

**METİLCİVA BELLEKLERE SAHİP POLİMERİK
MİKROKÜRELERLE CİVA ÖNDERİŞTİRİLMESİ
VE TAYİNİ**

Sibel BÜYÜKTİRYAKI
Yüksek Lisans Tezi

Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı
Ağustos - 2005

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Sibel Büyüktiryaki'nin "Metilciva Belleklere Sahip Polimerik Mikrokürelerle Civa Önderiştirilmesi ve Tayini" başlıklı Kimya Bölümü Analitik Kimya Anabilim Dalındaki, Yüksek Lisans tezi.....tarihinde, aşağıdaki jüri tarafından Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

	Adı-Soyadı	İmza
Üye (Tez Danışmanı)	: Doç. Dr. ARZU ERSÖZ
Üye	: Doç. Dr. RIDVAN SAY
Üye	: Yard. Doç. Dr. SİNAN AKGÖL

Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

METİLCİVA BELLEKLERE SAHİP POLİMERİK MİKROKÜRELERLE CİVA ÖNDERİŞTİRİLMESİ VE TAYİNİ

Sibel BÜYÜKTİRYAKI

Anadolu Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Arzu ERSÖZ
2005, 72 sayfa

Bu çalışmada, metilcivaya seçici poli(2-metakroilamidosistein) mikroküreleri sentezlenmiş ve metilciva baskılanmış bu katı faz kompleks matrikslerde bile metilcivanın seçici tayinine olanak sağlayan mimik reseptör olarak kullanılmıştır. Çalışmada sentezlenen polimer öncelikle Fourier Transform İnfrared Spektrometresi (FT-IR) ve Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile karakterize edilmiş, daha sonra metilciva adsorpsiyon kapasitesi derişim, pH ve zamana bağılı olarak çalışılmıştır. Hazırlanan bu sorbentin seçiciliğı kesikli sistemde Cu^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} Hg^{2+} ve Zn^{2+} iyonları varlığında da çalışılmıştır. Çalışmanın ikinci bölümünde, metilciva baskılanmış mikroküreler metilciva ve civa iyonları ile ayrı ayrı muamele edilerek önderiştirme işlemleri katı-faz ekstraksiyon yöntemiyle yapılmış, civa miktarları ise İndüktif Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektrometresi (ICP-OES) ve Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi-Diyod Serili Dedektör (HPLC-DAD) cihazlarıyla belirlenmiştir. Çalışmanın son aşamasında, LUTS-1 standart referans maddesi ve sentetik deniz suyu kullanılarak yöntemin duyarlılığı incelenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Metilciva ve Civa, Moleküler Baskılanmış Polimerler,
İndüktif Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon
Spektroskopisi, Katı-faz Ekstraksiyonu, Mimik reseptör.

ABSTRACT

Master of Science Thesis

PRECONCENTRATION AND DETERMINATION OF MERCURY USING METHYLMERCURY IMPRINTED POLYMERIC MICROBEADS

Sibel BÜYÜKTİRYAKI

Anadolu University
Graduate School of Sciences
Chemistry Department

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Arzu ERSÖZ
2005, 72 pages

In this study, poly(2-metakroilamidosisstein) microbeads which are selective to methylmercury were synthesized and the methylmercury imprinted solid phase was used as mimic receptor for the selective determination of methylmercury even in the presence of complex matrixes. Synthesized polymer was characterized by Fourier Transform Infrared Spectorometry (FT-IR) and Scanning Electron Microscopy (SEM), and then the adsorption capacity of methylmercury was investigated considering the effect of concentration, pH and time. The selectivity of this prepared sorbent was studied in the presence of Cu^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Hg^{2+} and Zn^{2+} ions. In the second part of this study, the preconcentration of methylmercury imprinted microbeads was studied with the treatment of these microbeads with mercury and methylmercury separately with solid phase extraction method and the amount of mercury was determined using Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP-OES) and High Performance Liquid Chromatography-Diodide Array Dedector (HPLC-DAD). In the last part of this study, the sensitivity of this new developed method was investigated using certified reference, LUTS-1 from the National Research Council of Canada, and synthetic sea water.

Keywords: Methylmercury and mercury, Molecular Imprinted Polymers, Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy, Solid-Phase Extraction, Mimic receptor.

TEŞEKKÜR

Çalışmam esnasında yardımlarını esirgemeyen, beni yönlendiren ve karşılaştığım sorunlarda fikirleriyle bana yol gösteren başta danışman hocam Sayın Doç. Dr. Arzu ERSÖZ'e ve Sayın Doç. Dr. Rıdvan SAY'a,

Bitki, İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Merkezi'nin olanaklarından yararlanmamı sağlayan Merkez Müdürü Sayın Prof. Dr. Mustafa ŞENYEL'e ve Fen Fakültesi Kimya Bölümü olanaklarından yararlanmamı sağlayan Kimya Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Lale ZOR'a,

MAC monomerinin sentezini gerçekleştiren ve SEM görüntülerinin alınmasını sağlayan Sayın Prof. Dr. Adil DENİZLİ'ye ve grubuna,

HPLC çalışmasını gerçekleştiren Sayın Yrd. Doç. Dr. F. Zerrin ERDEMGİL'e,

Çalışmalarım esnasında bana destek olan Dr. Ebru BİRLİK, Araş. Gör. Sibel EMİR DİLTEMİZ, Araş. Gör. Ayça ATILIR, Neşe OYGUR, Nergis FİDAN, Rasime DEMİREL, Rüstem KEÇİLİ, Meliha KARAMAN, İlker YİĞİTALP, Nesrin KARTAN, Rahme BOLAT ve Güner SAKA'ya

Uzakta olmalarına rağmen manevi destekleri ile varlıklarını devamlı yanımda hissettiğim AİLEME en içten teşekkürlerimi sunarım.

Sibel BÜYÜKTİRYAKI

Ağustos - 2005

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Sentetik Reseptörler.....	2
1.2. Moleküler Baskılama Yönteminin Tarihçesi.....	4
1.3. Moleküler Baskılama Yöntemi.....	5
1.3.1. Baskılanacak Molekülün veya İyonun Özellikleri.....	8
1.3.2. Fonksiyonel Monomerler.....	8
1.3.3. Çapraz Bağlayıcı.....	9
1.3.4. Çözücü.....	11
1.3.5. Başlatıcı.....	12
1.4. Moleküler Baskılama Çeşitleri.....	12
1.4.1. Kovalent Bağlanma.....	13
1.4.2. Non-kovalent Bağlanma.....	14
1.4.3. Kovalent ve Non-kovalent Bağlanmanın Avantajları ve Dezavantajları.....	15
1.5. Polimerizasyon.....	16
1.5.1. Zincir Polimerizasyonu.....	16
1.5.2. Kondenzasyon Polimerizasyonu.....	16
1.5.3. Polimerizasyon Yöntemleri.....	17
1.5.3.1. Yığın Polimerizasyonu.....	17
1.5.3.2. Çözelti Polimerizasyonu.....	17
1.5.3.3. Süspansiyon Polimerizasyonu.....	17

1.5.3.4. Emülsiyon Polimerizasyonu	18
1.6. Polimer Karakterizasyonu.....	18
1.6.1. Elementel Analiz	19
1.6.2. Fourier-Transform İnfrared Spektroskopisi (FT-IR)	19
1.6.3. Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi (NMR)	19
1.6.4. Kuru Haldeki Gözenek Yapısı.....	20
1.6.4.1. Azot Sorpsiyon Porozimetri.....	20
1.6.4.2. Civa Geçirgenliği	21
1.6.4.3. Yüzey Alanları	21
1.6.4.4. Gözenek Hacmi.....	21
1.6.4.5. Mikroskopi (Taramalı Elektron Mikroskobu gibi)	21
1.6.5. Şişmiş Haldeki Por Yapısı.....	22
1.7. Civa ve Civa Bileşiklerinin Özellikleri	22
1.8. Katı-faz Ekstraksiyonu	27
1.9. İndüktif Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektroskopisi (ICP-OES)	29
1.9.1. Civa Türlendirilmesi ve Civa Tayini İçin Uygulamalar	39
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	41
2.1. Kullanılan Kimyasallar	41
2.2. Kullanılan Cihazlar.....	41
2.3. Yöntem.....	42
2.3.1 Polimerik Mikrokürelerin Hazırlanması	42
2.3.1.1. 2-Metakroil-(L)-amidosistein Monomerinin Sentezi	42
2.3.1.2. Metilciva-metakroil(L)amido-sistein Kompleks Monomerinin Sentezi	42
2.3.1.3. Metilciva Baskılanmış Polimerik Mikrokürelerin Sentezi ..	42
2.3.2. Metilciva Baskılanmış p(MAC-co-EDMA) Mikrokürelerin	43
Karakterizasyonu	43
2.3.2.1. Yüzey Alanı Ölçümü	43
2.3.2.2. Şişme Testi.....	44
2.3.2.3. FTIR Analizi	44
2.3.2.4. Yüzey Morfolojisi	44

