T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

İÇME SULARINDA KUARTZ KRİSTAL MİKROTERAZİ SENSÖR İLE ARSENİK TESPİTİ

Hazırlayan
Kübra KESER

1. Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Çağrı SOYLU
2. Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Hamdi MIHÇIOKUR

Yüksek Lisans Tezi

Ağustos 2019
KAYSERİ

T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

İÇME SULARINDA KUARTZ KRİSTAL MİKROTERAZİ SENSÖR İLE ARSENİK TESPİTİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Hazırlayan
Kübra KESER

1. Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Çağrı SOYLU
2. Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Hamdi MIHÇIOKUR

Ağustos 2019
KAYSERİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.



Kübra KESER

YÖNERGEYE UYGUNLUK

"İçme Sularında Kuartz Kristal Mikroterazi Sensör ile Arsenik Tespiti" adlı Yüksek Lisans tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi'ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan

Kübra KESER

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Çağrı SOYLU

Biyomedikal Mühendisliği Ana Bilim Dalı Başkanı

Prof. Dr. Mehmet Emin YÜKSEL

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Çağrı SOYLU danışmanlığında **Kübra KESER** tarafından hazırlanan **"İçme Sularında Kuartz Kristal Mikroterazi Sensör ile Arsenik Tespiti"** adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyomedikal Mühendisliği** Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

09/08/2019

JÜRİ:

Başkan	: Prof. Dr. Mehmet Emin YÜKSEL
Üye	: Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Çağrı SOYLU
Üye	: Dr. Öğr. Üyesi Hamdi MIHÇIOKUR
Üye	: Dr. Öğr. Üyesi Şükrü Taner AZGIN
Üye	: Dr. Öğr. Üyesi Engin Cemal MENGÜÇ

ONAY:
Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun 20.08.2019 tarih ve 2019/48-22 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

20 / 08 / 2019

Prof. Dr. Mehmet AKKURT

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca farklı bakış açıları ve bilimsel katkılarıyla yolumu açan, yakın ilgi ve yardımlarını esirgemeyen ve bugünlere gelmemde en büyük katkı sahibi sayın danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Çağrı SOYLU ve Dr. Öğr. Üyesi Hamdi MIHÇIOKUR'a teşekkürü bir borç bilirim.

Bu tez çalışmasına maddi destek veren Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu'na (Proje No: 117S121) ve Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkür ederim.

Ayrıca; hem bu zorlu ve uzun süreçte hem de hayatım boyunca yanımda olan ve maddi, manevi desteklerini eksik etmeyen, değerli aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

Kübra KESER Ağustos 2019,

Kayseri

İÇME SULARINDA KUARTZ KRİSTAL MİKROTERAZİ SENSÖR İLE ARSENİK TESPİTİ

Kübra KESER

Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü
Yüksek Lisans Tezi, Ağustos 2019
1. Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Çağrı SOYLU
2. Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Hamdi MIHÇIOKUR

ÖZET

Arsenik dünya çapında yüzbinlerce ölümden sorumlu birinci sınıf bir kanserojendir. Halk sağlığı açısından, içme suyunda arseniğe maruz kalmayla ilgili temel endişe, acil durum toksisitesi değil, kanserojen özelliklere ve uzun süreli sağlık etkilerine uzun süre maruz kalınmasıdır. İçme suyu sistemlerinin arsenikli kirlenmesinin, yüzyılın en büyük çevresel sorunlarından biri olması çalışmayı gerekli kılmıştır.

Gerçek zamanlı, hızlı, yerinde küçük konsantrasyonlarda arsenik saptanması ve bunun biyolojik olarak izlenmesi akut veya kronik zehirlenme tanımlanmasında ve hastalıkların tedavisinde önemli bir rol oynar. Özellikle günümüzde, hidrit kaynaklı atomik absorpsiyon spektrometresi (HGAAS) ve endüktif çift plazma kütle spektrometresi (ICP-MS) yöntemleri, arsenik tayininde kullanılan en popüler teknikler arasındadır. Bu altın standart yöntemler yerine kullanılabilecek alternatif yöntemler araştırılmalıdır. Altın standart tekniklerin, özellikle su yönetim merkezlerinde yerinde, gerçek zamanlı, hızlı ve erken tespitin sistematik bir analizine adapte edilmesi zor görünmektedir ve yüksek vasıflı personel ile pahalı ve karmaşık enstrümantasyon gerektirmektedir.

Bu çalışmada rezonans frekansının değişmesiyle sensör yüzeyindeki toplam kütle değişimini 0,1 ng/cm^2 hassasiyetle tespit edebilen bir algılama cihazı olan Quartz Crystal Microbalance (QCM) kullanılmıştır. Sensör yüzeyi, sensörün stabilitesini arttırmak ve yeterli immobilizasyon için uygun bir yüzey sağlamak için (3 Merkaptopropil) trimetoksisilan (MPS) kaplama maddesine maruz bırakılmıştır. Arsenik (As)'ı tespit edebilmek için 2-Merkaptoetanol (ME) sensör yüzeyinde immobilize edilmiştir. ME immobilizasyonundan sonra, yüzey her bir konsantrasyon seviyesi için negatif kontrole ve en az 3 kez 3 farklı As konsantrasyonuna maruz bırakıldı. Sonuçlar, içme suyunda arsenikin 1 ng/mL hassasiyet seviyesinde tespit edildiğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Biyosensör; QCM; İçme Suyu Analizi; Arsenik

DETECTION OF ARSENIC IN DRINKING WATER WITH QUARTZ CRYSTAL MICROBALANCE SENSOR

Kübra KESER

Erciyes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences Master Science Thesis, August 2019
Supervisor: Dr. Mehmet Çağrı SOYLU
Dr. Hamdi MIHÇIOKUR

ABSTRACT

Arsenic is a first class carcinogen responsible for hundreds of thousands of deaths worldwide. In terms of public health, the main concern about the exposure to arsenic in drinking water is not immediate emergency toxicity, but of long-term exposure to carcinogenic properties and long-term health effects. The fact that arsenic contamination of drinking water systems is one of the biggest environmental challenges of our century made the study necessary.

Real-time, fast, *in situ* detection of Arsenic with small concentrations and its biological monitoring play a critical role in the identification of acute or chronic intoxication and in the treatment of diseases. Especially today, hydride-induced atomic absorption spectrometry (HGAAS) and inductive dual plasma mass spectrometry (ICP-MS) methods are among the most popular techniques used in arsenic determination. Alternative methods that can be used instead of these gold standard methods must be investigated. Gold standard techniques seem to be difficult to adapt to a systematic analysis of *in situ*, real-time, rapid and early detection, especially in water management centers, and require expensive and complex instrumentation with highly skilled personnel.

Quartz Crystal Microbalance (QCM) which is a sensing device to be able to detect total mass-change on sensor surface with 0,1 ng/cm^2 sensitivity by the change of resonance frequency has been used in this study. Sensor surface has been exposed to (3-Mercaptopropyl)trimethoxysilane (MPS) coating agent to increase the stability of sensor and provide a proper surface for sufficient immobilization. 2-Mercaptoethanol (ME) has been immobilized on the sensor surface to make it able to detect the Arsenic (As). After ME immobilization the surface has been exposed to negative control and 3 different concentrations of As at least 3 times for each concentration level. Results show that arsenic in drinking water has been detected at 1 ng/mL of sensitivity level.

Keywords: Biosensor; QCM; Drinking Water Analysis; Arsenic

İÇİNDEKİLER

İÇME SULARINDA KUARTZ KRİSTAL MİKROTERAZİ SENSÖR İLE ARSENİK TESPİTİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK i
YÖNERGEYE UYGUNLUK ii
ONAY iii
TEŞEKKÜR iv
ÖZET v
ABSTRACT vi
İÇİNDEKİLER vii
KISALTMALAR ve SİMGELER xi
TABLOLAR LİSTESİ xii
ŞEKİLLER LİSTESİ xiii
GİRİŞ 1

BÖLÜM 1

GENEL BİLGİLER

1.1. Arsenik 3
1.1.1. Arsenik Oluşumu ve Kaynakları 3
1.1.2. Arsenik Kimyası ve Özellikleri 5
1.1.3. İnorganik Arsenik Biyotransformasyonu 7
1.1.4. Arsenik'e Maruz Kalma Kaynakları 8
1.1.5. Arsenik Sağlık Etkileri ve Toksisitesi 9
1.1.6. Zehirlilik Mekanizması 14
1.1.7. Tedavi Yöntemleri 15
1.1.8. Biyobelirteçlerle Tanısı 16
1.1.9. Arsenik İçin Klavuzlar ve Standartlar 17
1.1.10. Epidemiyolojik Çalışmalar 18
1.2. Arsenik Tespit Yöntemleri 20

1.2.1. Ticari Yöntemler 20
1.2.1.1. Test Kitleri 20
1.2.2. Halihazırda Yaygın Kullanılan Yöntemler 21
1.2.2.1. Atomik Absorpsiyon Yöntemi 21
1.2.1.2.1 Hidrit Üretimi Atomik Absorpsiyon (AAS-HG) 23
1.2.1.2.2 Elektrotermal Atomik Absorpsiyon (AAS-GF) 24
1.2.2.2. Gümüş Diethyithithiocarbamate (SDDC) Yöntemi 24
1.2.2.3. İndüktif Eşleşmiş Plazma (ICP) Yöntemi 24
1.2.2.4. Kütle Spektrometresi (ICP-MS) 25
1.2.2.5. İndüktif Eşleşmiş Plazma-Optik Emisyon Spektrometresi (ICP-OES) 26
1.2.3. Gelişmekte Olan Yöntemler 27
1.2.3.1. Elektrokimyasal Yöntemler 27
1.2.3.1.1. Dönüşümlü voltametri (CV) 27
1.2.3.1.2. Elektrokimyasal İmpedans Spektroskopisi (EIS) 27
1.2.3.1.3. Anodik Sıyırma Voltametrisi 28
1.2.3.1.4. Voltametrik Yöntemler 29
1.2.3.1.5. Diferansiyel Puls Polarografisi 29
1.2.3.2. Optik Yöntemler 30
1.2.3.2.1. Optik Biyosensörler 30
1.2.3.2.2. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) 31
1.2.3.2.3. Işınım Biyosensörleri 31
1.2.4. Piezoelektrik Biyosensörler 32
1.2.4.1. Piezoelektrik Tarihçesi 32
1.2.4.2. Piezoelektrik Hakkında Teorik Bilgi 32
1.2.4.2.1. Ferroelektrik Özellik Ve Polarizasyon 32
1.2.4.2.2. Piezoelektrik Özellik 32
1.2.4.2.2.1. Piezoelektriklerde Sınırlamalar 34
1.2.4.2.3. Piezoelektrik Malzemelerin Kullanıldığı Yerler / Uygulama Alanları 34
1.2.4.2.3.1. Sensör 34

1.2.4.2.3.2. Üreteçler 35

1.2.4.2.3.3. Transdüserler 35

1.2.5. Kuvars Kristal Mikrodenge 35

1.2.5.1. Kuartz 37

1.2.5.2. Kuartzın Kullanım Alanları 38

1.2.5.3. Piezoelektrik Etki Ve QCM'in Çalışma Prensibi 38

1.2.6. QCM Uygulamaları 39

BÖLÜM 2

YÖNTEM VE METODLAR

2.1. Deney Malzemeleri ve Kimyasalları 42

2.1.1. Kullanılan Cihazlar 42

2.1.2. Kullanılan Kimyasallar 43

2.1.3. Kullanılan Deney Düzeneği 44

2.2. Yöntem 45

2.3. Biyosensör Yüzey Modifikasyonu 47

2.3.1. QCM Sensör Temizliği 47

2.3.2. MPS Kaplama 47

2.3.3. Reseptörlerin İmmobilizasyonu 48

2.3.3.1. BAL ve ME Solüsyonlarının Hazırlanması ve Uygulanması 49

2.3.3.2. ME Kaplamanın Doğrulanması 50

2.4. Kaplama İşlemlerinin Doğrulanması 51

2.5. PAO Tayini İçin Reaksiyonlar 51

2.5.1. 3 Farklı Yüzey İşlevselleştirme Yönteminin PAO Yönünden Kıyaslanması 52

BÖLÜM 3

BULGULAR VE SONUÇLAR

3.1. Deney Aşamalarının Frekans Analizi 54

3.1.1. Saf suda PAO Tespiti 59

3.1.2. İçme suyunda PAO Tespiti..... 60

3.2. Atomik Kuvvet Mikroskopu(AFM) ile Yöntem 3'ün Teyiti 62

3.3. İstatistiksel Analiz 64

BÖLÜM 4

TARTIŞMA-SONUÇ ve ÖNERİLER

KAYNAKÇA 67

ÖZGEÇMİŞ..... 77

KISALTMALAR ve SİMGELER

Sembol	Anlamı	Birimi
QCM	Kuartz Kristal Mikrodenge	-
MPS	(3-Mercaptopropyl)trimethoxysilane	-
BAL	2,3-Dimercapto-1-propanol	-
PAO	Fenil Arsin Oksit	-
DIW	Deiyonize Su	-
ME	2-Mercaptoetanol	-
Hz	Hertz	
(s^{-1})		
ω	Açısal Hız	(w)
I	Akım	(A)
Δm	Birim alandaki kütle değişimi	(g/cm^{2})
R	Direnç	(ohm)
Z	Empedans	(ohm)
V	Gerilim	(V)
f_0	Kristalin temel rezonans frekansı	(Hz)
f	Frekans	(Hz)
dk	Dakika	(s)
s	Saniye	(s)
mL	Mililitre	(L)
μL	Mikrolitre	(L)
mg	Miligram	(N)
ng	Nanogram	(N)
nL	Nanolitre	(L)

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1.1. Arseniğin Kimyasal Özellikleri 3
Tablo 1.2. Arsenik Oluşum Süreci.....5
Tablo 1.3. Organik Arsenik Bileşiklerin Moleküler Formülü.....6
Tablo 1.4. İnorganik Toksisite.....10
Tablo 1.5. Organik Toksisite 10
Tablo 1.6. TS 266 İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik.....18
Tablo 1.7. Yaygın Kullanılan Arsenik Test Kitleri.....21
Tablo 1.8. Bazı Elementlerin Tayin Sınırlarının Karşılaştırılması (µg/L).....26
Tablo 1.9. Kuartz Kristalinin Özellikleri 37
Tablo 2.1. Test Edilmiş Yüzey Modifikasyon Yöntemleri.....46

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. Arsenik örneği ... 3
Şekil 1.2. Su kontaminasyonu ... 4
Şekil 1.3. Doğal ve antropojenik arsenik kaynakları ... 4
Şekil 1.4. Arsenik bileşikleri ... 5
Şekil 1.5. Arsenik formlarının kimyasal döngü ... 7
Şekil 1.6. Arsenik alımı ve biyotransformasyonu ... 7
Şekil 1.7. Arsenik maruziyetini etkileyebilecek deniz ürünlerinin yapısı ... 8
Şekil 1.8. Arseniğin enzim sisteminin çalışmasını bloke etmesi ... 11
Şekil 1.9. Arseniğin ATP oluşumunu engelleme reaksiyonu ... 11
Şekil 1.10. Arseniğin biyolojik sistemde kansere yol açan etkileşimleri ... 12
Şekil 1.11. Arsenik konsantrasyonu ve sağlık riski ... 12
Şekil 1.12. Kronik arsenik maruziyetine bağlı arsenikozis hastalarına ait resimler ... 13
Şekil 1.13. Denenmiş olan BAL şelatı ... 15
Şekil 1.14. Arsenik toksisitesine karşı koruyucu ve tedavi edici stratejiler ... 16
Şekil 1.15. Test şeritleri ... 21
Şekil 1.16. AAS bileşenleri ... 22
Şekil 1.17. AAS uygulama alanlarından bazıları (Kimya Endüstrisi, Su Kalitesi, Eğitim ve Araştırma) ... 24
Şekil 1.18. Atom ve iyonların uyarılması ... 25
Şekil 1.19. ICP-MS kullanım alanları ... 25
Şekil 1.20. Atomik absorpsiyon ve diğer yöntemlerin bazı parametreler açısından karşılaştırılması ... 26
Şekil 1.21. Randles devresinin şematik görünümü ... 28
Şekil 1.22. Anodik sıyırma voltametrisinde biriktime ve sıyırma basamakları ... 29
Şekil 1.23. Damlayan cıva elektrodunda damla ömrüne göre faradayik ve kapasitif akımın kıyaslaması ... 30
Şekil 1.24. Optik biyosensör yapısı ... 31
Şekil 1.25. HPLC sistemi ... 31
Şekil 1.26. Piezoelektirik etki ... 33
Şekil 1.27. Sistematik diyagram ... 35
Şekil 1.28. QCM sensörleri ... 36

Şekil 1.29. Kütleye bağlı frekans kayması 37
Şekil 1.30. Kuartz kristali 37
Şekil 2.1. QCM cihazı 42
Şekil 2.2. MPS yapısı 43
Şekil 2.3. ME yapısı 44
Şekil 2.4. BAL yapısı 44
Şekil 2.5. PAO yapısı 44
Şekil 2.6. Deney düzeneği 45
Şekil 2.7. Yüzey modifikasyon yöntemlerinin illüstrasyonu 45
Şekil 2.8. MPS kaplamanın yüzey ile etkileşimi 48
Şekil 2.9. BAL'ın MPS ile etkileşimi 49
Şekil 2.10. ME'nin MPS ile etkileşimi 49
Şekil 2.11. BSA kaplama blok diyagramı 51
Şekil 2.12. a) Temel şartlar altında altın yüzey üzerinde asidik MPS'in bazik MPS ile reaksiyonu b) Temel şartlar altında altın yüzey üzerinde asidik MPS'in bazik BAL ile reaksiyonu c) Temel şartlar altında altın yüzey üzerinde asidik MPS'in ME ile reaksiyonu 52
Şekil 3.1. MPS kaplama işleminin QCM ile takibi 54
Şekil 3.2. ME kaplama işleminin QCM ile takibi 55
Şekil 3.3. BSA kaplama işleminin QCM ile takibi 56
Şekil 3.4. BSA kaplama işleminin QCM ile takibi 57
Şekil 3.5. BSA kaplama işleminin QCM ile takibi 57
Şekil 3.6. Yöntem 1, 2 ve 3 ile Kontrol (0 ng/ml PAO) Frekans Kaymalarının Karşılaştırılması İşleminin QCM İle Takibi 58
Şekil 3.7. Yöntem 1,2 ve 3 ile PAO (100 ng/ml) frekans kaymalarının karşılaştırılması işleminin QCM ile takibi 58
Şekil 3.8. Yöntem 3 ile saf suda frekans kaymaları 60
Şekil 3.9. Yöntem 3 ile içme suyunda frekans kaymaları 60
Şekil 3.10. Saf Su ve İçme Sularında Farklı Konsantrasyonlarda PAO İçin Frekans Kaymalarının Mukayesesi 61
Şekil 3.11. 0.25 cm^2 Altın Kaplamalı Cam Yüzey Üzerine Kaplamaların AFM Analizi 63

GİRİŞ

Günümüzde endüstriyel işlemler sırasında içme sularına mineral ve madenler, volkanik hareketler, orman yangınları, kayaların aşınması, ya da tarım ilacı olarak kullanılması sonucu çeşitli melatoidler karışmaktadır. Bildirilen bu zararlı melatoidler içerisinde arsenik, içme sularında bilinen en toksik madde olarak bütün dünyada liste başındadır. Tüm bu nedenlerden dolayı çok yetenekli personel, pahalı ve kompleks enstrümantasyon gerektirmeyen; yerinde, hızlı, duyarlı ve spesifik ölçümler yapabilen Kuartz Kristal Mikrodenge (QCM) tabanlı sensör kullanılarak içme sularında nanogram aralıkta düşük algılama limitlerinde (LD) arseniğin tespiti ve analizi konulu tez yazılmıştır.

İçme sularındaki arsenik analizindeki problemleri aşacak tespit yönteminin gerçekleştirilmeye çalışılması, düşük algılama limitlerinde (LD) algılama performanslarının yüksek hassasiyetle elde edilmesi ve hali hazırda kullanılan ve gelişme altında olan teknolojilere oranla hız ve maliyetten ödün verilmemesi tezin amacını ihtiva etmektedir.

İçme suyunda arsenik tespiti aşamasında, bu kadar hassas seviyede tespite imkan sunan, kolay, hızlı olan ve deneyimli personel gerektirmeyen bir sistem olmaması çalışmanın çıkış noktası temsil etmektedir. Arsenik analizi için takip edilmiş olan bu çalışmadaki prosedürün ilgili alanda diğer çalışmalarda kullanılmamış olması, yerinde, güvenilir, hassas (1 ng/mL hassasiyette), uygun yüzey modifikasyonuna sahip, spesifik olmayan bağlantılar gerçekleşmeyecek şekilde 30 dakikalık bir süre içerisinde tespitin gerçekleştirilmiş olması tezin önemini ortaya koymaktadır.

Çalışmada rezonans frekansının değişmesiyle sensör yüzeyindeki toplam kütle değişimini 0,1 ng/cm^2 hassasiyetle tespit edebilen bir algılama cihazı olan Quartz Crystal Microbalance (QCM) kullanılmıştır. Sensör yüzeyi, sensörün stabilitesini

arttırmak ve yeterli immobilizasyon için uygun bir yüzey sağlamak için (3 Merkaptopropil) trimetoksisilan (MPS) kaplama maddesine maruz bırakılmıştır. Arsenik (PAO)'ı tespit edebilmek için 2-Merkaptoetanol (ME) sensör yüzeyinde immobilize edilmiştir. ME immobilizasyonundan sonra, yüzey her bir konsantrasyon seviyesi için negatif kontrole ve en az 3 kez 3 farklı As konsantrasyonuna maruz bırakılmıştır. Sonuçlar, içme suyunda fenilarsin oksitin (PAO) 1 ng/mL hassasiyet seviyesinde tespit edildiğini göstermektedir.

Ayrıca arseniğin hızlı ve doğru algılanma performansı sayesinde morbidite ve mortalite oranları ciddi oranda düşecek ve sensörün ilgi konusu diğer elementlerin analizi için kullanılma yolu açılacağı, ilerleyen aşamalarda ağır metal tayini için yerinde, hızlı ve portatif taşımaya olanak sağlayacak elektrokimyasal örnek olacağı düşünülmektedir.

BÖLÜM 1

GENEL BİLGİLER

1.1. Arsenik

1.1.1. Arsenik Oluşumu ve Kaynakları

Arsenik 2 mg/L ortalama konsantrasyonu, 5,78 g/cm^3 yoğunluğu ve 33 atom numarası ile yer kabuğunda doğal olarak oluşan, doğada genellikle kristal formda bulunan, ağır metal grubunda yer alan bir metaloiddir ve içme sularında bilinen en toksik madde olarak bütün dünyada liste başındadır. Şekil 1.1.'de bir arsenik örneği ve Tablo 1.1.'de kimyasal özellikleri görülmektedir.

Gri ve sarı kristaller halinde iki ayrı biçimde bulunan ve bileşikleri M.Ö. 4.y.y.'den beri bilinen arsenik, element olarak ancak 17.y.y.'de tanımlanabilmiştir. İlk kez serbest element halinde tanımlayan, 1649'da Alman Eczacı Johann Schroeder'dir. Arsenik bakır, kurşun gibi metallerin eritilmesi ile yan ürün olarak da oluşabilmektedir. Diğer türlerine göre daha kararlı olan ve doğada daha bol bulunan gri (metalsi) arsenik kolay kırılır, oksitlendiğinde kararır ve yüksek sıcaklıklara kadar ısıtıldığında süblimleşir.



Şekil 1.1. Arsenik örneği [1]

Tablo 1.1. Arseniğin Kimyasal Özellikleri

Sembol	As
Atom Numarası	33
Valans Kabuk Yapısı	$4s^2 4p^3$
Yoğunluk (g/cm^3)	5,73
Elemental Yapı	Polimer
Atom Ağırlığı	74,9216
Kristal Formu	Gri Metal
Radyoaktif İzotopları	As-72, As-74 ve As-76

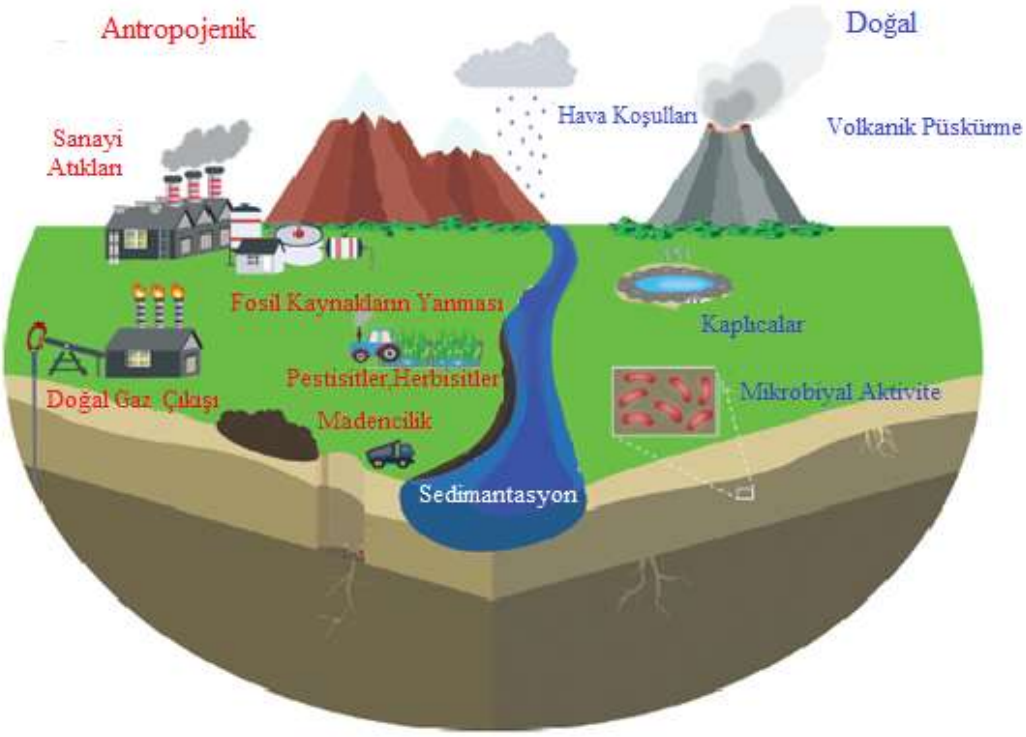
Arsenik akut toksisitesi kimyasal formuna bağlıdır. Gaz formu en toksik formudur. Doğada en çok bulunan formu inorganik arseniklerden arsenik trioksittir. Arsenik ppm'den ppd'ye değişen konsantrasyonlarda doğada 20'inci, deniz suyunda 14'üncü ve insan vücudunda 12'inci sırada yer almaktadır [1-4]. Deniz suyundaki As derişimi 2 μg/L civarında iken, toprakta genellikle 1-40 μg/g'dır. Bitkilerdeki arsenik oranı bitkinin bulunduğu coğrafi konum, topraktaki arsenik miktarı ve çevresel etmene bağlı olarak farklılık gösterir.

