin biyolojik olarak bozunmazlıkları ve balık dokusuna nüfus edeceği göz önüne alındığında, balık yemi olarak ek taviye olarak kullanılan metallerin azaltılması sağlanması ve balıkların periyodik gözlenmesi son tüketiciler için zaruri olmayan ağır metal toksisitesinin azaltılma olacağı önerilmiştir [43].

Meucci ve ark. 2009 yılında gerçekleştirdiği çalışmada, Atlantik denizinden yakalanan balıkların kas dokularını hidroklorik asit ve hidrojen peroksitte parçalamışlar ve daha sonra içindeki bakır, cıva, kurşun metallerini elektrokimyasal sensör ile tespit etmiştir. Burada cıva ile modifiye edilmiş ekran baskılı grafit esaslı ve altın kaplı elektrotlardan yararlanmışlardır. Geliştirilen protokolün analitik performansları araştırılmıştır. Yöntem, köpek balığı kası (DORM-2) ve midye dokuları (NIST 2977) gibi referans standart malzemelerle doğrulanmıştır. Ağır metal analizi için bu hızlı, basit, hassas ve ucuz yaklaşımın diğer gıda doku matrislerine genişletilmesi öngörülmüştür. Enstrümantasyonun basit numune ön işleme ile birlikte taşınabilirliği, bu yaklaşımı özellikle çoklu analit tespiti için, yani inceleme amaçları için çekici hale getirmiştir [23].

Bir diğer çalışmada ise Sherigara ve ark. (2007), çalışma elektrodu olarak karbon pasta elektrotları üzerinde cıva ile modifiye edilmiş balmumu emdirilmiş karbon pasta elektrot, referans elektrodu olarak Ag/AgCl elektrot kullanmışlar ve fiziksel, elektrokimyasal yöntem ile Cd, Cu ve Pb metallerinin tespit etmişlerdir. Yapılan çalışmada 1×10^{-5} ila 5×10^{-9} M geniş konsantrasyon aralığında diferansiyel puls

anodik sıyırma ve anodik sıyırma voltametri teknikleri kullanılmıştır. Düşük konsantrasyonlarda metallerin tayini gerçekleştirilmiştir. Standart çözeltiler kullanılarak geliştirilen yöntem, Fin Fish kasları ve su örneklerinde Cu(II), Pb(II) ve Cd(II) tayini için başarıyla uygulanmıştır [24].

Giacomino ve ark. (2017) ton balıklarında cıva ağır metalini altın nanoparçacık modifiye camı karbon elektrotlar (AuNPs-GCE) ve katı altın elektrotlar (SGE) kullanarak tayin etmişlerdir. İki sertifikalı malzemede ve on konserve ton balığı örneğinde cıva içeriği ölçülmüştür. Çalışmada ASV ve AAS tekniğinden faydalanmışlardır. Elektrotların performansları birbirleriyle ve soğuk buharlı atomik absorpsiyon spektroskopisi (CV-AAS) ve doğrudan cıva analizörü (DMA) olmak üzere iki spektroskopik teknikle karşılaştırılmıştır. Optimize edilmiş koşullar altında, her iki elektrokimyasal yaklaşım için, oksidatif akım, SGE ve AuNPs-GCE için sırasıyla 0,2-100 µg/l ve 0,010-100 µg/l'lik geniş dinamik aralıklarda Hg(II) iyon konsantrasyonuna doğrusal bir bağımlılık sergilemiştir. SGE ve AuNPs-GCE için saptama limiti sırasıyla 0,02 ve 0,001 µg/l olarak bulunmuştur [25].

Zhang ve ark. (2016) balık dokularında Cu(II), Cd(II), Pb(II) ve Hg(II)'nin belirlenmesinde ışık adreslenebilir potansiyometrik sensöre (LAPS) dayanan hızlı ve geniş aralıklı bir yöntem sunmuşlardır. Çalışmada hedef elemanlara özel olarak duyarlı dört LAPS yongasının entegre edilmesiyle kompakt bir LAPS modülü hazırlanmıştır. Ayrıca sertifikalı solüsyonlarda ve gerçek numunelerde ağır metal tayinleri yapılarak uygulanabilirliği araştırılmıştır. Önerilen yöntemin doğruluğu, kesinliği ve seçiciliği de ölçümlerde iyi tanımlanmıştır. Düşük maliyetli enstrümantasyon, hızlı yanıt, geniş kapsamlı karakter ve yeterli hassasiyet gibi benzersiz avantajları nedeniyle rutin analizler için umut verici bir araçtır. Ek olarak, bu yöntemdeki ön işlemler geleneksel sertifikalı yöntemlerle uyumlu olduğundan, ICP-MS gibi standart yöntemlere önemli bir ek olarak uzmanlaşmış laboratuvarlarda kullanılabileceği öngörülmüştür [44].

Siavash ve ark. 2011 yılında pelajik (*Scomberomorus commerson*, *Chirocentrus dorab*, *Sphyræna jello*, *Rachycentron conadum*, *Thunus tonggol* ve *Tenualosa ilisha*) ve demersal (*Nemioterus japonicas*, *Epinephelus*) yenilebilir kaslarındaki kadmiyum, kurşun, bakır ve çinko konsantrasyonlarını belirlemek amacıyla bir sistem geliştirmiştir. Numuneler, türev potansiyometrik sıyırma tekniği ile analiz edilmiştir;

ve sonuçlar $\mu\text{g/g}$ yaş ağırlık olarak ifade edilmiştir. Balık türlerinde elde edilen metal aralığı kadmiyum için 0,024–0,111 $\mu\text{g/g}$, kurşun için 0,057–0,471 $\mu\text{g/g}$, bakır için 0,799–4,790 $\mu\text{g/g}$ ve çinko için 3,226–11,390 $\mu\text{g/g}$ dir. Çalışma, mevsimsel değişimin numunelerdeki metal konsantrasyonunu etkilediğini ortaya koymuştur. En yüksek kadmiyum, kurşun, bakır ve çinko konsantrasyonu *Platycephalus indicus* (0,147 $\mu\text{g/g}$), *Acanthopagrus latus* (0,534 $\mu\text{g/g}$), *Psettodes erumei* (5,294 $\mu\text{g/g}$) ve *Psettodes erumei* (13,528 $\mu\text{g/g}$)'da bulunmuştur. Ayrıca, dip balık türleri pelajik türlere göre daha yüksek kadmiyum, kurşun ve çinko konsantrasyonlarına sahip olduğu ve daha düşük bakır içeriğine sahip olduğu bulunmuştur [45].

Augelli ve ark. 2007 yılında altın film elektrotları üzerinde kronopotansiyometrik sıyırma analizi kullanan balık ve karideslerde toplam cıva tayini için bir yöntem tarif etmiştir. Balık ve karides dokuları, kapalı kaplarla donatılmış bir mikrodalga fırın kullanılarak parçalanmıştır. Seyreltilmiş nitrik asit ve hidrojen peroksit kullanarak tüm örnekleri ayrıştıran bir mikrodalga ısıtma programı geliştirilmiştir. Önerilen yöntem, sertifikalı bir referans materyali analiz edilerek doğrulanmıştır ve ardından Brezilya, Saõo Paulo şehrinin yerel pazarlarından elde edilen tatlı su ve deniz suyundan elde edilen farklı balık türleri için uygulanmıştır. Brezilya mevzuatı, omnivor ve yırtıcı türler için cıva üst limiti olarak, kilogram balık başına sırasıyla 0,5 ve 1 mg/kg belirlemiştir. Mavi köpekbalığı dokuları hariç, analiz edilen tüm numuneler için cıva içeriği 0,5 mg/g'ın altında bulunmuştur. Önerilen yöntemin saptama limiti, altın elektrot üzerinde 5 dakikalık elektrodepozisyon (+300 mV - Ag/AgCl) kullanılarak 5 ng/g numune olarak hesaplanmıştır [46].

Bölüm 3

3. Materyal ve Yöntem

Bu tez çalışması kapsamında yapılan deneylerde kullanılan kimyasal malzemeler, cihazlar ve tüm deneysel basamaklar bu bölümde detaylıca anlatılmıştır.

3.1 Kimyasal Malzemeler

Deneysel olarak kullanılan kimyasal malzemeler ve formülleri Tablo 3.1’de verilmiştir.

Tablo 3.1: Kimyasal maddeler

Madde	Formülü
Grafen Oksit	C
Asetik Asit	CH ₃ COOH
Sodyum Asetat	C ₂ H ₃ NaO ₂
Deiyonize Su	H ₂ O
Kadmiyum	Cd ⁺²
Bakır	Cu ⁺²
Kurşun	Pb ⁺²
Hidrojen Peroksit	H ₂ O ₂
Nitrik Asit	HNO ₃
pH 10 Buffer	--
Sarf Malzemeler	--

3.2 Kullanılan Cihazlar

Deneylelerdeki elektrokimyasal ölçümler, CH Instruments 660E modeli kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elektrokimyasal çalışmalarda üç elektrotlu sistem kullanılmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1: Potansiyostat Cihazı

Elektrokimyasal ölçümlerde daha önce çalışmalarda yer almayan formda karşıt ve referans elektrot olarak da kalem ucu elektrodunun olduğu üç elektrotlu sistem kullanılmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2: Üçlü elektrot sistemi

Balıkların ve katı kimyasal malzemelerin tartılmasında 0,1 mg duyarlılıkta RADWAG marka AS 220.R2 model hassas terazi kullanılmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3: Hassas Terazi

Çözeltilerin, elektrot sisteminin ve balıkların balıkların temizlenme aşamasında kullanılan Tip-I deiyonize su Stakpure Omnia Tap 6marka deiyonize su cihazından elde edilmiştir (Şekil 3.4).



Şekil 3.4: Ultra saf su cihazı

Grafen, grafen oksit gibi maddelerin su içerisinde daha homojen hale dönüştürülmesi için IsoLab marka ultrasonik banyo kullanılmıştır (Şekil 3.5).



Şekil 3.5: Ultrasonik Banyo

Grafen oksitin modifiye edildiği kalem ucunun kurutulmasında ve diğer kurutma işlemleri Nüve markalı EN032 / EN055 / EN120 model etüv kullanılarak yapılmıştır (Şekil 3.6).



Şekil 3.6: Etüv cihazı

Solüsyonların ve örneklerin hazırlanmasında Thermo Finnppette model mikropipetten yararlanılmıştır (Şekil 3.7).



Şekil 3.7: Mikropipet

Grafen oksit ve kullanılan diğer çözeltilerin karıştırma işlemleri MTOPS MS300HS modeli Isıtıcıli Manyetik Karıştırıcı kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.8).



Şekil 3.8: Isıtıcılı Manyetik Karıştırıcı

Bu tez çalışmasında grafen modifiye kalem ucu elektrodunun yüzey karakterizasyonu Şekil 3.9 'de verilen FT-IR (Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrumu) Thermo Scientific Nicolet iS5 FT-IR Spektrometresi ile gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.9: FTIR analiz cihazı

Bu tez çalışmasında grafen modifiye kalem ucu elektrodunun yüzey kristal yapı analizi İzmir Katip Çelebi Üniversitesi malzeme mühendisliği laboratuvarında yer alan Bruker D2 Phaser model cihaz ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.10).



Şekil 3.10: X ışını Kırınımı (XRD) Cihazı

Bu tez çalışmasında SEM analizi Dokuz Eylül Üniversitesi, Elektronik Malzemeler Üretim ve Uygulama Merkezinde yer alan COXEM EM-30 Plus cihazı ile yapılmıştır (Şelil 3.11).



Şekil 3.11: Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

Ağır metal analizlerinde Katip elebi niversitesinde yer alan Agilent ICP-MS cihazı kullanılmıştır (şekil 3.12).



şekil 3.12: İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometre (ICP MS)

Balıklara uygulanan yaş yakma işlemi şekil 3.13’de verilen MARS6 mikrodalga cihaz ile gerçekleştirilmiştir.



şekil 3.13: Yaş yakma cihazı (MARS6)

3.3 Çözeltilerin Hazırlanması

3.3.1 Asetat Tamponunun Hazırlanması

0,57 mL 17,47 M asetik asit ve 50 mL deiyonize su karıştırılarak 0,2 M 50 mL asetik asit elde edilmiştir. Karışımın homojen hale getirilmesi için vortex kullanılmıştır.

$$M1 * V1 = M2 * V2$$

$$17,47 * x = 0,2 * 50 = 0,57 \text{ mL stok asetik asit}$$

0,82 gr sodyum asetat tartılmıştır ve üzerine 10 ml deiyonize su eklenerek 1M 10 mL sodyum asetat elde edilmiştir. ($M_w=82,03\text{g/mol}$).

$$10\text{mL}=0,01\text{L}$$

$$n=M*V= 1\text{mol/L}*0.01\text{L}=0,01\text{mol}$$

$$m=n*M_A=0.01\text{mol}*82,03\text{g/mol}=0,82\text{gram}$$

0,2 M Asetat tamponu hazırlamak için 0,2 M asetik asitten 41 mL ve 1 M sodyum asetatın 9 mL alınarak karıştırılmıştır. pH 4.4 'e ayarlanmıştır.

3.3.2 Grafen Oksitin Hazırlanma Aşaması

Grafen oksit çalışılacak hacime göre 1 mg/mL olacak şekilde tartılmıştır. %50 asetat buffer ve %50 grafen oksitte sahip 30 mL solüsyon hazırlanmıştır. 15 mg grafen oksit terazide tartıldıktan sonra 15 mL deiyonize su kullanılarak süspansiyon edilmiştir. Sonrasında 10 dakika ultrasonikatör ile dispers edilmiştir. Çözünen grafen oksitler 15 mL asetat buffer ile seyreltilerek çalışmaya uygun hale getirilmiştir.

3.4 Kalem Grafit Elektrotların Hazırlanma İşlemleri

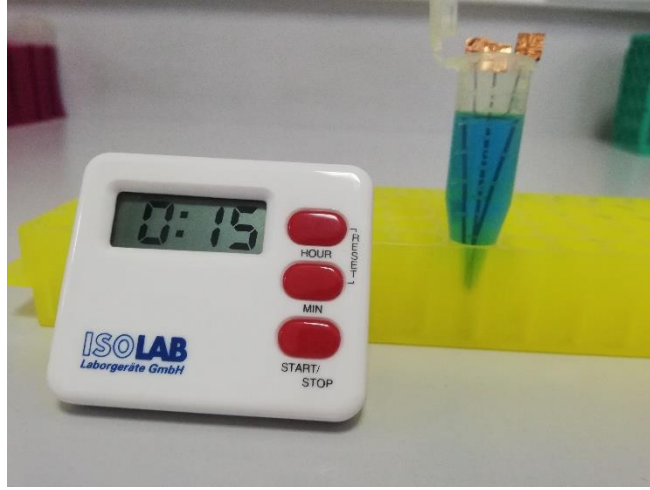
3.4.1 Grafit Elektrotun Temizlenme Aşaması

Elektrokimyasal ölçümleri gerçekleştirmeden önce elektrot yüzey temizliğinin yapılması gerekmektedir. 0.7mm 2B kalem uçları kullanılmıştır. Bu kalem uçlarının tek tarafına iletken bakır bant yapıştırılmıştır. Mikrotüplere 5 mL tampon (pH 10) eklenmiştir. PGE elektrotlar 15 dakika boyunca bazik (pH=10) ortamda bekletilmiştir. Daha sonra elektrotlar 5 dakika oda sıcaklığında kurutulmuştur. Kuruduktan sonra elektrokimyasal olarak şartlandırma yapılmıştır. Bu basamağın amacı kalem ucunda bulunan yabancı iyonların uzaklaştırılmasıdır.