2.3.3. Adsorpsiyon-Desorpsiyon Çalışmaları	45
2.3.3.1. Polimerik Mikrokürelere Metilciva Adsorpsiyonu	45
2.3.3.2. Polimerik Mikrokürelere Metilciva Desorpsiyonu.....	46
2.3.4. Seçicilik Çalışmaları	46
2.3.5. Önderiştirme Çalışmaları	47
2.3.6. HPLC-DAD ile Civa Bileşiklerinin Türlendirilmesi	48
3. SONUÇLAR, TARTIŞMA ve ÖNERİLER	50
3.1. Polimerik Mikrokürelere Karakterizasyonu	50
3.1.1. Yüzey Alanı Ölçümü	50
3.1.2. Şişme Testi	50
3.1.3. Yüzey Morfolojisi.....	50
3.1.4. FTIR Analizi.....	52
3.2. CH_3Hg^+ -Baskılı Mikrokürelere Adsorpsiyon Çalışması	54
3.2.1 Adsorpsiyon Denge Zamanı	54
3.2.2. CH_3Hg^+ Başlangıç Derişiminin Etkisi	55
3.2.3. Langmuir Adsorpsiyon Modeli	56
3.2.4. CH_3Hg^+ Adsorpsiyonuna pH Etkisi.....	58
3.3. Mimik Reseptörlerin Seçicilik Çalışması	58
3.4. Desorpsiyon ve Tekrar Kullanılabilirlik	60
3.5. Önderiştirme.....	62
3.6. MISPE/ICP-OES Metodunun Analitik Performansı	63
3.7. Sertifikalı Referans Maddesinin ve Deniz Suyunda CH_3Hg^+ ve Hg^{2+}	64
İyonlarının Tayini.....	64
KAYNAKLAR	66

ŞEKİLLER DİZİNİ

1.1. Moleküler Baskılamanın şematik gösterimi	6
1.2. Yaygın olarak kullanılan fonksiyonel monomerler.....	9
1.3. Yaygın olarak kullanılan çapraz bağlayıcılar	11
1.4. Yaygın olarak kullanılan çapraz bağlayıcılar	12
1.5. Moleküler Baskılama yönteminin sınıflandırılması.....	13
1.6. Kovalent ve Non-kovalent Baskılamanın şematik gösterimi	15
1.7. Civa emisyonlarının Dünya çapındaki dağılımı.....	24
1.8. Çevredeki civa dönüşümü.....	25
1.9. Plazma ve hamaç görünümü	30
1.10. Plazma sıcaklık bölümleri.....	31
1.11. Tamamıyla katı hal jeneratör	32
1.12. Plazmada gerçekleşen olaylar	33
1.13. Elektrotermal buharlaştırma cihazı	33
1.14. Lazer mikroprobu.....	34
1.15. Radyal ve Aksiyal sistem.....	35
1.16. Dedektör alt serileri	36
1.17. Hidrür Sistemi	37
2.1. p(MAC-CH ₃ Hg ⁺ -co-EDMA) mikrokürelerinin hazırlanmasında kullanılan polimerizasyon sistemi	43
2.2. FIAS sistemi.....	48
3.1 Mikrokürelerin SEM görüntüsü	51
a) p(MM-MAC-co-EDMA) polimerinin SEM görüntüsü.....	51
b) p(MM-MAC-EDMA) polimerinden CH ₃ Hg ⁺ iyonu uzaklaştırıldıktan sonraki SEM görüntüsü	51
3.2. MAC monomeri, p(MM-MAC-EDMA) ve p(MAC-EDMA) polimerinin molekül formülü.....	52
3.3. p(MM-MAC-EDMA) mikrokürelerinin FTIR spektrumu	53
3.4. CH ₃ Hg ⁺ uzaklaştırılması ile oluşan mikrokürelerin FTIR spektrumu	53
3.5. CH ₃ Hg ⁺ baskılı mikrokürede CH ₃ Hg ⁺ iyonlarının adsorpsiyon hızı	54

3.6. Polimerik mikrokürelere adsorplanan CH_3Hg^+ miktarının CH_3Hg^+ başlangıç derişimi ile değişimi.....	56
3.7. CH_3Hg^+ iyonu için Langmuir Adsorpsiyon Modeli.....	57
3.8. Polimerik mikrokürelere adsorplanan CH_3Hg^+ miktarının pH ile değişimi	58
3.9. CH_3Hg^+ baskılanmış mikrokürelere tekrar kullanılabilirliği.....	62
3.10. CH_3Hg^+ ve Hg^{2+} iyonlarının HPLC ile ayrımı.....	65

ÇİZELGELER DİZİNİ

1.1. İyon baskılama çalışmaları	7
1.2. Kovalent ve Non-kovalent bağlanmanın avantajları ve dezavantajları.....	15
2.1. ICP-OES cihazı için analiz koşulları.....	48
2.2. HPLC-DAD Analiz Koşulu	49
3.1. Seçicilikte baskılama etkisi.....	59
3.2. MISPE-ICP-OES için önderiştirme işleminin performansı.....	63
3.3. Sertifikalı referans maddesindeki ve sentetik deniz suyundaki Hg ²⁺ ve CH ₃ Hg ⁺ tayini	64

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

AAS	: Atomik absorpsiyon spektroskopisi
AES	: Atomik emisyon spektroskopisi
AIBN	: 2,2'-azobisisobütironitril
BET	: Gözenek boyutu analizörü
BPO	: Benzoilperoksit
CV-AAS	: Soğuk buhar atomik absorpsiyon spektroskopisi
CV-AFS	: Soğuk buhar atomik floresans spektroskopisi
EDMA	: Etilen glikolmetakrilat
FT-IR	: Fourier Transform İnfrared Spektrometre
HPLC-DAD	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi-Diyod Serili Dedektör
ICP-OES	: İndüktif Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektrometre
ICP-MS	: İndüktif eşleşmiş plazma kütle spektroskopisi
K	: Seçicilik katsayısı
k'	: Bağlı seçicilik katsayısı
K _d	: Dağılıma katsayısı
LUTS-1	: Eser elementler için yağından arındırılmamış ıstakoz hepatopankreas referans maddesi
MAA	: Metakrilik asit
MAC	: 2-metakroiloamidosisistein
MAGA	: 2-metakriloamidoglutamik asit
MAH	: Metakriloamidohistidin
MIP	: Moleküler baskılanmış polimerler
MISPE	: Moleküler baskılanmış katı faz ekstraksiyonu
MM	: Metilciva
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi
Q	: Adsorpsiyon kapasitesi
PVAL	: Polivinilalkol
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
SPE	: Katı faz ekstraksiyonu

1. GİRİŞ

Moleküler baskılama, ilgilenilen analit için seçici tanıma bölgelerine sahip sentetik polimerlerin hazırlanmasında kullanılan bir tekniktir. Moleküler baskılama yönteminde fonksiyonel monomerler baskılanacak molekül veya iyon ile polimerizasyon başlamadan önce ve polimerizasyon esnasında çapraz bağlayıcı varlığında moleküler etkileşime girerler. Polimerizasyon reaksiyonu sonucunda yüksek oranda çapraz bağlı polimer ağı oluşur. Baskılanan molekülün polimerden uzaklaştırılması sonucunda polimerde baskılanan moleküle veya iyon seçici bellekler elde edilir ve bir karışımda baskılanan molekül veya iyon polimere seçici olarak tekrar bağlanabilir.

Derişimi çok büyük olan elementlerin yanında derişimi çok küçük elementlerin analizi için, eser element analizinden önce matriksten ayırmak amacıyla yapılan işleme önderiştirme işlemi denir. Önderiştirme için son yıllarda şelat oluşturan polimerlerin kullanılması yaygınlaşmıştır. Önderiştirme yöntemlerinden katı faz ekstraksiyonu, hızlı ve basit olması, katı fazın kararlı olması ve tekrar kullanılabilmesi, yüksek önderiştirme faktörü elde edilmesi, az miktarda çözücü kullanılması ve ucuz olmasından dolayı yaygın olarak kullanılan önderiştirme yöntemlerinden biridir.

Ağır metal iyonları, çevre sularında genellikle hidrate olmuş iyon veya farklı anyonlarla birleşmiş kompleksler halinde bulunmaktadır. Suya karışan civa bakteriler ve organizmalar tarafından metilcivaya çevrilir. Metilciva diğer civa türleri arasında en çok toksik olan bileşiktir ve vücuttan atılımı zordur. Toplam civa miktarının belirlenmesinden ziyade civa türünün belirlenmesi organik civa türünün daha toksik olması nedeni ile daha fazla önem taşımaktadır.

Bu çalışmada, metilciva iyonlarını ayırmak ve önderiştirmek için metilciva iyonlarına seçici boşluklara sahip olan yüksek ısısal ve mekanik dayanıklılığı olan sorbent sentezlenmiştir. Elde edilen metilciva baskılanmış polimer Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ve Fourier Transform İnfrared Spektrometresi (FTIR) ile karakterize edilmiş ve polimerik sorbente adsorpsiyon deneyleri uygulanarak, adsorpsiyon kapasiteleri, ağır metal iyonu başlangıç derişimleri ve ortamın pH'ı incelenmiştir. Ayrıca kesikli sisteminde önderiştirme yapılarak,

gözlenebilme sınırları İndüktif Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektrometresi (ICP-OES) ile saptanmıştır. Adsorpsiyon deneylerinde yapılan öndeneyleer ile denge süresi belirlenmiş ve bu sürenin sonunda mikrokürelere adsorplanan metal iyonu miktarının belirlenmesi amacıyla sulu çözeltilerde kalan metal iyonu derişimleri yine ICP-OES ile belirlenmiştir. Metilcivaya seçicilik Hg^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} ve Cd^{2+} iyonları varlığında kesikli sistem ile çalışılarak bu iyonlara karşı dağılım ve seçicilik katsayısı belirlenmiştir. Civa ve metilciva iyonlarının önderiştirilmesi metilciva baskılanmış polimerlerin katı-faz ekstraksiyon yönteminde kullanılması ile gerçekleştirilmiştir. Civa ve metilciva içeren LUTS-1 (eser elementler için yağından arındırılmamış ıstakoz hepatopankreas referans maddesi) örneğinde civa bileşiklerinin türlendirilmesi çalışmasında metilciva baskılanmış mikrokürelere kullanılarak analiz HPLC-DAD sistemi ile gerçekleştirilmiştir. Ayrıca sentetik deniz suyu hazırlanmış ve metilciva baskılanmış mikrokürelere kullanılarak civa ve metilciva tayinine kompleks matriks etkisi incelenmiştir.