İlk olarak 2500 yıl önce solunum problemlerinin düzeltilmesi, güzellik ve bulaşıcı hastalıkların tedavisi için antimikrobiyal ajan olarak kullanımından bu yana endüstri, tarım, metalurji ve akut promiyelositik lösemi tedavisi gibi tıbbi amaçlar için kullanılmaktadır.

Çevrede kayalar, toprak, su, hava ve biyotatta oluşur. Toksik, mutajenik ve kanserojenik olarak bilinen arsenik ile kirlenmiş doğal sular önemli bir çevre sorundur [5]. Suda As kirliliğinin en temel kaynağı mineral ve madenler, volkanik hareketler, orman yangınları, kayaların aşınması, endüstriyel ve tarımsal kirlilik besin koruyucu ya da tarım ilacı olarak kullanılmasıdır. Ayrıca iklim reaksiyonları, biyolojik aktivite ve volkanik emisyonlar gibi doğal koşulların yanı sıra, fosil yakıtların yanması, arsenikli herbisit, hayvan yemi katkı maddesi olarak arsenik kullanımı arsenik kirliliğini arttırmaktadır [1,10]. Şekil 1.3, doğal ve antropojenik arsenik kaynaklarını göstermektedir.



Şekil 1.2. Su kontaminasyonu [11]



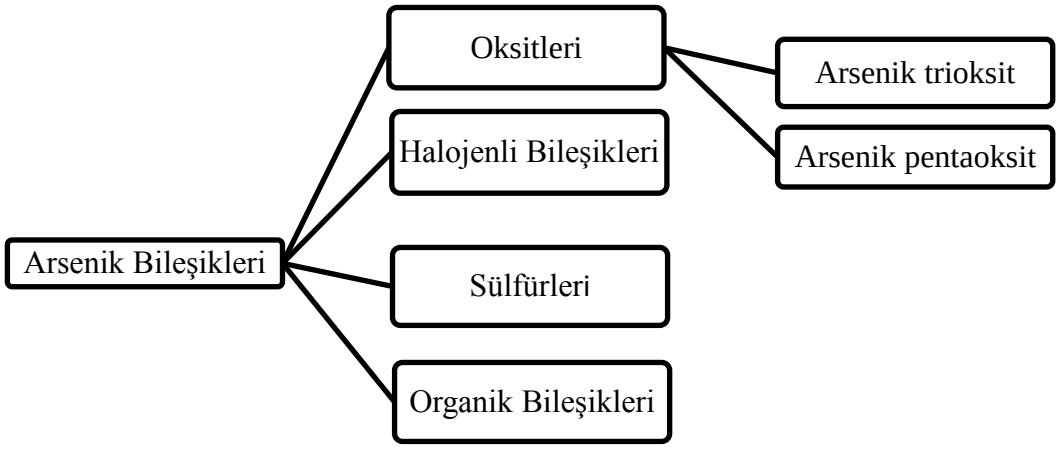
Şekil 1.3. Doğal ve antropojenik arsenik kaynakları [12]

Tablo 1.2. Arsenik Oluşum Süreci

MATERYAL	KONSANTRASYON As (mg/kg)	SÜREÇ
VOLKANİK MATERYALLER		Magma ve lavların donmasıyla
Bazalt	< 1-113	
Granitler	< 1-15	
Kumtaşları	< 1-120	
BÜYÜK ARSENİK MİNERALLERİ	**KİMYASAL FORMÜLÜ**	
Doğal Arsenik	As	Hidrotermal
Realgar	AsS	Damarlarda Katmanlaşma, Kireçtaşları
Kobaltite	CoAsS	Yüksek Sıcaklıklarda Katmanlaşma, Metamorfik Kayaçlar

1.1.2. Arsenik Kimyası ve Özellikleri

Arsenik pH=6,5-8,5 aralığında ağır metaloidler arasında en benzersizidir, minerallerin önemli bir bileşeni olarak ortaya çıkar ve dört oksidasyon durumunda, As(V) (arsenat), As(III) (arsenit), As (0)(arsenik) ve As(−III) (arsin) bulunur.



Şekil 1.4. Arsenik bileşikleri

Oluşumu, dağılımı, formları, pH koşulları, redoks reaksiyonları ve su kimyası gibi çeşitli jeokimyasal faktörleri temel alır.

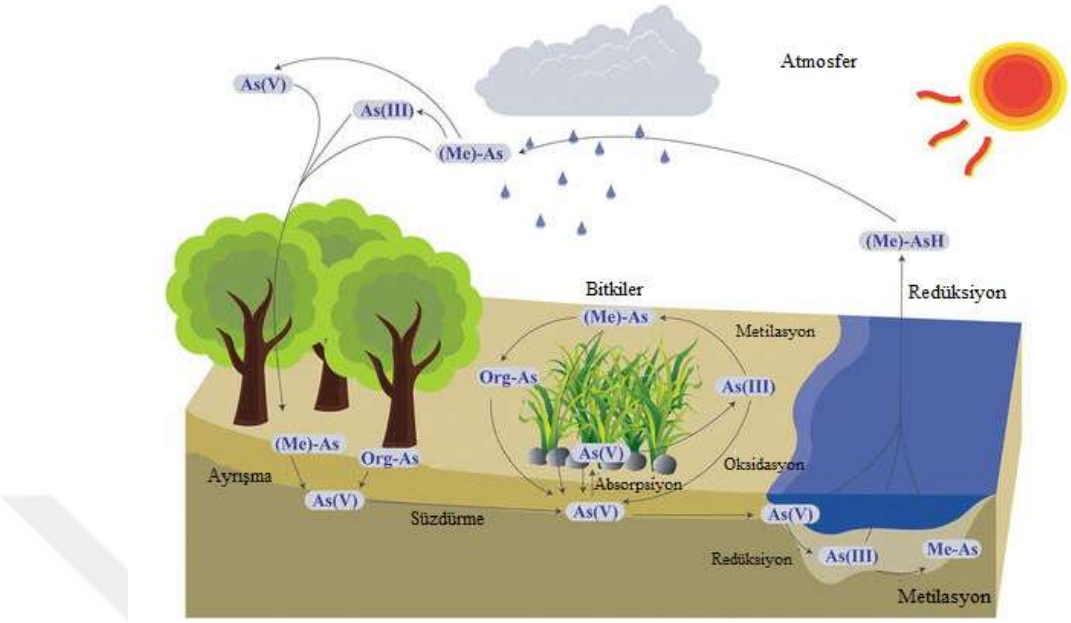
Temel olarak 2 formdan oluşur: İnorganik ve Organik arsenik. Organik arsenik türleri denizlerde bol bulunur ve monometil arsenik asit (MMAA), dimetil arsenik asit (DMAA) ve arseno-şekerler gibi formları içerir. Sağlığa çok daha az zararlıdır ve vücut tarafından kolay atılır.

Tablo 1.3. Organik Arsenik Bileşiklerin Moleküler Formülü

Bileşik	Formülü ve Yapısı
Metilarsin	**CH_3AsH_2**
Dimetilarsin	**$(CH_3)_2AsH$**
Trimetilarsin	**$(CH_3)_3As$**
Monometilarsonikasit	**$CH_3AsO(OH)_2$,MMA^V**
Dimetilarsinikasit	**$(CH_3)_2AsO(OH)$,DMA^V**
Trimetilarsinik oksit	**$(CH_3)_3AsO$,TMAO**
Tetrametilarsonyum iyonu	**$(CH_3)_4As^+$,TMA^+**

İnorganik arsenik genellikle arsenit As(III) ve arsenat As(V) içerir. Azaltılmış üç değerlikli arsenit [As (III)] formu normalde yeraltı sularında, oksitlenmiş pentavalent formu [As(V)] yüzey suyunda bulunur.

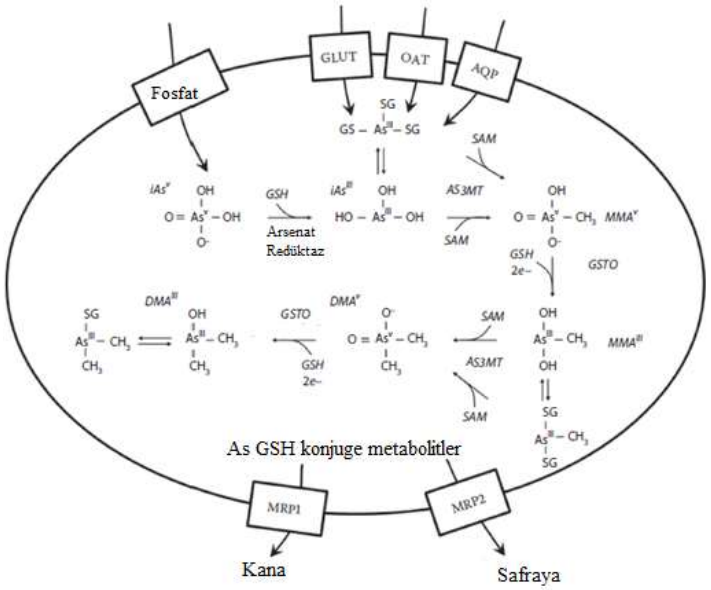
As(III); $H_4AsO_3^+$,H_3AsO_3,$H_2AsO_3^-$,$HAsO_3^{2-}$ ve AsO_3^{3-} olmak üzere beş farklı formda; As(V) pH bazlı sulu çözeltide H_3AsO_4,$H_2AsO_4^-$ $HAsO_4^{2-}$, AsO_4^{3-} dört formda bulunur. Ayrıca hem pentavalent hem de üç değerlikli formlardaki inorganik arsenik (iA) su, toprak, hava ve gıdada değişen konsantrasyonlarda her yerde bulunur. As(V)'in iyonik formları pH>3'te baskın, As(III) pH<9'da nötr ve pH>9 da iyonik formdadır. As(III) ,insanlarda genellikle daha zehirlidir ve suda As(V)'ten en az 4 kat daha fazla çözünebilir [13].



Şekil 1.5. Arsenik formlarının kimyasal döngü [12]

1.1.3. İnorganik Arsenik Biyotransformasyonu

Alınan inorganik arseniklerin (iAs) en az % 90'ı bağırsaktan emilir. Monometilarsonik asit (MMAV) veya dimetilarsinik asit (DMAV) dahil inorganik arsenik metabolitleri de gastrointestinal sistemden kolayca emilebilir [14]. Arsenik ve iAsV, iAsIII, MMAV ve DMAV gibi metabolitlerinin çoğu idrarla atılır, DMAV en baskın idrar metabolitidir (DMAV> MMAV> iA) [15].



Şekil 1.6. Arsenik alımı ve biyotransformasyonu [16]

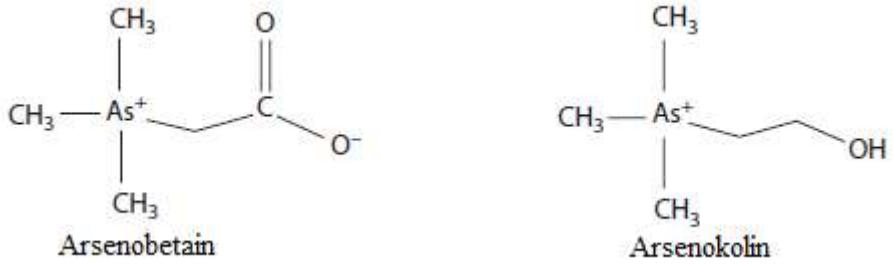
iAsIII, üç değerlikli inorganik arsenik (arsenit); MMAV, monometillersonik asit; MMAIII, monometillersonik asit; DMAV, dimetilarsinik asit; DMAIII, dimetilarasidi; AQP, aquaporinler; GLUT, glukoz taşıyıcı; MRP, çoklu ilaç direnci ile ilişkili proteinler; OAT, organik anyon taşıyıcıları; AS3MT, arsenik metiltransferaz; GSH, glutation; GSTO, glutation S-transferaz omega; SAM, S-adenosilmetionin.

1.1.4. Arsenik'e Maruz Kalma Kaynakları

Arsenik insana yutma, soluma, deriye temas etme yoluyla geçer. Bunlardan en etkin olanları soluma ve yutmadır.

İnsanlara arsenik maruziyetinin ana kaynakları yiyecek, içme suyu ve kirli hava ve toprağı içerir. Yiyecek, insanlar için günlük arsenik alımına ana katkı maddesidir, ancak genellikle 1 mg/kg'dan daha düşük seviyelerde bulunur [17].

Daha yüksek seviyelerde arsenik genellikle deniz balıklarında, kabuklu deniz hayvanlarında, etlerde, kümes hayvanlarında, süt ürünlerinde ve tahıllarda bulunur.



Şekil 1.7. Arsenik maruziyetini etkileyebilecek deniz ürünlerinin yapısı [18]

Daha yüksek seviyelerde arsenik genellikle deniz balıklarında, kabuklu deniz hayvanlarında, etlerde, kümes hayvanlarında, süt ürünlerinde ve tahıllarda bulunur. Bu organik arsenikler, kanda arsenik seviyelerinin yükselmesine neden olabilir, ancak idrarda değişmeden hızla atılırlar. Arsenik içeren suyun içme suyu olarak kullanılması, sindirim yoluyla arsenik alımının bir başka yoludur.

Çoğu ülkede yeraltı suyunda arsenik konsantrasyonları 10 µg/L altında, yer altı suyunda arsenik konsantrasyonları değişimi ise 0,5 ile 5000 µg/L arasında değişebilir [19]. Günlük 1.5 L su tüketildiğini varsayarsak, günlük arsenik alımı 0,015 mg/gün olacaktır.

İçme suyundaki yüksek arsenik seviyelerinin insan sağlığı üzerinde olumsuz etkisi olduğu fark edildiğinden Dünya Sağlık Örgütü (WHO), 2003 yılında, içme sularındaki inorganik arseniği, kanser yapıcı olarak belgelendirmiş ve en yüksek kabul edilebilir seviyeyi 10 µg/L olarak önermiştir [20]. Türkiye'de ise, Sağlık Bakanlığı tarafından hazırlanan ve TSE 266 sayılı standart ile içme sularındaki arsenik miktarı <10 µg/L olarak belirlenmiştir [21].

Havadaki en önemli arsenik kaynakları kömür yakma ve metal eritmedir. Normal şartlar altında havadan arsenik alımının 0,24 µg/günü aşmaması gerekmektedir. Kentsel bölgelerdeki arsenik konsantrasyonları daha yüksektir.

Toprak oldukça değişken arsenik konsantrasyonları içerir ve tahmini ortalama arsenik konsantrasyonu, 7,2 mg/kg ile 0,1-55 mg/kg aralığındadır [22]. Topraklardaki yüksek arsenik seviyeleri böcek ilacı, gübre, madencilik ve eritme faaliyetlerinden kaynaklanır.

Arsenik'e mesleki olarak maruz kalma, arsenik içeren malzemelerin (cevherlerin veya yan ürünlerin) işlenmesi, bakır ve kurşun eritme, kömür yanması gibi arseniklerin üretimi ve kullanılmasını içeren işyerlerinde meydana gelir. Arsenik trioksit ve arsin, mesleki maruziyette en sık kullanılan arsenik bileşikleridir. Bu nedenle, mesleki arsenik maruziyetinin çoğu inhalasyon yoluyla meydana gelir bu maruziyet nadir olmakla birlikte, maruziyetten kaynaklanan arsenik toksisitesi sıklıkla ciddi zehirlenmelere ve bazen de ölümlere neden olmaktadır.

Bir diğer maruziyet kaynağı lösemi, cilt hastalıkları (sedef hastalığı, dermatit ve ekzema), dişeti iltihabı gibi hastalıkların tedavisinde kullanılan ilaçlardır.

Cilt teması yoluyla maruziyette ise dermal emilimin çoğu, arsenik kimyasallarına, kozmetik maddelere ve arsenik taşıyan böcek ilaçlarına maruz kalma gibi mesleki maruz kalma sonucu meydana gelmiştir.

1.1.5. Arsenik Sağlık Etkileri ve Toksisitesi

Arsenik güçlü bir zehirdir ve Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (ABD EPA) tarafından I. Grup kanserojen olarak sınıflandırılmıştır. Ayrıca Toksik Maddeler ve Hastalık Kayıt Ajansı tarafından 20 tehlikeli madde listesindedir [23].

Arsenik toksisitesi, tehlikeli arsenik seviyelerinin içilmesi, emilmesi veya solunmasından kaynaklanan tıbbi bir durumdur ve kilogram vücut ağırlığı başına bileşenin miligramı olarak ifade edilir (LD50).

Arsenik insana; maruz kalma, yutma, inhalasyon veya cilt absorpsiyonu yoluyla geçebilir. Belirli miktarda zaman içinde alım miktarına ve arsenik türlerine bağlı olarak farklı semptomlara sahip olan iki tip arsenik toksisitesi, akut arsenik toksisitesi ve kronik arsenik toksisitesi vardır.

Bileşiklerin toksisitesi değerlik durumuna (−3, 0, +3, +5), kimyasal şekline, vücuda girişine, alınan miktarına ve alınma süresine, gıda içindeki reaksiyonu etkileyen elementlerin varlığına, çözünürlüğe bağlıdır. Arsenit formu sağlık üzerinde en etkin (yaklaşık 60 kat etkin) toksik özelliğe sahiptir.

Tablo 1.4. İnorganik Toksisite [24]

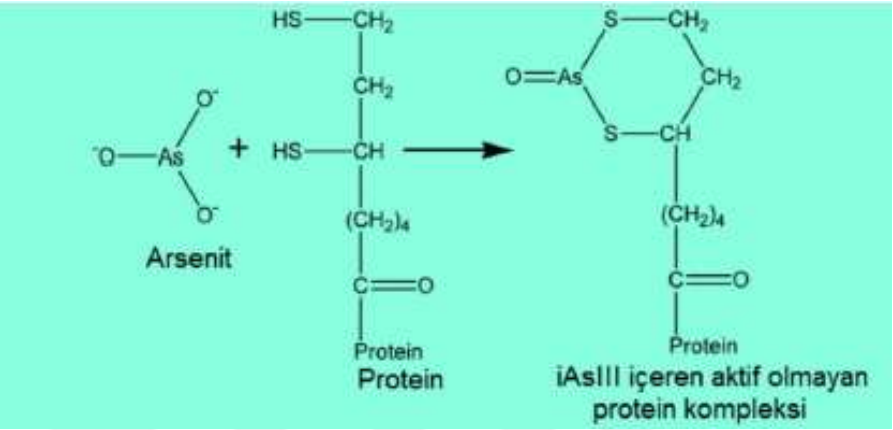
İnorganik Arsenik Türü	**Reaksiyon Hedefi**	**Reaksiyon Sonucu**
Arsenite (As(III))	Sülfidril Grupları	Hücresel enzimlerin inhibisyonu
Arsenat (AS(V))	ADP	ATP enerjisinde azalma
Arsine	Kırmızı Kan Hücreleri	Geri dönülemez tehlikeler
Fenil Arsin Oxide	Sülfidril Grupları	Biyolojik dokuda birikim Toksik mekanizma

Tablo 1.5. Organik Toksisite [25]

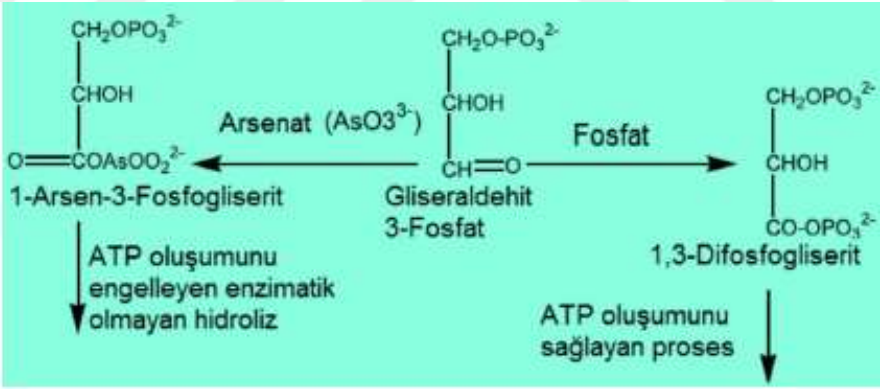
Arsenik Formu	**Oral LD50 (mg/kg)**
Sodyum Metaarsonat	102
MMA	961
DMA	1315
Arsenobetan	>10.000

Toksisite etkisi kısa sürelerde “akut” toksisite ya da uzun sürelerde “kronik” toksisite olmak üzere iki şekilde ortaya çıkmaktadır.

Yüksek dozda arseniğe maruziyet gastrointestinal semptomlar (iştahsızlık, kusma, ishal vb.), cilt lezyonları, diyabetes mellitus, kronik bronşit, kardiyovasküler ve sinir sistemi hastalıkları (kas krampları, kalp şikayetleri), periferik nöropati, kanser (akciğer, karaciğer, uterus, cilt kanseri), ani düşük, ölü doğum ve erken doğum, hepatosellüler karsinoma, hematolojik etkiler ve yavaş ve acılı ölüme neden olur.

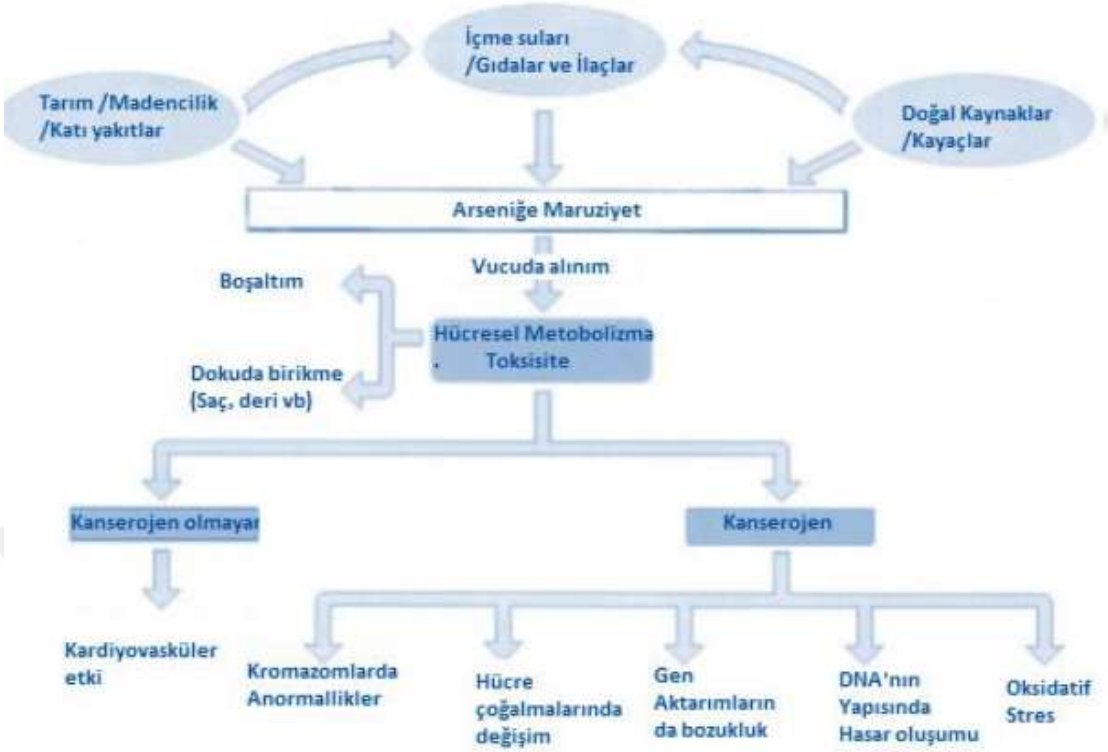


Şekil 1.8. Arseniğin enzim sisteminin çalışmasını bloke etmesi [26]



Şekil 1.9. Arseniğin ATP oluşumunu engelleme reaksiyonu [26]

Çeşitli epidemiyolojik çalışmalar arseniğe içme suyu, inhalasyon ve besin alımı gibi yollarla maruz kalındığında insanlarda arseniğin kanserojen etkilerini göstermiştir [27-29].



Şekil 1.10. Arseniğin biyolojik sistemde kansere yol açan etkileşimleri [30]



Şekil 1.11. Arsenik konsantrasyonu ve sağlık riski [31]

Düşük konsantrasyonlarda maruziyetin ilk semptomları siyah-kahverengi deri pigmentasyonu ve avuç içlerinde keratoz olarak bilinen tabanların sertleşmesidir [32].

Total doku arsenik birikimi böbrek >> akciğer >> idrar kesesi >> cilt >> kan >> karaciğer şeklinde gerçekleşir. Ayrıca arsenik iç organlara semptomlar göstermeden de saldırabilir. Bu durum zehirlenmenin fark edilmesini zorlaştırır.

Kronik arsenik alımının neden olduğu semptomlar arsenicosis olarak bilinir ve akut zehirlenmede karın ağrısı, ishal, kramp, lösemi, anemi, pulmoner ödem ve solunum yetmezliği şeklinde ortaya çıkar. Aynı zamanda bazı bölgelerde siyah ayak hastalığı olarak bilinen bacaklarda kangrene yol açar.

İçme sularında saptanan arseniğin düzeylerine göre 100 µg/L'nin üzerinde çeşitli kanser risklerindeki artış, 200 µg/L'nin üzerinde arsenikozis, 400-600 µg/L seviyelerinde damar sistemi hasarı gibi sağlık etkileri farklılık göstermektedir.



Şekil 1.12. Kronik arsenik maruziyetine bağlı arsenikozis hastalarına ait resimler [33]

Doğrudan sağlık etkilerine rağmen su tüketimi öncesi adsorpsiyon, zengin gıda tüketimi ve arsenik içermeyen su bulma imkansız olduğu için nanomolar seviyelerde arsenik

içeren suların tüketimi alınabilecek sınırlı sayıdaki önlemlerdendir.

1.1.6. Zehirlilik Mekanizması

İnsan arsenik toksisitesinin erken döneminde meydana gelen klinik semptomlar spesifik değildir. Arsenik toksisitesinin klinik belirtileri karmaşıktır, çünkü bu semptomlar diğer birçok hastalığa oldukça benzerdir. Toksisitesinin derecesi doza ve arsenik maruz kalma süresine bağlıdır. Dolayısıyla, kronik arsenik toksisitesi ve akut toksisitesi tamamen farklıdır.