3.4.2 Grafit Elektrotun Şartlandırma Aşaması

Kalem ucundaki istenmeyen iyonları tamamen uzaklaştırmak için elektrokimyasal olarak elektrotlara şartlandırma işlemi yapılmıştır. İlk olarak 0,2 M Asetat tampon çözeltisi cam hücreye eklenmiştir ve daha sonra dönüşümlü voltametri yöntemi kullanılarak şartlandırma işlemi yapılmıştır. 3 elektrota da hazırlanan kalem uçları takılmıştır. Çalışma elektrodunda şartlandırılan kalem uçları karşıt ve referans elektrot ile değiştirilmiştir (Sadece ilk adımda). Daha sonra sırası ile çalışma elektrodunda ki kalem uçları şartlandırılmıştır. Grafit elektrodun şartlandırma işlemi Şekil 3.14’de görülmektedir.

- Ön koşul parametreleri;
 - 1.4V’da 30 sn
 - 0.5V’da 60 sn
- Dönüşümlü voltametri parametreleri;
 - Başlangıç: 0.5V
 - Yüksek: 0.6V
 - Düşük: 0.5V
 - Tarama Hızı: 0.1 V/s

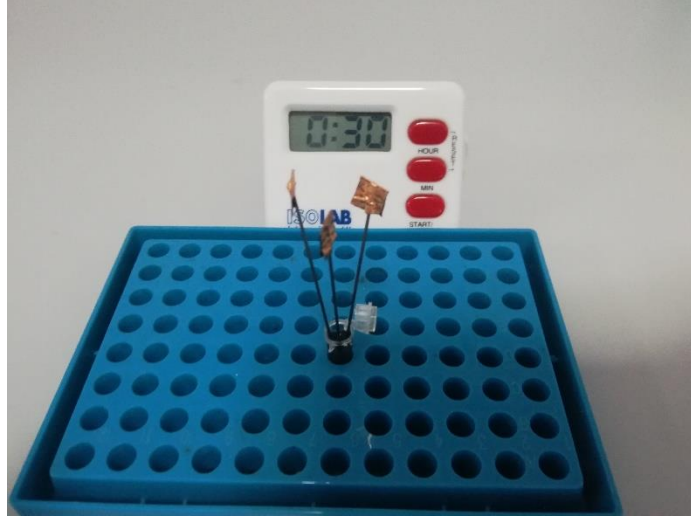


Şekil 3.14: Grafit elektrodun şartlandırılması

3.5 Kalem Ucu Grafit Elektrotların Fiziksel Ve Kimyasal Modifikasyon İşlemi

3.5.1 Fiziksel Kalem Ucu Modifikasyonu

1 mg/mL olacak şekilde katı grafen oksit deiyonize su içerisinde çözülmüştür. Daha sonra 15 dakika boyunca sonikatör ile disperse edilmiştir. Hazırlanan solüsyondan %50 0,2 M asetat tamponu ve %50 GO olacak şekilde seyreltilmiştir. 300 µL'lik ependorf tüplere 150 µL grafen, 150µL asetat buffer olacak şekilde hazırlanıp her bir ependorf içerisine 3 adet kalem ucu yerleştirilmiştir. Kalem uçları daldırma yöntemiyle 30 dakika bekletilip daha sonra 10 dakika kurumaya bırakılmıştır. Fiziksel kalem ucu modifikasyon basamağı Şekil 3.15'de verilmiştir.



Şekil 3.15: Fiziksel Kalem Ucu Modifikasyonu

3.5.2 Kimyasal Kalem Ucu Modifikasyonu

Bu çalışmada 1 mg/mL yoğunluktaki 30 mL GO solüsyonu kullanılmıştır. Asetat tamponu ile seyreltilmiş olan GO bir beher içine alınıp ısıtıcılı manyetik karıştırıcı üzerine yerleştirilmiştir. Solüsyon bir balık yardımıyla 60 rpm'de karıştırılmıştır. Potansiyostat cihazında önceki adımlarda şartlandırılmış olan kalem ucu yeşil renkteki çalışma ve kırmızı renkteki karşıt elektrotlara yerleştirilmiştir. Beyaz renkteki referans elektrota ise Ag/AgCl yerleştirilmiştir. Aşağıda verilen şekilde Setup Parametreleri cihaza tanımlanmıştır;

Başlangıç: 0V; Yüksek: -1.5V; Düşük: 0V; Final: 0V; Tarama Hızı: 0.025V

Sıyırma Segmentleri: 20; Örnek aralığı(V): 0.001; Tarama sayısı: 20

Quiet Time: 2; Hassaslık: 10^{-4}

Parametreler ayarlandıktan sonra elektrokimyasal modifikasyon işlemi başlatılmıştır. Bir kalem ucunun modifikasyonu yaklaşık 20 dakika sürmüştür. Modifikasyon işlemi sonucunda kalem uçları, 25 °C'de 10 dakika boyunca etüvde kurumaya bırakılmıştır. Kimyasal kalem ucu modifikasyon işlemi Şekil 3.16'da görülmektedir.



Şekil 3.16: Kimyasal Kalem Ucu Modifikasyonu

3.6 Elektrokimyasal Analiz İçin Stok Metallerin Hazırlanma Prosedürü

Kadmiyum (Cd^{+2}), Kurşun (Pb^{+2}) ve Bakır (Cu^{+2}) metallerinin hazırlanması, uzman gözetiminde ve laboratuvar koşullarında yapılmıştır. Metallerin hazırlanma prosedürleri aşağıda detaylıca verilmiştir.

3.6.1 Cu^{+2} Metalinin Hazırlanma İşlemi

635 μL Cu^{+2} 1g/L'lik stoktan alınarak 100 mL 100 $\mu\text{mol/L}$ Cu^{+2} elde edilmiştir. Metal örneği 1/10 oranında seyreltilerek hazırlanmıştır ve metal örneğinin tüpün çeperine yapışmasını önlemek için HNO_3 (nitrik asit) kullanılmıştır.

3.6.2 Cd^{+2} Metalinin Hazırlanma İşlemi

1124 μL Cd^{+2} 1 g/L'lik stoktan alınmış ve 100 mL 100 $\mu\text{mol/L}$ Cd^{+2} elde edilmiştir. metal örneği 1/100 oranında seyreltilmiştir.

3.6.3 Pb⁺² Metalinin Hazırlanma İşlemi

2072 µL Pb⁺² 1g/L'lik stoktan alınmış ve bu işlem sonucunda 100 mL 100 µmol/L Pb⁺² elde edilmiştir. Bu örnek 1/100 oranında seyreltildikten sonra tüpün içerisine konulmuştur. Örneğin tüpün çeperine yapışmaması için HNO₃ kullanılmıştır.

3.7 Balıklarda Yaş Yakma Yöntemi

Balıklara uygulanan yaş yakma metodu laboratuvar koşullarında gerekli önlemler alınarak uzman gözetiminde gerçekleştirilmiştir. Daha sonra analizde kullanılacak olan Levrek (*Dicentrarchuslabrax*), Barbun (*Mullusbarbatus*), Kefal (*Lizaramada*), ve Mercan (*Pagelluserythrinus*) balıklarının balık metresi ile boyu ölçülmüştür. (Şekil 3.17, 3.18, 3.19, 3.20)



Şekil 3.17: *Dicentrarchuslabrax*(Levrek) boyu



Şekil 3.18: *Mullus Barbatus* (Barbun) boyu



Şekil 3.19: Liza Ramada (Kefal) boyu



Şekil 3.20: Pagellus Erythrinus (Mercan) boyu

Daha sonra hassas terazi ile balıkların sırasıyla kütleleri alınmıştır (Şekil 3.21, 3.22, 3.23, 3.24).



Şekil 3.21: Dicentrarchus Labrax Kilo Ölçümü



Şekil 3.22: Mullus Barbatus Kilo Ölçümü



Şekil 3.23: Liza Ramada Kilo Ölçümü



Şekil 3.24: Pagellus Erythrinus Kilo Ölçümü
Ölçümü

Balıklardan ilk olarak sütür, makas ve bistüri ile 0.28 g kas örnekleri alınmış ve analitik terazide tartılmıştır. (Şekil 3.25, 3.26, 3.27, 3.28)



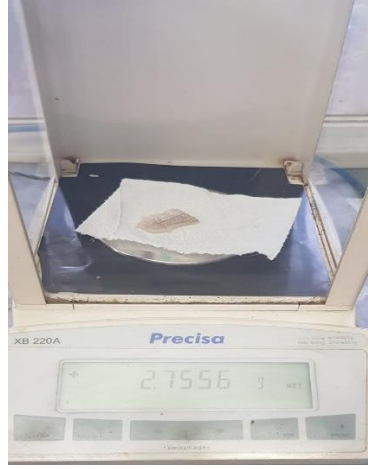
Şekil 3.25: DicentrarchusLabrax Kas Dokusu



Şekil 3.26: Mullus Barbatu s Kas Dokusu



Şekil 3.27: Liza Ramada Kas Dokusu

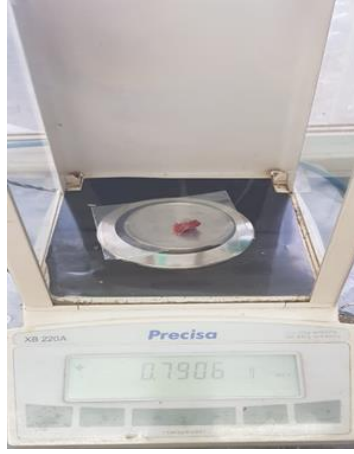


Şekil 3.28: PagellusErythrinus Kas Dokusu

Bir sonraki adımda balıklardan solungaç örnekleri alınmış, bu örnekler analitik terazide tartılmıştır. (Şekil 3.29, 3.30, 3.31, 3.32)



Şekil 3.29: DicentrarchusLabrax Solungaç Dokusu



Şekil 3.30: MullusBarbatus Solungaç Dokusu



Şekil 3.31: Liza Ramada Solungaç Dokusu



Şekil 3.32: PagellusErythrinus Solungaç Dokusu

Tartımları yapılan doku örnekleri mikrotüplere alınmıştır. Tüpler tarih ve dokulara göre adlandırılmıştır. 0.28 g doku sütur ile alındıktan sonra MARS6 cihazının yakma haznelerinden her birisine tek tek yerleştirilmiştir. Dokuların konulduğu yakma haznelerine 2:3 oranında 2 mL %65'lik HNO₃, 3 mL %35'lik H₂O₂ eklenmiştir.

Yakma haznelerinin içerisine manyetik balık konularak dönme sırasında meydana gelebilecek çökeltme engellenmiştir. Haznelerin tıpaları kapatılarak ve kapakları sıkılarak MARS6 cihazında organik ürünlere uygun olan programda 1600 W'da 3 adımda yakma işlemi uygulanmıştır.

Yakma işlemi tamamlandıktan sonra homojen yapıya sahip dokular yakma haznelerinden alınıp 50 mL hacimdeki tüplere yerleştirilmiştir.

Tablo 3.2: Yaş Yakma Metodu Aşamaları

Adımlar	Zaman(t)	Sıcaklık(°C)
1. Adım	10 dakika	140°C
2. Adım	10 dakika	160°C
3. Adım	20 dakika	175°C

3.8 Balık Dokularında Ağır metallerin Elektrokimyasal Yöntem ile Tayini

İlk aşamada CHI 660E potansiyostat cihazı kullanılarak elektrokimyasal grafen modifiye elektrotlarla ağır metal tayinini yapılmıştır. Klasik cihaz kullanılarak alınmış olan ölçüm verileri ile ağır metal sinyalinin tespit edildiği potansiyel aralıklardaki akım piklerinin belirlemesi ile konsantrasyona karşılık verdiği değerler tespit edilmiştir. Daha sonra cheapstat [47] adı verilen elektrokimyasal analiz sistemi esas alınarak dizayn edilen elektronik kart kullanılarak ölçümler tekrarlanmıştır.

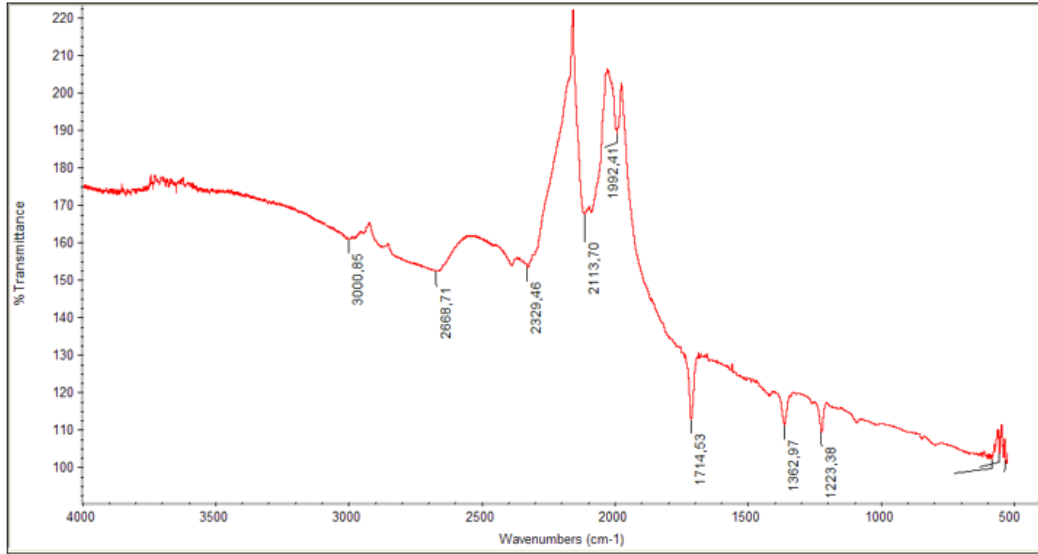
- Voltametik Analiz Parametreleri; Potansiyel Aralığı: -1.2V-0.4V, Tarama Hızı: 0.5 V/s, Biriktirme: -1.2V'da 300 sn.