1.1. Sentetik Reseptörler

Son zamanlarda bilim ve teknolojiye reseptörlerin ve moleküler tanımlamanın önemi hızlı bir şekilde gelişmektedir. Moleküler baskılama tekniği çok yönlü reseptörleri verimli, hızlı ve ekonomik olarak sağlamak için geliştirilmiştir.

Moleküler tanıma yaşamın varlığı için önemlidir. Örneğin, hücre membranlarının yüzeyindeki reseptörlere hormonlar bağlanır ve hücreden hücreye iletişimden sorumludur. Reseptör hormona bağlandığında, reseptörlerin konformasyonu değişir ve hormonun mesajı (vücutta glikozun eksikliğinde) bu konformasyonel değişim terimi hücreye geçer. Bu hücre o anda vücutta ne gerekli olduğunu tanır. Hücre karşılık olan biyoreaksiyonları cevaplamak için bu gereksinimi uygun bir şekilde geliştirir. Bu sistemlerde en önemli şey, bir reseptör sadece bir spesifik hormonu kabul eder ve diğerleri ile asla önemli bir şekilde etkileşmez. Ayrıca, reseptör/hormon etkileşimi muazzam ölçüde kuvvetlidir. Başka bir deyişle, antibadilerle seçici konuk bağlanması bağışıklık sistemi için önemlidir. Yabancı madde (antijen) vücuda girdiğinde tutulur ve antijenin yok

edildiği lizozoma alınır. Beklenildiği gibi hedef antijen ve diğerleri arasında (bir de vücudumuzdaki yabancı maddeler ve asılları arasında) antibadi ile ayırt etme özenli bir şekilde olmalıdır.

İyi bilindiği gibi, enzimler yüksek substrat spesifikliğı gösterir. Enzimlerden her biri sadece belirli substratı (spesifik substrat) seçer ve önceden belirlenen ürüne dönüştürür. Bu substrat spesifikliğı, esasen enzimlerin substrat-bağlanma bölümleriyle seçici konuk bağlanmasından ileri gelir. Substrat molekülüne göre daha büyük olan bir enzim molekülünün yüzeyinde substrat molekülünün şeklini tamamlayan ve bu şekle oturan yarık ve çukurlar bulunmaktadır. Böylece substrat bir anahtar gibi enzimin aktif konumlarıyla etkileşir.

Doğadaki moleküler tanımlama, çoğu bilim adamlarını onları taklit etmeyi teşvik etmektedir. Yapay reseptörlerin en önemli avantajlarından biri moleküler tasarımın serbest doğal oluşmasıdır. Yapılan çalışmalar sonucunda moleküler tanımlama için aşağıdaki faktörlerin uygun olması gerektiğı belirlenmiştir:

1. Reseptör ve hedef molekülün fonksiyonel grupları birbirini tamamlayıcı olmalıdır.
2. Her iki bileşimlerin konformasyonel serbestliğı minimize edilmelidir.
3. Kimyasal koşullar uygun bir şekilde ayarlanmalıdır.

Hedef molekülünün küçük olması halinde reseptörler başarılı bir şekilde sentezlenebilir. Endüstride, reseptörler reaksiyon karışımından hedef molekülleri ekonomik olarak ayırmak için ve atık sudan tehlikeli kimyasalları uzaklaştırmak amacıyla kullanılmaktadır. Ürünlerin ayrılması ve saflaştırılması bunların üretim ücretlerinin toplamının yarısından fazlasına karşılık gelmektedir. Bununla birlikte, endüstriyel ve günlük yaşamımızdaki pratik uygulamalara bakış açısıyla bu sentetik reseptörler bazı sakıncalara sahiptir. Bunlar; daha az elde edilebilirlik ve endüstriyel uygulamalar için daha pahalı olmalarıdır. İkinci olarak, büyük konuk moleküller için reseptörlerin tasarımı tamamen zordur. Üçüncü olarak, kesin moleküler tanımlama için bu sentetik reseptörlerle uygun reaksiyon ortamını sağlamak zordur.

Moleküler baskılama yöntemi bu problemlere en iyi şekilde cevap verebilir. Hedef molekül varlığında uygun fonksiyonel monomerlerin basitçe polimerleştirilmesiyle, arzu edilen reseptörler ucuz bir şekilde ve fazla miktarda

hazırlanabilir. Uygun monomerlerin, çapraz bağlayıcı ajanların birleşmesiyle hedef bağlanma bölgelerindeki kimyasal şartlar kolayca düzenlenebilir. Böylece hedef moleküle uygun reseptör kolayca elde edilebilirler. Bu özellikler moleküler baskılama yöntemini en cazip yöntemlerden birisi yapar. Büyüklüklerine bağlı olarak moleküler baskılanmış polimerler binlerce ya da milyonlarca bağlanma bölgelerine sahip iken biyolojik reseptörler bir veya birkaç bağlanma bölgesine sahiptir [1].

1.2. Moleküler Baskılama Yönteminin Tarihçesi

1931'de Polyakov sodyum silikat çözeltisinin asitlendirilmesi ile jelimsi silika polimerin kuruması sonucunda sert bir matriks elde etmiş ve kuruma süresince benzen, toluen, ksilen varlığında gözenek yapısına etkisini incelemiştir. 20-30 gün oda sıcaklığında kuruduktan sonra sıcak su ile yıkayarak baskılanacak molekülü uzaklaştırmıştır. Polimerizasyon başlatıcısı olarak H_2SO_4 (asitlendirme ajanı) kullanıldığında yüzey alanları ve yükleme kapasitelerinin baskılanan molekülün molekül ağırlığı ile bağlantısı olduğunu bulmuştur. Başlatıcı olarak $(NH_4)_2CO_3$ kullanıldığında ise sonuçlar önemli bir şekilde değişmiştir. Polyakov bundan sonraki çalışmalarında seçici moleküler tanıma konusunda araştırmalar yapmış ve seçiciliğin katkı maddesinin kimyasal yapısının sonucu olarak silikada yapısal değişiklikler oluşturduğunu belirtmiştir.

Baskılama işleminde en önemli basamaklardan biri de baskılanan molekülün ekstraksiyonudur. Ekstraksiyon esnasında baskılanan silikanın seçiciliği kaybolabileceği için silika tamamen kuruduktan sonra ekstraksiyon yapılmalıdır. Dickey boyaları metanolla yıkayarak ekstrakte etmiş, fakat daha sonra Morrison tarafından yapılan çalışmada silikadan boyaları uzaklaştırmak için Dickey' in metodunun yeterli olmadığı görülmüş ve su ya da sulu HCl ile ek yıkama yapılmıştır. Bununla birlikte, metanolla Soxhlet ekstraksiyonundan sonra HNO_3 ve H_2O_2 karışımı ile ekstraksiyon edilmesi daha etkili sonuç vermiştir.

1955' de Haldeman ve Emmett Dickey aynı işlemi yapmışlar ve silika ile boya arasındaki etkileşimin hidrojen ve Van der Waals bağları ile olduğunu belirtmişlerdir. Çeşitli çözücülerle baskılanan molekül ile silika arasındaki bağlanmayı araştıran Waksmondzki, tanıma işleminin elektrostatik etkileşimlerle

olduğunu desteklemiş ve adsorpsiyon derecesi ile çözücünün dielektrik sabitinin ters orantılı olduğunu belirtmiştir. Waksmundzki baskılanmış molekülün toplam yüzey alanına etkisinin az, fakat mikro gözeneklerin büyüklüğü ile baskılanan molekülün büyüklüğünün orantılı olduğunu bulmuştur. Curti ve Colombo ise baskılamada stereoseçiciliği göstermiştir [2].

Wulff ve çalışma arkadaşları 1977'de ilk olarak karbohidratlar, aminoasitler ve bunların türevleri için kovalent baskılama ile ilgili çalışmaları yapmışlardır. Mosbach ve grubu ise daha yaygın olarak kullanılan non-kovalent baskılama ile optik olarak enantiyomerlerin ve biyomoleküllerin çözümlenmesi üzerinde çalışmışlardır [1-4].

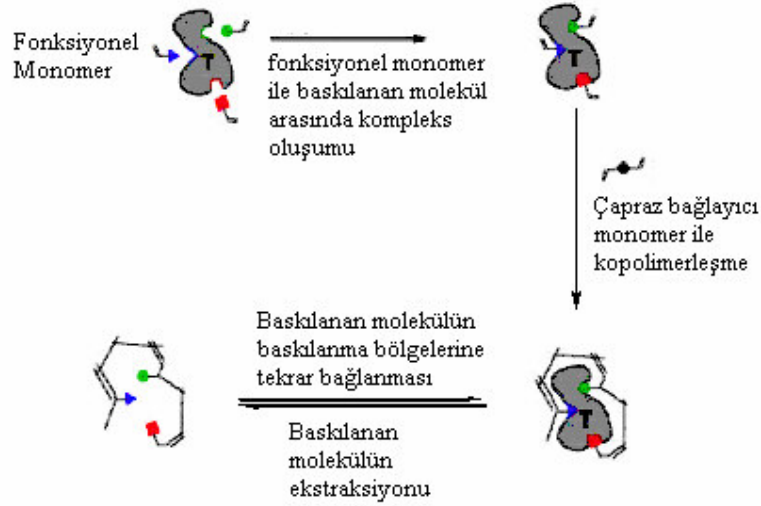
1.3. Moleküler Baskılama Yöntemi

Moleküler baskılama, ilgilenilen analit için seçici tanıma bölgelerine sahip sentetik polimerlerin hazırlanmasında kullanılan bir tekniktir. Moleküler baskılama yönteminde fonksiyonel monomerler, baskılanacak molekül ile polimerizasyon başlamadan önce ve polimerizasyon esnasında çapraz bağlayıcı varlığında moleküler etkileşime girerler. Polimerizasyon reaksiyonu sonucunda yüksek oranda çapraz bağlı polimer ağı oluşur. Baskılanan molekülün polimerden uzaklaştırılması sonucunda polimerde baskılanan moleküle kimyasal ve topolojik (büyüklük, şekil ve üç boyutlu yapı) olarak seçici bellekler elde edilir ve bir karışımda baskılanan molekül polimere seçici olarak tekrar bağlanabilir (Şekil 1.1.) [3, 5-9].