Kronik etkide dermal lezyonlar yaygındır.

Genellikle yüksek dozda (örn. 0,04 mg/kg/gün) maruz kalma durumunda 6 ay ile 3 yıl arasında; düşük maruz kalma oranlarında (örn. 0,01 mg/kg/gün) 5–15 yıl içinde görünebilir [34].

Akut arsenik toksisitesinin klinik semptomları ise 30-60 dakika içinde meydana gelir. Acil semptomları arasında kusma, idrarda kan, karın ağrısı, diyare bulunur.

Bunları ekstremitelerde uyuşukluk ve karıncalanma, kaslarda kramp ve ölüm takip eder. İnsanlar için tek oral öldürücü doz yaklaşık 2 mg/kg'dır.

Akut arsenik toksisitesi ile karşılaştırıldığında, kronik arsenik toksisitesi semptomları oldukça gizlidir, yıllarca sonra net olarak ortaya çıkabilir. Bu nedenle, idrarda toplam arsenik konsantrasyonları kontrol edilmedikçe ve insanlarda arsenik maruziyeti için bir biyobelirteç olarak yaygın olarak kullanılmadıkça arsenik toksisitesini teşhis etmek için çok geç kalınmış olur [35-38].

% 80-90 arasında çözünür arsenik bileşikleri gastrointestinal sistemden emilir. Emiliminden sonra arsenik karaciğere, kalbe, akciğerlere ve böbreklere saldırır ve kaslarda ve sinir dokularında kendini gösterir.

Yolak şu şekildedir:

1- Arsenik absorbe edildiğinde biyolojik olarak toksik trivalent arsenik haline dönüştürülür. MMA ve DMA daha az toksiktir ve vücuttan daha kolay atılır.

2- Arsenik (III), enzim içeren tiyol grubuna bağlanır. Arsenik + 5'in arsenik +3 e

indirgenmesi enzimler ve glutation'un önemli bir rol oynadığı ve proseste arsenik tiyollerinin fizyolojik sistemde oluştuğu enzimatik olmayan indirgeme ile yapılır. Arsenik ile glutation ve diğer enzimlerin etkileşimi biyolojik fonksiyonlarını değiştirebilir.

3- MMA ve DMA oldukça toksik bir durumda olan tiyol gruplarıyla reaksiyona girdiklerinde üç değerli arsenik haline dönüştürülür. Arsenik +3 durumu ayrıca enzimatik aktivite için gerekli olan piruvat dehidrojenazı da inhibe eder.

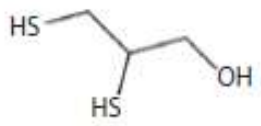
4- Piruvat dehidrojenaz, piruvatı sitrik asit döngüsünün bir aracı olan asetil koenzim A'ya (asetil CoA) okside eder. ATP üretimi için elektron dönüşüm sistemini etkiler. Böylece enerji metabolizmasını ciddi şekilde etkileyen ATP'nin üretimini azaltır.

5- Vücutta biyolojik değişimler başlar.

1.1.7. Tedavi Yöntemleri

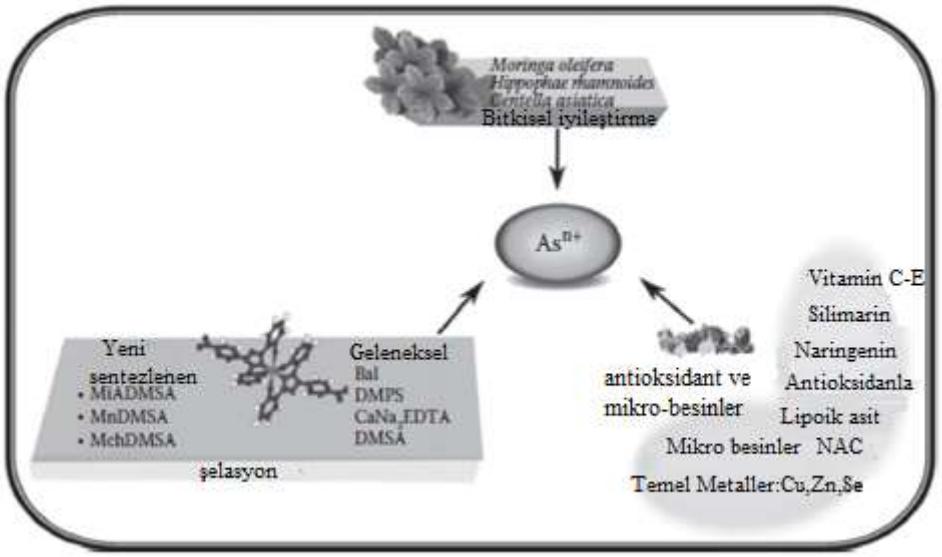
Şelasyon tedavisi, arsenik zehirlenmesinin tedavisinde ilk uygulamadır. İşlem, arsenikli bir şelat kompleksi oluşumunu içerir ve vücuttan daha kolay bir şekilde atılır.

2,3-Dimarcaprol (BAL), 1949'dan beri geleneksel olarak kullanılmış arseniğin antidotu olma özelliğine sahip şelattır. Metalin beyin içinde yeniden dağılım göstermesi; uygulama açısından zehirlenme durumunda vücut kilogramı başına düşen değerin UZEM tarafından belirlenmesi ve bol terleme, kusma, baş ağrısı gibi ciddi yan etkilere neden olması nedeniyle alternatif şelat arayışına girişilmiştir.



Şekil 1.13. Denenmiş olan BAL şelatı

Sonra, BAL yerine kimyasal bir türev DMSA (meso-2,3-dimerkaptosüksinik asit) denenmiştir. Avantajı BAL'dan daha az toksik olmasıdır.



Şekil 1.14.Arsenik toksisitesine karşı koruyucu ve tedavi edici stratejiler [39]

1.1.8. Biyobelirteçlerle Tanısı

Bir biyobelirteç, biyolojik bir sistem ile kimyasal, fiziksel veya biyolojik olabilen yaklaşan bir risk arasındaki etkileşimi ortaya çıkaran niteliksel veya niceliksel bir ölçüm olarak tanımlanabilir [40].

Bu biyobelirteçler klinik teşhis için, maruz kalma durumlarını izlemek, epidemiyoloji çalışmalarında ve insan sağlığı risk değerlendirmelerinde kullanılabilir. Biyobelirteçler, amaçlanan maruziyet veya etki için spesifik ve istenen cevabı tespit edebilecek kadar hassas olmalıdır. Arseniğin izlenmesi, As zehirlenmesinin tanımlanması için gereklidir bu amaçla idrar, kan, saç ve tırnaklar biyobelirteç kaynakları olarak tercih edilmektedir.

İdrar toplanması biyolojik bir numune olarak kolay olduğu için dört biyolojik örneğin en çok kullanılan yöntemidir. İdrar atılımı, emilen arseniklerin giderilmesinin ana yoludur, İnorganik arseniğin insanlardaki yarı ömrü dört gündür ve atımdaki pozitif bir sonuç, arseniğe maruz kalmanın bir göstergesidir ve en önemlisi, özellikle içme suyunda arsenik ile arsenik maruziyeti arasında güçlü bir korelasyon vardır.

Kan analizi, bu amaç için en az kullanılan yöntem olmasına rağmen, arsenik maruziyetinin bir biyolojik işareti olarak kullanılır. İnvaziv olarak alınır ve arsenik için referans aralığı 0,3-22 µg/L'dir [41]. Kan zehirlenme vakalarında analiz olarak

kullanılabilir ancak vücuttan atılma süresi çok kısa olduğu için tercih edilen bir materyal değildir.

Saç, arseniklere maruz kalmanın biyobelirteç kaynağı olarak, özellikle epidemiyoloji çalışmalarında ve adli analizlerde kullanılır. Saçta arsenik seviyesi <1 µg/g'dır. Napolyonun ölümü sırasında büyük bir tartışma konusu olmuştur. Saçın maruz kalmanın bir biyolojik işareti olarak kullanılması avantajlı olabilir, çünkü saçların toplanması invaziv bir işlem değildir ayrıca saçlar küçük parçalara bölünebilir ve bölümlere göre analiz edilebilir.

Tırnaklar arseniğe maruz kalmanın biyobelirteç kaynağı olarak kullanılabilir. Tırnaklarda arsenik seviyeleri <1 µg/g'dır [42]. Tırnaklar kolayca toplanmaları ve yavaş büyümesi nedeniyle, uzun süre maruz kalmayı yansıtır.

1.1.9. Arsenik İçin Klavuzlar ve Standartlar

- Arseniğin yüz milyonlarca insanın sağlığını etkileyen ve dünya çapında yüzbinlerce ölümden sorumlu olan birinci sınıf bir kanserojen olması,

- Halk sağlığı açısından, içme sularında arseniğe maruz kalma konusundaki ana endişenin, hemen acil toksisitesi değil; uzun süre maruz kalma ile ilişkili kanserojenik özellikleri ve uzun vadeli sağlık etkilerinin olması

- İçme suyu sistemlerinin arsenik kontaminasyonunun yüzyılımızın en büyük çevresel zorluklarından biri olması gibi nedenler Dünya Sağlık Örgütünün (WHO) bu konuda güvenli bir sınır koymasını gerekli kılmıştır. Arsenik için belirlenen limit değerler; 1958: 200 µg/L, 1963: 50 µg/L, 1993: 10 µg/L olarak belirlenmiştir [32].

- Bu değerlerin üzerindeki arsenik derişimlerinin toksik olduğu belirtilmiştir. Amerika bileşik devletleri çevre koruma örgütü (USEPA) 2003 yılında içme sularındaki maksimum değeri 50 µg/L den 10 µg/L ye düşürmüştür [43-44].

Ülkemizde ise Sağlık Bakanlığı tarafından hazırlanan ve TSE 266 sayılı standart ile içme sularındaki arsenik miktarı <10 µg/L olarak belirlenmiştir

Tablo 1.6. TS 266 İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik [45]

Parametre	TÜRK STANDARTLARI TS 266 2005	DÜNYA SAĞLIK TEŞKİLATI (WHO) 2011	ABD ÇEVRE KORUMA AJANSI (EPA) 2008	AVRUPA BİRLİĞİ (EC) 1998
BİRİNCİL STANDARTLAR (İNORGANİK KİMYASALLAR), mg/L				
Alüminyum	0,200	0,100	0,200	0,200
Arsenik	0,01	0,01	0,01	0,01
Bor	1,0	2,4	-	1,0
Nikel	0,02	0,02	-	0,02
Baryum	-	0,7	2,0	-
Kadmiyum	0,005	0,003	0,005	0,005
Krom (Toplam)	0,05	0,05	0,10	0,05

1.1.10. Epidemiyolojik Çalışmalar

Altaş ve ark. (2011), çok değişkenli istatiksel teknik Küme Analizi (CA), ve Temel Bileşen Analizi (PCA) gibi sinyal işleme yöntemlerini kullanarak Aksaray ilçesinde içilebilir su kaynağı özelliği taşıyan suyun analizini yapmışlar ve analiz neticesinde suların % 30'unda As değerini ortalama 10-50 µg/L arasında, % 50'sinde ise limit değer olan 10 µg/L'nin altında As tespit etmişlerdir.[46]

Çaylak (2012), Çankırı ilinde 26 ayrı örnekleme noktasından numune alarak Refik Saydam Ulusal Halk Sağlığı Kurumu (Ankara, Türkiye) laboratuvarında çeşitli analiz prosedürlerine göre atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile inceleme yapmış ve incelemeleri sonucunda As değerini 10-30 µg/L arasında tespit etmiştir [47].

Gemici (2004), Gemici ve Tarcan (2007) ve Yılmaz ve ark. (2009) yeraltı sularındaki yüksek As içeriğinin nedenlerini ortaya koymaya çalışmışlar ve bu durumun arseniğin doğada doğal olarak bulunduğu ortamlara bağlamışlardır [48].

Lubin ve ark. (2000), içme suyunda (>150 µg/L) çok yüksek arsenik seviyelerine sahip dünya bölgelerinden gelen epidemiyolojik veriler arsenik maruziyeti ve birkaç iç kanser riski arasında güçlü bir ilişki olduğunu göstermektedir [49].

Chen ve ark. (1992) , hem erkeklerde hem de kadınlarda, yüksek arsenik konsantrasyonları (<100 µg/L ile 600 µg/L karşılaştırıldığında) ile ilişkili olarak akciğer kanseri ölüm oranı için önemli oranda yüksek oranlar bildirmişlerdir [50].

Mondal ve ark. (2009), Batı Bengal' deki Chakdha bloğundaki verileri kullanarak yeraltı sularında bulunan arsenikle ilişkili akciğer, mesane ve karaciğer kanseri hastalığı yükünü hesaplamak için iki tekniğin karşılaştırılmasını gerçekleştirmiş ve kanser mortalite oranlarını hesaplamıştır [51].

Cantor ve Lubin (2007), akciğer kanseri risklerinin düşük konsantrasyonlarda olabileceğini tahmin etmek için yüksek içme suyu arsenik konsantrasyon alanlarında yapılan çalışmalardan elde edilen ekstrapolasyon bulguları, lineer bir doz-yanıt ilişkisinin varsayılmasını gerektirir sonucuna ulaşmışlardır [52].

Kazi ve ark. (2009), yetişkinlerin (erkek ve kadın), Pakistan'daki bir gölde ve yeraltı suyunda yüksek oranda As içeren, içme suyunun kılavuz seviyesini aşan (10 µg/L) bir bölgedeki içme suyuna maruz kalma oranlarını değerlendirilerek Sağlık etkilerinin, içme suyunda arsenik içeriği ile ilişkili olduğu görülmüştür [53].

Kenyon ve ark. (2008), subkronik koşullar altında geniş bir doz aralığında, hedef ve hedef olmayan dokularda ve ayrıca idrarla atılımda arsenik metabolit birikimini rapor etmektedir. Böbrek, mesane ve akciğer dokularının tercihen arsenik biriktirme eğiliminde olmasına rağmen, metabolitlerin dağılımının idrar kesesi ve akciğerde böbreklere göre daha belirgin şekilde farklılık gösterdiği ve özellikle en yüksek iki maruziyet seviyesinde MMA'nın böbreklerde, DMA'nın akciğer ve mesanede baskın metabolit olduğunu ortaya koymuşlardır. Ayrıca sonuçlar açıkça, arseniklerin dağılımının ve birikiminin hem dokuya özgü hem de doza bağlı olduğunu ve zorunlu olarak metabolitlerin kümülatif idrarla elimine edilmesiyle ölçülen metabolik yollar boyunca genel akışın yansıtıcı olmadığını göstermektedir [54].

Sun ve ark. (2007), çocuklarda hem 90 µg/L'ye maruz kalan hem de kontrol gruplarındaki erişkinlere göre çocuklarda aynı konsantrasyonlara maruz kaldıklarında iA'ları metabolize etme ve salgılama yetkinliğinin yetişkinlerden daha fazla olduğunu göstermektedir [55].

James ve ark. (2013), konut su arsenik konsantrasyonlarının idrar arsenik konsantrasyonlarındaki değişkenliği en iyi şekilde açıkladığını ve tarihsel su arsenik konsantrasyonlarını tahmin etmek için UIA'larla güçlü bir korelasyon gösterdiğini ifade etmiştir [56].

Kır ve ark. (2017), Antalya bölgesinde 1 yıllık çalışma yapmış ve elde ettikleri sonuçlara baktıklarında bazı değerlerin kabul edilebilir sınır değerlerin üstünde olmasına rağmen diğer bölgelere nazaran daha düşük As değerlerine sahip olduğunu tespit etmişlerdir [57].

Mutic ve ark. (2010), ICP-AES ve İç Standart Yöntemleriyle, şaraplardaki arsenik tayini için kolay ve hızlı bir metod planlanmış ve bu yöntemde girişimleri en aza indirmek için bazı yapıları iç standart olarak değerlendirmişlerdir [58].

Chengbei ve ark. (2013), QCM sensör ile yağmur suyu, havuz suyu, nehir suyu ve şişelenmiş gerçek su numunelerindeki inorganik As miktarını tayin etmeye çalışmış ve yalnızca şişelenmiş gerçek su numunesinde, 8 mg/L konsantrasyonunda arseniği tespit edebilmişlerdir. Aynı zamanda gerçek su numunelerinde arsenik tayini için QCM sensörün kullanılabileceği sonucuna ulaşmışlardır. [59]

1.2. Arsenik Tespit Yöntemleri

Tespit yöntemlerine geçilmeden önce analitik bir yöntemin kalitesi, amaçlanan amaca uygunluk, hassasiyet, analit stabilitesi, analiz kolaylığı, zaman ve maliyet açısından sırayla değerlendirilmelidir. Sistematik bir süreç aracılığıyla söz konusu analitik yöntemin ulaşılmak istenen amaç için kabul edilebilir olduğunu tespit etmek son derece zorunludur. Tespit limiti (LOD) ve niceleme limiti (LOQ), metot validasyonunda iki önemli performans özelliğidir. LOD ve LOQ, analitik bir prosedürle güvenilir bir şekilde ölçülebilen en küçük analit konsantrasyonunu tanımlamak için kullanılan terimlerdir.

1.2.1. Ticari Yöntemler

1.2.1.1. Test Kitleri

Su Analiz Kitleri; Kalite kontrol laboratuvarlarında, sahada su ve atık su kontrollerinde analitin kalitatif veya kantitatif analizler için kullanılmak üzere hazırlanmıştır. Kolorimetrik veya Titrimetrik olmak üzere 2 şekilde değerlendirme yapmaya imkan sağlar.



Şekil 1.15.Test şeritleri [60]

Şırınga yardımıyla 5 mL test çözeltisi reaksiyon kabına aktarılır. Reaktif eklenir karıştırılıp, sallanarak beklenir. Ölçüm için test şeridi kapta bulunan boşluğa yerleştirilir. Renk değişimine göre yorumlama yapılır.

Tablo 1.7. Yaygın Kullanılan Arsenik Test Kitleri [61]

Test Kitleri	Ölçüm Aralığı (µg/L)
1.MERCK (Almanya)	5 - 500
2.HACK (Amerika)	10 - 500
3.Quick (Amerika)	10 - 1000
4.AIIH&PH Kit (Hindistan)	Evet / Hayır
5.NIPSOM (Bangladeş)	10 - 700
6.GPL (Bangladeş)	10 - 2500
7.Arsenator (İngiltere)	<10 - 500

1.2.2. Halihazırda Yaygın Kullanılan Yöntemler

1.2.2.1. Atomik Absorpsiyon Yöntemi

En düşük enerji düzeyi olan temel halde bulunan bir atomun, ışık absorplayarak yüksek enerjili uyarılmış düzeylere geçişi, ilgilenilen atomun absorpsiyon spektrumunu oluşturur. Atomik Spektroskopi ppm, ppb mertebesinde eser metallerin kalitatif ve kantitatif analizinde kullanılır.

En yaygın kullanım şekli alev başlıklı atomik absorpsiyon (FAAS) olmasına rağmen daha hassas ölçümler için elektrotermal atomik absorpsiyon spektrometreleri (GFAAS veya ETAAS), hidrür yöntemi (HGAAS) ve soğuk buhar yöntemi gibi çeşitli AAS şekilleri geliştirilmiştir [62].

Her elementin elektron dizilişi farklı olduğu için elementler farklı dalga boylarında

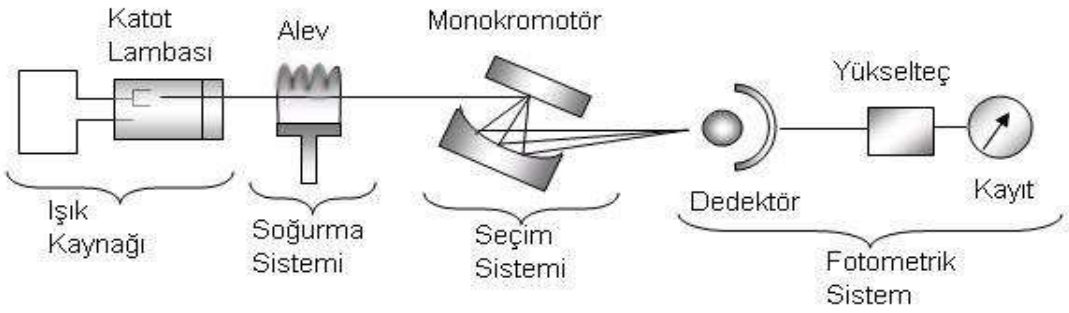
absorpsiyon ve emisyon yaparlar. Absorpsiyon olayında, absorplanan ışının şiddeti Lambert-Beer eşitliği ile verilir. Lambert-Beer Eşitliği; ışığın soğurulmasını ışığın içinden geçtiği malzemenin özelliklerine bağlar. Buna göre;

$$A=\text{Absorbans}=\log I_0 / I = Є.L.C$$

- Є = Absorpsiyon katsayısı (t/mol.cm)
- L = Işığın etkileştiği yol (cm)
- C = Konsantrasyon (mol/L)
- I/I_0 oranına geçirgenlik denir ve T ile gösterilir.
- $I/I_0 =$ $T = 10^{-ЄLC}$ ve $A=-\log T=2 - \log \%T$

▪ Atomik absorpsiyon spektroskopisinde numune gaz haline getirilir ve ışın kaynağından gelen ışınları absorplar. Absorblama sonucunda elektronik enerji düzeyleri arasındsa geçişler olur. absorpsiyon miktarı, temel düzeydeki atom sayısına bağlıdır.

▪ Sulu numune bir alev içine yükseltgen gaz karışımı ile püskürtülür. Bu şekilde 70 kadar element (metal/yarı metal) analiz edilir. Ametaller bu yöntemle analiz edilemez. Metodun hassasiyeti yüksektir. Eser miktarda madde analizi yapılabilir.



Şekil 1.16. AAS bileşenleri [63]

Işın kaynağı olarak tek dalga boylu ışın üreten ışık kaynakları kullanılır.

Oyuk Katot Lambaları (AAS'de en yaygın olarak kullanılan ışık kaynağıdır.)

- ✓ Buhar Boşalım lambaları

Kolay buharlaşabilen uçucu metallerin tayininde kullanılır. Uygulanan akım fazla olduğu için self-absorbsiyon yapar. Akım düşerse kararlılık azalır [64].

- ✓ Elektrotsuz Boşalım Lambaları

Uçucu ve kısa dalga boylarında bulunan elementler için kullanılan bu lambalar emisyon şiddetinin fazla olması, ucuz olması gibi nedenlerle tercih edilir [65].

Atomlaştırıcı, numunenin atomlaştırıldığı ve absorpsiyonun gerçekleştiği bölümdür.

- ✓ Alev ile atomlaştırma (FAAS)
- ✓ Elektrotermal Atomlaştırıcılar

Düşük konsantrasyonlu madde tayininde tercih edilen atomlaştırı türüdür.

- ✓ Soğuk Buhar Yöntemi

Oda sıcaklığında buharlaşabilen civa için kullanılan bir yöntemdir.

- ✓ Hidrür Yöntemi

Kolorimetrik tayini yapılması amacıyla kullanılan bir yöntemdir

Monokromatör, istenilen dalga boyunu belirleyen kısımdır. Dedektör, bu dalga boyundaki enerjiyi elektrik sinyaline çevirirken; kaydedici, bilgilerin farklı ortamlarda değerlendirilmesine olanak sağlar [66].

Farklı atomlaştırıcıların kullanılmasına göre farklı adlar almaktadır. Bunlardan bazıları:

1.2.1.2.1 Hidrit Üretimi Atomik Absorpsiyon (AAS-HG)

Hidrit üretimi atomik absorpsiyon yukarıda çalışma prensibi anlatılan spektroskopi yönteminin farklı bir versiyonudur, ayrıma sebep olan nokta ise hidrür arsenik bileşiklerinin bütün bu adımlardan sonra argon hidrojen alevi içinde ayrıştıran hidritlere dönüştürülmesidir.

Özellikle arsenik olmak üzere, IV, V ve VI A grubu elementlerin hidrürleri uzun sürelerdir bilinmektedir. Bu aşamada gaz halindeki hidrür ortamdan kolay uzaklaşabilmesi nedeniyle tercih sebebidir.

Hidrür yöntemi atomik absorpsiyonu ilk olarak Holak (1969) tarafından, arsenik tayini için uygulanmıştır. Holak hidroklorik asitle asitlendirilmiş örneğe çinko ekleyerek hidrojen oluşturmuş ve arsini sıvı azot içinde tutarak toplamıştır. Reaksiyonun sonunda azot buharları ile arsini, argon hidrojen alevine taşımış ve atomik absorpsiyon ile tayiningerçekleştirmiştir.

1.2.1.2.2 Elektrotermal Atomik Absorpsiyon (AAS-GF)

Elektrotermal ayrıştırıcılar kullanılarak numunenin grafit tüpüne doğrudan enjeksiyonu prensibi ile çalışan bir yöntemdir. Atomik absorpsiyonda en yaygın atomlaştırıcı olarak alev kabul edilmesine rağmen alev, düşük konsantrasyonların tayininde yetersiz kalmaktadır.

60 tan fazla metal veya yarı-metalin kantitatif tayini için duyarlı bir araçtır. Bu yüzden pek çok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır.



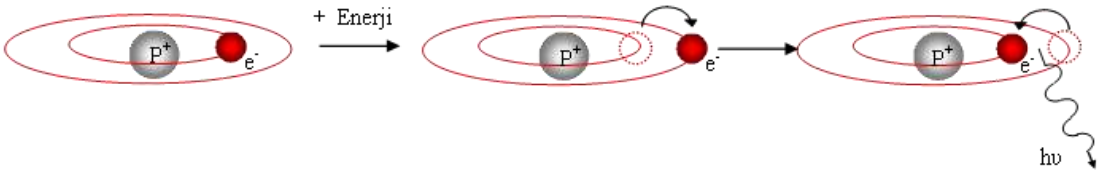
Şekil 1.17. AAS uygulama alanlarından bazıları (Kimya Endüstrisi, Su Kalitesi, Eğitim ve Araştırma) [67]

1.2.2.2. Gümüş Diethyithithiocarbamate (SDDC) Yöntemi

Arilsin asidik çözelti içinde sodyum borohidrit ile oluşturduğu gümüş dietilditiokarbamat yöntemi müdahale olmadığında ve inorganik arsenik bileşikleri içermediğinde toplam inorganik arsenik tayinine uygulanabilir. İki arsenik türü (arsenit ve arsenat) belirlemek ve ölçmek için kullanılır.