Bölüm 4

4 . Deneysel Bulgular Ve Tartışma

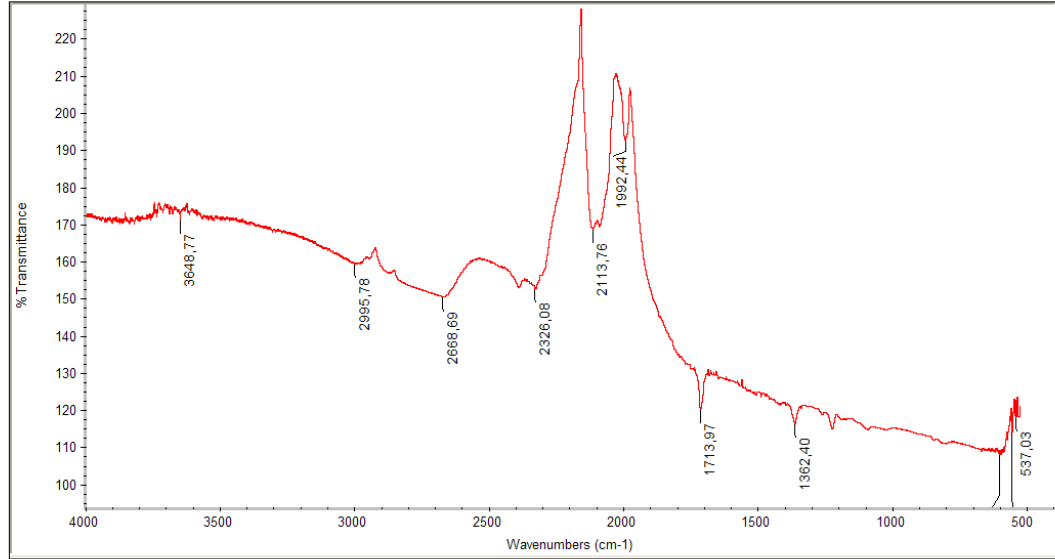
4.1 PGE Elektrotlarının FTIR Spekturumları

Şartlandırılmış kalem grafit elektrot, daldırma yöntemiyle elde edilen kalem grafit elektrot ve elektrokimyasal grafit modifiye kalem elektrotlara ait FTIR spektrumları sırasıyla Şekil 4.1, Şekil 4.2 ve Şekil 4.3’de verilmiştir. Şekil 4.1’de 3000 cm^{-1} ’deki pik O-H gerilme bandına aittir. 2668 cm^{-1} ’de ise C-H gerilme bantları yer almaktadır. Ek olarak $2329,46\text{ cm}^{-1}$, $2113,70\text{ cm}^{-1}$, $1992,41\text{ cm}^{-1}$ ve $1714,53\text{ cm}^{-1}$ ’de C=O gerilme bantları görülmektedir. Ayrıca $1362,97\text{ cm}^{-1}$, $1223,38\text{ cm}^{-1}$ ’de C-O gerilme bandı görülmektedir.



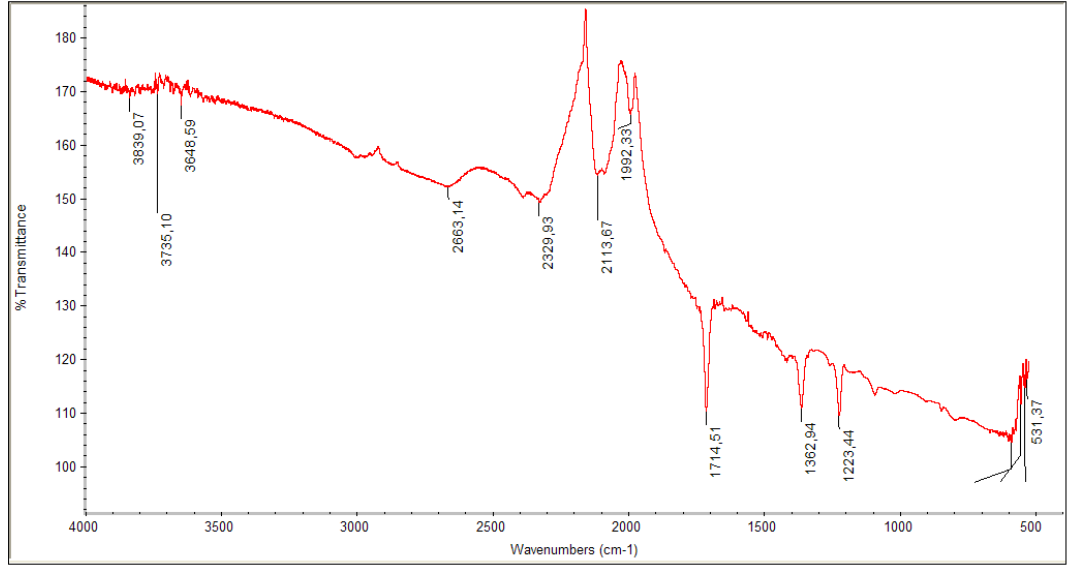
Şekil 4.1: Şartlandırılmış kalem grafit elektrot için FTIR Spekturumu

Şekil 4.2’de 2995,78 cm^{-1} ’deki yayvan bulanan pik O-H gerilme bandına aittir. Burada 2668,69 cm^{-1} ’de C-H gerilme bantları görülmektedir. 2326,08 cm^{-1} ve 2113,76 cm^{-1} , 1992,44 cm^{-1} ve 1713,97 cm^{-1} ’de C=O gerilme bantları görülmektedir. 1362,40 cm^{-1} ‘de C-O gerilme bandı görülmektedir.



Şekil 4.2: Daldırma yöntemiyle elde edilen kalem grafit elektrot FTIR Spektrumu

Şekil 4.3’de 2663,14 cm^{-1} ’de C-H gerilme bantları görülmektedir. 2329,93 cm^{-1} ve 2113,67 cm^{-1} , 1992,33 cm^{-1} ve 1714,51 cm^{-1} ’de C=O gerilme bantları görülmektedir. Ayrıca, 1362,94 cm^{-1} , 1223,44 cm^{-1} ‘de C-O gerilme bandı görülmektedir.

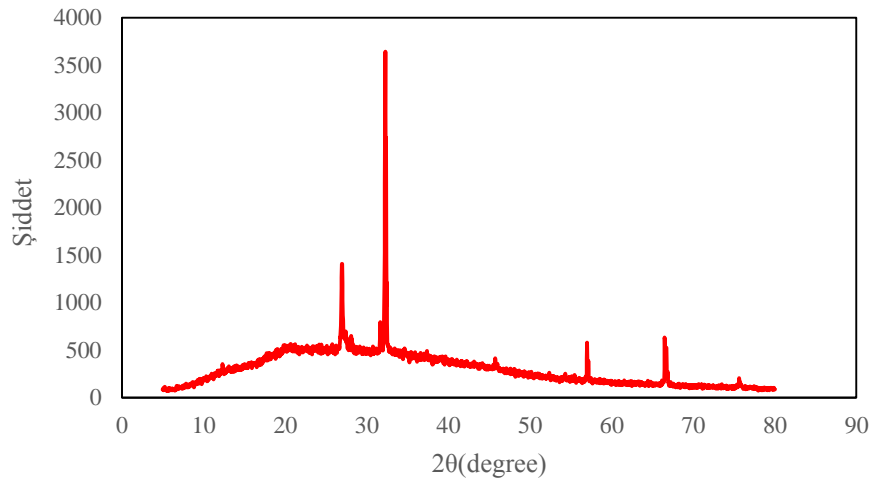


Şekil 4.3: Elektrokimyasal grafit modifiye kalem elektrot FTIR Spektrumu

4.2 PGE Elektrotlarının XRD Spektrumları

4.2.1 İşlem Görmemiş Grafit Elektrot

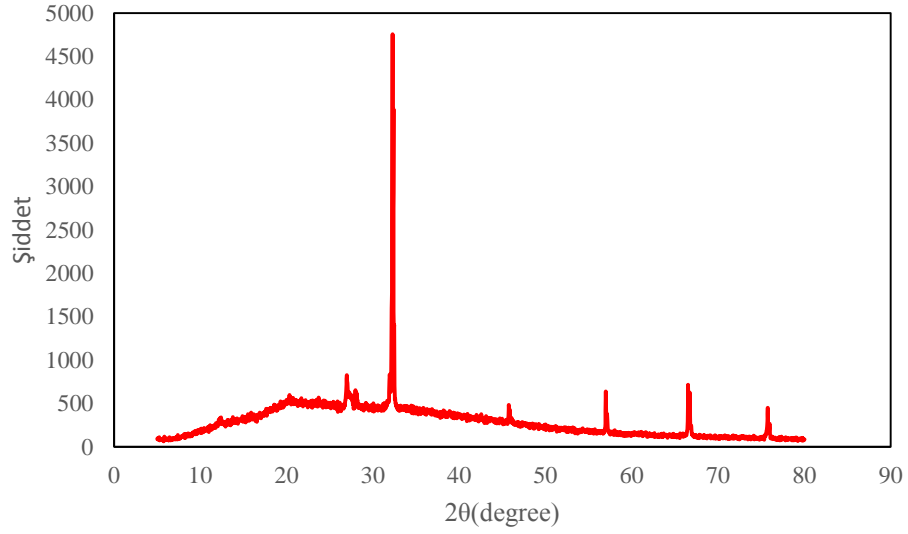
Grafit elektrotlar XRD yöntemi ile de incelenmiştir. Şekil 4.4'te görülen XRD grafiğinde işlem görmemiş grafit elektrot için 2θ değerlerinde 26,89; 32,28; 57,00; 66,51 karşılık gelen fazların pikleri (110), (111), (220), (311) görülmektedir.



Şekil 4.4: İşlem görmemiş grafit elektrot için XRD Spektrumu

4.2.2 Şartlandırılmış Grafit Elektrot

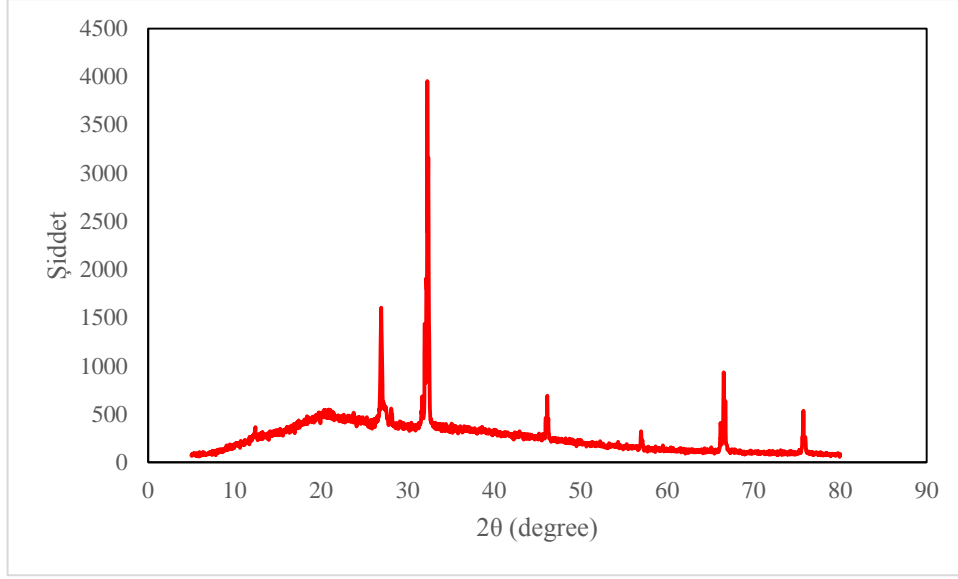
Şekil 4.5'deki XRD grafiği incelendiğinde şartlandırılmış kalem grafit elektrot için 2θ değerlerinde 26,98; 32,28; 57,00; 66,54 karşılık gelen fazların pikleri (110), (111), (220), (311) atandığı görülmektedir.



Şekil 4.5: Şartlandırılmış kalem grafit elektrot için XRD spektrumu

4.2.3 Grafen Oksit (GO) Modifiye Elektrot

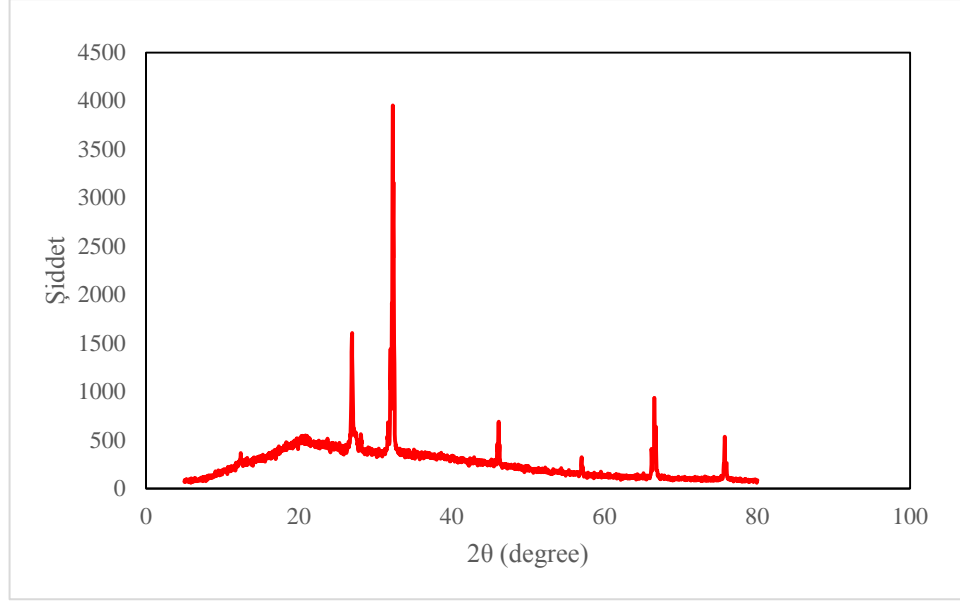
Şekil 4.6'da verilen XRD grafiğinde grafen oksit ile modifiye edilmiş kalem grafit elektrot için 2θ değerlerine 26,95; 32,28; 46,15; 57,00; 66,54 karşılık gelen fazların pikleri (110), (111), (211), (220), (311) atandığı belirlenmiştir. Şartlandırılmış elektrot grafiği ile grafen oksit modifiye kalem grafit elektrot grafiği karşılaştırıldığında grafen oksite ait spesifik pikin 26,95'te arttığı görülmektedir. Bu sonuç bizlere grafen oksitin bağlandığını göstermektedir.