Polimerizasyon, baskılanan molekülün uzaklaştırılması ve baskılanan molekülün tekrar bağlanması sırasında aşağıda belirtilen olaylar gelişmektedir:

- (1) Polimerizasyon sırasında;
 - a) Baskılanan molekül ile monomerin baskılama bölümleri arasındaki stokiyometrik etkileşimler gerçekleşmelidir,
 - b) Polimerizasyon süresince bağ kuvvetli olmalıdır,
 - c) Bağın uzayda yönlenmesi sabit olmalıdır.
- (2) Baskılanan molekülün uzaklaştırılması;
 - a) Baskılanan molekülün ayrılması ılımlı şartlarda gerçekleştirilmelidir,
 - b) Baskılanan molekülün mümkün olduğu kadar hepsi uzaklaştırılmalıdır.

- (3) Baskılanan molekülün tekrar bağlanması;
a) Çok hızlı ve tersinir etkileşimler gereklidir,
b) Bağlanma mümkün olduğunca seçici olmalıdır,
c) Bağlanma bölümleri uzayda belirli bir pozisyonda olmalıdır.



Şekil 1.1. Moleküler Baskılamanın şematik gösterimi (T: Baskılanan molekül veya iyon)

Çapraz bağlı polimerlerin baskılanmasında baskılanacak molekül olarak metal katyonu kullanılabilir [3, 4, 5-8, 10-18]. Zayıf asidik çözeltilerden metal iyonunu adsorplayan metal iyon baskılanmış reçineler ilk defa Nishide tarafından hazırlanmıştır [8, 9, 12, 14]. Nishide ve arkadaşları metal iyonlarının varlığında çift fonksiyonlu reaktif ile çapraz bağlı düz polimer zinciri elde etmişlerdir. Metal iyonunun baskılanmasında, metal katyonu fonksiyonel monomer ile karıştırılarak kompleks oluşturulur. Çapraz bağlayıcı ile kopolimerizasyon gerçekleştirilir ve metal katyonu asidik çözeltilerle yıkanarak uzaklaştırılır. Baskılanmış polimerde baskılanan iyon için oyuklar oluşur ve baskılanmış polimer baskılanan iyon için seçicilik gösterir. Baskılanmış molekülün bağlanma bölgeleri analitin büyüklüğüyle ve şekliyle uyumludur ve ard arda kullanımlar analiti tanıma bölgelerini değişikliğe uğratmaz [3, 4, 5-8, 10-16]. İyon baskılama işleminde polimerik adsorbanın seçiciliği ligandın spesifikliğine, iyonun koordinasyon sayısına ve geometrisine, iyonun yüküne ve büyüklüğüne bağlıdır [6, 9, 10, 15, 17]. Metal iyon baskılanmış polimerler katı faz ekstraksiyonu ile önderiştirme ve

diğer iyonların varlığında ayırma işlemlerinde kullanılır. Değişik iyonların hangi fonksiyonel monomerler kullanılarak polimerleştirildiği Çizelge 1.1'de verilmiştir.

Çizelge 1.1. İyon baskılama çalışmaları (DAAB: Diazoaminobenzen, DTPA: Dietilen triamin pentaasetik asit, VP: Vinilpridin, DMG: Dimetilgloksim)

Baskılanan İyon	Fonksiyonel Monomer	Oluşan Polimer	Kaynak
Cd^{2+}	4-Vinil pridin	p- Cd^{2+} -DAAB-VP	17
Cd^{2+}	2-metakroilamidosisitein (MAC) 2-Hidroksietilmetakrilat (HEMA)	p- Cd^{2+} -HEMA-MAC	18, 15
Hg^{2+}	4-Vinil pridin	p- Hg^{2+} -DAAB-VP	19
Gd^{3+}	p-Vinilanilin	p- Gd^{3+} -vinilanilin-DTPA	12
Pd^{2+}	2-Hidroksietilmetakrilat (HEMA) 4-Vinil pridin	p- Pd^{2+} -HEMA-VP- quinolinin amino, hidroksi ve merkaptotürevleri	4, 14
Pd^{2+}	4-Vinil pridin-stiren	p- Pd^{2+} -VP-DMG	8
UO_2^{2+}	2-Hidroksietilmetakrilat (HEMA) 2-metakriloamidoglutamik asit (MAGA)	p- UO_2^{2+} -MAGA-HEMA	20
UO_2^{2+}	2-metakriloamidoglutamik asit (MAGA)	p(MAGA- UO_2^{2+} -co-EDMA)	6
Ni^{2+}	Metakriloamidohistidin (MAH)	p(EDMA-MAH/ Ni^{2+})	5
Cu^{2+}	2-Hidroksietilmetakrilat (HEMA) 2-metakrilamidofenilalenin (MAPA)	p- Cu^{2+} -HEMA-co-MAPA	21
Cu^{2+}	Metakroilamidohistidin (MAH)	p(EDMA-MAH/ Cu^{2+})	7

Moleküler baskılanmış polimerler (MIP); moleküler tanımlamaya elverişlidir, ucuzdur ve kolayca hazırlanabilir. Ayrıca moleküler baskılanmış polimerler yüksek mekanik dayanıklılıkları, ısıya ve basınca olan dirençleri, fiziksel sağlıkları, asitler, bazlar metal iyonlar ve organik çözücüler gibi ekstrem şartların varlığında yüksek kararlılıkları sebebiyle oldukça dayanıklıdır. Birkaç yıl boyunca performansında değişim olmaksızın saklanabilirler [9, 22-24]. Büyüklüklerine bağlı olarak moleküler baskılanmış

polimerler binlerce ya da milyonlarca bağlanma bölgelerine sahip iken biyolojik reseptörler bir veya birkaç bağlanma bölgesine sahiptir [25].

Moleküler baskılama teknolojisi ayırma, kataliz çalışmaları, biyosensör teknolojisi ve yapay antibadi üretim alanlarında çalışma imkanı sunmaktadır [24]. Moleküler baskılamada kullanılan baskılanacak molekül, fonksiyonel monomer, çapraz bağlayıcı, çözücü ve başlatıcı etkili bir baskılama elde etmek için birbiri ile uyumlu olmalıdır.

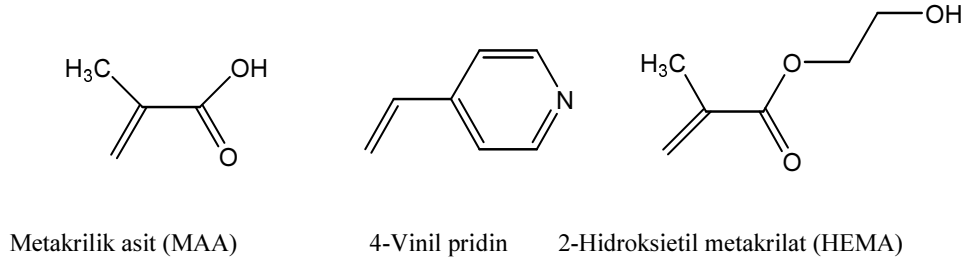
1.3.1. Baskılanacak Molekülün veya İyonun Özellikleri

Tüm moleküler baskılama işleminde baskılanacak molekül veya iyon fonksiyonel monomerdeki fonksiyonel gruplarla doğrudan etkileşeceği için baskılanacak molekül çok önemlidir. Baskılanan molekül için önemli olan parametreler; baskılanan molekülün polimerleşebilecek grup içerip içermediği, serbest radikal polimerizasyonunu engelleyecek veya yavaşlatacak grubun olup olmadığı (tiyol grubu ya da hidrokinon grubu), yüksek sıcaklıklarda baskılanan molekülün kararlı olup olmadığıdır (başlatıcı olarak AIBN kullanılmışsa sıcaklık 60 °C dolaylarında olmalı) [26]. Özellikle eser seviyelerde etkili ayırma ve zenginleştirme için baskılanacak molekülün kantitatif olarak uzaklaştırılması gerekmektedir. Etkili bir ekstraksiyon ile baskılanacak molekülün % 99'u kadarı uzaklaştırılabilir. Geriye kalan % 1'i kuvvetli bir şekilde bağlanmıştır ve materyalin ard arda kullanılması ile yavaşça atılır. Bu analizin duyarlılığını sınırlar. Fakat, MIP hedef analit için yeterli sayıda tanıma bölgesi oluşturur [27]. Baskılanacak molekül olarak, ilaçlar, aminoasitler, karbohidratlar, proteinler, nükleotit bazlar, hormonlar, pestisitler, koenzimler ve iyonlar kullanılabilir.