1.2.2.3. İndüktif Eşleşmiş Plazma (ICP) Yöntemi

Elementlerin tayininde kullanılan, yüksek düzeyde enerjinin söz konusu olduğu bir cihazdır. Spektroskopinin temel prensibi elektriksel olarak iletken plazmada, atomlar ve iyonların uyarılması ile yaydıkları emisyonun ölçülmesidir. Ancak daha yüksek konsantrasyonlarda (50 µg/L'den daha büyük) faydalıdır.

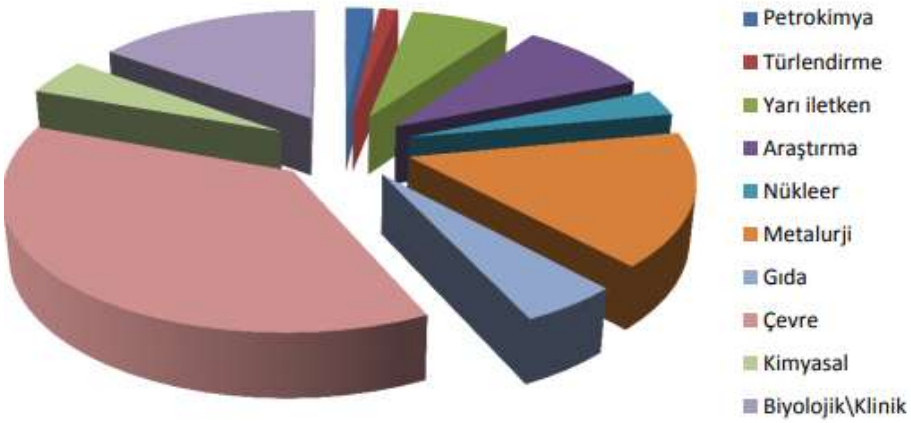


Şekil 1.18. Atom ve iyonların uyarılması [68]

1.2.2.4. Kütle Spektrometresi (ICP-MS)

ICP-MS, indüktif Eşleşmiş Plazma (ICP) ve Kütle Spektrometresi (MS) olmak üzere 2 farklı bölmeden oluşur. Gıda analizi, elemental tespit, parmak izi tayini gibi pek çok alanda kullanılmaktadır. Tespit limitlerinin (LOD) düşük olması, çok sayıda analizi aynı anda gerçekleştirebilmesi bu analiz tekniğini en sık kullanılan teknik haline getirmiştir. Ancak teknik genellikle solüsyon tayinlerinde daha başarılıdır. ICP-MS teknolojisi sayesinde çeşitli örneklerde 76 element aynı anda analiz edilebilmektedir ve bir örnek içindeki çok sayıda elementin analizi üç dakika kadar az bir sürede ölçülebilir.

Endüktif eşleşmiş plazma-kütle spektrometrisi, yüksek sıcaklıkta bir plazma aracılığıyla kimyasal bağların kırılması ve iyonlaşmanın gerçekleşmesi prensibine dayanmaktadır. İyonlar kütle yük oranına göre ayrılmakta ve detektör tarafından ölçülmektedir.

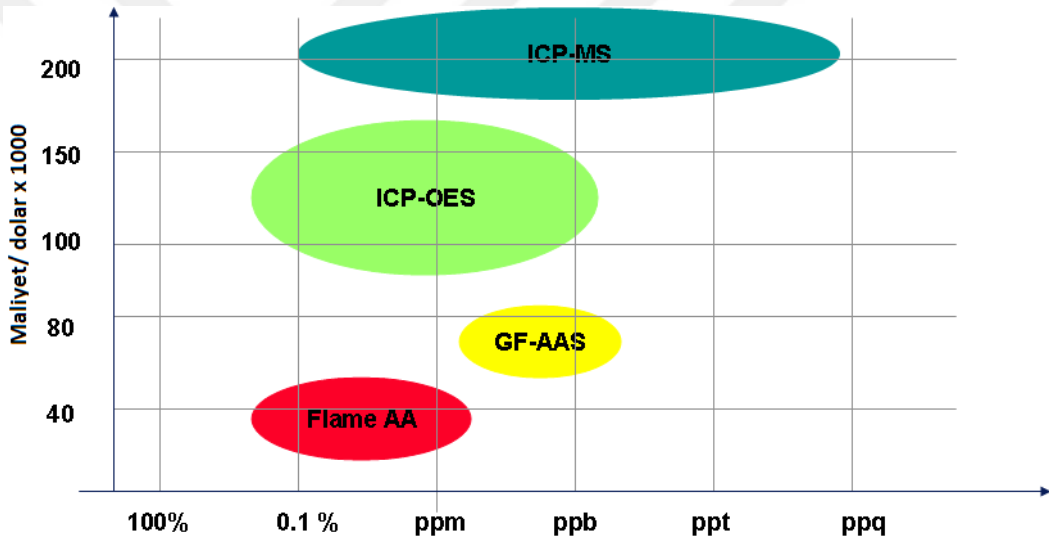


Şekil 1.19. ICP-MS kullanım alanları [69]

1.2.2.5. İndüktif Eşleşmiş Plazma-Optik Emisyon Spektrometresi (ICP-OES)

Çözeltideki elementlerin miktarını belirlenmesi amacıyla örneğin yüksek sıcaklıktaki plazmaya püskürtülmesiyle atomlaşan elementlerin plazmada uyarılmış duruma geçmesinden sonra yaydıkları ışının dedektörle ölçülerek yorumlanması esasına dayanır.

Plazmadan yayımlanan ışınlar giriş açıklığından geçirilerek monokromotöre düşürülür ve burada ışınlar kırılarak dalga boylarına ayrılır. Işın spektrometreye girer ve ayna üzerine düşürülür. Ayna ışını optik ağ üzerine gönderir ve optik ağ ile ışın dalga boylarına ayrılır.



Şekil 1.20. Atomik absorpsiyon ve diğer yöntemlerin bazı parametreler açısından karşılaştırılması [67]

Tablo 1.8. Bazı Elementlerin Tayin Sınırlarının Karşılaştırılması [67] (µg/L)

Element	AAS Flame	AAS Elektrotermal	AES Flame	AES ICP
Al	30	0,1	5	0,2
As	200	0,5		2
Ca	1	0,25	0,1	0,0001
Cd	4	0,03	5	0,08

1.2.3. Gelişmekte Olan Yöntemler

1.2.3.1. Elektrokimyasal Yöntemler

Modifiye edilmemiş yüzey ile modifiye edilmiş yüzey arasındaki faklılıklar elektrokimyasal yöntemler ile basit ve hızlı bir şekilde belirlenebilir. Elektrokimyasal yöntemler daha çok çevre kirliliğinin önlenmesinde kullanılır. Bu amaçla kullanılan en önemli elektrokimyasal yüzey karakterizasyon teknikleri, dönüşümlü voltametri (CV), elektrokimyasal impedans spektroskopisi (EIS) ve elektrokimyasal kuartz mikrobalans (EQCM) tekniklerdir.

Ekipmanlarının basit, ekonomik, az işgücü gerektirmesi ve düşük enerjiye ihtiyaç duymaları bu yöntemin avantajlarını oluştururken; hazırlık aşamasının uzun sürmesi ve yüksek başarı için yüksek iletkenliğe sahip olunması gerekliliği bu yöntemin dezavantajlarıdır [70].

1.2.3.1.1. Dönüşümlü voltametri (CV)

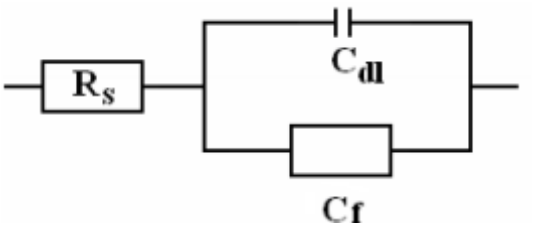
Dönüşümlü voltametri tekniği, eletrokimyasal karakterizasyon çalışmalarında kolaylığı ve hızlılığı açısından sıklıkla başvurulan bir yöntemdir. Dönüşümlü voltametri ile karakterizasyonda, askorbik asit, dopamin, ferrosen, hekzasiyanoferrat(III) ($K_3[Fe(CN)]_6$) gibi elektrot yüzeyinde hızlı elektron transferinde bulunabilen redoks çiftleri kullanılır ve yalın elektrot ile modifikasyon işlemine tabii tutulmuş kaplı elektrodun CV voltamogramları karşılaştırılarak elektron transfer hızları hakkında bilgi edinilir [71, 72].

1.2.3.1.2. Elektrokimyasal İmpedans Spektroskopisi (EIS)

Elektrokimyasal impedans spektroskopisi (EIS), frekans değişimine bağlı olarak elde edilen yüzeyin yapısı ve yüzeyin oluşum aşamasında gerçekleşen reaksiyonlar hakkında bilgi veren oldukça hassas bir tekniktir.

CV tekniği ile karakterizasyon işleminde geniş bir potansiyel aralığı kullanıldığından dolayı yüzeyin zarar görme riski vardır [29]. İmpedans temel olarak yüksek frekanslar uygulandığında meydana gelen kapasitif ve indüktif değişikliklerden etkilenen direncin ölçümüne dayanmaktadır.

Dirençler (Örnek; hücre içerisindeki çözelti direnci), kapasitörler ve indüktörler gibi devre elemanlarının yer aldığı Randles devresi ile deneylerin doğruluk teyiti yapılabilir.



Şekil 1.21. Randles devresinin şematik görünümü [73]

R_s: Randles devresi çözelti direnci

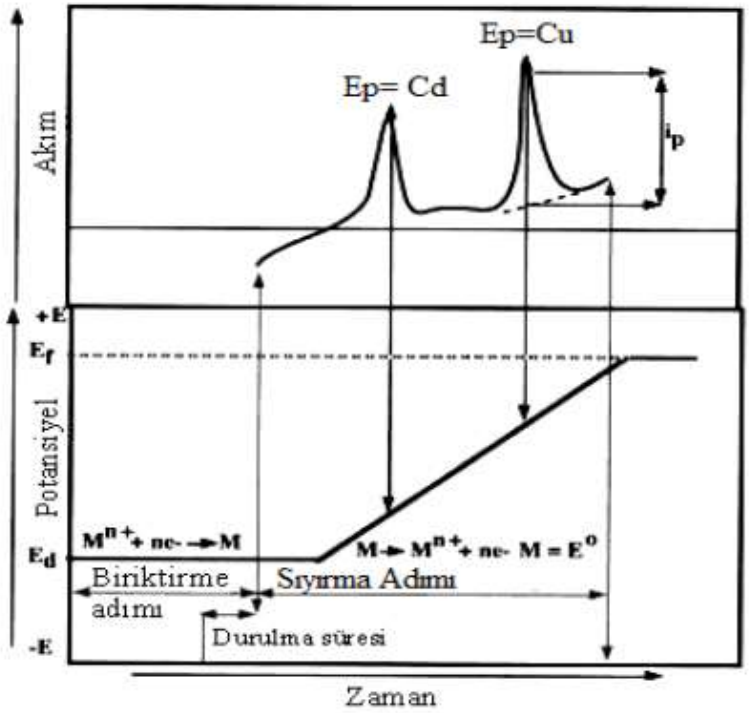
C_{dl}: Bir çift tabaka kapasitörü

C_f: Yük transfer veya polarizasyon kapasitörü

EIS biyosensörlerde, metal kaplama çalışmalarında, iletken ve yarı iletken polimerlerin özelliklerinin incelenmesinde, yarı iletken elektrotlarda kullanılmaktadır. EIS ölçümleri sayesinde bir sistemin iletkenliği, yük transferi ya da adsorpsiyon değişimleri hakkında bilgi edinilebilir.

1.2.3.1.3. Anodik Sıyırma Voltametrisi

Anodik sıyırma voltametrisinin en önemli avantajı katodik olarak biriktirilen çok küçük miktardaki türlerin tayinine imkân sağlamasıdır. Bu nedenle özellikle sulu numunelerde serbest, çözünmüş arsenik miktarını belirlemek için yararlıdır.



Şekil 1.22. Anodik sıyırma voltametrisinde biriktime ve sıyırma basamakları [74]

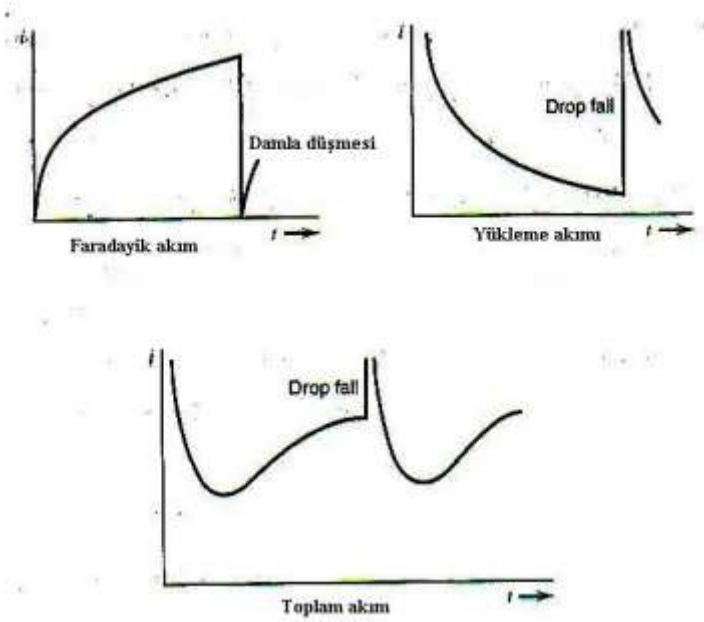
1.2.3.1.4. Voltametrik Yöntemler

Dengedeki bir elektrokimyasal hücreye farklı bir gerilim uygulandığında hücre eski haline ulaşmaya çalışır bilgisinden yola çıkarak hücreye 2 farklı elektrotun (çalışma ve karşılaştırma) daldırılmasına ve değişkenlik gösteren gerilime bağlı olarak akımın izlenmesine dayanan yöntemlerdir. Voltametride kullanılan çalışma elektrotlarının yüzey alanı polarizasyonu sağlamak amacıyla birkaç milimetrekare boyutunda mikroelektrottur.

1.2.3.1.5. Diferansiyel Puls Polarografisi

Diferansiyel puls polarografisi organik ve inorganik türlerin eser miktarlarının tayini için kullanılabilen son derece kullanışlı bir tekniktir. Akım, puls uygulamadan hemen önce ve puls uyguladıktan 40 ms kadar sonra (damla düşmeden hemen önce) okunur ve akım farkı alınır. Bu fark sonucunda DPP'de pik elde edilir ve bu pik çözeltideki analit miktarı ile doğrudan orantılıdır.

Diferansiyel puls polarografisinde tersinir elektrot reaksiyonlarında $1x10^{-8}$ M, tersinmez elektrot reaksiyonlarında ise $5x10^{-8}$ M madde tayini yapılabilmektedir.



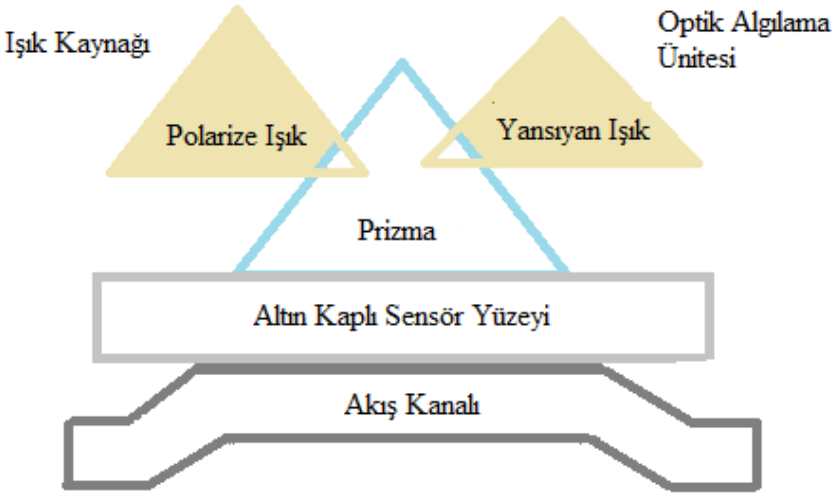
Şekil 1.23. Damlayan cıva elektrodunda damla ömrüne göre faradayik ve kapasitif akımın kıyaslaması [74]

1.2.3.2. Optik Yöntemler

1.2.3.2.1. Optik Biyosensörler

Optik yöntemler, biyolojik ve kimyasal analitlerin algılama teknikleri arasında en eski ancak günümüzde özellikle biyosensörlerin kullanım alanının yaygınlaşmasına bağlı olarak en çok gelişme gösteren teknikler arasındadır. Optik biyosensörler iletici sistem olarak optik lifler üzerine uygun bir yöntemle biyomolekülün immobilize edilerek absorbans, emilim ve saçılım yöntemleriyle ölçüm yapan aygıtlardır [75].

Optik biyosensörlerde dönüştürücüden çıkan sonuç türü ışıktır. Optik kırılma veya elektrokemiluminesansa dayanarak bu çeşit biyosensörler yapılmaktadır. Işık özellikleri konsantrasyon, kütle veya moleküllerin sayısının değişmesi ile bağlantılıdır [76].



Şekil 1.24.Optik biyosensör yapısı

1.2.3.2.2. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC)

Kimyasal karışımlar farklı yapıda biri hareketli diğeri sabit 2 maddenin bir araya gelmesiyle oluşur ve bu 2 maddenin ayrımı maddelerin nitel ve nicel olarak analizine bağlıdır. Bu amaç için kullanılan cihazlara kromatografi denir. HPLC metodu da aynı bu mantıkta çalışan kromatografik analiz yöntemlerinden biridir. HPLC'yi diğer yöntemlerden ayıran fark ise yüksek basınç altında ölçümü yapılacak sıvının sabit fazı bulunan kolonda izlenmesine olanak sağlamasıdır. Burada maddelerin kimyasal ve fiziksel davranış farkları gecikmeye neden olur bu sayede ayrım gerçekleştirilir.



Şekil 1.25. HPLC sistemi

1.2.3.2.3. Işınım Biyosensörleri

Moleküllere uyarı verildikten sonra temel durumlarına geri dönebilmek için ışın yayarlar. Işınım biyosensöründe, algılama tabakası, numunedeki hedefi tayin edebilmektedir.

Işıldayan enzimatik bir sensör, hassas bir şekilde ışıldayan sistemlerle düzen içinde çalışan yardımcı enzimler de dahil daha karmaşık sistemlerle tespit edilebilir [77]. Genellikle ışınım biyosensörler biyoalgılama materyalleri olarak kullanılmasıyla

tasarlanır.

1.2.4. Piezoelektrik Biyosensörler

1.2.4.1. Piezoelektrik Tarihçesi

“Piezoelektrik” Yunancada basınç anlamına gelen "piezo" kelimesinden türetilmiştir ve “basınç-elektriği” anlamına gelir. Piezoelektrik kristale uygulanan basınç, gerilmenin büyüklük ve şekliyle orantılı olarak elektriksel kutuplaşmaya neden olur ve bu olay düz piezoelektrik etki olarak adlandırılır. Ters piezoelektrik etki ise kutuplaştırıcı elektrik alana maruz kalan malzemede meydana gelen elastik gerilme ile açıklanmaktadır [78].

Piezoelektrik cihaz uygulamalarındaki önemli ilk sayılabilecek uygulamalar I. Dünya Savaşı esnasında görülmüştür. İnsanlar savaş esnasında vatanlarını korumak amacıyla düşmanlarından bir adım önde olmanın vereceği avantajın farkında olduklarından dolayı her zaman farklı buluşların peşinden gitmişlerdir.

Birçok klasik piezoelektrik uygulama bugün mikrofonlar, ultrasonik dönüştürücüler, gramofonlar, sinyal filtreleri gibi yaygın bir şekilde kullanılmak üzere tasarlanmıştır. Ancak şuanda bu malzemelerin kullanılabilirliği genellikle sınırlı cihaz performansı ve kesinlikle sınırlı ticari kullanım ile kısıtlıdır. Genellikle PZT sistemine yeni bileşenler eklenerek farklı kompozisyonlar oluşturulmuştur.

1.2.4.2. Piezoelektrik Hakkında Teorik Bilgi

1.2.4.2.1. Ferroelektrik Özellik Ve Polarizasyon

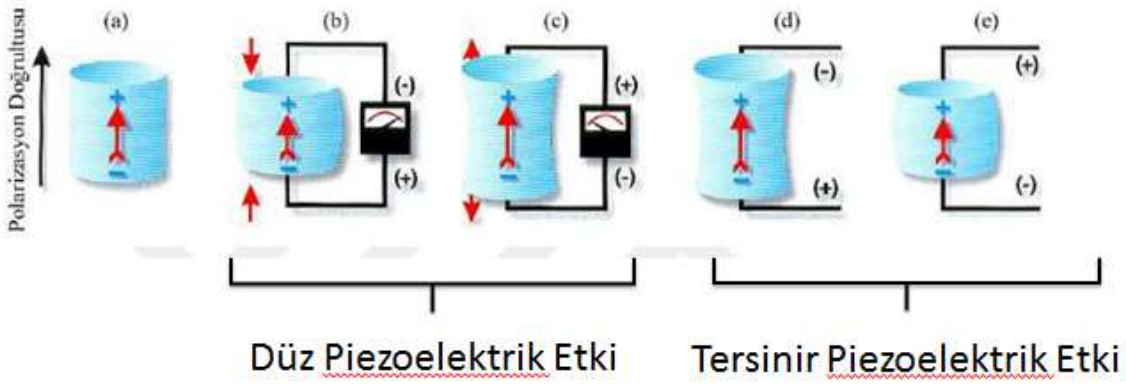
“Ferroelektrik özellik” 1921 yılında Valasek tarafından ilk kez Rochelle tuzunda keşfedilen ve bazı kristallerin bir kritik sıcaklığın (TC: Curie sıcaklığı) altına soğutulduğunda kendiliğinden polarizasyon (PS) göstermesi olarak tanımlanır. Ferroelektrik kristallerde oluşan polarizasyon dışarıdan bir elektrik alan uygulandığında yön değiştirebilir [79].

1.2.4.2.2. Piezoelektrik Özellik

Tüm ferroelektrik malzemeler potansiyel olarak aynı zamanda piezoelektrik özellik de gösterirler. Piezoelektriklik bazı malzemelerde bir mekanik gerilime maruz kaldığında

bu gerilmeyle orantılı olarak elektrik yükü (şarj) üretmesidir [80]. Bu davranış düz piezoelektrik etki olarak da adlandırılır. Piezoelektrik malzemeler aynı zamanda tersinir bir etki de gösterir ki bir elektriksel gerilim altında malzemenin geometrik olarak şekil değiştirmesidir.

Düz ve tersinir piezoelektrik etki tensörel gösterimle aşağıdaki gibi ifade edilir.



Şekil 1.26. Piezoelektirik etki

Malzemeye kuvvetli bir elektriksel alan (DC) uygulandığında her biri bir vektörel büyüklük olan tüm dipoller yine bir vektörel kuvvet olan elektrik alan yönüne yönlenmeye zorlanır.

Eğer elektrik alan kuvveti yeterli gelir ise dipollerin rastgele yönlenmiş yapısı bozulur ve neredeyse hepsi aynı doğrultuda yönlenerek maksimum bir büyüklüğe ulaşırlar ki bu toplam etkiye yani malzeme hacmi içerisinde var olan tüm dipollerin momentleri toplamına polarizasyon denir.

Piezoelektrik malzemelere aşağıdaki malzemeler örnek verilebilir;

- Doğal piezoelektrik malzemeler (kuvars)
- Piezoelektrik seramik malzemeler (kurşun-zirkonat-titanat)
- Polimer piezoelektrik malzemeler (naylon)
- Kompozit piezoelektrik malzemeler

Verilen bu malzemeler kendi içinde kıyaslandığında piezoelektrik seramik malzemeler;

fiziksel, kimyasal, mekanik ve piezoelektrik özellikleri açısından daha kullanışlı, neme ve atmosferik koşullara karşı da daha dayanıklı ve karmaşık geometrik uygulamalar için kolay ve ucuz üretim olanağı sağlar.

Endüstriyel olarak uygulama alanı bulmuş en önemli ve en eski piezoelektrik seramik malzemeler; baryum titanat ($BaTiO_3$; BT) ve kurşun zirkonat titanat ($PbZrTiO_3$;PZT) olarak ifade edilebilir.

1.2.4.2.2.1. Piezoelektriklerde Sınırlamalar

Daha önce piezoelektriğin lineer teorisinin uygulamasını sınırlayan farklı yönler olduğu belirtilmiştir.

- **Depolarizasyon**

  Elektriksel Depolarizasyon

  Mekanik Depolarizasyon

  Termal Depolarizasyon

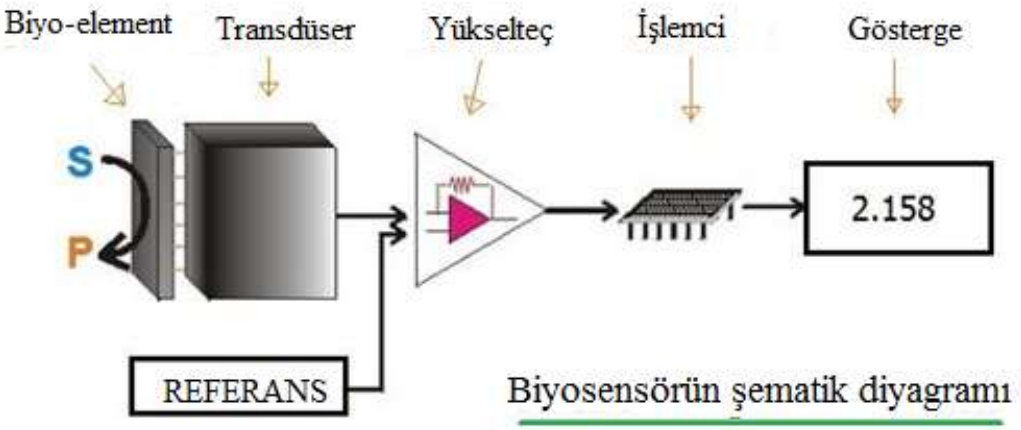
- **Frekans Sınırlamaları**

1.2.4.2.3. Piezoelektrik Malzemelerin Kullanıldığı Yerler / Uygulama Alanları

Piezoelektrik malzemelerin kullanıldığı cihazlar üç genel başlık altında toplanabilir. Bunlar: sensörler, üreteçler ve transdüserlerdir (dönüştürücüler).

1.2.4.2.3.1. Sensör

Biyolojik, kimyasal veya biyokimyasal sinyali ölçülebilir ve işlenebilir elektriksel sinyale dönüştürebilen, transdüser ile birleştirilmiş cihaz veya enstrümandır.



Şekil 1.27. Sistematik diyagram [81]

Basınca göre çok küçük değerlerde elektrik gerilimi-akımı üretirler.