Şekil 4.6: Daldırma yöntemi ile Grafen oksit modifiye elektrot için XRD spektrumu

4.2.4 Elektro Kimyasal Grafen Oksit Modifiye Elektrot

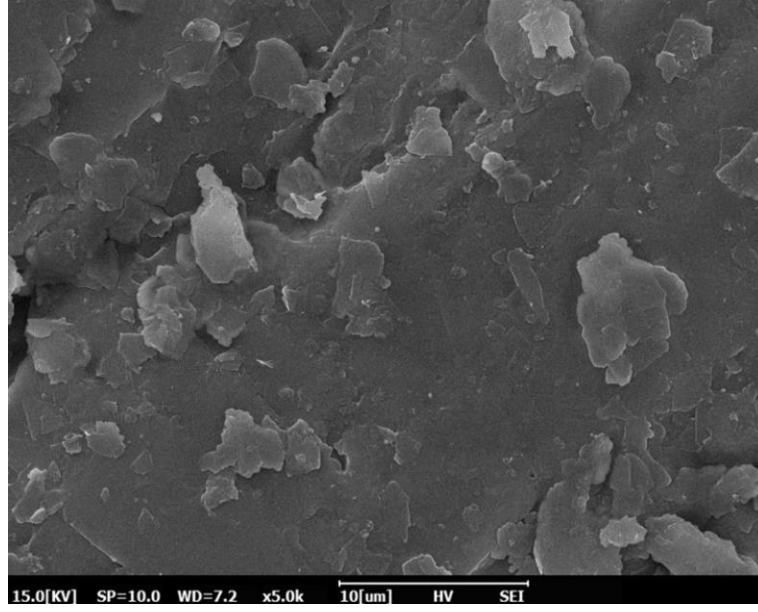
Şekil 4.7’de verilen XRD grafiğinde elektrokimyasal yöntem kullanılarak grafen oksit ile modifiye edilmiş kalem grafit elektrot için 2θ değerlerine 26,95; 32,28; 46,15; 57,00; 66,54 karşılık gelen fazların pikleri (110), (111), (211), (220), (311) atandığı görülmektedir. Şartlandırılmış elektrot grafiği ile elektrokimyasal grafen oksit modifiye kalem grafit elektrot grafiği incelendiğinde grafen oksite ait spesifik pikin 26,95’te arttığı görülmektedir. Bu sonuçlardan yola çıkarak grafen oksitin bağlandığını söyleyebiliriz.



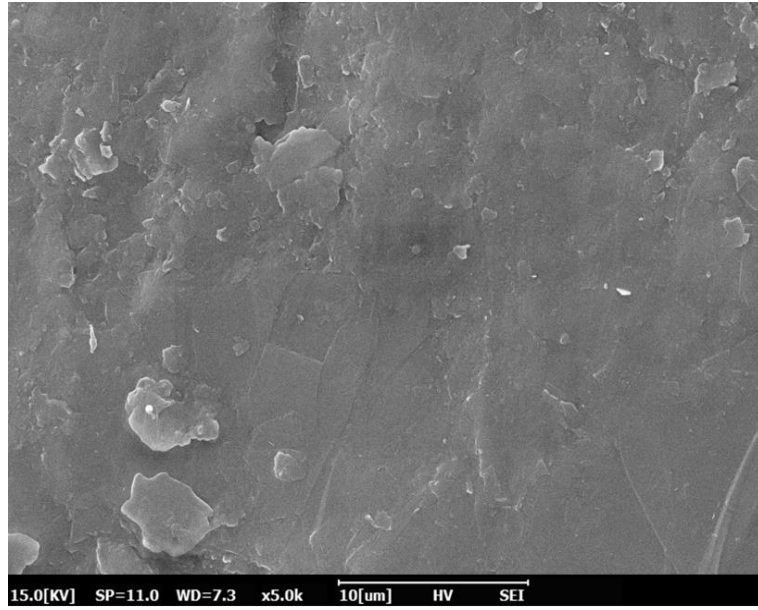
Şekil 4.7: Elektro Kimyasal Grafen Oksit Modifiye Elektrot XRD spektrumu

4.3 PGE Elektrotlarının SEM Görüntüleri

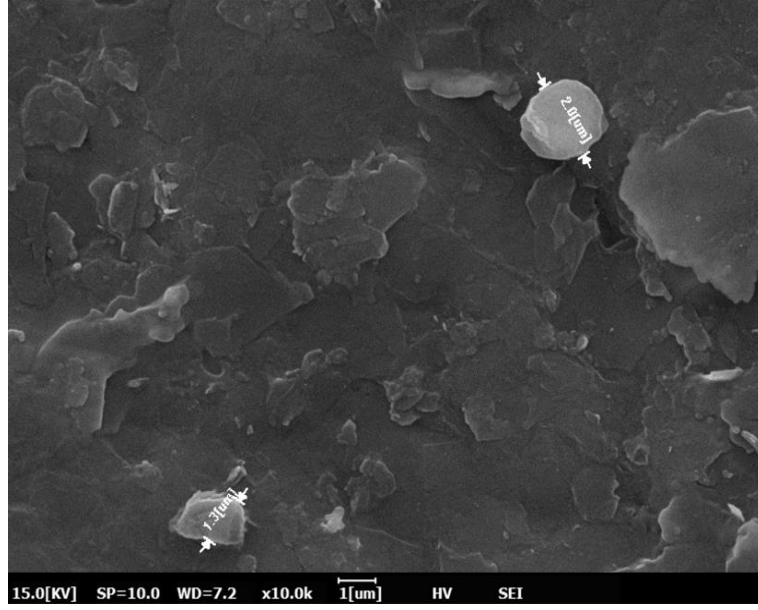
Ayrıca, PGE elektrotları SEM cihazı kullanılarak incelenmiştir. Şekil 4.8'deki SEM görüntüsü incelendiğinde işlem görmemiş PGE elektrotun pürüzlü yapısı görülmektedir. PGE'nin sahip olduğu pürüzlü yapı potansiyometrik ölçümlerde gürültüye sebep olduğundan elektroda şartlandırma işlemi uygulanmıştır. Şekil 4.9'daki SEM görüntüsüne bakıldığında elektroda uygulanan şartlandırma işlemi sonrasında yüzeyin pürüzlü yapısı kaybolmuştur ve pürüzsüz yapı tespit edilmiştir. Bir sonraki adımda Şekil 4.10'da fiziksel yöntemle modifiye edilen grafen oksit yapısı görülmektedir. Grafen oksit yüzeyde ince tabakalar halinde görülmektedir. Şekil 4.11'de elektrokimyasal yöntem ile modifiye edilen grafit elektrodun SEM görüntüsü verilmiştir.



Şekil 4.8: İşlem görmemiş grafit elektrotun SEM görüntüsü

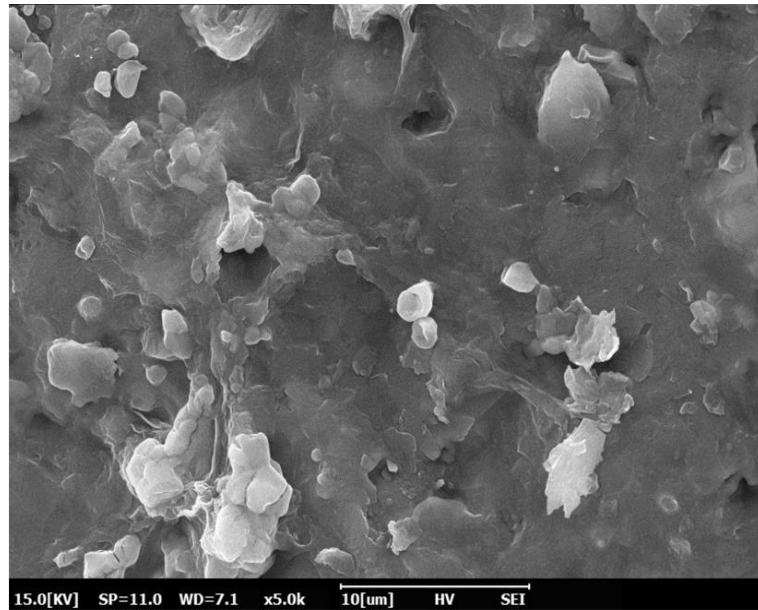


Şekil 4.9: Şartlandırılmış kalem grafit elektrotun SEM görüntüsü



Şekil 4.10: Grafen oksit (daldırma) yöntemi ile modifiye elektrotun SEM görüntüsü

Şekil 4.11’da elektrokimyasal yöntem ile grafen oksit modifiye kalem grafit elektrot yüzeyinin SEM görüntüsü verilmiştir. SEM görüntüsü incelendiğinde pul benzeri bir şekle sahip GO nano tabakaların olduğu görülmektedir. Grafen oksitler elektrokimyasal yöntem ile elektrot yüzeyinde başarılı bir şekilde immobilize edilmiştir.



Şekil 4.11: Elektrokimyasal grafen oksit modifiye elektrotun SEM görüntüsü

4.4 PGE Elektrotlarının ICP-MS Analizi

Bu çalışma kapsamında tüm balıkların kas ve solungaç doku örnekleri alınmıştır ve daha sonra bu dokulara yaş yakma işlemi uygulanmıştır. İlk olarak ICP-MS cihazı ile yaş yakma metodu ile hazırlanan balık örneklerinde Cu^{+2} , Cd^{+2} , Hg^{+2} , Pb^{+2} ağır metal tayini yapılmıştır. Tablolarda belirtilen değerler 1/5 oranında seyreltilmiş ppm değerleridir. Tablo 4.1, Tablo 4.2, Tablo 4.3 ve Tablo 4.4 incelendiğinde balıkların solungaç dokusunda biriken ağır metal oranının kas dokusundakinden daha fazla olduğu görülmektedir. Balık örneklerinde en fazla birikim Cu^{+} metalinde görülmektedir.

Tablo 4.1: Ağır Metallerin ICP-MS Analizi (Levrek)

Ağır Metaller (ppm=mg/L)	Balık Örnekleri	
	Levrek Kas	Levrek Solungaç
Cu^{+}	0,1578	0,286
Cd^{+}	0,0002	0,0007
Hg^{+}	0,0003	0,0009
Pb^{+}	<0.0001	<0.0001

Tablo 4.2: Ağır Metallerin ICP-MS Analizi (Barbun)

Ağır Metaller (ppm=mg/L)	Balık Örnekleri	
	Barbun Kas	Barbun Solungaç
Cu^{+}	0,0398	0,0909
Cd^{+}	0,0002	0,0005
Hg^{+}	0,0039	0,0035
Pb^{+}	<0.0001	<0.0001

Tablo 4.3: Ağır Metallerin ICP-MS Analizi (Kefal)

Ağır Metaller (ppm=mg/L)	Balık Örnekleri	
	Kefal Kas	Kefal Solungaç
Cu ⁺	0,0382	0,1117
Cd ⁺	0,0001	0,0002
Hg ⁺	0,0008	0,0004
Pb ⁺	<0.0001	0.0324

Tablo 4.4: Ağır Metallerin ICP-MS Analizi (Mercan)

Ağır Metaller (ppm=mg/L)	Balık Örnekleri	
	Mercan Kas	Mercan Solungaç
Cu ⁺	0,03	0,0363
Cd ⁺	0,002	0,0005
Hg ⁺	0,0278	0,0112
Pb ⁺	<0.0001	<0.0001

4.5 Stok Ağır Metallerinin Elektrokimyasal Analizi

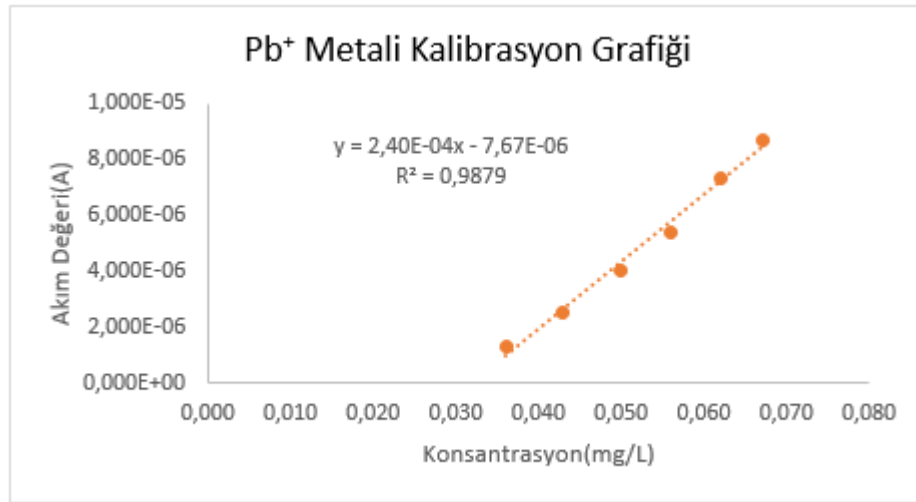
4.5.1 Pb⁺² İyonu Tayini

Anodik Sıyırma Voltmetresi kullanılarak üçlü elektrot yüzeyinde analizi yapılan Pb⁺² iyonunun verileri Tablo 4.5’de verilmiştir. Çalışmada kullanılan 0,2 mg/L konsantrasyona sahip stok kurşun metal sinyalinin konsantrasyon artışıyla birlikte arttığı Tablo 4.5’de verilen İp(A)’da görülmektedir. Bu metalin pik verdiği potansiyel değeri -1.0V’dur. Akım değerinin konsantrasyon artışı ile birlikte doğrusal olarak arttığı kalibrasyon grafiğinde görülmektedir (Şekil 4.12). Şekil 4.13’de Pb⁺²

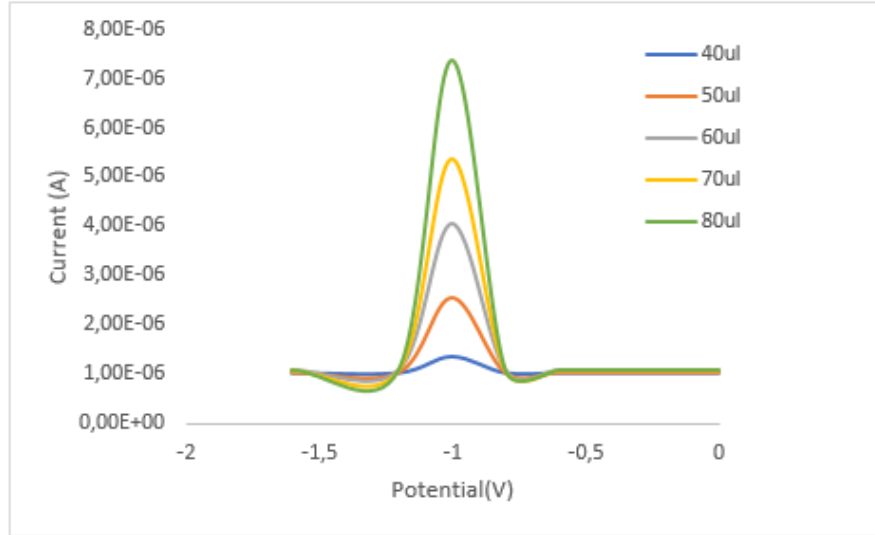
metal iyonu için tepe akım sonuçları verilmiştir. Kalibrasyon grafiği kullanılarak LOD 0,04 mg/L olarak hesaplanmıştır.