1.3.2. Fonksiyonel Monomerler

Fonksiyonel monomerler baskılanmış bağlanma bölgelerinde bağlanma etkileşimlerinden sorumludur. Non-kovalent moleküler baskılamada baskılamamanın gerçekleşmesi için genellikle daha fazla miktarda baskılanacak molekül kullanılır. Non-kovalent baskılama için baskılanacak molekül fonksiyonel monomer oranı 1:4 oranında yada daha yüksektir. Kompleks oluşumunu ve baskılama etkisini

arttırmak için fonksiyonel monomerin fonksiyonelliği ile baskılanacak molekülünün veya iyonun fonksiyonelliğinin uyuşması çok önemlidir. Bununla birlikte, iki ya da daha fazla monomer ile kopolimerizasyon gerçekleştirilecekse, monomerlerin reaktivite oranlarının kopolimerizasyonu gerçekleştirebilecek özellikte olması gerekmektedir. Fonksiyonel monomer ile baskılanacak molekül arasındaki kompleksleşme monomerin sterik ve elektronik etkisine bağlıdır. Asidik, bazik ve nötral özelliklere sahip bazı fonksiyonel monomerlerin adları aşağıda verilmiştir. Asidik: Metakrilik asit (MAA), p-vinilbenzoik asit, akrilik asit (AA), 2-(triflorometil)-akrilik asit (TFMAA), akriloamido-(2-metil)-propan sülfonik asit (AMPSA), Bazik: 4-vinil pridin(4-VP), 2-vinil pridin (2-VP), 4-(5)-vinilimidazol, 1-vinil imidazol, allilamin, N,N'-dietil aminoetil metakrilamit (DEAEM), Nötral: Akrilamit, metakrilamit, 2-hidroksi metakrilat (HEMA), akrilonitril (AN), metilmetakrilat (MMA), stiren, etilstiren [26]. Yaygın olarak kullanılan fonksiyonel monomerler Şekil 1.2'de gösterilmiştir.



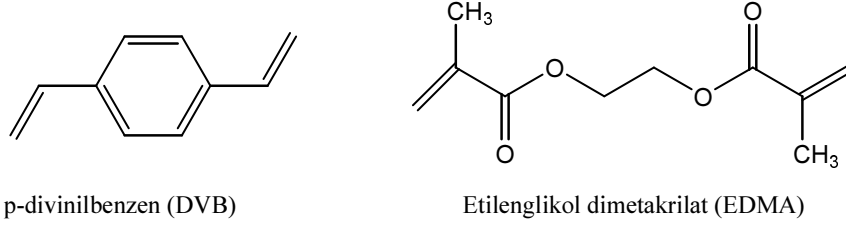
Şekil 1.2. Yaygın olarak kullanılan fonksiyonel monomerler

Sentezin kolay olması nedeni ile akrilik ve metakrilik asidin esterleri ve amidleri yaygın olarak kullanılır. Ticari olarak pek çok fonksiyonel monomer bulunur. Bununla birlikte ticari monomerler genellikle depolama esnasında istenmeyen polimerleşmelerin olmaması için inhibitör ve stabilizör (hidrokinon ve fenol gibi) içerirler. Bu nedenle ticari monomerler moleküler baskılama deneylerinde kullanılmadan önce damıtılmalıdır [1].

1.3.3. Çapraz Bağlayıcı

Baskılanmış polimerlerde çapraz bağlayıcılar öncelikle polimer matriksinin morfolojisinin (jel tipi, makro gözenekli ya da mikro jel toz halinde olması)

kontrol edilmesini, baskılanmış molekülün veya iyonun bağlanma bölümlerinin kararlı olmasını ve polimer matriksinde mekanik kararlılığının olmasını sağlar. Kalıcı gözenekli (makro gözenekli) polimer elde edebilmek ve polimerin yeteri kadar mekanik kararlılığının olması için genellikle yüksek çapraz bağlama oranı tercih edilir. Polimerlerde çapraz bağlama oranı % 80'i aşmaktadır. Yüksek oranda çapraz bağlama, aynı zamanda baskılanmış polimerin çözücüde çözünmesini önler ve baskılanmış polimerlerin kullanımını kolaylaştırır. Etkili bir baskılama için, çapraz bağlayıcının reaktifliği ile fonksiyonel monomerin reaktifliği uyuşmalıdır. Aksi takdirde, fonksiyonel monomer ya da çapraz bağlayıcı ajan baskın olduğunda kopolimerizasyon etkili bir şekilde gerçekleşmez [26]. Fonksiyonel monomerden oluşan fonksiyonel artıklar polimer ağında düzgün bir şekilde dağılır. Çapraz bağlayıcı ajanın fonksiyonel monomere olan mol oranı önemlidir. Eğer bu oran çok düşük ise, konuk bağlanma bölümleri birbirine çok yakın durumda kurulursa bunlar bağımsız olarak çalışamazlar. Bir taraftaki konuk bağlanma komşusundaki konuk bağlanmasını engeller. Son derece yüksek mol oranlarında ise özellikle çapraz bağlayıcının fonksiyonel monomer ve/veya baskılanan molekül ile non-kovalent etkileşimde baskılama etkisi zarar görür. Fazla miktarda çapraz bağlayıcı olduğunda polimerizasyon baskılanacak molekül etrafında gerçekleşir [28]. Moleküler baskılama için uygun birkaç çapraz bağlayıcı baskılanacak molekül ile fonksiyonel monomer gibi davranarak kendiliğinden komplekşelebilir. Farklı türde çapraz bağlayıcı ajanının kullanılması ile konuk bağlanma bölgelerinin yapılarını ve bunların etrafındaki çevreyi kontrol edebiliriz. Organik çözücülerde moleküler baskılama için etilen glikol dimetakrilat (EDMA) ve divinil benzen yaygın olarak kullanılır. Suda çözünür çapraz bağlayıcı ajanı ise N, N'-metilenbisakrilamit (MDAA)'dir. p-divinil benzen, EDMA, tetrametilen dimetakrilat (TDMA), trimetilpropan trimetakrilat (TRIM), MDAA, N, N'-hekzametilen bisakrilamit, 1,3-diisopropenil benzen (DIP) yaygın olarak kullanılan çapraz bağlayıcılardır. Yaygın olarak kullanılan çapraz bağlayıcılar Şekil 1.3'de verilmiştir [26].



Şekil 1.3. Yaygın olarak kullanılan çapraz bağlayıcılar

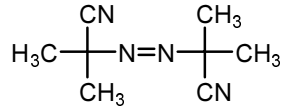
1.3.4. Çözücü

Çözücü polimerizasyonda baskılanacak molekül, fonksiyonel monomer, çapraz bağlayıcı, başlatıcı gibi tüm bileşenlerin tek fazda bulunmasını, gözenekli polimerde ise gözeneklerin oluşmasını sağlar. Bu nedenle çözücüye genellikle ‘porogen’ denir. Makro gözenekli polimer hazırlandığında, gözeneklerin yapısı ve seviyesi, morfolojisi ve toplam gözenek hacmini kontrol etmek için kullanılabilir. Çözücünün bu iki görevi yanında non-kovalent baskılama polimerizasyonunda baskılanacak molekül ile fonksiyonel monomer arasındaki kompleks oluşumunu artırma gibi bir görevi de vardır. Polimerden konuk bağının bırakılmasını gözeneklilik kolaylaştırır. Polimerizasyonda çözücü molekülleri polimerlerin içine dahil edilir ve son işlemle uzaklaştırılır. Bu işlemler süresince, boşluk çözücü molekülleri tarafından polimerde gözenek olarak tutulur [26]. Çözücü bakımından az olarak hazırlanan polimer çok sert ve yoğun olur ve güçlükle baskılanacak molekülü bağlar. Çözücünün diğer bir rolü ise polimerizasyon reaksiyonu oluşurken sıcaklığı dağıtmasıdır. Aksi takdirde, reaksiyon karışımının sıcaklığı bölgesel olarak çok yüksek olur ve istenmeyen yan reaksiyonlar oluşur. Çözücünün seçimi baskılamanın türüne bağlıdır. Kovalent baskılamada tüm bileşenleri iyi bir şekilde çözdüğü müddetçe bir çok çözücü kullanılabilir. Non-kovalent baskılamada ise, fonksiyonel monomer ile baskılanacak molekül arasındaki non-kovalent etkileşiminin oluşumunu ve baskılama etkisini arttırmak için çözücü seçimi daha önemlidir. Kloroform çoğu monomer ve baskılanacak molekülü iyi çözdüğü için ve hidrojen bağlanmasını güçlükle önlemesi nedeni ile çok yaygın olarak kullanılan çözücülerden biridir. Bununla birlikte, ticari kloroformda depolama süresince fosgen oluşumundan kurtulmak için etanolle stabilize edilir. Bu etanol monomer ile baskılanacak molekül arasındaki hidrojen

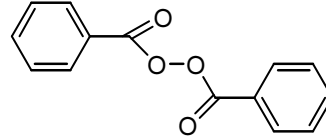
bağlanmasını engellemesi nedeni ile çoğu moleküler baskılama için (özellikle non-kovalent baskılama için) uygun değildir. İyi bir sonuç elde etmek için kloroform kullanılmadan önce damıtılmalıdır [1]. Polimerizasyon çözücüsü, monomerlerle baskılanacak molekül arasındaki hidrojen bağları ve elektrostatik etkileşimler gibi polar etkileşimlerin oluşmasını sağlamak için az polar ve aprotik olmalıdır [28]. Normalde toluen gibi protik olmayan çözücüler hidrojen bağı kararlı kıldığı için tercih edilir. Bununla birlikte, kompleksleşmede hidrofobik kuvvetler kullanılıyor ise çözücü olarak su seçilebilir [26].

1.3.5. Başlatıcı

Kompleksleşmenin hidrojen bağı ile gerçekleştiği durumlarda düşük polimerizasyon sıcaklığı tercih edilir ve bu şartlarda düşük sıcaklıklarda etkili olan fotokimyasal olarak aktif olan başlatıcılar tercih edilir. Azobisisobutironitril (AIBN), benzoilperoksit (BPO), azobisdimetilvaleronitril (ABDV), 4,4'-azo-(4-siyanovalerik asit) yaygın olarak kullanılan başlatıcılardır (Şekil 1.4) [26].