Bu sensörlerin en önemli özelliği basınca çok çabuk tepki vermesidir. Bu nedenle ani basınç değişimlerinin meydana geldiği uygulamalarda bu sensörler kullanılır.

1.2.4.2.3.2. Üreteçler

Üreteç olarak tasarlanan piezoelektrik malzemeler, gerilim (voltaj) üretirler. Bu özelliklerinden ötürü herhangi bir elektrot aralığında ark oluşturabildiklerinden yakıt ateşleyicilerinde, gaz sobaları, kombi gibi cihazlarda, kaynak ekipmanlarında ve daha birçok cihazda piezo-çakmak (ateşleme aparatı) olarak kullanılırlar.

1.2.4.2.3.3. Transdüserler

Piezoelektrik transdüserleri elektrik enerjisini mekanik enerjiye veya tersinir olarak mekanik enerjiyi elektriksel enerjiye çeviren yapılardır. Basit olması, güvenilirliği ve daha az enerjiye ihtiyaç duyması bu devre elemanlarının tıpta ultrason cihazlarında, mesafe, akış, sıvı seviyesi ölçen cihazlarda kullanılmasına olanak sağlamaktadır [82].

1.2.5. Kuvars Kristal Mikrodenge

Piezoelektrik sensörler en genel anlamda karakteristik rezonans frekansındaki farklanmayı belirleyerek bir piezoelektrik kristal yüzeyinde toplanan örneğin kütlesinin ölçülmesi esasına göre çalışan, gravimetrik aygıtlardır. Sensör seçimliliği, kristal

yüzeyindeki madde ile spesifik bir etkileşime sahip analitin birikimiyle ilişkilidir.

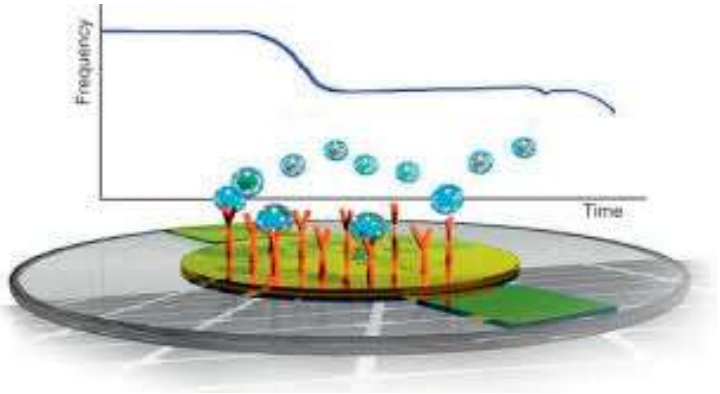
Bildirilen çok sayıda cihaz arasında kütle algılayıcı sensör olan QCM (*Quartz Crystal Microbalance*) kütledeki değişikleri takip ederek, biyolojik izleme, metal tayininin yapılması, kimyasal tepkimelerin takibini yapabilen, piezoelektrik özelliktedir. Yerinde özellikle su yönetim merkezlerinde gerçek zamanlı, hızlı ve erken tespit yapabiliyor olması, hassasiyetinin yüksek, maliyetinin düşük, tasarımının ve kullanımının kolay olması, dahili, otomatik okuma, veri kaydı, değerlendirme özelliklerine sahip bir cihaz olması ve nanomolar aralıkta düşük algılama limitleri (LD) ile mükemmel algılama performansı sergilemektedir.

Bir QCM cihazı altın kaplı bir kuartz kristalin içerisinden belirlenmiş resonans frekanslarında elektriksel bir sinyal yollayarak çalışmaktadır. QCM çalışmalarında en yaygın kullanılan elektrotlar altın elektrotlarıdır. Çünkü altın hava içerisinde okside olmaz.



Şekil 1.28. QCM sensörleri [83]

QCM kristal içerisindeki salınımın frekansını ölçer. Biyosensör olarak kullanıldığında, QCM kristalin yüzeyindeki kütle değişimlerinden dolayı kristalin frekansındaki değişimleri ortaya çıkarmaktadır.



Şekil 1.29.Kütleye bağlı frekans kayması [84]

1.2.5.1. Kuartz

Tablo 1.9. Kuartz Kristalinin Özellikleri

Formülü	SiO_2
Bileşenleri	% 46,5 Si ve % 53,3 O_2
Renkli oluşumları	Mor (Ametist) / Siyah(dumanlı kuartz)
Kimyasal Özellikleri	Piezoelektrik
	Piroelektrik
Fiziksel Özellikleri	Saydam renksiz

Kuartz kristal kimyasal doğasına, şekline, boyutuna ve kütlesine bağlı olan doğal bir titreşim frekansına sahiptir. Şekil 1.30'da kuartz kristaline ait resimler görülmektedir.



Şekil 1.30. Kuartz kristali [85]

1.2.5.2. Kuartzın Kullanım Alanları

Değerli taş grubundan olan kuvars taşının kullanım alanı oldukça geniştir. Bunlardan birkaçı;

- Sanayi (Ham madde)
- Endüstri
- Kum
- Alt yapı Malzemeleri şeklinde örneklenebilir.

1.2.5.3. Piezoelektrik Etki Ve QCM'in Çalışma Prensibi

Piezoelektrik etki ilk defa 1880'de Jaques ve Pierre Curie tarafından Rochelle tuzunda keşfedilmiştir. Piezoelektrik mekanik kuvvet uygulandığında elektriksel, elektriksel kuvvet uygulandığında da mekanik kuvvet olulturacak şekilde tasralanmış tersinir bir etkidir.

Kristalin yüzeyi üzerine yerleştirilen herhangi bir maddenin kütlesi ile rezonans frekansının etkinin çok yüksek bir hassasiyetle kütle ölçümünde kullanılabilmesi mümkün olmaktadır. Kristal yüzeyine işlevselleştirmek amacıyla kaplama yapılması kristalin sensör olarak kullanılabilmesine olanak tanımaktadır. Bu prensipten yola çıkarak piezoelektrik özellik taşıyan malzemeler hem aktüatör olarak hem de sensör olarak kullanılabilmektedirler. Bu sistemde kullanılan kristal iki tane elektrot arasında bulunmaktadır. Bu elektrotlar bir osilatöre bağlıdır. Ve sisteme verilen akım kristalin titreşim yapmasına izin verir.

QCM sisteminde kullanılan elektrotlar genellikle 1000 Å miktarında % 99,99 saf altından (Au) yapılmaktadır.

QCM'in amacı yapısında partiküllerin hassas ölçümünün yapılabilmesi bulundurduğu iki kristal arasında meydana gelen frekans değişimini algılayarak ortaya çıkarmaktır. Tespitin yapılacağı kristalde immobilizasyona bağlı olarak kütle artacak, zamanla rezonans frekansında düşme gözlemlenir. Bu düşme neticesinde diğer kristal ile frekans farkı meydana gelir. Elde edilen frekans farkları program yoluyla kaydedilir, bilgisayara

aktarılır ve çeşitli programlar aracılığıyla analizleri yapılabilir.

Sensörler, fiziksel ve/veya kimyasal değişimleri algılayarak elektriksel sinyale çeviren aygıtlardır [86]. Kütle algılayıcı sensör olan Kuvars Kristal Mikrodenge (Quartz Crystal Microbalance (QCM)), piezoelektrik özelliktedir. Mekanik kuvvet uygulandığında elektrik, elektriksel kuvvet uygulandığında ise fiziksel boyutlarda değişim (burkulma) oluşmaktadır. Bu etki ile kuvars kristal, osilatör devresi vasıtasıyla doğal frekansında rezonans üretir. Kütle artışına bağlı değişimlere gerçek zamanlı etiketsiz ölçümler şeklinde gerçekleştirmeyi mümkün kılar. QCM salınım frekansı kütlesi ile orantılıdır ($\Delta m \sim \Delta f$). Üzerine biriken kütle miktarına göre salınım frekansı azalır [87]. Kütle miktarındaki değişim ile salınım frekansındaki değişim arasındaki ilişkiyi açıklayan Sauerbrey Eşitliği (1)'de verilmiştir [87]. Sauerbrey denklemi, havadaki salınım için geliştirilmiştir ve yalnızca kristale bağlanmış katı materyallere uygulanmaktadır.

QCM'de quartz sensörün yüzeyine materyalin tutunması ile meydana gelen kütle artışı, "f" ile gösterilen rezonant frekansının azalmasına yol açar.

Sauerbrey Denklemi

$$\Delta f = -\frac{2\Delta m f_o^2}{A\sqrt{p_q \mu_q}} = -\frac{2 \times f_o^2}{A\sqrt{p_q \mu_q}}\Delta m$$

Burada,

f_0 = kristalin resonant frekansı,

A = kristalin elektrotlar arasındaki hareketli alanı,

ρ_q = kuartzın yoğunluğu,

μ_q = kayma genliği(katsayısı), ve v_q kuartzdaki kayma dalga hızıdır.

1.2.6. QCM Uygulamaları

QCM sistemler yüksek hassasiyete sahip olması, kullanım kolaylığı, spesifikliği, ucuz olması, doğrudan cevap vermesi gibi avantajlara sahip olduğundan hastalık teşhisi, antijen/antikor etkileşimi, ilaç analizlerinde, gaz sensörü olarak ve spesifik molekül

tayinlerinde kullanımı son zamanlarda oldukça artmıştır. Kristalin yüzeyinin analizlenecek analite göre spesifik olarak tasarımı hassasiyeti arttıran bir etkendir. Uygulamalar, biyomolekülleri, lipidleri, nanopartikülleri, polimerleri, polimer filmleri ve hücreler/bakterileri içermektedir. QCM tekniği çok ince yüzey sınır tabakalarının kütlesini belirler ve viskoelastik özellikleri hakkında bilgi verir. QCM tekniği yüzeyde bulunan makromoleküllerle çalışmak için uygun bir tekniktir ve var olan teknikleri tamamlayıcı özelliğe sahiptir. Yüksek duyarlılığı ve eş zamanlı algılama özelliği ile QCM birçok uygulamada kullanılabilirlik açısından cazip duruma gelmiştir.

Aşağıda QCM'in uygulama alanlarının yalnızca bir kısmı gösterilmiştir.

1. Biyoteknolojideki Uygulamalar
2. Fonksiyonel yüzeyler
3. İnce film Oluşumu
4. İlaç Araştırmaları
5. Kimyasal Madde Tayini
6. Ağır Metal Tayini
7. Diğer Uygulama Alanları

Kurulan sistemlerden frekans değişim bilgileri alınarak da algılama ile ilgili olarak nicel ve nitel yöntemler ile birikimi izleme tür belirleme (tespiti) , immunoserolojik yöntem (kromatografik) tespit, korozyon görüntüleme, elektrokimyasal analizler gibi birtakım çözelti ölçümleri yapılabilmektedir.

Kanazawa ve Gordon, çözeltide çalı QCM'lerin, temas halinde oldukları çözeltinin akı karşı direncini ve yoğunluğunu algılamaya da duyarlı olduklarını gösterdiler [88].

Mosbach ve ark. 1997 yılında yayınla polimer kaplanmış QCM sensörlerle gerçekle sistemi yayımlamışlardır. QCM do tayinlerinde kullanılabilen bir sensördür. Günümüzde QCM sensörler biyomimetik ve kimyasal tanı alanlarında kullanılmaktadırlar [89].

Biyosensör Uygulamaları için 3-Mercaptopropylmethoxysilane Tabanlı Kaplama Yöntemlerinin İncelenmesi, Soylu ve arkadaşları tespit için iki farklı kaplama yöntemi deneyerek kaplamanın önemini belirlemiş ve yüksek verimli kaplama yöntemi tayinini gerçekleştirmişlerdir [87].

Quartz Crystal Microbalance (QCM) Tabanlı Sensör ile Glikoz Seviyelerinin Ölçülmesi, Sadık ve arkadaşları QCM sensör kullanarak içerisinde farklı oranlarda glikoz bulunan saf sudan glikoz seviyelerinin ölçümünü gerçekleştirmeye çalışmışlardır [90].

Bir başka çalışmada; spesifik kaplama materyaline sensitif adsorbe edilen maddelerin nanogram seviyesinde kütle değişimlerinin izlendiği bir sistem ile çevresel zararlı atıklar ya da denize dökülen kimyasallar açısından hava kirliliğinin uzaktan ve otomatik izlenmesi için uygun taşınabilir mikroişlemsel kontrollü piezoelektrik kuvars mikrobalans sisteminin kurulması anlatılmaktadır [91].

BÖLÜM 2

YÖNTEM VE METODLAR

2.1. Deney Malzemeleri ve Kimyasalları

2.1.1. Kullanılan Cihazlar

Yapılan deneyler ve ölçümler esnasında kullanılan cihazlar aşağıdadır.

1) Kuartz Kristal Mikrodenge (QCM) cihazı – Referans Kimya – e QCM 10M



Şekil 2.1. QCM cihazı

eQCM Cihazı 3 bileşenden oluşmaktadır. Bunlar elektronik ünite, hücre (oda) platformu ve flow (akış) modülüdür. Cihazda sensör olarak 5 MHz, 14 mm çaplı, parlatılmış, AT-

kesimli, altın elektrotlar kullanılmaktadır.

Cihazın sıvıdaki maksimum kütle hassasiyeti 0,1 ng/cm^2 (1 pg/mm^2) olarak kataloğunda yer almaktadır.

2) Karıştırıcı (Vorteks) - Stuart

3) Hassas Tartı – Radwag

4) pH-metre – Milwaukee

5) Isıtıcı – IKA CMAGHS7

6) Peristaltik Pompa – Longer Pump

7) Altın Sensör - Qsense

2.1.2. Kullanılan Kimyasallar

1) Etil Alkol (Merck: 1117272500)

2) Bovine Serum Albumin (Sigma-Aldrich (% 96): A2153)

3) Saf Su (Erciyes Üniversitesi Çevre Mühendisliği laboratuvarlarından temin edildi)

4) İçme Suyu (Piyasadan alınmış bir su markasından temin edildi)

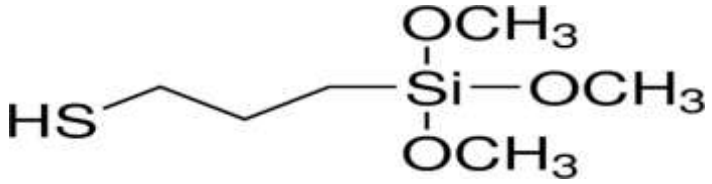
5) SDS (Deterjan) (Merck: 8220500100)

6) Sülfirik Asit (Sigma-Aldrich: 30743)

7) Hidrojen Peroksit (Merck(% 35): 10860001000)

8) KOH (Merck: 1050331000)

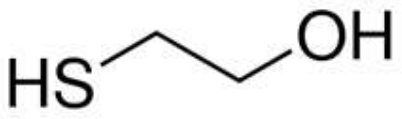
9) (3-Mercaptopropyl)trimethoxysilane (MPS) (Sigma: 175617)



Şekil 2.2. MPS yapısı

Kapalı Yapısı = $HS(CH_2)_3Si(OCH_3)_3$

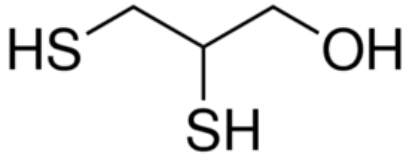
10) 2-Mercaptoethanol (ME) (Merck (% 99): 8057400250)



Şekil 2.3. ME yapısı

Kapalı Yapısı = C_2H_6OS

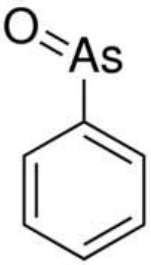
9) 2,3-Dimercapto1-propanol (BAL) (Sigma (% 98): 64046)



Şekil 2.4. BAL yapısı

Kapalı Yapısı = $HOCH_2CH(SH)CH_2SH$

11) Fenil Arsin Oksit (phenylarsine oxide PAO) (Sigma-Aldrich (% 99): 71287)

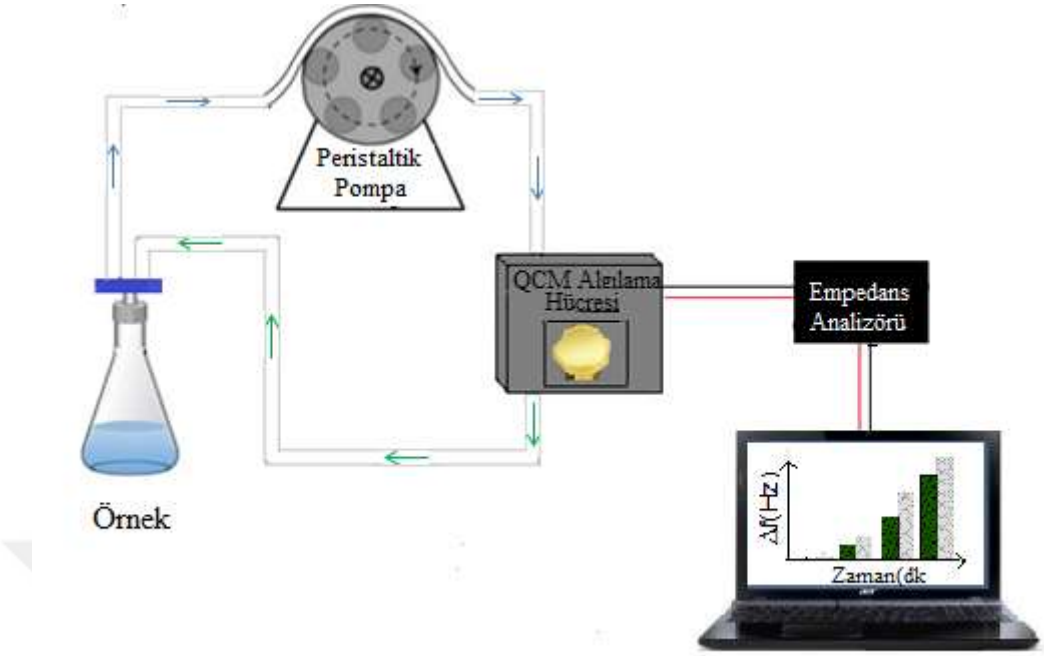


Şekil 2.5. PAO yapısı

Kapalı Yapısı = C_6H_5AsO

2.1.3. Kullanılan Deney Düzeneği

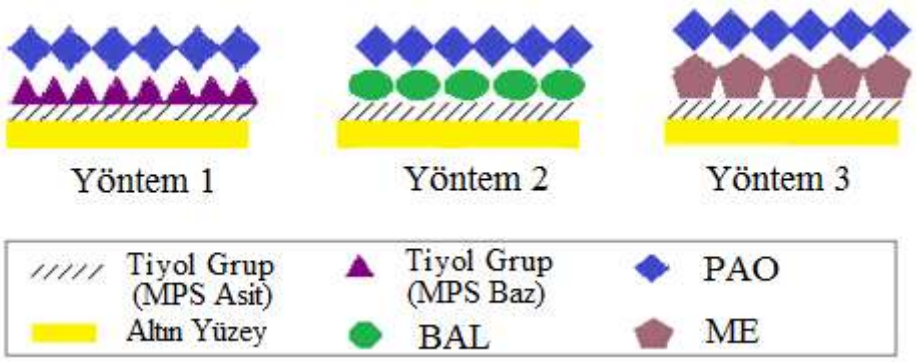
Yapılan deneylerde peristaltik pompa ile hücreye aktarılan solüsyonlar, hücre sonrasında tekrar değerlendirilmek üzere solüsyonun verildiği kaba aktarılmıştır. Deneyler süresince kullanılmış olan deney düzeneği aşağıdaki görselde gösterilmiştir.



Şekil 2.6. Deney düzeneği

2.2. Yöntem

Altın yüzeyde arsenik tayini için yüzey işlevselleştirme, asidik ortamda uygulanan 3-Mercaptopropyl) trimethoxysilane (MPS - % 95, Sigma-Aldrich) yüzey kaplaması üzerine, bazik ortamlarda uygulanan MPS (% 95, Sigma-Aldrich), 2- Mercaptoethanol (ME - % 99, Merck) ve 2,3-Dimercapto1-propanol (*dimercaprol, BAL* - % 98, Sigma-Aldrich) uygulanmış ve kontrol ve arsenik tespiti aşamaları ile yüzey modifikasyonları test edilmiştir. As komplekslerini yakalamak için test edilmiş yüzey modifikasyon yöntemlerinin (Yöntem 1, 2, 3) illüstrasyonu Şekil 2.7'de gösterilmiştir.



Şekil 2.7. Yüzey modifikasyon yöntemlerinin illüstrasyonu

Tablo 2.1. Test Edilmiş Yüzey Modifikasyon Yöntemleri

Yöntem	Tiyol Grup	Reseptör	Analit
Yöntem 1	Asidik MPS – Bazik MPS	-	PAO
Yöntem 2	Asidik MPS-Bazik MPS	BAL	PAO
Yöntem 3	Asidik MPS	ME	PAO

Yöntem 1, Asidik MPS ve Bazik MPS' in yüzeye modifikasyonu yüzeyde bağlayıcı ajan kaplaması olmadan arsenik adsorpsiyonuna dayanır. Burada serbest MPS molekülleri üzerinde metoksi grupları, sulu etanol çözeltisi içinde hidrolize (bir silan grubunun bir silanol ile değiştirildiği bir işlem) edilir, MPS'in tiyol grupları, tiyol-altın etkileşimi yoluyla QCM altın yüzeyi üzerinde tutulmaktadır. Hidroksil grupları, kaplama sürecinde kendi aralarında yoğunlaşarak altın yüzey üzerinde bir katman oluşturmaktadır.

Bu katmanın üzerindeki hidroksil grupları ile serbest MPS moleküllerindeki hidroksil gruplarının yoğunlaşması devam etmekte ve yüzeyde tiyol gruplarından oluşan üst bir katman oluşmaktadır

Yoğunlaşmadan sonra, kaplama üzerinde kalan serbest nükleofilik hidroksil grupları PAO (As - % 99, Sigma-Aldrich) ile reaksiyona girer ve izlenilen immobilizasyon prosedürünün ana adımları şu şekildedir:

Altın Yüzey >> Asidik MPS >> Bazik MPS >> PAO

Yöntem 2, Asidik ve Bazik MPS katmanları ile yüzeyde tiyol grupları oluşturulmuş çift tiyol grubu bulunan BAL bağlama ajanı ile yüzey aktivasyonu artırılmıştır.

İmmobilizasyon prosedürünün ana adımları:

Altın Yüzey >> Asidik MPS >> Bazik MPS >> BAL >> PAO

Yöntem 3' te asidik MPS kaplama ve ME bağlantı kombinasyonunu kullanılmıştır.

Yüzeye geçen MPS molekülleri üzerindeki hidroksil grupları, bir sonraki bağlanan ME molekülünün hidroksil grubu ile yoğunlaşmaya başlar ve bu yoğunlaşma, altın yüzeyinde sıkı bir kaplama oluşturur.

Altın Yüzey >> Asidik MPS >> ME >> PAO

2.3. Biyosensör Yüzey Modifikasyonu

2.3.1. QCM Sensör Temizliği

Tespit öncesi ön hazırlık aşamasında % 33 Saf Su (Çevre mühendisliğinden temin edildi.) + % 33 Sülfirik Acit (% 97, SigmaAldrich) + % 33 Hidrojen Peroksit (% 35, Merck) oranlarında kimyasallar eklenerek pirhana solüsyonu hazırlandı. Hazırlanan pirhana solüsyonu 5 mL'lik behere alınıp 5 dk boyunca sensör yüzeyinin beher içinde organik temizliği yapılmıştır. Bu aşamadan sonra sensör saf su ve etil alkolden geçirilmiştir.

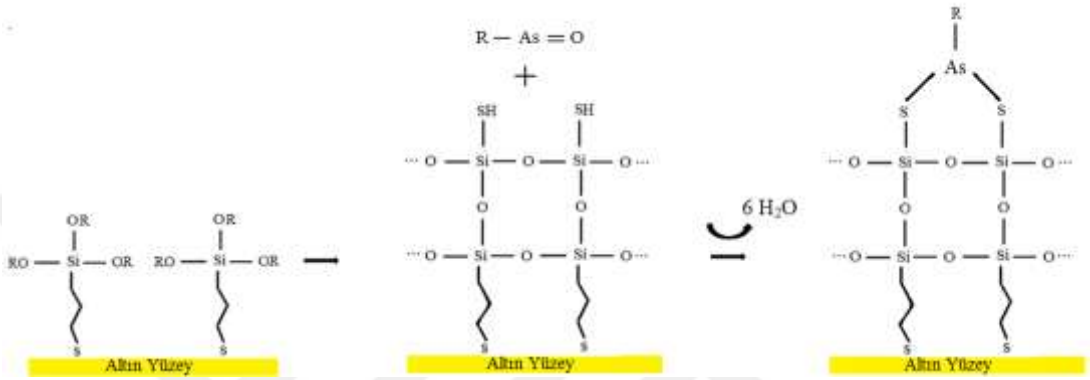
2.3.2. MPS Kaplama

Sensör yüzeyinin kimyasal ve morfolojik özellikleri tespitin kalitesi ve hassasiyeti ile doğrudan ilişki arz etmektedir. Kullanılacak olan diğer kimyasalların yüzeye immobilizasyonu için önemli bir görev üstlenir.
Altın sensör yüzeyi kaplamanın kalitesini artırmak amacıyla Asidik MPS, Bazik MPS veya sadece Asidik MPS olmak üzere 3 farklı şekilde modifiye edilmiştir.

Kaplama kalitesine bağlı rezonans frekansındaki değişimi karakterize etmek için ilk aşamada Şekil 2.6'da şematik olarak gösterilen devre kurulumu kullanılarak QCM' nin akış hücresine yerleştirilen altın yüzey üzeri kimyasal kaplama ajanı olarak tercih edilen 3-Mercaptopropyl-trimethoxysilane (MPS)'in asidik formu kullanılarak modifiye edildi. Asidik kaplama için % 0,1 MPS + % 0,5 saf su alınarak asidik MPS (pH =4,5) solüsyonu hazırlandı. Hazırlanan solüsyon sensör yüzeyine 30 dk süreyle peristaltik pompa akış hızı 600 µL/dk olacak şekilde ilave edildi. Yüzey daha sonra etil alkol ile yıkandı. İkinci aşamada bazik MPS kaplama için içerisinde % 0,01 MPS + % 0,5 saf su bulunan bazik MPS (pH= 9,0) solüsyonu hazırlandı. Hazırlanan solüsyon asidik MPS kaplama yapılmış olan sensör yüzeyine 30 dk süreyle pompanın akış hızı 600 µL/dk olacak şekilde ilave edildi. Yüzey daha sonra etil alkol ve saf su ile ard arda yıkandı.