Tablo 4.5: Pb⁺² Metalinin Elektrokimyasal Analiz Sonuç Verileri

Ölim Soluşyonu(μ L)	Konsantrasyon(mg/L)	E _p (V)	İ _p (A)	A _h (C)
180	0,036	-1,047	1,34E-06	4,05E-08
	0,043	-1,023	2,54E-06	1,71E-07
	0,050	-1,021	4,05E-06	2,10E-07
	0,056	-1,01	5,38E-06	3,48E-07
	0,062	-1,007	7,38E-06	4,51E-07
	0,067	-1,004	8,70E-06	5,13E-07



şekil 4.12: Pb⁺² Metal Kalibrasyon Grafiği



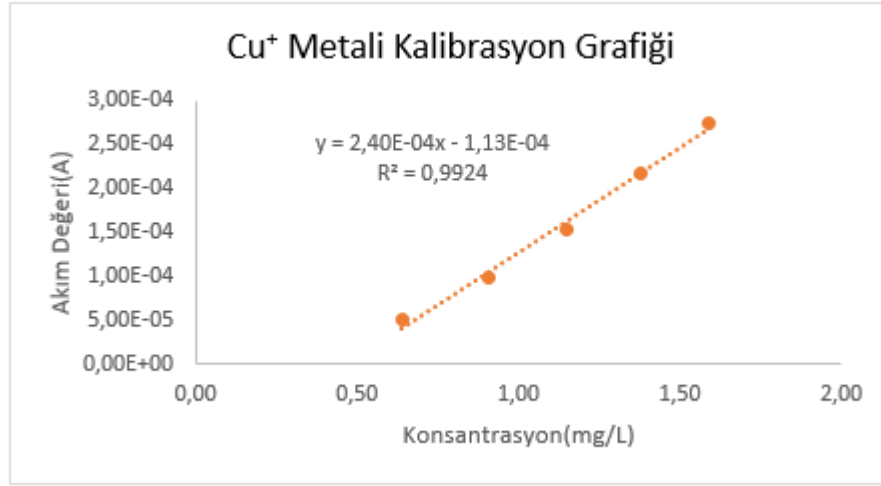
Şekil 4.13: Pb⁺² Metali tepe akım sonuçları

4.5.2 Cu⁺² İyonu Tayini

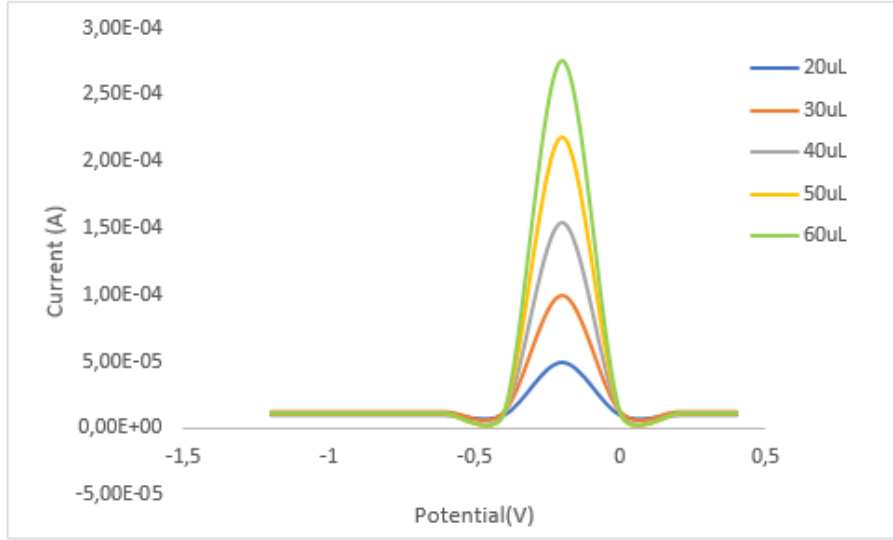
Anodik Sıyırma Voltmetresi kullanılarak, aynı koşullar ve aynı konsantrasyon aralıklarında 3'lü elektrotlar kullanılarak Cu⁺² metalinin elektrokimyasal ölçümü yapılmıştır. Elde edilen bu veriler Tablo 4.6'da verilmiştir. 6,35 mg/L stok bakır metal sinyali Tablo 4.6'da İp(A) değerinde görüldüğü gibi miktar artışıyla orantılı olarak artmıştır. Cu⁺² metali -0,2V'ta pik vermiştir. Elde edilem sonuçlar incelendiğinde artışın doğrusal bir grafik şeklinde olduğu görülmektedir (Şekil 4.14). Ölçümlerden elde edilen veriler sonucunda Cu⁺² metali için kalibrasyon grafiği çizilmiştir. Şekil 4.15'de Cu⁺² metali tepe akım sonuçları verilmiştir. Kalibrasyon grafiğinden yararlanılarak Cu⁺² metalinin LOD değeri 0,75 mg/L olarak bulunmuştur.

Tablo 4.6: Cu⁺² Metalinin Elektrokimyasal Analiz Sonuç Verileri

Ölçüm Solüsyonu(μ L)	Konsantrasyon(mg/L)	Ep (V)	İp (A)	Ah (C)
180	0,64	-0,215	4,98E-05	7,34E-06
	0,91	-0,233	9,91E-05	1,43E-05
	1,15	-0,247	1,54E-04	2,38E-05
	1,38	-0,248	2,19E-04	3,43E-05
	1,59	-0,247	2,76E-04	4,72E-05



Şekil 4.14: Cu⁺² Metal Kalibrasyon Grafiği



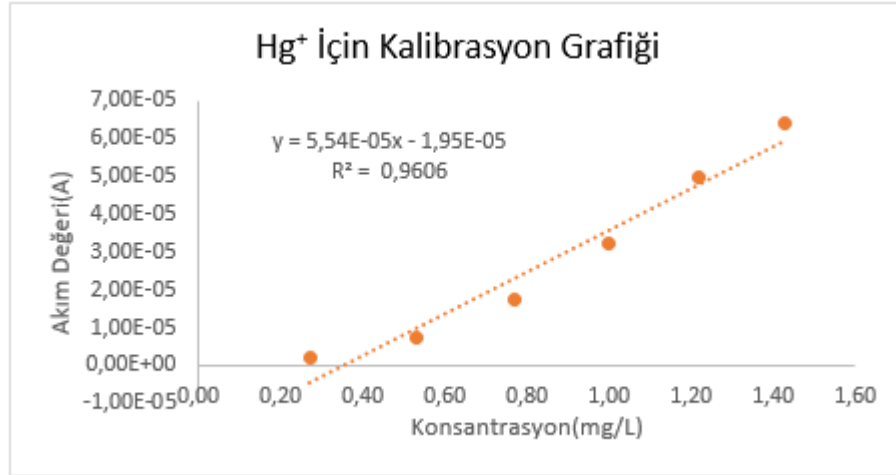
Şekil 4.15: Cu²⁺ Metali tepe akım sonuçları

4.5.3 Hg²⁺ İyonu Tayini

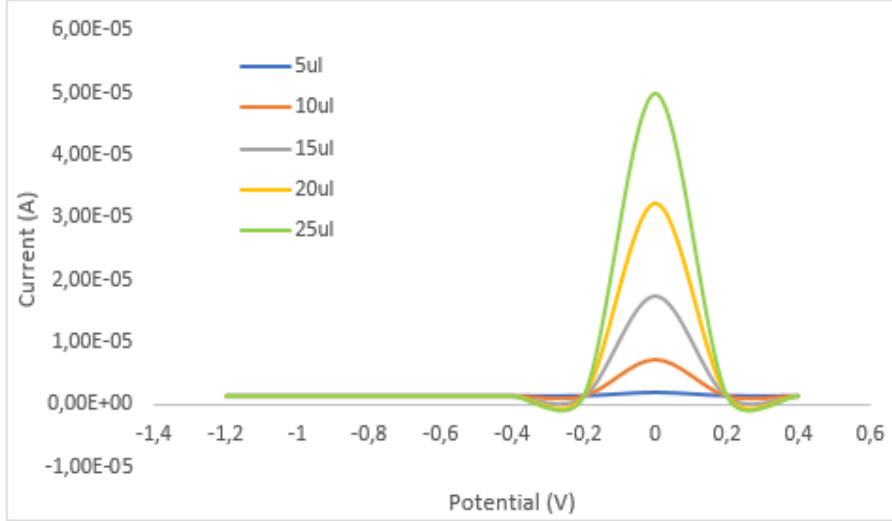
Aynı koşullar ve konsantrasyon aralığı kullanılarak üçlü elektrot yüzeyinde analizi yapılan Hg²⁺ iyonunun verileri Tablo 4.7'de görülmektedir. 10 mg/L konsantrasyonuna sahip stok cıva metalinin sinyal artışı konsantrasyon artışı ile orantılı bir şekilde meydana gelmiştir. Konsantrasyon ile doğru orantılı şekilde artan sinyal değerleri Tablo 4.7'de İp(A) görülmektedir. Hg²⁺ metalinin pik verdiği potansiyel değeri Şekil 4.17'de görüldüğü gibi 0V'tur. Elde edilen veriler kullanılarak Hg²⁺ metali için kalibrasyon grafiği çizilmiştir ve bu grafikten yararlanılarak (Şekil 4.16) Hg⁺ metali için LOD değeri 0,56 mg/L olarak hesaplanmıştır.

Tablo 4.7: Hg⁺² Metalinin Elektrokimyasal Analiz Sonuç Verileri

Ölçüm Solüsyonu(μ L)	Konsantrasyon(mg/L)	Ep (V)	İp (A)	Ah (C)
180	0,27	0,038	2,04E-06	1,12E-07
	0,53	0,017	7,19E-06	4,39E-07
	0,77	0,003	1,75E-05	1,02E-06
	1,00	0,002	3,21E-05	2,44E-06
	1,22	0,004	4,98E-05	4,42E-06
	1,43	0,001	6,40E-05	5,32E-06



Şekil 4.16: Hg⁺² Metali Kalibrasyon Grafiği



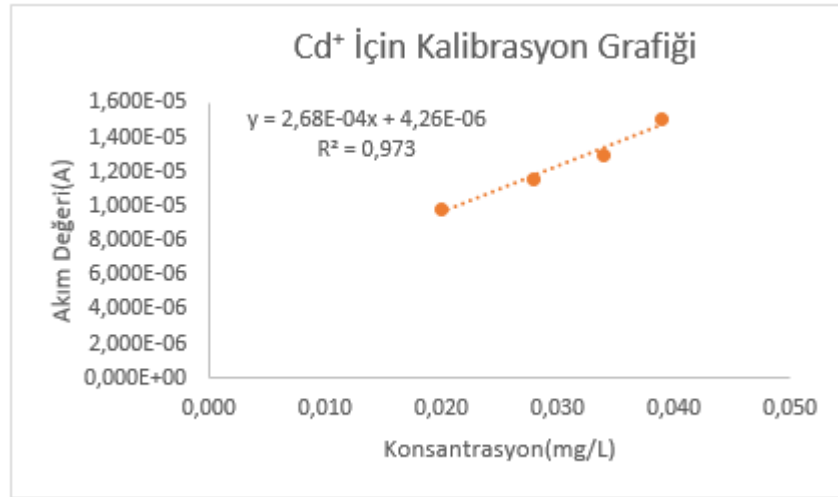
Şekil 4.17: Hg²⁺ Metali tepe akım sonuçları

4.5.4 Cd²⁺ İyonu Tayini

Cd²⁺ iyonunun elektrokimyasal analizi aynı koşullarda ve aynı konsantrasyon aralığında üçlü elektrot yüzeyinde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen elektrokimyasal veriler Tablo 4.8'de verilmiştir. 0,11 mg/L konsantrasyonuna sahip stok kadmiyum metalinin verdiği sinyal değerindeki artış, miktar artışıyla birlikte orantılı şekilde gerçekleşmemiştir. Bu sonuç Tablo 4.8'de yer alan İp(A)'da verilmiştir. Bu durumun nedeni Cd²⁺ metalinin elektrot yüzeyinde grafen oksitle düzgün yükseltgenme indirgenme gerçekleştirememiş olması düşünülmektedir. Cd²⁺ metali için pik değeri -1.1V'dır. Bu veriler kullanılarak Cd²⁺ metali için kalibrasyon grafiği elde edilmiş ve bu grafikten yararlanılarak (Şekil 4.18) LOD 0,03 mg/L olarak hesaplanmıştır.

Tablo 4.8: Cd²⁺ Metalinin Elektrokimyasal Analiz Sonuç Verileri

Ölçüm Solüsyonu(μ L)	Konsantrasyon(mg/L)	E _p (V)	İ _p (A)	A _h (C)
180	0,028	-1,012	1,73E-05	1,17E-06
	0,031	-1,051	1,10E-05	8,48E-07
	0,034	-1,011	1,12E-05	6,89E-07
	0,037	-1,041	8,94E-06	6,54E-07
	0,039	-1,059	7,96E-06	6,57E-07



Şekil 4.18: Cd²⁺ Metali için Kalibrasyon Grafiği

4.6 Balık Örneklerinin Elektrokimyasal Analiz Sonuçları

0,28 g balık dokuları 2 mL %65'lik Nitrik Asit, 3 mL %35'lik Hidrojen Peroksit içerisinde çözülmüştür. Bu balık doku örneklerinden farklı konsantrasyonlarda alınarak elektrokimyasal analizler gerçekleştirilmiştir. Balık doku örneklerinde

bulunan ağır metallerin alt tayin sınır limitleri tespit edilmiştir. 0,0056 g/μL konsantrasyondaki tüm balık doku örneklerinin elektrokimyasal yöntem ile gerçekleştirilen ağır metal tayin sonuçları Tablo 4.9’da verilmiştir.