Azobisisobütironitril (AIBN)



Benzoilperoksit (BPO)

Şekil 1.4. Yaygın olarak kullanılan çapraz bağlayıcılar

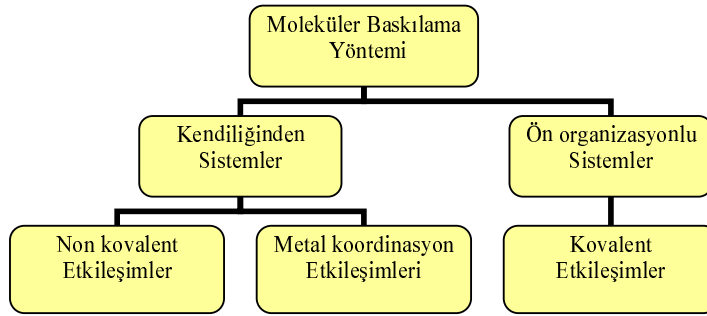
1.4. Moleküler Baskılama Çeşitleri

Günümüzde yapılan moleküler baskılanmış polimer çalışmaları iki kategoride sınıflandırılabilir (Şekil 1.5).

1. Kovalent bağlanma
2. Non-kovalent bağlanma

Wulff ve ekibinin yapmış olduğu şekerlerin rasemik çözümü çalışmaları kovalent etkileşimleri içerirken, Mosbach ve ekibinin fonksiyonel monomer olarak metakrilik asit kullanarak yaptığı polimerler non-kovalent

etkileşimleri incelemektedir. Wulff ve arkadaşları tersinir kovalent bağlarla polimerizasyondan önce çözülteleri bir araya getirmişlerdir. Mosbach ve arkadaşları ise kendiliğinden olan yaklaşımla fonksiyonel monomer ile baskılanacak molekül arasında ön hazırlık aşamasında non-kovalent ya da metal koordinasyon etkileşimleri gerçekleştirmişlerdir. Her iki yöntemle de önemli ölçüde sağlam ve tamamen çözünmeyen polimer yüksek oranda çapraz bağlayıcı kullanılması ile elde edilir [22].



Şekil 1.5. Moleküler Baskılama yönteminin sınıflandırılması

1.4.1. Kovalent Bağlanma

Ön organizasyonlu moleküler baskılama yaklaşımında, polimerizasyondan önce baskılanacak molekül ile fonksiyonel monomerler arasında kuvvetli, tersinir bir kovalent düzenleme gerçekleşir [29]. Wulff ve çalışma arkadaşları 1977’de ilk kovalent baskılamayı gerçekleştirmişlerdir. 2:1 oranında p-vinilbenzenboronik asit ile 4-nitrofenil- α -D-monopyranoside (template)’in kovalent konjugesini sentezlemişlerdir ve bu konjugeyi metilmetakrilat ve etilen dimetakrilat (çapraz bağlayıcı monomer) ile kopolimerize etmişlerdir. Benzer olarak, Shea baskılanacak molekülün karbonil grubu ile fonksiyonel monomerin 1,3-diol grupları arasında ketal konjugesi oluşturmuştur ve bu kovalent konjugeyi moleküler baskılama amacıyla kullanmıştır. Polimerizasyon esnasında etkileşim sağlam ve bozulmamış olmasına rağmen ılımlı şartlarda baskılama etkisini kaybetmeden kolayca çıkarılabilmelidir. Bu bağlar boronik asit esterleri, asetaller, ketaller, schiff bazlar, disülfid bağlarında oluşur [1].

1.4.2. Non-kovalent Bağlanma

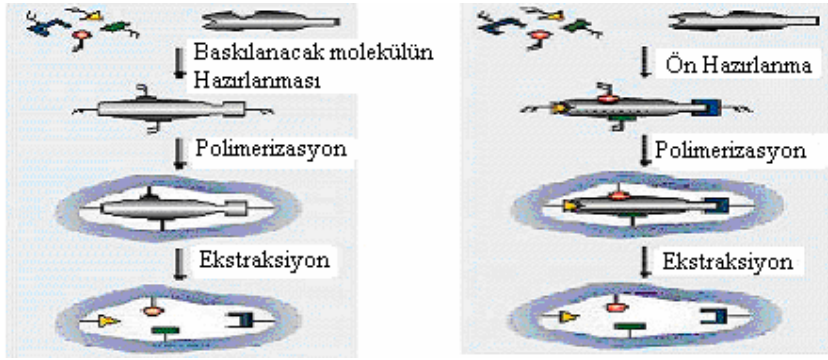
Mosbach ve çalışma arkadaşları moleküler baskılama için fonksiyonel monomer ve baskılanacak molekül arasında sadece kovalent bağların gerekli olmadığını göstermişler. Moleküler baskılamada non-kovalent etkileşimler doğadaki biyolojik etkileşimleri temel alır. Üstelik spesifik biyolojik tanıma çoklu etkileşimlerden oluşur. Moleküler baskılamada kalıp ve fonksiyonel monomer arasındaki non-kovalent yaklaşım sadece kalıbı tanıma değil aynı zamanda baskılanmış polimerdeki ligand-seçici bölgelerin üretimini de içerir.

Baskılanacak molekül ile fonksiyonel monomer arasındaki non-kovalent etkileşimler çok yönlüdür. Bu etkileşim türü zayıf olsa da kendiliğinden çoklu etkileşim bölümlerin oluşması ile bunun üstesinden gelinebilir. Bu bağ türlerinin hızlı birleşme-ayırılma kinetikleri sayesinde kısa zamanda çok fazla kombinasyonlar yapılabilir. Baskılamada non-kovalent etkileşimlerin kullanılmasıyla doğadakine benzer tanıma bölgeleri oluşur [22]. Kendiliğinden moleküler baskılama yaklaşımında iyonik, hidrofobik etkileşimler, hidrojen bağı ve metal koordinasyonu gibi zayıf moleküller arası etkileşimler analit ile monomer kompleksi arasında gerçekleşir. Sıvı fazdaki kompleks kendiliğinden oluşur ve çapraz bağlayıcı ile polimerleştirilir [29]. Baskılanan molekül basit ekstraksiyon işlemi ile kolayca uzaklaştırılabilir. Çoğu önemli moleküller (farmasötikler, herbisitler, biyolojik olarak aktif maddeler ve çevresel kirlilikler) non-kovalent etkileşimler için gerekli olan hidroksil, karboksil, amino, amit gibi polar gruplara sahiptir. Hidrojen bağı, monomer ile baskılanacak molekül arasında uzaklık ve yöne yüksek oranda bağlı olduğu için kesin moleküler tanıma için hidrojen bağı daha çok uygundur. Monomerdeki fonksiyonel gruplar (karboksil, amino, piridin, hidroksil ve amit grupları) seçilen baskılanacak molekül ile uyumlu olmalıdır. Non-kovalent etkileşimler her iki bileşenin pK değerlerinin kontrol edilmesi ile kontrol altına alınabilir. Asit ve bazın her ikisi de kuvvetli olduğunda proton asitten baza tamamen transfer olacağı için etkileşim daha çok elektrostatik etkileşim olur. Elektrostatik etkileşim uzaklık ve yöne daha az bağlı olduğundan kesin olarak moleküler tanımlama için çok istenmez. Asit ve bazın kuvveti orta seviyede olduğunda, proton asit ve bazın arasında bulunur ve böylece hidrojen bağı daha baskın özelliktedir. Bu koşullar altında etkili bir baskılama

elde edilir. Asit ve bazın her ikisi de zayıf olursa etkileşim çok zayıf olur ve baskılama için uygun değildir.

1.4.3. Kovalent ve Non-kovalent Bağlanmanın Avantajları ve Dezavantajları

Bu iki metottan herhangi biri seçildiğinde ihtiyaca ve bunların çalışma koşullarının durumuna bağlı olarak seçilmelidir. Moleküler baskılama yönteminde kovalent ve non-kovalent bağlanma şekli Şekil 1.6.'da, avantaj ve dezavantajları ise Çizelge 1.2'de verilmiştir.



Şekil 1.6. Kovalent ve non-kovalent Baskılamanın şematik gösterimi

Çizelge 1.2. Kovalent ve Non-kovalent bağlanmanın avantajları ve dezavantajları

	Kovalent	Non-kovalent
Monomer-baskılanacak molekül konjugesinin sentezi	Gerekli, zor	Gereksiz
Polimerizasyon Şartları	Oldukça serbest	Sınırlı
Polimerizasyondan sonra baskılanan molekülün uzaklaştırılması	Zor	Kolay
Baskılanacak molekülün bağlanması ve ayrılması	Yavaş	Hızlı
Baskılama Etkisi	Hedef moleküllerinin uzaklaştırılması sonucunda baskılama etkisi azalır	Fazla miktardaki fonksiyonel monomer spesifik olmayan bağlanma bölgeleri oluşturur ve bağlanma seçiciliği azaltır

1.5. Polimerizasyon

Polimerlerin sentezi; zincir ve kondenzasyon polimerizasyonu olmak üzere başlıca iki grupta, polimerizasyon sistemleri ise 4 ana grup altında incelenebilir: Yığın polimerizasyonu, çözelti polimerizasyonu, süspansiyon polimerizasyonu ve emülsiyon polimerizasyonu. Moleküler baskılama için tüm polimerizasyon yöntemleri (radikal, anyon, katyon, kondenzasyon) kullanılabilir. Polimerizasyonun başarılı bir şekilde gerçekleştirilebilmesi için gerekli olan şey tüm bileşenlerin etkileşim içinde olmalarıdır. Bununla birlikte, radikal polimerizasyonu çok yönlü uygulanabilirliği, deneysel kolaylığı nedeni ile endüstride de ekonomik nedenlerle yaygın olarak kullanılır.

1.5.1. Zincir Polimerizasyonu

Bu yöntemde monomerler doğrudan birbirlerine katılarak makromolekül zinciri oluşturur. Bu türde, genellikle doymamış bağlar içeren etilen, stiren, vinil, klorür vb. dien veya vinil monomerlerinin polimerizasyonu söz konusudur. Zincir polimerizasyonu serbest radikaller, iyonlar (katyon veya anyon) veya koordinasyon kompleksler üzerinden yürüyebilir. Bu yöntemin en önemli özelliği, polimer zincirinin çok kısa sürede (0.1 sn gibi) yüksek molekül ağırlığına (10^5 - 10^7 gibi) ulaşmasıdır. Reaksiyonun başlamasından çok kısa bir süre sonra dahi, ortamda çok az fakat çok yüksek molekül ağırlıklı polimer ve çok sayıda monomer vardır. Zamanın ilerlemesiyle monomer polimer dönüşümü artar, ancak oluşan polimer zincirinin boyu değişmez.