Çünkü % 0,1 MPS + % 0,5 saf su içeren pH=9,0 da bulunan etanol solüsyonunun altın sensör yüzeylerindeki en uygun MPS kaplama solüsyonu olduğu bilinmektedir [92].

MPS kaplanması hidroliz ve yoğunlaşma gibi reaksiyonlara dayanmaktadır. Öte yandan, su eklenmesinin ve daha yüksek bir pH değerinin hem hidrolizi hem de yoğunlaşma reaksiyonlarını hızlandırabileceği bilinmektedir [93].



Şekil 2.8. MPS kaplamanın yüzey ile etkileşimi

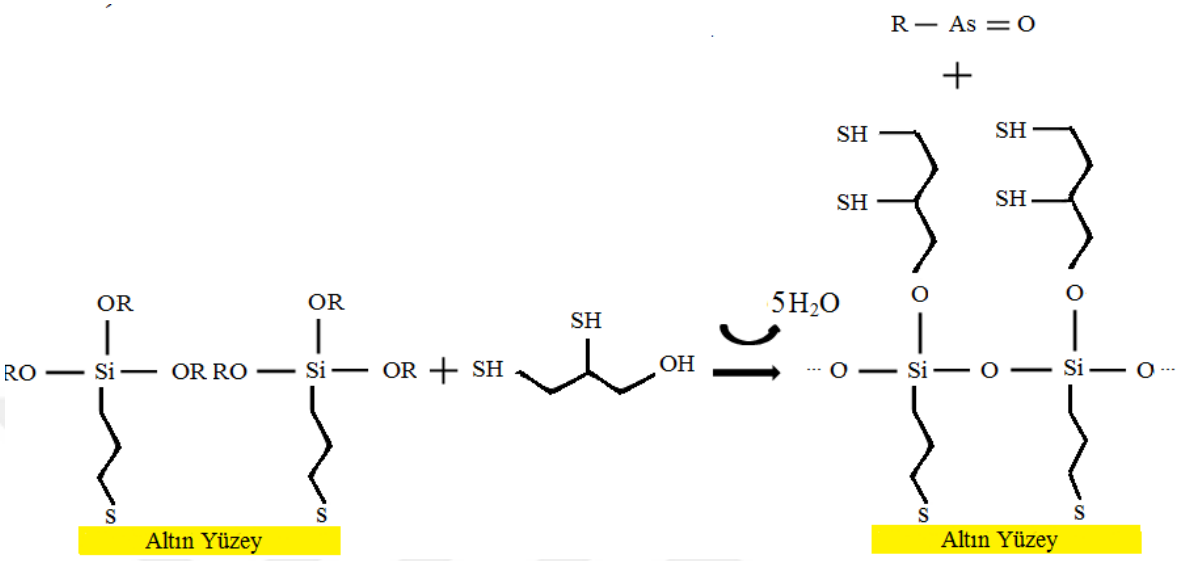
QCM' nin akış hücresine yerleştirilen altın yüzey üzeri kimyasal kaplama ajanı olarak tercih edilen MPS ile modifiye edilirken bu süre zarfında MPS adsorpsiyonuna bağlı olarak 30 dakika süresince frekans kayması gözlenmiştir. Frekanstaki kayma sensör yüzeyine MPS immobilizasyonunun başarı ile gerçekleştiğini göstermektedir. Bu veriler, literatürde yapılan çalışmalar ile uyumluluk göstermektedir [93].

3 tekrarlı olarak gerçekleştirilen bu kaplama aşamasında elde edilen ham verilerin ortalamaları alınmış sonrasında oluşan veri setine data fitting (eğri uydurma) işlemi uygulanarak outlierlar (aykırı veri) ve istenmeyen verilerin (gürültü) bastırılması sonucu, gürültüsüz, aykırı veriler barındırmayan ve verileri en az hata ile kapsayan bir eğri uydurulmuştur.

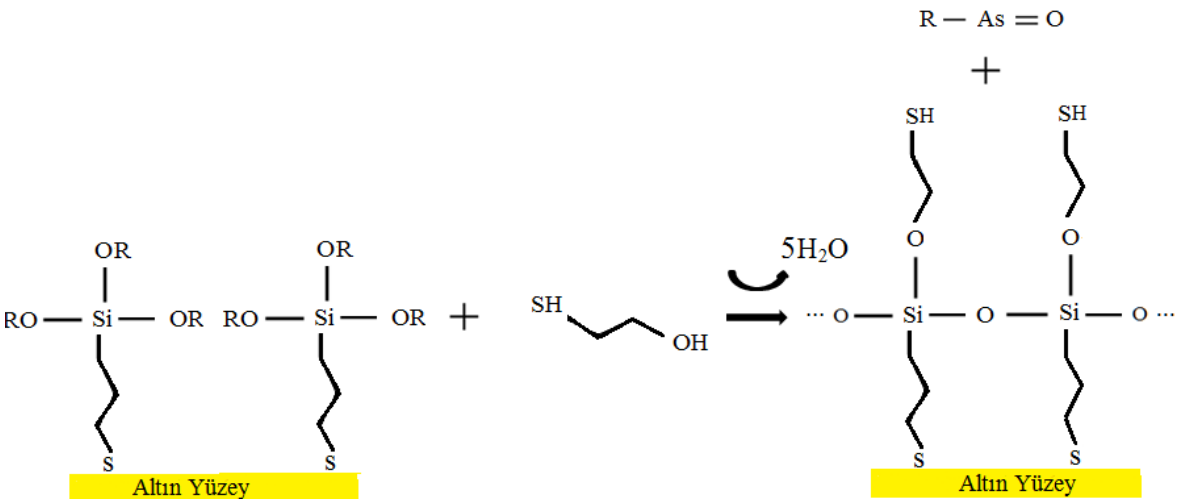
2.3.3. Reseptörlerin İmmobilizasyonu

Deney sürecinde 2 farklı bağlayıcı ajan kullanıldı: BAL ve ME. Yöntem 1'de MPS' in ikinci katmanındaki sülfidril iyonları reseptör olarak kullanıldı. Yöntem 2'de asidik MPS kaplaması sonrası yüzeye arsenik bazlı kimyasal bir silah olan BAL reseptörü immobilizasyonu gerçekleştirildi. Yöntem 3'te asidik MPS kaplaması sonrası yüzeye biyosensör uygulamalarında indirgeme ve bloklama ajanı olarak kullanılan çok güçlü

metal – kükürt bağlantıları olulturan ME reseptörü immobilizasyonu gerçekleştirildi [94-100].



Şekil 2.9. BAL'ın MPS ile etkileşimi



Şekil 2.10. ME'nin MPS ile etkileşimi

2.3.3.1. BAL ve ME Solüsyonlarının Hazırlanması ve Uygulanması

BAL prosedürü için 1 mL etil alkol içerisine 10 µL BAL eklenerek BAL solüsyonu hazırlandı ve 1 dk boyunca vortekslenerek 30 dk süreyle sensör yüzeyine kapalı döngü ile pompa hız ayarı 600 µL/dk olacak şekilde modifiye edildi. Daha sonra yüzey etil alkol ve saf su ile ard arda temizlendi [101].

ME prosedürü için için 1 mL etil alkol içerisine 15 µL saf su, 30 µL ME ve 2 mL potasyum hidroksit (KOH - %85, Merck) ilave edilerek ME solüsyonu elde edildi ve hazırlanan solüsyon 30 dk süresince sensör yüzeyine kapalı döngü ile pompa hız ayarı 600 µL/dk olacak şekilde modifiye edildi [102]. Sonrasında sensör yüzeyi etil alkol ve saf su ile ard arda yıkandı.

30. dk'dan sonra sensör yüzeyine ME reseptörü verilmeye başlanmıştır. 60 dk'lık işlem süresi sonunda belirgin ölçüde bir frekans kayması görülmüştür. ME'nin kullanılma amacı hem bazikliğin sağlanması hem de arseniğin bağlanacağı uygun sensör yüzeyinin oluşturulabilmesidir. Yapılan bu immobilizasyon neticesinde hem arsenik bağlantısı için istenilen bağlantılar gerçekleştirilmiş hemde MPS kaplamanın teyit edilmesi sağlanmıştır. Eğer MPS immobilizasyonunda sıkıntı olsaydı ME'nin yüzeyde tutunacağı bağlantıların olmamasına bağlı frekansta kaymanın gözlenememesi beklenirdi.

Arzu edilen çizimlerin elde edilmesi için MPS kaplama işleminde bahsedildiği gibi ME reseptörünün immobilizasyonu işleminde de 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilen bu kaplama aşamasında elde edilen ham verilerin ortalamaları alınmıştır. Sonrasında, oluşan veri setine eğri uydurma (curve fitting) işlemi uygulanarak aykırı veriler (outlier data) ve istenmeyen verilerin (noise) bastırılması sonucu, gürültüsüz, aykırı veriler barındırmayan ve verileri en az hata ile kapsayan grafikler elde edilmiştir.

2.3.3.2. ME Kaplamanın Doğrulanması

ME kaplamanın teyit edilmesi amacıyla Büyükbaş Serum Albümini (BSA) adı verilen büyükbaş hayvanlardan izole edilen serum albümin proteini kullanılmıştır. Bu protein birçok uygulamada yüzey morfolojisinin verimi hakkında bilgi edinilmesi amacıyla kullanılmaktadır. Ayrıca analizlerde sinyalin stabilizasyonu artırması, diğer kimyasallara nazaran daha ağır olduğundan frekans ekseninde ciddi etkilere sebebiyet vermesi ve düşük maliyeti nedeniyle oldukça sık tercih edilmektedir [103].

Sensör yüzeyine 15 dk süresince kapalı döngü ile pompa hız ayarı 600 µL/dk olacak şekilde 3 mL'lik saf su içerisinde % 5 oranında BSA uygulanmıştır.



Şekil 2.11. BSA kaplama blok diyagramı [87]

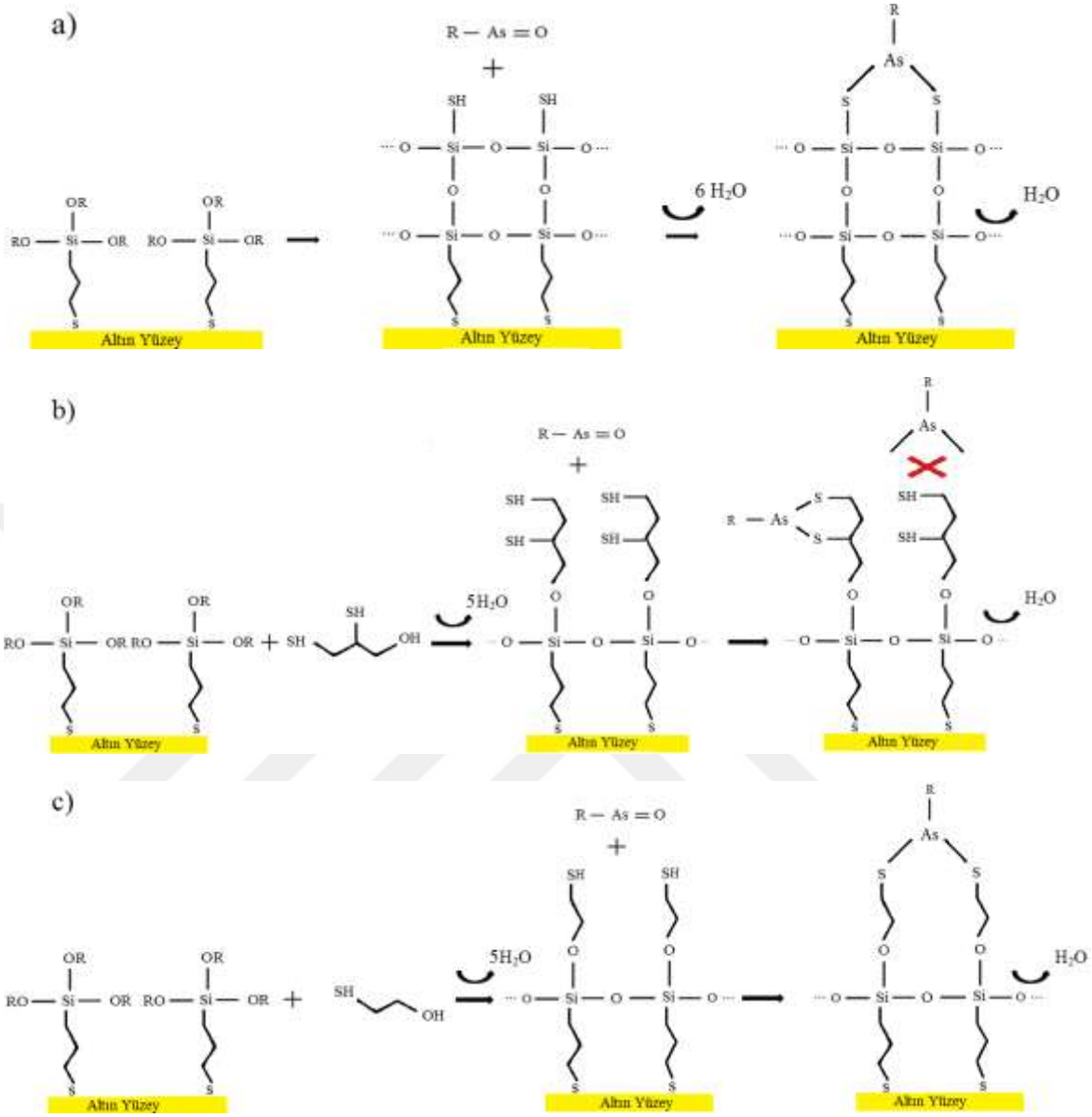
Frekans kaymalarının grafiksel olarak ortaya konulabilmesi için BSA süspansiyonunun immobilizasyonu 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilemiştir. Elde edilen ham verilerin ortalamaları alınmış sonrasında oluşan veri setine eğri uydurma (curve fitting) işlemi uygulanarak aykırı veriler ve gürültülerin bastırılması sonucu, gürültüsüz, aykırı veriler barındırmayan ve verileri en az hata ile kapsayan grafikler elde edilmiştir.

2.4. Kaplama İşlemlerinin Doğrulanması

Yöntem 1, 2 ve 3 prosedürlerinde belirtilen MPS kaplamaları, reseptör immobilizasyonları ve bu immobilizasyonların teyiti gerçekleştirildikten sonra yüzey işlevselleştirmenin en yüksek verimle hangi yöntemde gerçekleştirildiğinin sınanabilmesi amacıyla içerisinde analit bulunmayan tespitin yapılacağı analitin bulunduğu ortama göre iki farklı ortama (saf su, içme suyu) 30 dk boyunca kapalı döngü ile hız ayarı 600 µL/dk olacak şekilde maruz bırakıldı. Bu amaç doğrultusunda işlem en az 3 defa tekrar edilerek iki farklı ortam içinde sinyalin stabil (neredeyse sıfıra yakın) hale getirilmesi sağlanmıştır.

2.5. PAO Tayini İçin Reaksiyonlar

Analit tespitinin gerçekleştirilmesi çalışmasında, yer altı sularındaki arsenik kirlenmesinin en yaygın türü olan PAO tercih edilmiştir [104].



Şekil 2.12. a) Temel şartlar altında altın yüzey üzerinde asidik MPS'in bazik MPS ile reaksiyonu b) Temel şartlar altında altın yüzey üzerinde asidik MPS'in bazik BAL ile reaksiyonu c) Temel şartlar altında altın yüzey üzerinde asidik MPS'in ME ile reaksiyonu

2.5.1. 3 Farklı Yüzey İşlevselleştirme Yönteminin PAO Yönünden Kıyaslanması

PAO tayini için öncelikli olarak tespitin yapılacağı ortam (saf su, içme suyu) çözücü olarak belirlenmiştir. Ardından seçilen bu 50 mL çözücü içerine 8 mg PAO eklenerek stok PAO solüsyonu hazırlanmıştır. Bu adımı takiben stok PAO solüsyonu 100 ng/mL PAO konsantrasyonu için 3 kat, 10 ng/mL PAO konsantrasyonu için 4 kat ve 1 ng/mL

PAO konsantrasyonu için 5 kat açılmış, 1 dk boyunca karıştırılarak akış hücresine verilmiştir.

Deneysel gözlem sonucunda analitin bulunduğu ortamın ve konsantrasyonun tayine etkisini araştırmak amacıyla 1 ng/mL, 10 ng/mL ve 100 ng/mL olmak üzere 3 farklı konsantrasyonda PAO tespiti için 2 farklı çözücü ortamı içinde solüsyonlar hazırlanarak sensör yüzeyine ilave edilmiş ve 30 dk boyunca 600 µL/dk hız ayarında kapalı döngü ile maruz kalması sağlanarak ölçümlerin nicelleştirilmesi sağlanmıştır.

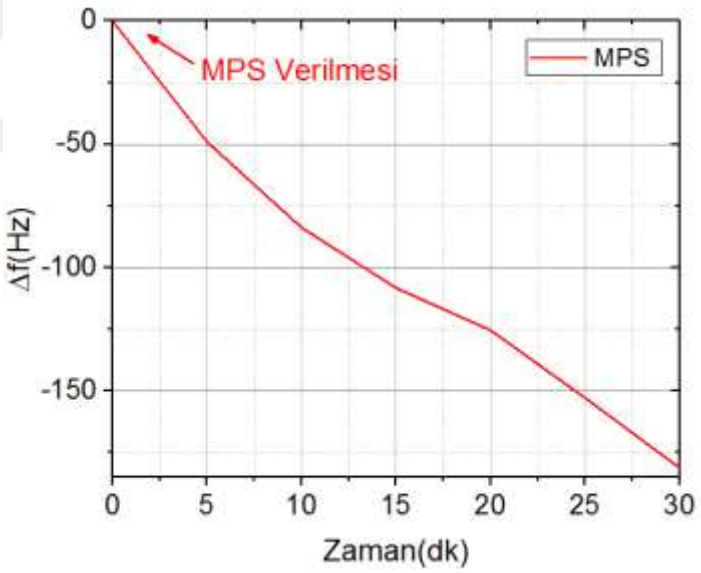
Her bir deney, frekans kaymasının ortalamalarının ve standart sapmalarının elde edilebilmesi için 3 farklı konsantrasyon için en az 3 kez tekrarlanmıştır. QCM' nin rezonans frekansı, 10 Hz' den daha düşük rezonans frekans kaymalarının güvenilir bir şekilde tespit edilmesini sağlayan dahili sinyal işleme algoritması kullanılarak bir empedans analiz cihazı (AIM4170C) ile izlenmiştir.

BÖLÜM 3

BULGULAR VE SONUÇLAR

3.1. Deney Aşamalarının Frekans Analizi

Adsorpsiyon ve kovalent bağ, yüzeylerde hareketsizleştirme için yaygın olarak kullanılan tekniklerdir. Adsorpsiyon pratiktir ve çeşitli sensörler için gösterilmiştir [41, 42].



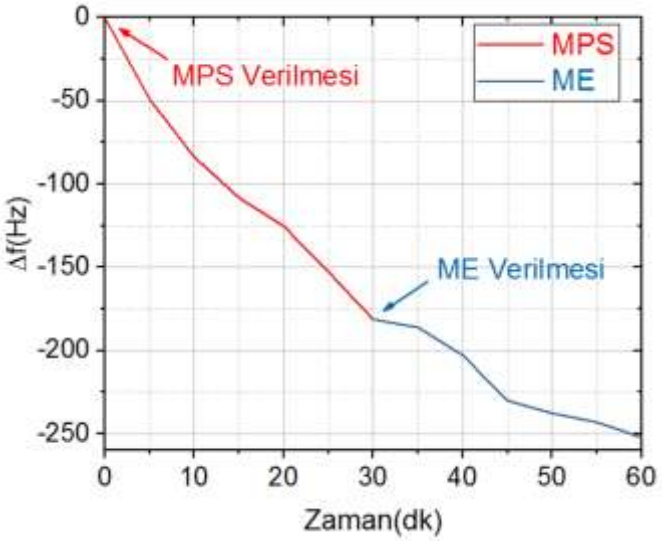
Şekil 3.1. MPS kaplama işleminin QCM ile takibi

Çalışmamızda Yöntem 1 sensör yüzeyinin asidik ve bazik MPS kaplanmasına dayanır ve arseniğin bağlanması için ikinci katmanı oluşturan bazik MPS' in tiyol grubu reseptörleri oluşturur. Hidrolize edilmiş MPS kendiliğinden monte edilmiş tek tabakalı, yanal olarak yoğunlaştırılmış OH grupları ve dik olarak yoğunlaşmamış OH gruplarında altın yüzeyinde sonuçlanır [94]. Bazik MPS'teki tiyol grupları PAO ile reaksiyona girer. Ancak çok yüksek konsantrasyonlarda dahi PAO bağlama oranının azlığına bağlı frekans kaymasında dalgalanmalar görülmektedir. Bu MPS' in pH duyarlı olmasından

kaynaklanır ve yüzeyde daha az tiyol grubu oluşması ile sonuçlanır [37]. Çıplak altın yüzey üzerinde pH= 4,5' ta asidik MPS adsorpsiyona bağlı olarak ortalama 100 Hz'lük frekans kayması; asidik MPS ile modifiye edilmiş sensör yüzeyine pH= 9,0'da bazik MPS ilave edildiğinde ise ortalama 50 Hz' lük frekans kayması gözlemlenmiştir.

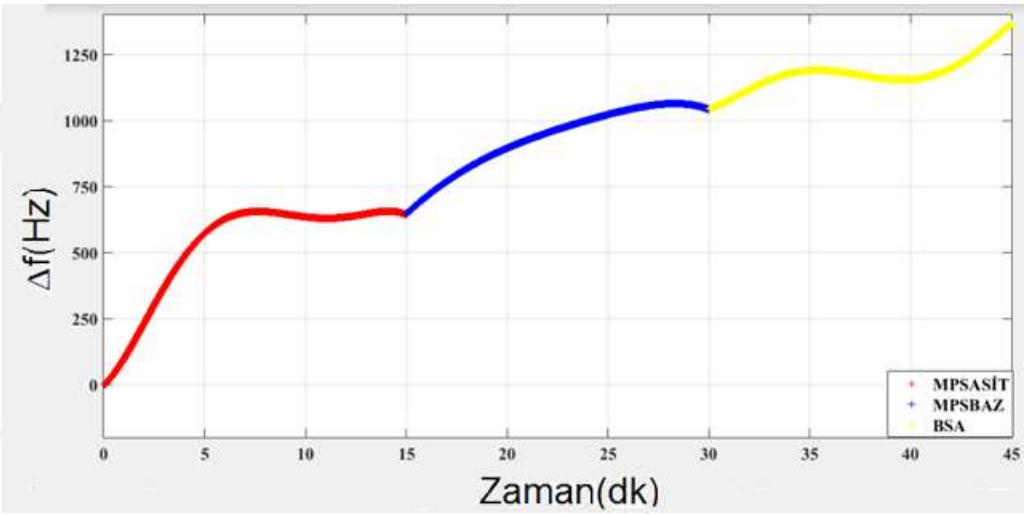
Frekans kaymaları yüzey bağlanmasını gösterse de düşük frekans kaymaları asidik ve bazik MPS kaplamanın PAO moleküllerinin bağlanmasında verimli bir yöntem olmadığını gösterir.

Yöntem 2 PAO immobilizasyonu için reseptör ile asidik MPS arasındaki kovalent bağlanmayı esas alır. Sensör yüzeyi asidik ve bazik MPS ile kaplanmış ve arseniğin bağlanması için epidemiyolojik olarak yapılan çalışmalar ışığında bağlayıcı olarak arsenik bazlı kimyasal bir silah olan (antidot - Lewisite) BAL reseptörünün immobilizasyonu tercih edilmiştir [57]. Çıplak altın yüzey üzerinde pH= 4,5'te asidik MPS adsorpsiyona bağlı olarak ortalama 100 Hz' lük frekans kayması; asidik MPS ile modifiye edilmiş sensör yüzeyine pH= 9,0'da bazik MPS ilave edildiğinde ortalama 50 Hz'lük frekans kayması, BAL adsorpsiyonuna bağlı olarak ise ortalama 80 Hz'lük frekans kayması gözlemlenmiştir. Ancak kullanılması gereken BAL miktarlarının kütle bazlı olarak UZEM' in yönlendirmesi [48] ile belirlenmesi ve BAL reseptörlerinin tiyolleri arasındaki açıya bağlı tiyol yönlendirmesinin arseniğin bağlanması üzerinde etkili olması yöntemin uygulanabilirliği kısıtlamış bu durum alternatif bir ajan kullanımı için yöntem 3 prosedürünün izlenmesine ortam hazırlamıştır [59].



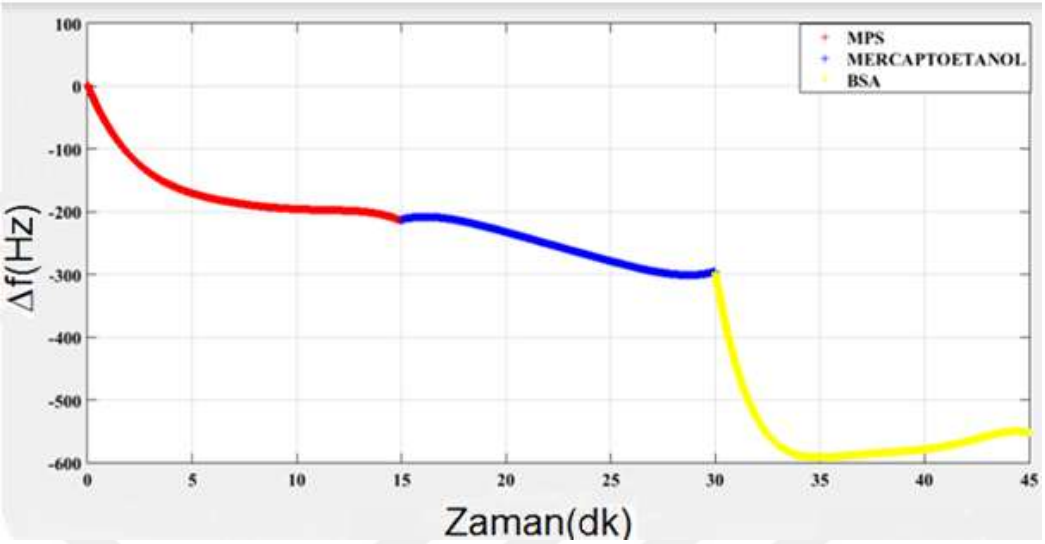
Şekil 3.2. ME kaplama işleminin QCM ile takibi

Grafikte görüldüğü gibi 30. dk'den sonra sensör yüzeyine ME reseptörü verilmeye başlanmıştır. 60 dk'lik işlem süresi sonunda 80 Hz'lük bir frekans kayması görülmüştür. ME'nin kullanılma amacı hem bazikliğin sağlanması hem de PAO'nun bağlanacağı uygun sensör yüzeyinin oluşturulabilmesidir. Yapılan bu immobilizasyon neticesinde hem PAO bağlantısı için istenilen bağlantılar gerçekleştirilmiş hem de MPS kaplamanın teyit edilmesi sağlanmıştır. Eğer MPS kaplamada sıkıntı olsaydı ME'nin yüzeyde tutunacağı bağlantıların olmamasına bağlı frekansta kaymanın gözlenememesi beklenirdi.