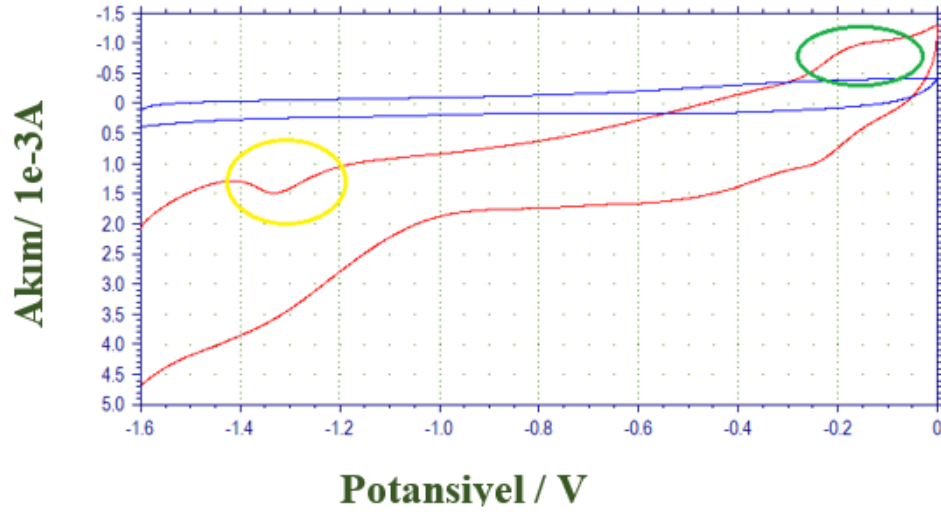
Tablo 4.9: Balık Örnekleri Genel Tablo

Balık Örnekleri	Metal Konsantrasyonu (mg/L)			
	Cu ⁺	Pb ⁺	Hg ⁺	Cd ⁺
Kefal-solungaç	5,596	0,303	<0,56	<0,03
Kefal-Kas	0,584	<0,04	<0,56	<0,03
Levrek-Solungaç	3,238	<0,04	<0,56	<0,03
Levrek-Kas	0,696	<0,04	<0,56	<0,03
Barbun-Solungaç	0,963	<0,04	<0,56	<0,03
Barbun-Kas	0,789	<0,04	<0,56	<0,03
Mercan-Kas	0,502	<0,04	0,809	<0,03
Mercan-Solungaç	-	<0,04	<0,56	<0,03

* 0,0056 g/μL doku konsantrasyonundaki metal miktarları

4.6.1 Kefal Solungaç Dokusunun Elektrokimyasal Analizi

Yaş yakma metodu ile elde edilen kefal balığı solungaç dokusunun elektrokimyasal analizleri yapılmıştır. Çalışmalar stok bakır ve kurşun konsantrasyonu ile karşılaştırılarak yapılmıştır. Önceki adımda gerçekleştirilen stok metal çözeltileri kullanılarak pik yerleri tespit edilmiştir. Şekil 4.19’ da asetat tamponunun pik vermediği (mavi renkli) saptanmıştır ve sonraki adımda yaş yakma metodu ile elde edilen numune eklendiğinde yeşil renk çember ile işaretlenen bakır piki ve sarı renk ile işaretlenen kurşun piki tespit edilmiştir. Şekil 4.19’da bakır metalinin -0.1V’da sinyal verdiği, kurşun metalinin ise -1,2 V’ da sinyal verdiği görülmüştür. Bakır metal konsantrasyonu artışı sonucu sinyal artışının gerçekleştiği Tablo 4.10’da verilmiştir. Elde edilen ölçüm sonuçları ile Cu⁺² metalinin alt tayin sınır limiti 0,490 mg/L hesaplanırken, Pb⁺² metalinin alt tayin sınır limiti 0,303 mg/L olarak hesaplanmıştır.



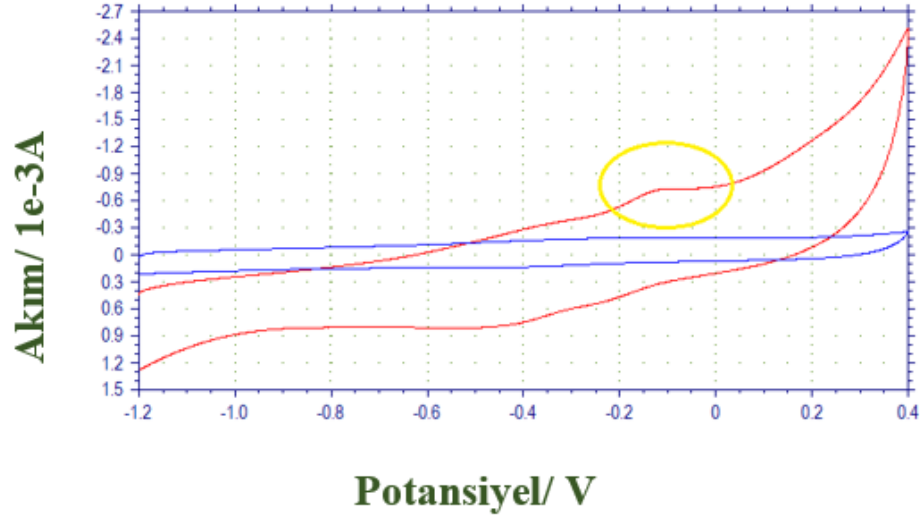
Şekil 4.19: Kefal Balığının Solungaç Dokusundaki Cu^{+2} ve Pb^{+2} Metalinin Elektrokimyasal Analizi

Tablo 4.10: Kefal Balığı Solungaç Dokusunun için Elektrokimyasal Analiz Verileri

Ölçüm Solüsyonu(μL)	Solungaç Konsantrasyonu ($\text{g}/\mu\text{L}$)				Cu^+ Konsantrasyonu(mg/L)
		İp(A)	Ep(V)	Ah(C)	
180	0,00112	4,50E-06	0,045	4,79E-07	0,490
	0,00224	1,32E-04	-0,102	1,45E-05	1,021
	0,00336	2,97E-04	-0,13	3,34E-05	1,708
	0,00448	8,11E-04	-0,146	1,03E-04	3,850
	0,0056	1,23E-03	-0,135	1,56E-04	5,596

4.6.2 Kefal Kas Dokusunun Elektrokimyasal Analizi

Sonraki aşamada yaş yakmada elde edilen kefal balığı kas dokusunun elektrokimyasal analizleri yapılmıştır. Stok bakır metalnin miktarı ile karşılaştırma yapılarak analizler yapılmıştır. İlk aşamada, asetat tamponun pik vermediği (mavi renkli) saptandıktan sonra yaş yakma metodu ile elde edilen numune eklemesi sonucunda sarı çember ile gösterilen bakır piki görülmüştür (Şekil 4.20). -0.1V 'da bakır metalinin sinyal verdiği Şekil 4.20'de görülmektedir. Konsantrasyon artışıyla beraber doğrusal bir sinyal artışının meydana geldiği Tablo 4.11'de görülmektedir. Analizler sonucu elde edilen veriler kullanılarak Cu^{+2} metalinin alt tayin sınır limiti $0,535 \text{ mg}/\text{L}$ olarak belirlenmiştir.



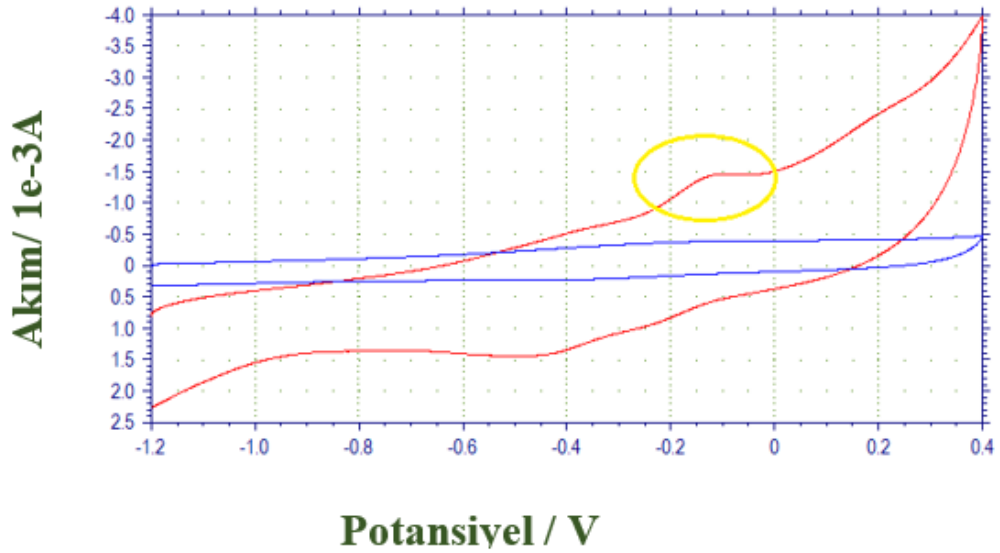
Şekil 4.20: Kefal Balığının Kas Dokusundaki Cu^{+2} Metalinin Elektrokimyasal Analizi

Tablo 4.11: Kefal Balığı Kas Dokusunun Elektrokimyasal Analiz Verileri

Ölçüm Solüsyonu(μL)	Kas Konsantrasyonu ($\text{g}/\mu\text{L}$)				Cu^+ Konsantrasyonu(mg/L)
		$\dot{I}_p(\text{A})$	$E_p(\text{V})$	$A_h(\text{C})$	
180	0,00336	1,54E-05	-0,055	1,02E-06	0,535
	0,00448	1,53E-05	-0,102	1,10E-06	0,535
	0,0056	2,71E-05	-0,101	2,24E-06	0,584
	0,00672	2,78E-05	-0,106	3,05E-06	0587
	0,00784	4,12E-05	-0,133	4,36E-06	0,643

4.6.3 Levrek Solungaç Dokusunun Elektrokimyasal Analizi

Yaş yakma metodu ile elde edilen levrek balık solungaç dokusunun elektrokimyasal analizleri gerçekleştirilmiştir. Asetat tamponunun pik vermediği belirlendikten sonra yaş yakma sonucu elde edilen numunenin eklemesiyle bakır piki (sarı renk ile işaretlenen) görülmüştür (Şekil 4.21). Şekil 4.21’de belirdiği gibi bakır metal - 0.13V’da sinyal vermiştir. Sinyal artışının örnek miktarının artışıyla orantılı bir şekilde gerçekleştiği görülmektedir (Tablo 4.12). Bu veriler ışığında Cu^{+2} metalinin alt tayin sınır limiti 0,548 mg/L olarak hesaplanmıştır.



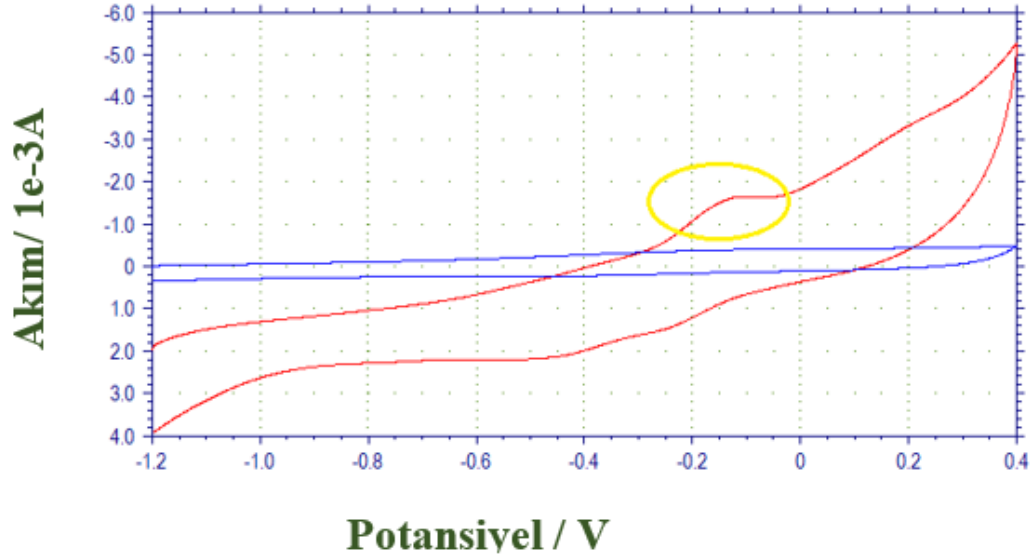
Şekil 4.21 : Levrek Balığının Solungaç Dokusundaki Cu^{+2} Metalinin Elektrokimyasal Analizi

Tablo 4.12: Levrek Balığı Solungaç Dokusunun Elektrokimyasal Analiz Verileri

Ölçüm Solüsyonu(μL)	Solungaç Konsantrasyonu ($\text{g}/\mu\text{L}$)	Elektrokimyasal Veriler			Cu^+ Konsantrasyonu(mg/L)
		$\dot{I}_p(\text{A})$	$E_p(\text{V})$	$A_h(\text{C})$	
180	0,00112	1,85E-05	-0,096	1,70E-06	0,548
	0,00224	5,75E-05	-0,102	6,04E-06	0,710
	0,00336	2,67E-04	-0,131	3,13E-05	1,583
	0,00448	4,43E-04	-0,143	5,87E-05	2,317
	0,0056	6,64E-04	-0,143	8,38E-05	3,238

4.6.4 Levrek Kas Dokusunun Elektrokimyasal Analizi

Yaş yakma metodu ile elde edilen levrek balık örneğinin kas dokusunun elektrokimyasal analizleri yapılmıştır. Stok bakır konsantrasyonu ile karşılaştırılarak ölçümler alınmıştır. Şekil 4.22’de görüldüğü gibi asetat tamponu pik vermemiştir (mavi renkli) ve daha sonra yaş yakma ile hazırlanan numune eklenmiştir. Numune eklemesi sonucunda sarı renk ile işaretlenen kısımda bakır piki görülmüştür. Şekil 4.22 incelendiğinde -0.13V ’da bakır metalinin sinyali saptanmıştır. Tablo 4.13’deki veriler incelendiğinde miktar artışıyla orantılı olarak sinyal artışının meydana geldiği görülmektedir. Bu veriler doğrultusunda Cu^{+2} metalinin alt tayin sınır limiti $0,515 \text{ mg}/\text{L}$ olarak bulunmuştur.



Şekil 4.22 : Levrek Balığının Kas Dokusundaki Cu^{+2} Metalinin Elektrokimyasal Analizi

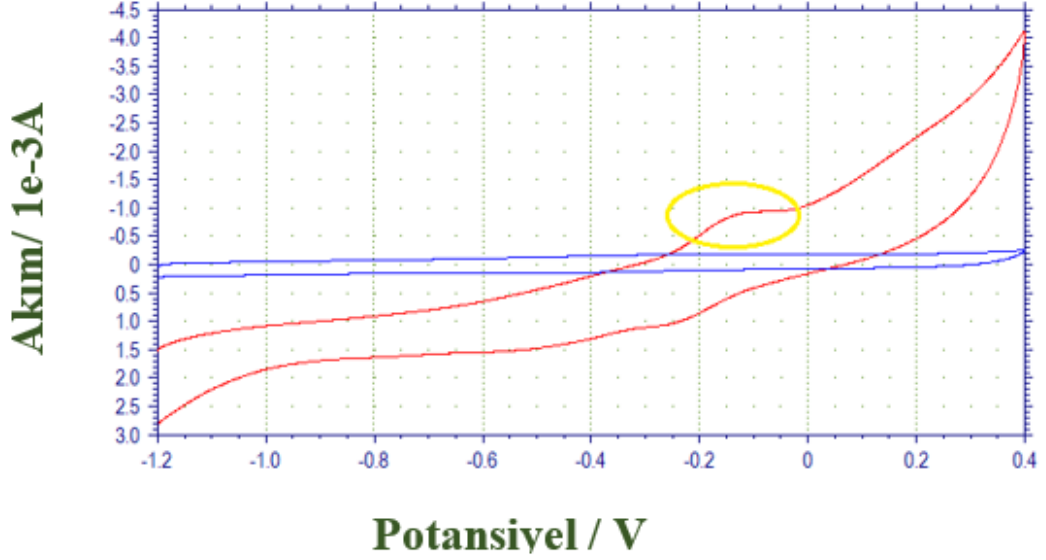
Tablo 4.13: Levrek Balığı Kas Dokusunun Elektrokimyasal Analiz Verileri

Ölçüm Solüsyonu(μL)	Kas Konsantrasyonu ($\text{g}/\mu\text{L}$)				Cu^+
		$\dot{I}_p(\text{A})$	$E_p(\text{V})$	$Ah(\text{C})$	Konsantrasyonu(mg/L)
180	0,00224	1,05E-05	0,081	7,58E-07	0,515
	0,00336	1,90E-05	-0,082	1,36E-06	0,550
	0,00448	3,05E-05	-0,127	2,24E-06	0,598
	0,0056	5,41E-05	-0,133	4,73E-06	0,696
	0,00672	7,52E-05	-0,135	6,43E-06	0,784

4.6.5 Barbun Solungaç Dokusunun Elektrokimyasal Analizi

Yaş yakma metodu ile elde edilen barbun balık örneği solungaç dokusunun elektrokimyasal analizleri yapılmıştır. Yapılan çalışmada aynı şartlar altında ölçüm alınarak kıyaslanması sağlanmıştır. Stok bakır metal çözeltileri ile pik yerleri belirlenmiştir. Şekil 4.23'de görüldüğü gibi asetat tampon ortamı pik vermemiştir (mavi renkli) ve daha sonra yaş yakma metodu sonucu elde edilen numune eklenerek ölçüm alınmıştır. Numune eklemesi sonucunda sarı renk ile işaretlenen kısımda bakır piki görülmüştür. Şekil 4.23 incelendiğinde bakır metalinin sinyal verdiği değer -0.14V'da görülmektedir. Ayrıca Tablo 4.14'de örnek miktarının artmasıyla beraber

sinyal değerinde de artış olduğu görülmektedir. Bu sonuçlar ışığında Cu^{+2} metalinin alt tayin sınır limiti 0,494 mg/L olarak hesaplanmıştır.