1.5.2. Kondenzasyon Polimerizasyonu

“OH”, “COOH”, “NH₂” vb. gibi fonksiyonel gruplardan en az iki tane taşıyan monomerler esterleşme, amitleşme vb. reaksiyonlarda genellikle H₂O, NH₃, CO₂, N₂ vb. küçük moleküller çıkarak kondenzasyon polimerlerini oluştururlar.

Kondenzasyon polimerizasyonu basamaklı polimerizasyon olarak da adlandırılır. Çünkü bu tür polimerizasyonda, önce monomerler birleşir ve dimerler

oluşur. Daha sonra monomerler dimerle birleşerek trimerleri oluştururlar ve böylece adım adım oluşan zincirin boyu uzar. Bu özellik kondenzasyon ve zincir polimerizasyonları arasındaki en önemli farktır. Bu türde, her uzunluktaki polimer zinciri, reaksiyon süresince, aynı olasılıkla boyunu uzatarak büyür. Polimerizasyonun başlatılmasından bir süre sonra örneğin, ortalama molekül ağırlığı yaklaşık 10.000'e ulaştığında, ortamdaki monomerlerin tamamına yakın bir bölümü reaksiyona girmiştir. Ancak polimerizasyonun sonuna doğru polimer zinciri son boylarına ulaşılabilir [30].

1.5.3. Polimerizasyon Yöntemleri

1.5.3.1. Yığın Polimerizasyonu

Monomerlerin doğrudan doğruya veya pek az katkı maddesi ile polimerizasyonuna dayanır. Kondenzasyon polimerizasyonuna uğratılan monomerler genellikle bu yöntemle polimerleştirilir. Yabancı maddelerin polimerizasyon ortamına girme olasılığı düşük olduğundan polimerik ürünün ayrılması kolaydır.

1.5.3.2 Çözelti Polimerizasyonu

Polimerizasyona uğrayan monomer, reaksiyona katılmayan bir çözücü içinde polimerleştirilirse yığın polimerizasyonunun bir çok sakıncası önlenmiş olur. Çözücü, polimerizasyon ortamını seyrelttiği için viskozite düşer, karıştırma kolaylaşır ve daha etkin bir ısı transferi sağlanmış olur.

1.5.3.3. Süspansiyon Polimerizasyonu

Bu işlemde monomer uygun bir dağıtma ortamında süspansiyon haline getirilir. Dağıtma ortamı genellikle sudur. Başlatıcı monomer su damlacıkları içinde çözülür. Ortam sürekli olarak karıştırılarak süspansiyonun devamlılığı ve uygun bir sıcaklık programı ile monomer damlacıklarının küresel polimer partikülleri haline dönüşmesi sağlanır. Süspansiyon polimerizasyonu

10 µm'den 10 mm'ye kadar çok değişik boy aralığı ve dağılımında polimer üretilebilmektedir. Her monomer damlacığı başlatıcı içerir ve ısıtılınca diğerlerinden bağımsız olarak polimerleşir. Reaksiyon hızı yığın polimerizasyonuna göre daha hızlıdır. Sonlanma ve zincir transferi yavaş olduğundan, daha büyük molekül ağırlıklarına ulaşılır. Yığın prosesine göre en önemli avantajı, düşük ortam viskozitesi ve iyi karıştıırma nedeniyle sıcaklık kontrolünün mükemmel olmasıdır. Dahası dağıtma ortamı olarak kullanılan su ucuzdur ve yanma, patlama ve toksiklik gibi yan etkileri yoktur.

1.5.3.4. Emülsiyon Polimerizasyonu

Emülsiyon polimerizasyonu radikal zincir polimerizasyonu için önemli bir yöntem sağlar. Bunun için suda çözünmeyen bir monomerin önce emülsiyon halinde dağılması gerekir. Bu tür polimerizasyon süspansiyon polimerizasyonundan farklıdır, polimerizasyon mekanizması tümüyle değişiktir [30].

1.6. Polimer Karakterizasyonu

Makroskopik ağlı polimerler zorlu yapıları ve çözünemedikleri için karakterizasyonu zordur. Fonksiyonel grupların çevresini ve ulaşılabilirliğini belirlemek için ve bağlanma bölgelerinin tanımlanması nedeni ile polimerlerin karakterizasyonu gereklidir. Yapılması gereken karakterizasyon deneyleri ve uygulanan yöntemler aşığıda verilmiştir:

- Por sistemi, Yüzey alanı
 - Porozimetri
 - Mikroskopi (SEM)
 - Şişme ve çözücü alımı
- Konformasyonel geçişler, termo kararlılık
 - Termal Analiz (TGA, DSC)
- Polimer verimi, kompozisyon
 - Elementel Analiz

- Katı hal NMR
- Kimyasal ve yapısal bilgi
 - Potansiyometrik titrasyonlar
 - FTIR
 - Katı hal NMR
 - Floresans

Zorlu yapıları ve çözünemedikleri için baskılanmış polimerlerin karakterizasyonunun çözelti halinde yapılması uygun değildir [1, 26].

1.6.1. Elementel Analiz

Elementel analiz bilinmeyen maddenin elementel bileşimi hakkında bilgi edinmek için kullanılan klasik metodlardan biridir. Elementel analiz, örneklerde bulunan C, H, N ve Cl'un kütle yüzdesi olarak ölçülmesinde kullanılır. Azot, halojen, sülfür, fosfor gibi elementleri içeren türlerin eklenmesi ya da uzaklaştırılması kolayca tayin edilebilir.

1.6.2. Fourier-Transform İnfrared Spektroskopisi (FTIR)

Çözünmeyen polimerlerin infrared spektrumu polimerlerin KBr peletlerinin hazırlanması ile kolayca elde edilir. Monomerlerin bandları ile polimerlerinkilerinin karşılaştırılması ile monomerlerin birleşmesinin boyutu belirlenebilir. Baskılanmış polimerlerin FTIR spektrumu elementel analiz gibi polimerin bileşimi hakkında ve örnek, fonksiyonel monomer ve çapraz bağlayıcı farklı çevrelerde olduğunda önemli bilgi verir.

1.6.3. Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi (NMR)

^1H -NMR ve ^{13}C -NMR çözülebilir polimerlerin düzeninin belirlenmesi için kullanışlı bir metottur. Çözünmeyen türler katı hal NMR ile analiz edilebilir. Ağ polimerleri için örnekteki farklı kimyasal çevre hakkında bilgi verir. Çapraz polarizasyon sihirli açılı spin, (cross-polarisation magic angle spinning, CP-MAS)

ile farklı türdeki karbon atomlarının yaptığı bağıl miktarlarının belirlenmesinde kullanılır. Bu özellikle divinil monomerlerinin polimerizasyonundan sonra geriye kalan reaksiyona girmemiş çift bağların miktarını belirlemek için yaygın olarak kullanılan tekniktir. Bununla birlikte baskılanmış polimerlere bağlanmayı izlemek için de kullanılır.

1.6.4. Kuru Haldeki Gözenek Yapısı

Gözenekli maddelerin gözenek yapısı spesifik yüzey alanı, S (m^2/g), spesifik gözenek hacmi, V (ml/g), ortalama gözenek çapı (A^0), gözenek büyüklüğü dağılımı ile belirlenebilir. Bu parametreler genellikle azot ya da civa geçirgenlik ölçümleri gibi gaz adsorpsiyon-desorpsiyon ölçümleri ile belirlenebilir.

1.6.4.1. Azot Sorpsiyon Porozimetri

Azot sorpsiyon porozimetride belirli basınç serilerinde gaz belirli kütledeki kuru polimere uygulanır. Basıncın fonksiyonu olarak emilen gazın miktarının ölçülmesi yüzey alanı ve gözenek boyutu analizörü (BET) ve matematik modellerin uygulanması ile sorpsiyon izotermelerinden spesifik yüzey alanı (m^2/g), spesifik por hacmi (ml/g), ortalama gözenek çapı ve gözenek büyüklük dağılımı elde edilebilir. Bu metod orta büyüklükteki ve küçük gözenekli polimerlerin analizi için kullanışlıdır. IUPAC'ın tanımına göre mikrogözenekli polimerler < 2 nm, orta gözenekli polimerler 2 nm-50 nm arası, makrogözenekli polimerler ise > 50 nm olarak belirlenmiştir. Her bir ekleme sonrası denge basıncının ve eklenen gaz miktarının kaydedilmesi sonucu adsorpsiyon izotermeleri adsorplanan gaz miktarının $0 < p/p_0 < 1$ aralığında bağıl basıncın fonksiyonu olarak çizilir. (p : denge basıncı, p_0 : saf sıvı emicinin doygunluk buhar basıncı). Gaz adsorpsiyonun mekanizması moleküler çap ile gözenek çapı arasındaki orana bağlıdır.

1.6.4.2. Civa Geçirgenliği

Belirli kütledeki kuru polimere çeşitli basınçlarda civa uygulanmasıdır. Bu metodla makro gözenekli yapılarda daha duyarlı sonuçlar elde edilmesine karşın azot sorpsiyon porozimetri ile benzer bilgiler elde edilir. Civa geçirgenliği yıkıcı bir teknik olduğundan dolayı materyalin mekanik olarak sağlam olması gerekmektedir.