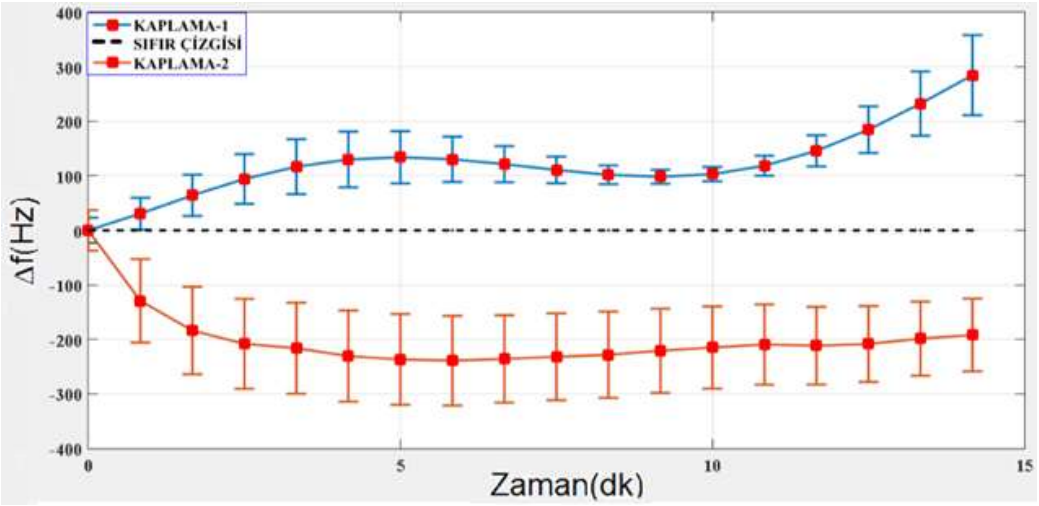
Şekil 3.3. BSA kaplama işleminin QCM ile takibi

İlk aşamadaki ters kayma, pirana solüsyonu ile yapılan temizlik sonrasında yüzeyde oluşan negatif iyonların, asidik MPS çözeltisindeki asetik asit iyonları ile arasındaki elektrostatik itme kuvvetiyle oluşmuştur. Bu durum yüzey kaplamasının tam olarak gerçekleşmemesine neden olmuştur. İkinci aşamada uygulanan bazik MPS çözeltisindeki –OH iyonlarının, tam olarak gerçekleşmeyen kaplamadan dolayı yüzey üzerinde kalan boşluklarda var olan negatif iyonlar ile aralarında oluşan elektrostatik itme kuvveti ters kayma oluşturmuştur. Kaplamaların tam olarak gerçekleşmemesinden dolayı yüzeyde tiyol grupları oluşturulamamıştır. Bu nedenle BSA süspansiyonu yüzeye bağlanamayarak ters kayma gerçekleşmiştir.



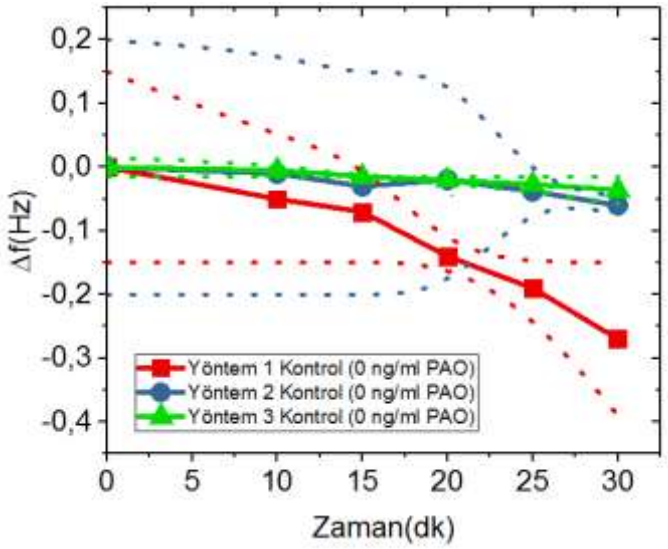
Şekil 3.4. BSA kaplama işleminin QCM ile takibi

QCM sensör yüzeyinde bir madde adsorblandığı veya biriktiği zaman daha önce de belirtildiği gibi piezoelektrik kristalin rezonans frekansı azalacaktır. Bu durum göz önüne alındığında deney sonuçlarında her iki kaplamanın ve yüzey modifikasyonunu teyit etmek amacıyla kullanılan BSA süspansiyonun, QCM sensörün altın yüzeyine tutunumunun daha iyi olduğu net olarak ortaya konmuştur.



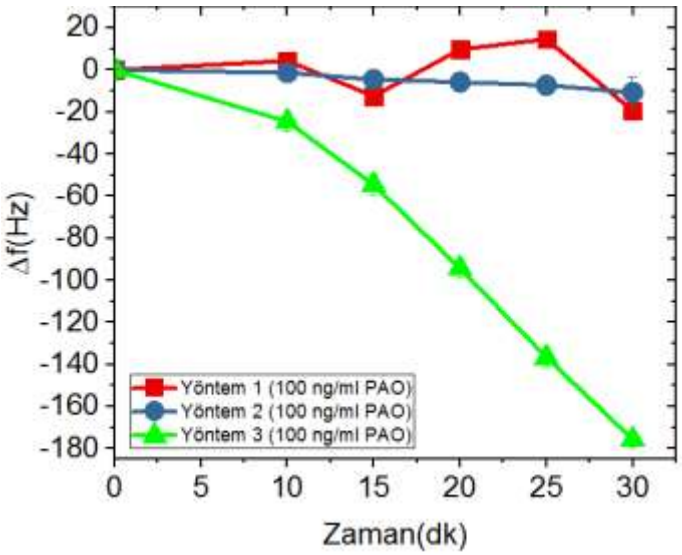
Şekil 3.5. BSA kaplama işleminin QCM ile takibi

Analitler olmadan su içerisinde 3 kaplama yönteminin tepkimelerinin kıyaslanabilmesi için frekans kaymalarının takip edilmesi gerekmektedir. Yöntemin uygunluğunun en belirgin özelliği frekans kaymalarındaki stabiliteye yakınlıktır. Buradan yola çıkarak en az 3'er tekrarlı deneyler yaparak stabiliteleri kontrol edilmiştir.



Şekil 3.6. Yöntem 1, 2 ve 3 ile Kontrol (0 ng/ml PAO) Frekans Kaymalarının Karşılaştırılması İşleminin QCM İle Takibi

Grafiğe bakıldığında kesik çizgiler standart sapmaları, noktalar ortalama verileri göstermektedir. Burada en stabil olan yöntemin Yöntem 3 olduğu görülmüştür. Yöntem 1'de gerekli olan yüzey modifikasyonunun sağlanamasına bağlı olarak aşağı yönlü bir kayma gözlemlenmiştir. Yöntem 2'de BAL reseptörünün arseniğe bağlanması için gerekli olan açı sağlanamadığı için BAL moleküllerinin girişimine bağlı olarak rezonans frekansında dalgalanmalar meydana gelmiştir. Yöntem 3'te yüzey işlevselleştirilmesinin uygunluğuna bağlı olarak 2 ortam içinde frekans kaymalarının sıfır olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 3.7. Yöntem 1,2 ve 3 ile PAO (100 ng/ml) frekans kaymalarının karşılaştırılması işleminin QCM ile takibi

Aynı deneyler en yüksek konsantrasyonumuz olan 100 ng/mL PAO bulunan saf su içerisinde denenmiştir. Yapılan en az 3' er tekrarlı deneyler sonucunda en fazla kayma en stabil yüzey olan Yöntem 3'te görülmüştür. Yöntem 1'de uygun yüzey kimyasının sağlanamamasına bağlı olarak frekans kaymalarında ±20 Hz aralığında dalgalanmalar görülmüştür. Yöntem 2 'de BAL reseptörünün bağlanamamasından kaynaklı stabile yakın bir eğri seyredilmiştir.

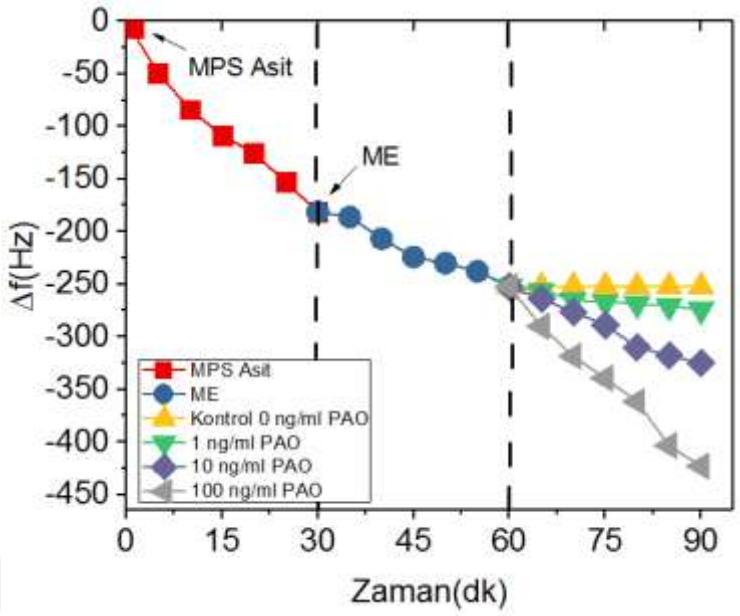
Şekil 3.7.'de görüldüğü gibi QCM çalışma prensibine uygun olacak şekilde gerçekleşen Yöntem 3'teki PAO kayması yaklaşık 180 Hz'dir. Diğer yöntemlerle karşılaştırıldığında daha düşük konsantrasyonlarda daha yüksek duyarlılık göstermen ve farklı konsantrasyonlarda frekans kaymalarında net farklılıklar izlenen ME'li yöntemin PAO tespitinde en uygun yöntem olduğu görülmüştür.

3.1.1. Saf suda PAO Tespiti

Yöntem 3'te bazik MPS' in pH ve sıcaklık duyarlı olmasından kaynaklı tutarsızlıkların ortadan kaldırılması amacıyla yüzeye tek katman olarak asidik MPS mobilizasyonu yapılmıştır. Bu prosedürün denenmesinde daha öncesinde yapılmış olan çalışmada MPS'in sensör immobilizasyonu ve tespit için uygun bir yüzey morfolojisi ortaya koyduğuna ve sinyal gürültüsünü azalttığına dair bulgular öncülük etmiştir [87].

Bir sonraki aşamada hem bazikliğin sağlanması hem de arseniğin bağlanacağı uygun sensör yüzeyinin sağlanabilmesi için reseptör olarak bazik ME (pH=9,0) kullanılmıştır.

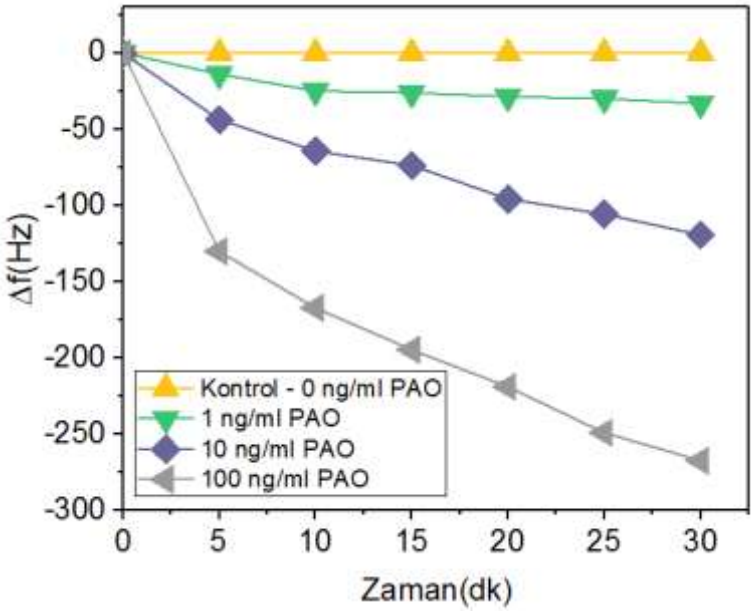
Bu sayede PAO moleküllerinin bağlanabileceği yüzey kimyası oluşturulmuştur. Uygun yüzey modifikasyonu sağlandıktan sonra Dünya Sağlık Örgütünün (WHO) belirlediği sınır değerlerin çok çok altında nanogram seviyelerindeki konsantrasyonlarda PAO solüsyonu sensör yüzeyine ilave edilerek önce saf suda daha sonrada içme suyu numunelerinde 1 ng/mL ile 100 ng/mL arasında PAO tespitinin nicelleştirilmesi gerçekleştirilmiş ve kaymalar izlenmiştir.



Şekil 3.8. Yöntem 3 ile saf suda frekans kaymaları

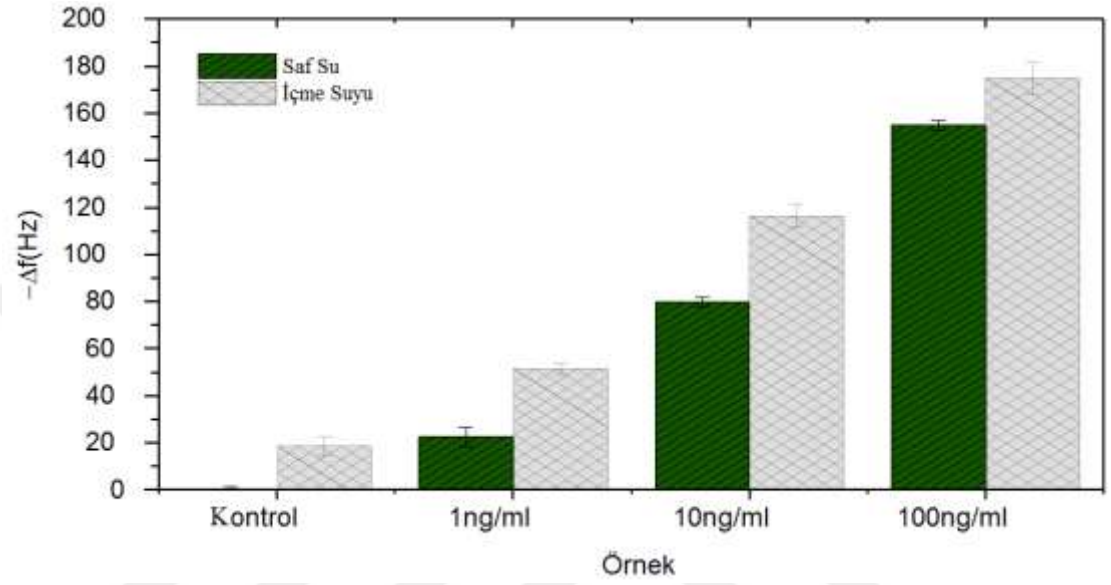
Grafiğe bakıldığında, çıplak altın yüzey üzerinde pH= 4,5' ta asidik MPS adsorpsiyona bağlı olarak ortalama 100 Hz; ME adsorpsiyonuna bağlı olarak ortalama 80 Hz; 1 ng/mL PAO için yaklaşık 22 Hz, 10 ng/mL PAO için yaklaşık 80 Hz ve 100 ng/mL PAO için yaklaşık 150 Hz' lük frekans kayması görülmüştür.

3.1.2. İçme suyunda PAO Tespiti



Şekil 3.9. Yöntem 3 ile içme suyunda frekans kaymaları

Çalışmada içme suyu olarak 0,5 L'lik piyasada bulunan bir su markası kullanılmıştır. İçme suyunda yapılan deneyler yorumlandığında kontrol aşamasında 0 Hz, 1 ng/mL PAO için yaklaşık 33 Hz, 10 ng/mL PAO için yaklaşık 119 Hz ve 100 ng/mL PAO için yaklaşık 260 Hz' lük frekans kayması görülmüştür.



Şekil 3.10. Saf Su ve İçme Sularında Farklı Konsantrasyonlarda PAO İçin Frekans Kaymalarının Mukayesesi

Grafikteki veriler mukayese edildiğinde kontrol aşamasında bir miktarda olsa frekans kayması olmasına rağmen konsantrasyonlardaki artışa bağlı olarak farklı konsantrasyonlarda net olarak gerçekleşmiş olan frekans kaymaları kaymanın sadece PAO'ya bağlı olarak gerçekleştiğini teyit etme imkanı sunmuştur.

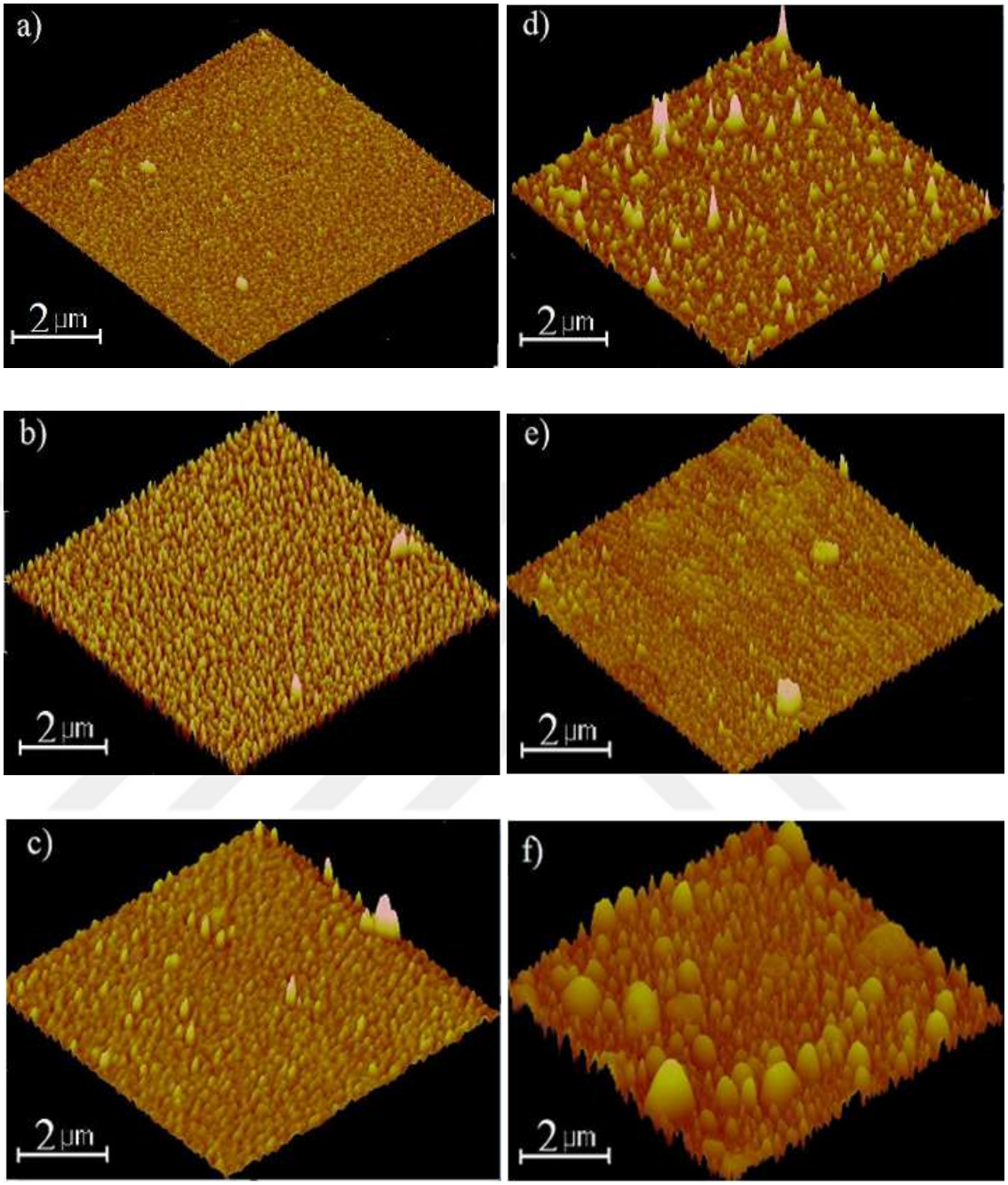
Farklı konsantrasyonlarda PAO'nun, BAL katmanına kıyasla ME katmanında daha muntazam ve yoğun olduğunu ve QCM ölçümlerinin, Yöntem 3 için MPS yüzeyinde daha yüksek bağlanmayı doğruladığını ortaya koymaktadır. Ayrıca AFM analizi ile yapılan hesaplamalar göz önüne alındığında, Yöntem 3'te daha fazla PAO 'ın tespit edildiği ve artan konsantrasyonlarda kaplamanın daha kompakt olduğu kanıtlanabilir.

Reseptörlerin PAO tespitine etkisini araştırmak için, yapılan deneyler (Yöntem 1, 2), kontrol ve tespit aşamasında stabil olmayan ve dalgalı frekans kaymaları ile sonuçlandı. ME, uygun oryantasyonu ile daha yüksek tespit oranı sağlar.

Yüzeye daha yüksek konsantrasyonlarda PAO bağlanması tespit verimini artırdı. Hali hazırda kullanılan tespit yöntemlerine kıyasla henüz tespiti yapılmamış 1 ng/mL PAO konsantrasyonunda dahi 30 Hz'lik frekans kayması ile muhteşem bir tespit sağlamıştır.

3.2. Atomik Kuvvet Mikroskopu(AFM) ile Yöntem 3'ün Teyiti

QCM ölçümleri başka bir yüzey analizi yöntemi olan Atomik Kuvvet Mikroskopisi (AFM, Veeco Multimode 8) yöntemiyle doğrulanmıştır. Sensörün yüzey modifikasyonunun uygun şekilde yapılabildiğini ve yüzeyde tutunmuş olan PAO komplekslerini teyit etmek için 0,25 cm^2 alana sahip altın kaplanmış cam üzerine sırasıyla QCM sensörüne uygulanan aşamalar uygulanmıştır. Çıplak altın yüzey, altın sensör yüzeyine modifiye edilmiş MPS, MPS katmanı üzerine modifiye edilmiş ME reseptörü ve bu reseptör üzerine tespit amaçlı uygulanan 1 ng/mL PAO, 10 ng/mL PAO ve 100 ng/mL PAO kaplaması yapılarak AFM ile görüntüleme yapılmıştır.



Şekil 3.11. 0.25 cm^2 Altın Kaplamalı Cam Yüzey Üzerine Kaplamaların AFM Analizi (a) Altın Yüzeyin Taban Görünümü (b) 30 Dakikalık Kaplamadan Sonra MPS Kaplamanın 3 Boyutlu AFM Mikrografları (c) 30 Dakikalık Kaplamadan Sonra ME Kaplamanın 3 Boyutlu AFM Mikrografları (Au + MPS + ME) (d) 30 Dakikalık Kaplamadan Sonra 1 ng/mL'lik PAO'nun 3 Boyutlu AFM Mikrografları (e) 30 Dakikalık Kaplamadan Sonra 10 ng/mL'lik PAO'nun 3 Boyutlu AFM Mikrografları (f) 30 Dakikalık Kaplamadan Sonra 100 ng/mL PAO'nun 3 Boyutlu AFM Mikrografları

3.3. İstatistiksel Analiz

Yapılan tez çalışmasında içme suyunda kontrol ile diğer konsantrasyonlardaki frekans kaymalarının iki grup arasındaki ortalama farkının birbirinden anlamlı derecede farklı olup olmadığını görmek amacıyla yapılan istatistiksel analizde t-Test (Unpaired one-tail) analizi SPSS programı vasıtasıyla uygulandığında, p değerinin 0.001 olduğu ve içme suyunda PAO tespiti sonuçlarının $\alpha=0.05$ için doğrulandığı görülmüştür. İstatistiksel analiz sonucunda elde edilen p değeri α değerinden oldukça küçük olduğundan, değişkenler arasında da oldukça anlamlı bir fark olduğu teyit edilmiştir.

Biyosensör uygulamalarında kaliteli bir tespit sinyali elde etmek için en az SNR>3 olması gerekmektedir. En küçük konsantrasyondaki frekans kaymasının toplam değişimi, kontrol sinyalinin standart sapmasına bölündüğünde, en küçük konsantrasyon için SNR oranının 5.5 olduğu görülmüştür. Buradan tespit sinyalinin, biyosensör uygulamalarında kullanılabilecek şekilde sinyal kalitesine sahip olduğu çıkarımı yapılmıştır.

BÖLÜM 4

TARTIŞMA-SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında arseniğin yüz milyonlarca insanın sağlığını etkileyen ve dünya çapında yüzbinlerce ölümden sorumlu olan birinci sınıf bir kanserojen olması, halk sağlığı açısından, içme sularında arseniğe maruz kalma konusundaki ana endişenin, hemen acil toksisitesi değil; uzun süre maruz kalma ile ilişkili kanserojenik özellikleri ve uzun vadeli sağlık etkilerinin olması nedeniyle bu çalışmada hızlı, gerçek zamanlı, spesifik, yerinde ve erken tespit gibi değerlendirme özelliklerine sahip en umut verici adaylardan biri olan QCM sensörün kullanılarak nanomolar seviyelerde PAO tayininin gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaç özellikle gelişmekte olan ülkeler için değerli bir varlık olabilir. Ayrıca bu çalışma ile arseniğin hızlı ve doğru algılanma performansı sayesinde morbidite ve mortalite oranları ciddi oranda düşecek ve sensörün ilgi konusu diğer elementlerin analizi için kullanılma yolu açılacaktır.

İlk olarak, literatür taraması yapılarak PAO tayininde kullanılan yöntemler derlendi ve yenilikçi, taşınabilir ve halihazırda kullanılan yöntemlere alternatif bir yöntem geliştirilebilir mi sorusunun cevabı arandı. Yapılan bu ön çalışma neticesinde henüz daha önceki çalışmalarda kullanılmamış, yerinde özellikle su yönetim merkezlerinde gerçek zamanlı, hızlı ve erken tespit yapabiliyor olması, hassasiyetinin yüksek, maliyetinin düşük, tasarımının ve kullanımının kolay olması, dahili, otomatik okuma, veri kaydı, değerlendirme özelliklerine sahip bir cihaz olması ve nanomolar aralıkta düşük algılama limitleri (LD) ile mükemmel algılama performansı sergilemesi nedeniyle QCM sensör tercih edilmiştir.