şekil 4.23 : Barbun Balığının Solungaç Dokusundaki Cu^{+2} Metalinin Elektrokimyasal Analizi

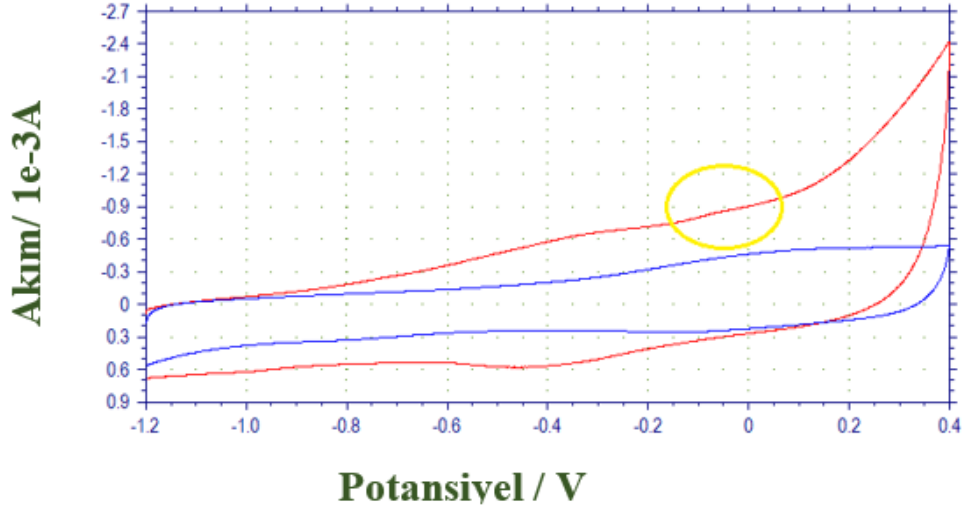
Tablo 4.14: Barbun Balığı Solungaç Dokusunun Elektrokimyasal Analiz Verileri

Ölüm Solüsyonu(μL)	Solungaç Konsantrasyonu ($\text{g}/\mu\text{L}$)	$\dot{I}_p(\text{A})$	$E_p(\text{V})$	$A_h(\text{C})$	Cu^+ Konsantrasyonu(mg/L)
180	0,00336	5,67E-06	-0,071	3,31E-07	0,494
	0,00448	5,24E-05	-0,108	5,61E-06	0,689
	0,0056	1,18E-04	-0,119	1,46E-05	0,963
	0,00672	2,84E-04	-0,140	3,59E-05	1,654
	0,00784	5,67E-06	-0,071	3,31E-07	2,217

4.6.6 Barbun Kas Dokusunun Elektrokimyasal Analizi

Yaş yakma metodu uygulanarak elde edilen barbun balık rneği kas dokusunun elektrokimyasal analizleri yapılmıştır. Yapılan çalışmada aynı şartlar altında ölüm alınarak kıyaslanması sağlanmıştır. nceki çalışmalarda gerçekleştirilen stok bakır metal çözeltileri ile pik değerleri tespit edilmiştir. Ölüm sonucunda asetat tamponu pik vermemiştir (mavi renkli). Daha sonra yaş yakma sonucu elde edilen örneğin

eklenmesiyle sarı ile işaretlenen bölgede bakır piki saptanmıştır (Şekil 4.24). Şekil 4.24 incelendiğinde bakır metalinin -0.1V'da sinyal verdiği görülmektedir. Miktar artışıyla orantılı olarak doğrusal bir sinyal artışının meydana geldiği Tablo 4.15'de görülmektedir. Ölçümler sonucunda Cu^{+2} metalinin alt tayin sınır limiti 0,501 mg/L olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.24 : Barbun Balığının Kas Dokusundaki Cu^{+2} Metalinin Elektrokimyasal Analizi

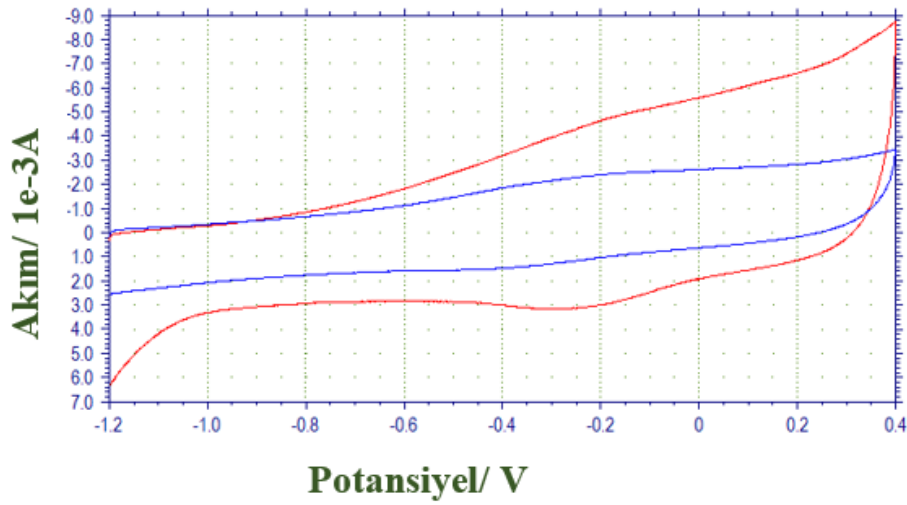
Tablo 4.15: Barbun Balığı Kas Dokusunun Elektrokimyasal Analiz Verileri

Ölçüm Solüsyonu(μL)	Kas Konsantrasyonu ($\text{g}/\mu\text{L}$)				Cu^{+}
		$\dot{I}_p(\text{A})$	$E_p(\text{V})$	$A_h(\text{C})$	Konsantrasyonu(mg/L)
180	0,00224	7,15E-06	-0,061	3,08E-07	0,501
	0,00336	2,01E-05	-0,120	1,31E-06	0,555
	0,00448	4,27E-05	-0,130	4,09E-06	0,649
	0,0056	7,64E-05	-0,133	6,98E-06	0,789
	0,00672	1,42E-04	-0,135	1,49E-05	1,063

4.6.7 Mercan Solungaç Dokusunun Elektrokimyasal Analizi

Yaş yakma yöntemiyle hazırlanan mercan balık örneği solungaç dokusunun elektrokimyasal analizleri aynı yöntemler ile yapılmıştır. Analizler sonucunda Mercan balığının solungaç dokusunda konsantrasyon artışıyla beraber metal iyon sinyali ölçülememiştir. Mercan balığının solungaç dokusunun elektrokimyasal

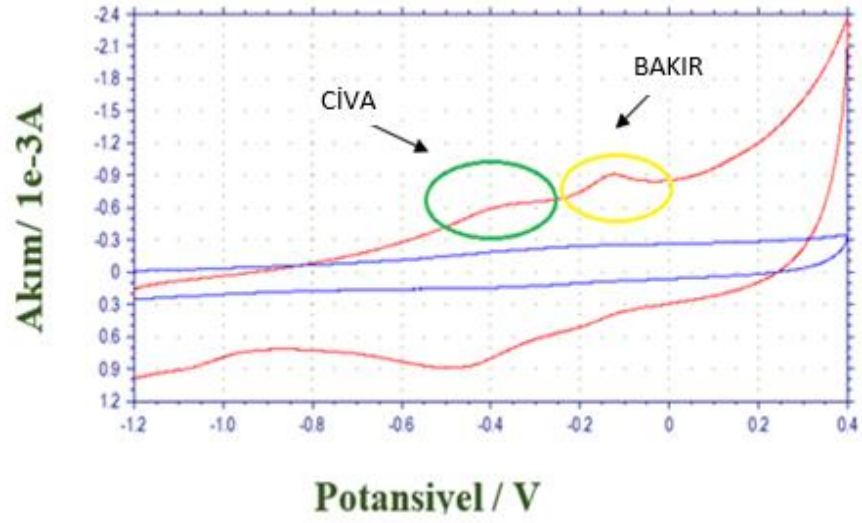
analizinde anlamlı bir sonuç elde edilememiştir ve bu nedenle kalibrasyon grafiği çizilememiştir. Mercan balığının solungaç dokusunda yeterli miktarda Cu^{+2} metali tespit edilmemiştir. Şekil 4.25 incelendiğinde asetat tamponu (mavi çizgi) eklendikten sonra yaş yakma metoduyla hazırlanan örneğin üzerine eklenmesiyle (kırmızı çizgi şeklinde görülen) ortam sinyalinde bir değişiklik gözlemlenmemiştir. Bunun nedenin yaş yakma metodu aşamasında meydana gelen bir problemden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.



Şekil 4.25: Mercan Balığının Solungaç Dokusundaki Cu^{+2} Metalinin Elektrokimyasal Analizi

4.6.8 Mercan Kas Dokusunun Elektrokimyasal Analizi

Son olarak yaş yakma metodu ile elde edilen mercan kas dokusunun elektrokimyasal analizi yapılmıştır. Asetat tamponu diğer çalışmalarda olduğu gibi pik vermemiştir. Yaş yakılmış örnek eklemesinden sonra bakır metali yeşil ile işaretlenen, cıva metali sarı ile işaretlenen bölgede pik vermiştir. Şekil 4.26 incelendiğinde cıva metalinin -0.1V'da sinyal verdiği, bakır metal sinyalinin ise -0.4V'da olduğu görülmektedir (Şekil 4.26). İki metalin birlikte bulunması nedeniyle elektrokimyasal analizlerde pik yerlerinde çok küçük kaymalar gerçekleşebilmektedir. Tablo 4.16'da artan örnek miktarı ile birlikte orantılı bir sinyal artışının olduğu verilmiştir. Bu veriler ile Cu^{+2} metalinin alt tayin sınır limiti 0,502 mg/L olarak hesaplanmıştır. Hg^{+} metalinin alt tayin sınır limiti 0,809mg/L olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.26: Mercan Balığının Kas Dokusundaki Cu^{+2} ve Hg^{+2} Metalinin Elektrokimyasal Analizi

Tablo 4.16: Mercan Balığı Kas Dokusunun Elektrokimyasal Analiz Verileri

Ölçüm Solüsyonu(μL)	Kas Konsantrasyonu ($\text{g}/\mu\text{L}$)				Cu^+ Konsantrasyonu(mg/L)
		$\dot{I}_p(\text{A})$	$E_p(\text{V})$	$A_h(\text{C})$	
180	0,0056	7,42E-06	0,127	5,17E-07	0,502
	0,00672	2,21E-05	-0,119	1,63E-06	0,563
	0,00784	5,55E-05	-0,125	4,88E-06	0,702
	0,00896	1,44E-04	-0,13	1,37E-05	1,071
	0,01008	2,52E-04	-0,13	2,94E-05	1,521

Bölüm 5

5. Sonuçlar

Balıklardaki toksik ağır metal birikimi güvenli seviyeleri aştığında ve bu balıklar insanlar tarafından tüketildiğinde insanlarda kanser, Alzheimer gibi ciddi sağlık problemlerine neden olmaktadır. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği kapsamında tüketime sunulacak balıkların temin edileceği bölgelerde ağır metal kontrolü oldukça önemlidir. Bu nedenle balıklarda ağır metal tayini gün geçtikçe önem kazanmaktadır. Günümüzde, balıklarda meydana gelen ağır metal birikimlerinin tespiti yaygın olarak ICP-MS ve AAS yapılmaktadır. Fakat bu yöntemler komplike teknikler içermeye, uzmanlık gerektirmeye, pahalı ve zaman alıcı olma gibi dezavantajlarından dolayı insanlar ağır metallerin tespiti için için daha hızlı, uygun maliyetli ve kullanımı kolay tekniklere ihtiyaç duymaktadır. Bu tez çalışmasında insan sağlığını ciddi oranda tehdit eden ağır metallerin tespiti için hızlı tespit süresine, uygun maliyete ve kolay kullanıma sahip olan portatif elektrokimyasal sensör ve ona bağlı devre sistemi geliştirilmiştir. Ayrıca bu platformda minimal sıvı örnekleriyle çalışılmıştır.

Bu sistemin özgüllüğü çalışma, referans ve karşıt elektrotlardan oluşan 3'lü elektrot sistemindeki her elektrodun grafen oksit ile modifiye edilmesidir. Geliştirilen kullan at sensöründe grafit elektrotlar elektrokimyasal yöntem kullanılarak grafen oksit ile modifiye edilmiştir. Bu sayede elektrotlarda geniş yüzey alanları oluşturulmuş ve bu platformda ilk olarak stok ağır metallerin ölçümü yapılmıştır. Ölçüm sonuçlarında Pb^{+2} için LOD 0,04mg/L olarak hesaplanırken Cu^{+2} için 0,75 mg/L, Hg^{+} için 0,56 mg/L ve Cd^{+2} için 0,03 mg/L olarak hesaplanmıştır.

Bu tez çalışmasında geliştirilen yeni nesil elektrokimyasal sensör platformu ile stok metallerin ölçümleri yapıldıktan sonra balıktan alınan ölü balık örneklerinde solungaç ve kas dokuları kullanılarak Pb^{+2} , Cd^{+2} , Cu^{+2} , Hg^{+2} ağır metallerinin tespiti gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre balık dokularında ağır metallerden

Cu^{+2} metali birikiminin yoğunluklu olduğu tespit edilmiştir. Deney sonuçları incelendiğinde balıklarda en fazla biyobirikimin levrek, barbun ve kefal balıklarının solungaç dokularında olduğu ve bakır metal birikiminin yüksek seviyede olduğu tespit edilmiştir.

Grafen oksit modifiye elektotlarını ile gerçekleştirilen ağır metal analiz sonuçları standart analiz sonuçları ile karşılaştırılmıştır. Geliştirilen elektrokimyasal sensörün ölçüm hassasiyetindeki değerlerin klasik analiz metodu ile yapılan ölçümler ile örtüştüğü tespit edilmiştir. Elektrokimyasal sensör ile analizi gerçekleştirilen metal numunelerin tayin sınırları balıklardaki doku bölgelerine göre kıyaslanmıştır. Bu sonuçlar klasik analiz metodu olan ICP-MS verileri ile örtüşmüştür.

Kefal balığının solungaç dokusunda Cu^{+2} metalinin alt tayin sınır limiti 0,490 mg/L, Pb^{+2} metalinin alt tayin sınır limiti 0,303 mg/L olarak bulunmuştur. Kefal balığının kas dokusunda ise Cu^{+2} metalinin alt tayin sınır limiti 0,535 mg/L olarak belirlenmiştir. Levrek solungaç dokusunda Cu^{+2} metalinin alt tayin sınır limiti 0,548 mg/L iken, Levrek kas dokusunda Cu^{+2} metalinin alt tayin sınır limiti 0,515 mg/L olarak hesaplanmıştır. Barbun solungaç dokusunda Cu^{+2} metalinin alt tayin sınır limiti 0,494 mg/L olarak hesaplanırken, Barbun kas dokusunda Cu^{+2} metalinin alt tayin sınır limiti 0,501 mg/L olarak tayin edilmiştir. Mercan kas dokusunda Cu^{+2} metalinin 0,502 mg/L ve Hg^{+2} metalinin alt tayin sınır limiti 0,809 mg/L olarak bulunmuştur.

Geliştirilen yeni nesil elektrokimyasal biyosensör uygulaması sayesinde balık ihracatı ve ithalat sırasında, gıdanın laboratuvarlarda analiz edilme işlemine gerek kalmadan basit ölçüm teknikleriyle yerinde, hızlı ve hassas bir şekilde analiz yapılabilecektir. Geliştirilen analiz sistemi sayesinde denizlerde büyük bir sorun teşkil eden müsilaj kitleleri içerisinde büyük oranda bulunan ağır metallerin sucul organizmalarda meydana getirdiği ağır metal birikimi tespit edilerek en aza indirilecektir. Bu çalışma ağır metallerin tayini için gelecek çalışmalara umut olacaktır. Bu sistemde farklı metallerin optimizasyonu yapılarak daha geniş kapsamlı çalışmalar yapılabilecek ve sadece balıklarda değil deniz sularında da ağır metallerin tayini gerçekleştirilebilecektir.

Kaynaklar

- [1] Sunlu, U. SÜFA Dalyanı ve Ege Denizi'nin Farklı Bölgelerindeki Kirlenme Durumu ile Bazı Ekonomik Balık Türlerinde Ağır Metal Düzeylerinin Araştırılması (doktora tezi), Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi İzmir; 1994.
- [2] Şengül, F. Endüstriyel atıksuların özellikleri ve arıtımı, 2. Baskı, Dokuz Eylül Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Yayınları, No:172; 1991.
- [3] Canli M, Atli G. The relationships between heavy metal (Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Zn) levels and the size of six Mediterranean fish species. *Environmental pollution* 2003; 121(1): 129-136.
- [4] Flos R, Caritat A, Balasch J. Zinc content in organs of dogfish (*Scyliorhinus canicula* L.) subject to sublethal experimental aquatic zinc pollution. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part C, Comparative* 1979; 64(1): 77-81.
- [5] Li J, Quabius E S, Bonga S W, Flik G, Lock R A C. Effects of water-borne copper on branchial chloride cells and Na⁺/K⁺-ATPase activities in Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Aquatic Toxicology* 1998 ;43(1): 1-11.
- [6] Tuna, B. Tekirdağ İli Şarköy yöresinde yetiştirilen zeytinlerde bazı ağır metaller ile mikrobesein elementlerinin belirlenmesi (yüksek lisans tezi). Namık Kemal Üniversitesi; 2011.
- [7] Kahvecioğlu Ö, Kartal G, Güven A, Timur S. Metallerin çevresel etkileri- I. *Metallurji Dergisi* 2003; 136: 47-53.
- [8] Ertürk, F. A. Ağır Metallerin Neden Olduğu Genetik ve Epigenetik Değişikliklerin Moleküler Yöntemlerle Belirlenmesi (doktora tezi) Atatürk üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum; 2013.

- [9] Özden, Y. Enne ve Porsuk Barajı sedimentine bağlı ağır metallerin *Cyprinus carpio*'nun değişik dokularına biyoakümüülasyonunun araştırılması. (yüksek lisans tezi) Dumlupınar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kütahya; 2008.
- [10] Dündar Y, Aslan R. Yaşamı kuşatan ağır metal kurşunun etkileri. *Kocatepe Tıp Dergisi* 2005; 6(2): 1-5.
- [11] Çiftci N, Korkmaz C, Özcan A. Y, Karayakar F, Cicik B. Bakır ve kurşunun *Oreochromis niloticus*' da hepatosomatik indeks, gonadosomatik indeks ve kondüsyon faktörü üzerine etkileri. *Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi* 2017; 13(1): 12-18.
- [12] Klaassen C D, Liu J, Choudhuri S. Metallothionein: an intracellular protein to protect against cadmium toxicity. *Annual review of pharmacology and toxicology* 1999; 39(1): 267-294.
- [13] Alaoui-Sossé B, Genet P, Vinit-Dunand F, Toussaint M L, Epron D, Badot P M. Effect of copper on growth in cucumber plants (*Cucumis sativus*) and its relationships with carbohydrate accumulation and changes in ion contents. *Plant Science* 2004; 166(5): 1213-1218.
- [14] Akgün M, Ali G Ü L, Yılmaz M. Sakarya Nehri Çeltikçe Çayında Yaşayan *Leuciscus cephalus* L., 1758 Dokularında Ağır Metal Birikimi. *Gazi Üniversitesi Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi* 2007; 27(2):179-189.
- [15] Soydemir, E. Katı Örneklemeli Yüksek Çözünürlüklü Elektrotermal Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi İle 2, 5 Pm Hava Partiküllerinde Cıva Tayini (doktora tezi) Fen Bilimleri Enstitüsü; 2013.
- [16] Batır, M. B. Kurşun (Pb) ve bakır (Cu) ağır metal stresi uygulanan enginar (*Cynara scolymus* L.) tohumlarının fidelerinde oluşan DNA değişikliklerinin belirlenmesi (yüksek lisans tezi) Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü; 2014.
- [17] Dündar M Ş, Altundağ H, Kaygaldura S, Şar V, Acar A. Çeşitli endüstriyel atık sularda ağır metal düzeylerinin belirlenmesi. *Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 2012; 16(1): 6-12.

- [18] Uzunoğlu, O. Gediz Nehrinden Alınan Su ve Sediment Örneklerinde Bazı Ağır Metal Konsantrasyonlarının Belirlenmesi(yüksek lisans tezi), Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü; 1999.
- [19] Dearwent S M, Mumtaz M M, Godfrey G, Sinks T, Falk H. Health effects of hazardous waste. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2006; 1076(1): 439-448.
- [20] Özbolat, G., Abdullah, T. U. L. İ. Ağır metal toksisitesinin insan sağlığına etkileri. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi* 2016; 25(4): 502-521.
- [21] Sönmez A Y, Kadak A E, Özdemir R C, Bilen S. Establishing on Heavy Metal Accumulation in Some Economically Important Fish Species Captured from Kastamonu Costal. *Alinteri Journal of Agriculture Science* 2016; 31(2): 84-90.
- [22] Rahimi E, Gheysari E. Evaluation of lead, cadmium, arsenic and mercury heavy metal residues in fish, shrimp and lobster samples from Persian Gulf. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2016; 22(2): 173-178.
- [23] Meucci V, Intorre L, Pretti C, Laschi S, Minunni M, Mascini M. Disposable electrochemical sensor for rapid measurement of heavy metals in fish by square wave anodic stripping voltammetry (SWASV). *Veterinary research communications* 2009; 33(1): 249-252.
- [24] Sherigara B S, Shivaraj Y, Mascarenhas R J, Satpati A K. Simultaneous determination of lead, copper and cadmium onto mercury film supported on wax impregnated carbon paste electrode: assessment of quantification procedures by anodic stripping voltammetry. *Electrochimica Acta* 2007; 52(9): 3137-3142.
- [25] Giacomino A, Redda A R, Squadrone S, Rizzi M, Abete M C, La Gioia C, Malandrino M. Anodic stripping voltammetry with gold electrodes as an alternative method for the routine determination of mercury in fish. Comparison with spectroscopic approaches. *Food chemistry* 2017; 221: 737-745.
- [26] Hanlan J, Skoog D A, West D M, Principles of Instrumental Analysis. *Studies in Conservation* 1973 doi: 10.2307/1505543.

- [27] Tural H, Gökçel Hİ, Ertaş F N, Enstrümental analiz I: elektroanalitik yöntemler. Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi Yayınları, Ege Üniversitesi Basımevi, 186, 315s. 2003.
- [28] J. Wang, Analytical Electrochemistry, 2. Baskı. 2000.
- [29] Scholz F. Voltammetric techniques of analysis: the essentials. ChemTexts 2015; 1(4):1-24.
- [30] Kissinger P T, Heineman W R. Cyclic voltammetry. Journal of Chemical Education 1983; 60(9): 702.
- [31] Carriedo G A. The use of cyclic voltammetry in the study of the chemistry of metal-carbonyls: An introductory experiment. Journal of Chemical Education 1988; 65(11): 1020.
- [32] Christensen P A, Hamnet A. Techniques and mechanisms in electrochemistry. Springer Science & Business Media 2007.
- [33] Brett C M, Brett O, Electrochemistry, A. M. Principles, methods and applications 1993.
- [34] Yadav S, Yadav B S, Chaudhary S, Pandya D K. Deposition potential controlled structural and thermoelectric behavior of electrodeposited CoSb₃ thin films. RSC advances 2017; 7(33): 20336-20344.
- [35] Mohamed M A, Jaafar J, Ismail A F, Othman M H D, Rahman M A.. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. In Membrane Characterization Elsevier 2017:3-29.
- [36] Cao, G. Nanostructures & nanomaterials: synthesis, properties & applications. 2nd ed Imperial college press 2004.
- [37] Şentürk E, Okur İ, Duman S, ve Akbulut, S., Nanoteknolojiye Giriş Kitabı. Değişim Yayıncılık, 2012.
- [38] Beşergil, B . Enstrümental Analiz Temel İlkeler. Gazi Kitabevi, Ankara 2015.

- [39] Alexandre M, Dubois P. Polymer-layered silicate nanocomposites: preparation, properties and uses of a new class of materials. *Materials science and engineering: R: Reports* 2000; 28(1-2): 1-63.
- [40] Jokela K, Väänänen A, Torkkeli M, Starck P, Serimaa R, Löfgren B, Seppälä J. Differential scanning calorimetry, small- angle X- ray scattering, and wide- angle X- ray scattering on homogeneous and heterogeneous ethylene- α - copolymers. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics* 2001; 39(16): 1860-1875.
- [41] Omid M, Fatehinya A, Farahani M, Akbari Z, Shahmoradi S, Yazdian F, Vashae, D. Characterization of biomaterials. In *Biomaterials for oral and dental tissue engineering* 2017: 97-115.
- [42] Ammann A A. Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP MS): a versatile tool. *Journal of mass spectrometry* 2007; 42(4): 419-427.
- [43] Resma N S, Meaze A M H, Hossain S., Khandaker M U, Kamal M, Deb N. The presence of toxic metals in popular farmed fish species and estimation of health risks through their consumption. *Physics Open* 2020; 5: 100052.
- [44] Zhang W, Xu Y, Tahir H E, Zou X, Wang P. Rapid and wide-range determination of Cd (II), Pb (II), Cu (II) and Hg (II) in fish tissues using light addressable potentiometric sensor. *Food chemistry* 2017; 221: 541-547.
- [45] Saei-Dehkordi S S, Fallah A A. Determination of copper, lead, cadmium and zinc content in commercially valuable fish species from the Persian Gulf using derivative potentiometric stripping analysis. *Microchemical Journal* 2011; 98(1): 156-162.
- [46] Augelli M A, Munoz R A A, Richter E M, Cantagallo M I, Angnes L. Analytical procedure for total mercury determination in fishes and shrimps by chronopotentiometric stripping analysis at gold film electrodes after microwave digestion. *Food chemistry* 2007; 101(2): 579-584.
- [47] Rowe A A, Bonham A J, White R J, Zimmer M P, Yadgar R J, Hobza T M, Plaxco K W. CheapStat: an open-source, “Do-It-Yourself” potentiostat for analytical and educational applications. *PloS one* 2011; 6(9): e23783.

Özgeçmiş

Adı Soyadı Erkan YILDIRIM

Eğitim

1995-2009 Afyon Kocatepe Üniversitesi, Endüstri Mühendisliği Bölümü
2004-2007 Anadolu Üniversitesi, Yerel Yönetimler Bölümü
2007-2010 Anadolu Üniversitesi, Kamu Yönetimi Bölümü
2013-2016 İstanbul Üniversitesi, Endüstri Mühendisliği Bölümü
2018-2021 İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi, Nanobilim ve Nanoteknoloji
A.B.D

İş Deneyimi

2002-2005 Marmara Üniversitesi Rektörlüğü
2005- - Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Dekanlığı

Seminerler

2007 Ege Üniversitesi Toplam Kalite Yönetimi
2017 Çalışma ve Sosyal Güvenlik Bakanlığı İş Sağlığı ve Uzmanlığı
Semineri
2019 Milli Eğitim Bakanlığı Nano Teknoloji Eğitim Refomu
2019 International 30 August Scientific Research Symposium, İzmir
2019 5th International Conference on Engineering Sciences (ICES),
Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Ankara,

Bildiriler

2019 M. Karakaya, M. Soysal, C. Özgel, E. Yıldırım, ‘Graphsense; PGE
Embedded Paper-Based Chip Platform’ International 30 August
Scientific Research Symposium, 2019, İzmir

2019 M. Soysal, M.Karakaya, E. Yıldırım, L. Cüçük, A. Kolkıran
'Determination of Silver Nanoparticle By ASV Method Using
Hydrothermally MoS₂ Modified PGE' 5th International Conference
on
Engineering Sciences (ICES), Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi,
Ankara, (2019)