İkinci olarak, sistemin asgari hassasiyetinin tespiti üzerine MPS ve diğer kimyasal solüsyonların etkisinin araştırıldı. 3 farklı yöntem denenerek en uygun olan yüzey morfolojisi belirlenmiştir. 3 farklı konsantrasyon için 3 tekrarlı olarak deneyler tekrarlanmış elde edilen frekans kaymaları analiz edilerek x ve y bilgileri elde edilen

kaymalar üzerinde grafikler oluşturularak deneylerin tespit kalitesi ve ölçüm aralığındaki başarıları yorumlanmıştır.

Üçüncü olarak kaymaları teyit etmek amacıyla AFM görüntüleri izlenmiş ve elde edilen verilerin bire bir örtüştüğü ortaya konulmuş ve bu sayede henüz yapılmamış ve 1 nanomolar mertebesinde tespite imkân veren sonuçlar literatüre kazandırılmıştır.

Arsenik analizi için takip edilmiş olan prosedür bu alanda diğer çalışmalarda kullanılmamış olup bu çalışmada ilk defa uygulanmıştır. Yerinde, güvenilir, hassas (1 ng/mL hassasiyette), yüzey modifikasyonuna uygun, non-spesifik bağlantılar gerçekleştirilmeyecek şekilde 30 dakikalık bir süre içerisinde tespit gerçekleştirilmiştir.

Kullanılmış olan deney düzeneği ve izlenilen prosedürün hali hazırdaki yöntemlere oranla avantajlarından biri de maliyetten ödün verilmemesidir. Tübitak tarafından yayınlanan 2019 Test & Analiz Fiyat Kataloğu'na baktığımızda hali hazırda kullanılan test kitleri, ICP-MS gibi ticari yöntemlerin analiz maliyetleri, kullanılan kimyasallar ve bir sensörün maliyetine oranla yaklaşık 4-5 kat daha fazladır [105]. Kullanılan kimyasallar ve bir sensörün maliyetini göz önüne aldığımızda yaklaşık tutar 3204 TL civarında olup kullanılan kimyasallarla ve bir sensörle yapılabilecek deney sayısı yaklaşık 200 olarak hesaplandığında bir test için maliyet 16 TL civarındadır. Bu maliyet, ticari bir test cihazı olarak kullanılabilecek aşamaya geldiği zaman, kitle üretimi yöntemleri sayesinde daha da azaltılacaktır.

Arseniğin hızlı ve doğru algılanma performansı sayesinde morbidite ve mortalite oranları ciddi oranda düşecek ve sensörün ilgi konusu diğer elementlerin analizi için kullanılma yolu açılacaktır. Ayrıca yapılan bu çalışma özellikle gelişmekte olan ülkelerin su analizlerinde değerli bir varlık olacaktır. İlerleyen aşamalarda ağır metal tayini için yerinde, hızlı ve portatif taşımaya olanak sağlayacak elektrokimysal sensörlerin tasarımına konu olacaktır.

KAYNAKÇA

1. Langston,J., Arsenic found in many U.S. red wines, but health risks depend on total diet, **UW News**, 2015.
2. Mutlu, M., 2010. Arsenic Pollution and Health Risk Assessment in The Groundwater of Simav Plain, Kütahya, Dokuz Eylül University Graduate School of Natural And Applied Sciences, Yüksek Lisans Tezi,İzmir, 131 s.
3. Öztürk, R., 2009.Manisa ve Bazı İlçelerin Yeraltı ve İçme Sularında Arsenik Miktarının Tayini, Celal Bayar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Manisa.120 s.
4. Mandal, B.K., Suzuki, K.T.,2002. Arsenic round the World: A Review, **Talanta, 58** (1): 201–235.
5. Kobya, M., Akyol, A., Demirbas, E., Oncel, M.S., 2014. Removal of arsenic from drinking water by batch and continuous electrocoagulation processes using hybrid Al-Fe plate electrodes. **Environmental Progress & Sustainable Energy, 33** (1): 131– 140.
6. Bissen, M. ve Frimmel, F.H., 2003. Arsenic- a review. part I: Occurrence, toxicity, speciation, mobility, **Acta hydrochimica et hydrobiologica**, **31** (1): 9-18.
7. Cozzolino, V., Violante, A., 2013. Influence of compost on the mobility of arsenic in soil and its uptake by bean plants (Phaseolus vulgaris L.) irrigated with arsenite-contaminated water. **Journal of Environmental Management, 128** (15): 837-843.
8. Mohan, D., Pittman, Jr., C.U., 2007. Arsenic Removal from Water/Wastewater Using Adsorbents-A Critical Review. **Journal of Hazardous Materials, 142** (1-2): 1-53.
9. Smedley, P.L., Kinniburgh, D.G., 2002. A Review of the Sources, Behavior and Distribution of Arsenic in Natural Waters. **Applied Geochemistry, 17** (5): 517-568.
10. Güneş, S.T., Güneş, C., 2012. Jeotermal kaynaklı arseniğin yeraltısuyu ve yüzeysel sulardaki jeokimyasal davranışı: birlikte çökelme, adsorbsiyon, pH-Eh,

DEÜ Mühendislik Fakültesi Mühendislik Bilimleri Dergisi,14 (41) : 43-64.

11. Saint-Jacques,N., Brown,P., 2018. Estimating the risk of bladder and kidney cancer from exposure to low-levels of arsenic in drinking water. **Environment International,110**: 95-104.

12. Hussain, A.,Raveendran,V., Kundu,S., Samanta,T., Shunmugam,R., Pal,D.,Sarma,J., 2018. Arsenic - Analytical and Toxicological Studies. Intech Open Access Book Publisher, California, 400 pp.

13. Payne,B.K., Abdel-Fatah,T., 2005. Adsorption of arsenate and arsenite by ıron-treated activated carbon and zeolites: effects of pH, temperature, and ıonic strength. **Journal of Environmental Science and Health Part A, 40** (4):723-49.

14. Watanabe, T. and S. Hirano, 2013. Metabolism of arsenic and its toxicological relevance. **Arch Toxicol**, **87** (6): 969–979.

15. Kenyon, E.M., L.M. Del Razo, and M.F. Hughes, 2005. Tissue distribution and urinary excretion of inorganic arsenic and its methylated metabolites in mice following acute oral administration of arsenate. **Toxicological Sciences, 85** (1): 468–475.

16. Raml, R., Rumpler,A., Goessler,W.,Vahter,M.,Lii,L.,Ochi,T.,Francesconi,A., 2007. Thio-dimethylarsinate is a common metabolite in urine samples from arsenic-exposed women in Bangladesh. **Toxicology and Applied Pharmacology, 222** (3): 374–380.

17. Banejad, H., Olyaie, E., 2011. Arsenic toxicity in the irrigation water-soil-plant system: a significant environmental problem. **Journal of American Science, 7** (1): 125–131.

18. Dattaa,S.,Ghosha,D., 2009. Chronic exposure to low concentration of arsenic is immunotoxic to fish: role of head kidney macrophages as biomarkers of arsenic toxicity to Clarias batrachus. **Aquatic Toxicology,92** (2): 86-94,

19. Panagiotaras, D., Panagopoulos, G., Papoulis, D., Avramidis, P.,2012. Geochemistry - Earth's System Processes, Publisher: Intech. Rijeka, Croatia 450 pp.

20. Matschullat, J., Perobelli Borba, R., Deschamps, E., Figueiredo, B.R., Gabrio,

T.,Schwenk, M., 2009. Human and environmental contamination in the Iron Quadrangle, Brazil. **Applied Geochemistry, 15** (2): 181–190.

21. Anonim, 2005. "İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik" Resmi Gazete, 2005. Sayı:25730

22. Salbu, B., Steinnes, E., 1995. Trace Elements in Natural Waters. CRC Press, Boca Raton, FL, 314 pp.

23. Guo, H., Stuben, D., Berner, Z., 2007. Removal of arsenic from aqueous solution by natural siderite and hematite. **Applied Geochemistry, 22** (5): 1039–1051.

24. Scott, N., Hatlelid, K.M., MacKenzie, N.E., Carter, D.E., 1993. Reactions of arsenic (III) and arsenic(V) species with glutathione. **Chemical Research in Toxicology,6** (1): 102–106.

25. Petrusevski,B., Sharma,S., 2007. Arsenic in Drinking Water. IRC International Water and Sanitation Centre, Netherlands, 57 pp.

26. Mandal,B., Suzuki,K., 2002. Arsenic round the world: a review. **Talanta,58** (1): 201-235.

27. Rahman, M., Vahter, M., Sohel, N., Yunus, M., Wahed, M.A., Streatfield, P.K., 2006. Arsenic exposure and age- and sex-specific risk for skin lesions: a population-based casereferent study in Bangladesh. **Environmental Health Perspectives, 114** (12): 355–9.

28. Chen, Y.C., Guo, Y.L., Su, H.J., Hsueh, Y.M., Smith, T.J., Ryan, L.M., 2003. Arsenic methylation and skin cancer risk in southwestern Taiwan. **Journal of Occupational and Environmental Medicine, 45** (3): 241–248.

29. Ferreccio, C., Gonzalez, C., Milosavjlevic, V., Marshall, G., Sancha, A.M., Smith, A.H., 2000. Lung cancer and arsenic concentrations in drinking water in Chile. **Epidemiology, 11** (6): 673–679.

30. Roy,P., Saha,A., 2002. Metabolism and toxicity of arsenic: a human carcinogen. **Current Science,82** (1): 38-45,

31. Nathalie,S., Patrick,B., Laura,N., Boxall,P., Parker,L., Trevor,J.B.D., 2018. Estimating the risk of bladder and kidney cancer from exposure to low-levels of arsenic in drinking water, Nova Scotia, Canada. **Environment International,110**:

95-104.

32. https://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/arsenic.pdf (Erişim Tarihi: Temmuz 2019)

33. Hughes,M., 2002. Arsenic toxicity and potential mechanisms of action. **Toxicology Letters,133** (1): 1-16.

34. Cayce, K.A., Feldman, S.R., McMichael, A.J., 2004. Hyperpigmentation: A review of common treatment options**. Journal of Drugs in Dermatology, 3** (6):668–673.

35. Biggs, M.L., Kalman, D.A., Moore, L.E., Hopenhayn-Rich, C., Smith, M.T., Smith, A.H., 1997. Relationship of urinary arsenic to intake estimates and a biomarker of effect, bladder cell micronuclei. **Mutation Research, 386** (3): 185–195.

36. Hwang, Y.H., Bornschein, R.L., Grote, J., Menrath, W., Roda, S., 1997. Urinary arsenic excretion as a biomarker of arsenic exposure in children. **Archives of Environmental Health, 52** (2): 139–147.

37. Calderon, R.L., Hudgens, E., Le, X.C., Schreinemachers, D., Thomas, D.J., 1999. Excretion of arsenic in urine as a function of exposure to arsenic in drinking water. **Environmental Health Perspectives, 107** (8): 663–667.

38. Ishinishi, N., Kodama, Y., Kunitake, E., Nobutomo, K., Urabe, M., 1973. Symptoms and diagnosis of poisoning: Arsenic and arsenic compounds (metalloid). **Japanese Journal of Clinical Medicine,31** (6): 1991–1999.

39. Kalia,K., Flora,S., 2005. Strategies for safe and effective therapeutic measures for chronic arsenic and lead poisoning, **Journal of Occupational Health,47** (1): 1-21.

40. WHO. Biomarkers and Risk Assessment: Concepts and Principles. Geneva, 1993. Switzerland: World Health Organization, Environmental Health Criteria Monograph 155.

41. Dünya ve Yaşam Çalışmaları Anabilim Dalı, Yaşam Bilimleri Komisyonu, İçme Suyunda Arsenik Alt Komitesi, 1999. Arsenic in Drinking Water. National Academy Press, Washington, 330 pp.

42. U.S. Department of Health and Human Servıces, 2007. Toxicological Profile for Arsenic. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta,20 pp.

43. Smedley,P., Kinniburg,D., 2002. A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters. Applied Geochemistry,17 (5): 517-568

44. Mohan,D.,Pittman,C., 2007. Arsenic removal from water/wastewater using adsorbents--A critical review. **Journal of Hazardous Materials, 142** (1-2): 1-53.

45. TS 266 İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik

46. Altaş, L., Işık, M. & Kavurmacı, M., 2011. Determination of arsenic levels in the water resources of Aksaray Province, Turkey. **Journal of Environmental Management. 92 (9)**: 2182-2192.

47. Çaylak, E. (2012). Health Risk Assessment for arsenic in water sources of cankiri province of Turkey. **Clean – Soil Air Water, 40** (7): 728-734.

48. Gemici, Ü. ,Tarcan, G., 2007. Assessment of the pollutants in farming soil sand waters around untreated abandoned türkönü mercury mine (Turkey). **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 79**: 20–24.

49. Dawett, B., 2017. DCPs and research in general dental practice. **British Dental Journal, 222** (4): 307-309.

50. Chen, H.W., 2006. Gallium, Indium, and Arsenic Pollution of Groundwater from a Semiconductor Manufacturing Area of Taiwan. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 77** (2): 289–296.

51. Mondal,D., Adamson,G., 2008. A comparison of two techniques for calculating groundwater, **Applied Geochemistry 23**(11): 2999-3009.

52. Cantor,P., Lubin,H., 2007. Arsenic, internal cancers, and issues in inference from studies of low-level exposures in human populations. **Toxicology and Applied Pharmacology, 222**, (3): 252-257.

53. www.cevresehirkutuphanesi.com/assets/files/slider_pdf/nsUI8wIeDbPq.pdf (Erişim Tarihi: Temmuz 2019)

54. Mudhoo,A., Sharma,S.,Tseng,C., 2011. Arsenic: An Overview of Applications, Health, and Environmental Concerns and Removal Processes. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 41**, (5): 435-519.

55. Liu, N., Deng, Y., 2017. Arsenic, iron and organic matter in quaternary aquifer sediments from western Hetao Basin, Inner Mongolia. **Journal of Earth Science, 28** (3): 473–483.

56. James,K., Marshall,J., Hokanson,J., Meliker,J., Zerbe,G.,Byers,T., 2013. A case-cohort study examining lifetime exposure to inorganic arsenic in drinking water and diabetes mellitus. **Environmental Research, 123**: 33-38.

57. Kır,İ., 2017. Antalya İli (Türkiye) İçme Suyu Kaynaklarında Arsenik (As) Konsantrasyonlarının Belirlenmesi. **Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi, 13** (2): 186-194.

58. Alkış,İ.M., 2011. Türk Şaraplarında Ağır Metallerin Belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü,Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 67 s.

59. Li, C., Basaran,A.E., 2013. Determination of inorganic arsenic in water by a quartz crystal microbalance. **Analytical Methods, 5** (22): 6286,6291.

60. **http://www.norateks.com/arsenik-2023-1.html** (Erişim Tarihi: Temmuz 2019)

61. Chakrabarty,N., 2016. Arsenıc Toxıcıty, Prevention and Treatment. West Bengal Biotechnology Development Corporation Ltd, Government of West Bengal, India, 536 pp.

62. Welz,B., Melcher,M., 1985. Decomposition of marine biological tissues for determination of arsenic, selenium, and mercury using hydride-generation and cold-vapor atomic absorption spectrometries. **Analytical Chemistry, 57** (2): 427-431.

63. Merey,G., 2015. Aletli analiz yöntemleri. (Web sayfası: https://docplayer.biz.tr/14074439 - Aletli-analiz-yontemleri.html (Erişim tarihi: Ağustos 2019).

64. Christian,G.,Feldman,F., 1971. A comparison study of detection limits using flame-emission spectroscopy with the nitrous oxide—acetylene flame and atomic-absorption spectroscopy. **SAGE Journals,25** (6): 660-663.

65. Akman, S., Bektas, S., Genc, O., 1988. A novel approach to the interpretation of graphite furnace atomic absorption signals. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy,43** (6-7): 763-772.

66. Elçi, A. , Scully, M. O., 1983. Electron-Hole—Pair Generation and Hysteresis in Semiconductors. **Physıcal Revıew B, 27**, 4779.

67. **https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/60967/mod_resource/content/0/AAS.pdf** (Erişim tarihi: Ağustos 2019).

68. Bahar,F., Yılmaz,A., 2016. Gıda analizlerinde ICP-MS teknolojisi, **Turkiye Klinikleri J Food Hyg Technol-Special Topics, 2** (1): 52-56.

69. Caner,M., 2014. ICP-MS ile Demir Analizlerindeki Girişim Etkilerinin Gıda, Cam ve Su Örneklerinde İncelenmesi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü,Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 67 s.

70. Çalık,E., 2015. Tannik Asidin Diferansiyel Puls Voltametrisi ile Tayini İçin Yöntem Geliştirilmesi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 65 s.

71. Gouveia-Caridade, C., Soares, D. M., Liess, H.D. and Brett, C.M., 2008. Electrochemical, morphological and microstructural characterization of carbon film resistor electrodes for application in electrochemical sensors. **Applied Surface Science, 254** (20): 6380-6389.

72. Rahman, M.A., Won, M.S. and Shim, Y.B., 2003. Characterization of an EDTA bonded conducting polymer modified electrode: its application for the simultaneous determination of heavy metal ions. **Analytical Chemistry, 75** (5): 1123-1129.

73. Demir,M., 2008. Platin Elektrotun P-Aminobenzoik Asit İle Modifikasyonu ve Kararlılığının Belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 75 s.

74. Yılmaz,Ü., 2008. Bazı İyonların Çeşitli Ortamlarda Diferansiyel Puls Polarografisi ile Tayini İçin Yöntem Geliştirilmesi ve Gerçek Numunelere Uygulanması. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara, 181 s.

75. Schochetman G, Jones KW., 1998. Polymerase Chain Reaction. **The Journal of Infectious Diseases, 158** (6): 1154–1157.

76. Walker J. Douan G., 1989. DNA probes: a new role in diagnostic microbiology.

Journal of Applied microbiology, 67 (3): 229-230.

77. Heinemann, W. R., C. W. Anderson, and H. B. Halsall., 1979. Immunoassay by differential pulse polarography**. Science, 204** (4395): 865-866.

78. Delwiche, M., E. Cox, B. Goddeeris, C. Van Dorpe, J. De Baerdemaeker, E. Decuypere, W. Sansen. 2000. A biosensor to detect penicillin residues in food. **Trans. ASAE, 43**: 153-159.

79. Valasek J., 1921. Piezo-Electric and Allied Phenomena in Rochelle Salt. **Physıcal Revıew Journals Archıve,17**,475.

80. Jaffe, B.; Cook, W.R.; Jaffe, H., 1971. "Piezoelectric Ceramics". **Materials Sciences and Applications, 4** (5).

81. Yılmaz,D., 2011. Glutamatın Potansiyometrik Tayini İçin Biyosensör Geliştirilmesi ve Karakterizasyonu, Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 95 s.

82. Yıldırım,N., Odacı,D., Timur,S., 2009. Elektrokimyasal kuartz kristal mikrobalans (EQCM) sisteminin biyosensör uygulamalarında kullanımı. 23.Ulusal Kimya Kongresi,16-20 Haziran 2009, Sivas.

83. **https://www.biolinscientific.com/qsense** (Erişim tarihi: Ağustos 2019).

84. **https://www.openQCM - Quartz Crystal Microbalance (QCM) working principle.com** (Erişim tarihi: Ağustos 2019).

85. Vaughan,R.D., O'Sullivan,C.K., Guilbault,G.G., 1999. Sulfur based self assembled monolayers (SAM's) on piezoelectric cyristals for immunosensor development. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry, 364** (1-2): 54-57

86. Arshak, K., Moore, E., Lyons, G.M., Harris, J. and Clifford, S., 2004. "A review of gas sensors employed in electronic nose applications". **Sensor Review, 24** (2): 181 – 198.

87. Soylu,M.Ç., Keser,K., Keskin,M., Ceran,K., 2018. Biyosensör uygulamaları için 3-Mercaptopropylmethoxysilane tabanlı kaplama yöntemlerinin incelenmesi, pp. 192-195, TIPTEKNO'18, 8-10 Kaım 2018, International Conference on Electrical and Electronics Engineering.

88. Kanazawa,K.,Gordon,G., 1994. An in-situ electrochemical quartz crystal

microbalance study of the underpotential deposition of copper on Au(111) electrodes. **Journal of Electroanalytical, 364**: 281-284.

89. Heng, S., McDevitt, C. A., Kostecki, R., Morey, J. R., Eijkelkamp, B. A., Ebendorff-Heidepriem, H., Abell, A. D., 2016. Microstructured optical fiber-based biosensors: reversible and nanoliter-scale measurement of zinc ions. **ACS applied materials & interfaces, 8** (20): 12727-12732.

90. Sadık,E.Ş., , Saraoğlu,H.M., 2016. Quartz Crystal Microbalance (QCM) tabanlı sensör ile glikoz seviyelerinin ölçülmesi, pp. 433-436, Tıp Teknolojileri Kongresi (Tıptekno'16), 27-29 Ekim 2016, Antalya.

91. Wakamatsu, K., 1995. "Direct in-situ measurement of Phospholipid hydration in an aqueous environment using a quartz crystal microbalance".**Analytical Chemistry, 67** (18): 3336-3341.

92. Soysaldı, F., 2017. Model Tükürükte QCM Sensör ile Sentetik Genetik Materyal Tespiti. Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri,65 s.

93. Soylu, M. C., Shih, W. H., & Shih, W. Y. (2013). Insulation by solution 3-mercaptopropyltrimethoxysilane (mps) coating: Effect of ph, water, and mps content. **Industrial & Engineering Chemistry Research, 52**(7), 2590-2597.

94. Fredens, K., Danscher,G., 1973. The effect of intravital chelation with dimercaprol, calcium disodium edetate, 1-10-phenantroline and 2,2′-dipyridyl on the sulfide silver stainability of the rat brain. Histochemie, 37 (4): 321-331.

95. Jeon, S. J., Kim, J., Ji, M. G., Park, J. H., Choia, Y. W., 2016. Analysis of minimum noise range for signal detection method using 2 c ω harmonic frequency in biosensor signal detection. **IDEC Journal of Integrated Circuits and Systems,2** (3).

96. Tarabara, V. V., Nabiev, I. R. and Feofanov, A. V., 1998. "Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS) Study of Mercaptoethanol Monolayer Assemblies on Silver Citrate Hydrosol. Preparation and Characterization of Modified Hydrosol as a SERS-Active Substrate". **Langmuir, 14** (5):1092-1098.

97. Whitesides, G. M. and Laibinis, P. E., 1990. Wet chemical approaches to the

characterization of organic surfaces: self-assembled monolayers, wetting, and the physical-organic chemistry of the solid-liquid interface", **Langmuir, 6** (1): 87-96,

98. Evans, S. D., and Ulman, A., 1990. "Surface potential studies of alkyl-thiol monolayers adsorbed on gold". **Chemical Physics Letters, 170** (5-6): 462-466.

99. Bryant, M. A. and Pemberton, J. E., 1991. "Surface Raman scattering of selfassembled monolayers formed from 1-alkanethiols at silver [electrodes]". **Journal of the American Chemical Society, 113**(10): 3629-3637.

100. Nuzzo, R. G., Dubois, L. H. and Allara, D. L., 1990. "Fundamental studies of microscopic wetting on organic surfaces. 1. Formation and structuralcharacterization of a self-consistent series of polyfunctional organic monolayers". **Journal of the American Chemical Society, 112** (2): 558-569.

101. Ghodsevali, E., Landari, H., Boukadoum, M., Gosselin, B., Miled, A., 2016. A wide range and high sensitivity four-channel compact electrochemical biosensor for neurotransmitter detection on a microfluidic platform. pp. 5753-5756, In Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC), 2016 IEEE 38th Annual International Conference.

102. Ioannou,Panayiotis, V., 2018. Interaction of British Anti-Lewisite (BAL) with Copper(I) and Copper(II) compounds in conjunction with Wilson's disease. **Main Group Chemistry, 17** (1): 1-16.

103. **https://rockland-inc.com/bovine-serum-albumin.aspx** (Erişim Tarihi: Ağustos 2018).

104. Daus,B., Mattusch,J., 2008. Analytical investigations of phenyl arsenicals in groundwater, **Talanta,75**,376-379.

105. **http://mam.tubitak.gov.tr/sites/images/mam---/mam_2019_yili_fiyat_katalogu-guncel-30-7-2019.pdf** (Erişim Tarihi: Ağustos 2019)

ÖZGEÇMİŞ



KİŞİSEL BİLGİLER

Adı ve Soyadı : Kübra KESER

Doğum Tarihi ve Yeri : 30.06.1995 Kayseri

İletişim Bilgileri : 30 Ağustos Mah. Anamur Sit. Osmanlı Apt.13/8 Belsin/KAYSERİ

E-posta: : kubrakeser50@gmail.com

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Derece	Kurum	Yıl
Yüksek Lisans	Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomedikal Mühendisliği Ana Bilim Dalı	2017 - 2019
Lisans	Erciyes Üniversitesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü	2013 - 2017
Lise	Nevşehir H.Avni İncekara Fen Lisesi	2009 - 2013

YABANCI DİL

İngilizce

YAYINLAR

Altintop Ç.G., Latifoğlu F., Yalabık A. , Keser K., Ulusoy E.K., "Detection of Differences between Migraine and Tension-Type Headache from Electroencephalogram Signals", ELECO 2017 10th International Conference on Electrical and Electronics Engineering, BURSA, TÜRKIYE, 30 Kasım - 2 Aralık 2017, pp.524-528

Soylu M.Ç., Köşker F.B., Keskin M., Keser K., Ceran K., "Biyosensör Uygulamaları için 3- Mercaptopropylmethoxysilane Tabanlı KaplamaYöntemlerinin İncelenmesi ",Tıp Teknolojileri Kongresi (TıpTekno'18), Gazi Magosa, KKTC, 8-10 Kasım 2018, pp.192-195

Soylu M.Ç., Keskin M., Keser K., Ceran K., Köşker F.B.,"Kuvars Kristal Mikroterazi ile Genetik Tespitte Yüzey Kaplama Etkisi", İnternational Eurasian Conference on Science, Engineering and Technology (EurasianSciEnTech 2018), Ankara, Turkey, 22-23 Kasım 2018,pp.163

Soylu M.Ç., Keskin M., Keser K., Ceran K., Köşker F.B., Akyol M., Akar A.S., Şahin H.,"Basit Bir Biyosensör Tasarımı: Piezo Disk Element", İnternational Eurasian Conference on Science, Engineering and Technology (EurasianSciEnTech 2018), Ankara, Turkey, 22 - 23 Kasım 2018,pp.170