1.6.4.3. Yüzey Alanları

Gözenek büyüklüğünün azalması ile yüzey alanı artar. Mikrogözenekli adsorbanlar: $> 500 \text{ m}^2/\text{g}$, ortagözenekli adsorbanlar: $10\text{-}500 \text{ m}^2/\text{g}$, makrogözenekli adsorbanlar: $< 10 \text{ m}^2/\text{g}$. Adsorbanların por büyüklüğüne bağlı olarak yüzey alanlarının hesaplanmasında farklı modeller uygulanır. Orta ve makro gözenekli adsorbanlar izotermin $0.05 < p/p_0 < 0.35$ bölgesinde en iyi BET ile ölçülür.

1.6.4.4. Gözenek Hacmi

Makro polimerler kuru haldeyken bile sürekli gözeneklidir ve gözenek ağını değerlendirmek için çözücü kullanılabilir. Alınan çözücü miktarının ölçülmesi ile polimerin spesifik por hacmi ölçülebilir (ml/g).

Eğer adsorban orta gözenekli ya da mikrogözenekli ise azot adsorpsiyon ölçümlerinden spesifik por hacmi ölçülebilir. Gözenek çapı 1000 \AA 'dan büyük olan makrogözenekli adsorbanlar için por hacmi, basınç-hacim eğrisinin integre edilmesi ile civa geçirgenliği ölçümleri ile belirlenebilir.

1.6.4.5. Mikroskopi (Taramalı Elektron Mikroskobu gibi)

Mikroskopi çeşitli büyüklük derecelerde baskılanmış polimerlerdeki farkı incelemede kullanılır. Örneğin ışık mikroskopi polimer mikrokürelerinin yapısal bütünlüğünü doğrulamada kullanılırken taramalı elektron mikroskopi makro gözenekleri görüntülemek için kullanılır.

1.6.5. Şişmiş Haldeki Por Yapısı

Gözenekli adsorbanlar genellikle sıvı ortamında kullanıldıkları için şişme oranları önemlidir. Adsorbanlar belirli çözücü için polimerin ilgisine ve çapraz bağlayıcıların dağılımına ve derecesine bağlı olarak şişerler. Kuru polimer tüpe koyularak yüksekliği ölçülür. Ardından çözücü koyulur ve mikroküreler oda sıcaklığında şişerler [1,26]. Mikrokürelerin yüksekliği işaretlenerek şişme oranı aşağıdaki eşitlik ile hesaplanır.

$$\text{Şişme oranı (\%)}: [(h_{\text{şişme}} - h_{\text{kuru}}) / h_{\text{kuru}}] \times 100$$

$h_{\text{şişme}}$: şişen kürelerin yüksekliği, h_{kuru} : kuru kürelerin yüksekliği

1.7. Civa ve Civa Bileşiklerinin Özellikleri

Civa, atom numarası 80, atom ağırlığı 200.59 olan ve oda sıcaklığında sıvı, gümüş beyazı renkte ağır metaldir. Civanın yoğunluğu 14.06 g/cm^3 , erime noktası -38.83°C , kaynama noktası 356.73°C 'dir. Elektronların metalik bağını oluşturmasını zorlaştıran yüksek iyonizasyon enerjisi nedeni (1. iyonlaşma potansiyeli: 1007 kJ mol^{-1}) ile sadece civa oda sıcaklığında sıvı halde bulunur. Diğer metallerle kıyaslandığında ısı iletimi zayıf, elektrik iletimi orta seviyededir. Elementel civa, altın, gümüş, platin, uranyum, bakır, kurşun, sodyum, potasyum gibi metallerle amalgam olarak adlandırılan metal alaşımlarını oluşturur. Civa metaller arasında iyonik bağlardan ziyade kovalent bağları tercih ettiğinden dolayı farklıdır [31-34].

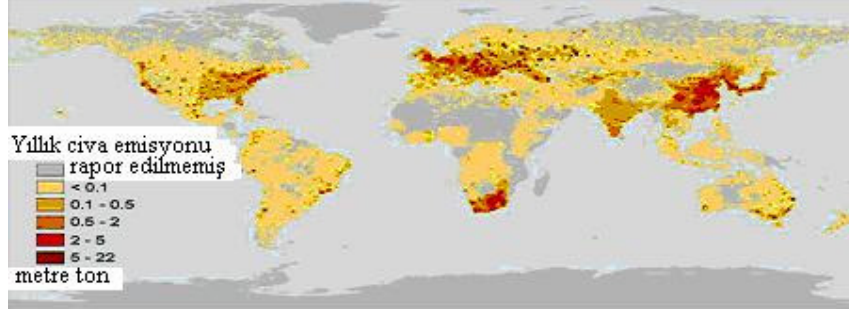
Civa doğada 3 oksidasyon basamağında bulunabilir: Hg^0 (metalik), Hg_2^{2+} (mercurous) ve Hg^{2+} (mercuric). Civanın kimyasal reaktifliği ve özellikleri büyük ölçüde oksidasyon basamağına bağlıdır. Civa (I) sıradan çevresel şartlar altında çok az kararlı olsa da civa (I) ve civa (II) birçok organik ve inorganik bileşik oluşturur. Civa (I) bileşikleri $(\text{Hg}-\text{Hg})^{2+}$ içerdikleri için farklıdır. Civa (I) halojenlerinden Hg_2Cl_2 (kalmel) kimyasal uygulamalarda yaygın olarak kullanılır [34].

Civanın bazı yapıları çevrede doğal olarak oluşur. Civa çevrede en yaygın olarak metalik civa, civa sülfür (cinnabar madeni), civa klorür, metilciva klorür ve metilciva hidroksit halinde az oranda ise dimetil civa ve fenilciva olarak bulunur.

Bazı mikroorganizmalar ve doğal işlemler civayı bir türden diğer türe dönüştürebilir.

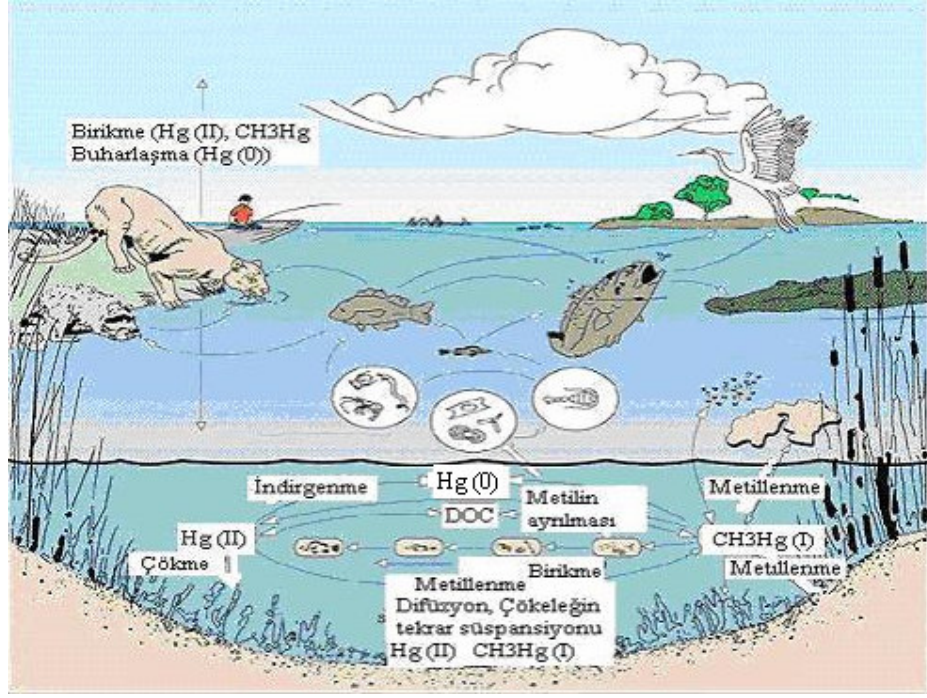
Cıva sıvı ve tüm sıvı sıcaklık aralığında aynı hacim genişmesine sahip olması, yüksek yüzey gerilimi ve diğer metallerle alaşım oluşturabilmesi nedeni ile endüstride birçok alanda kullanılır. Cıva ticari olarak en çok elektrolitik hücrelerde (katot olarak) klorür ve NaOH üretiminde kullanılır. Bataryalarda, duyma cihazlarında, dijital saatlerde, hesap makinelerinde ve güvenlik donanımlarında kullanılmasına rağmen kullanımları cıva içermeyen bataryalarla yer değiştirmesi ile azalmıştır, ama termometre, barometre, takometre ve termostatlarda metalik cıva kullanılmaktadır. Bazı elektrik lambaları boşalım tüplerinde cıva buharı kullanır. Metalik cıva diğer metallerle alaşım yapabilmesi nedeni ile diş dolgu maddesi olarak kullanılır. 1991'de Dünya Sağlık Örgütü (WHO) endüstrileşmiş ülkelerde toplam cıva tüketiminin % 3'ünün diş dolgu maddesi olarak kullanıldığını belirtmiştir. Amalgam % 50 metalik cıva, % 35 gümüş, % 9 kalay, % 6 bakır ve eser oranda çinko karışımından oluşmuştur. Cıvanın farmakolojik malzemelerde kullanımı cıvadan daha etkili ve daha az toksik maddelerin kullanımı ile azaltılmıştır. Altın madenciliğinde amalgamlaşma ile maden cevherinden altının ekstraksiyonunda cıva kullanılır.

Fosil yakıtların yanması, madencilik sektöründe cıva içeren kayaçların kırılması, kloroalkali üretimi esnasında, volkanlardan, katı atık depo sahalarında görülen sızma, atık pillerin rastgele atılması, diş hekimliğinde kullanılan amalgam dolgular kullanılması, yüzey sularından emisyonu ve evde kullanılan cıva içeren cihazların kırılması sonucunda havadaki ve sudaki cıva oranı yükselmektedir. Cıva emisyonlarının Dünya çapındaki dağılımı Şekil 1.7'de verilmektedir. Son zamanlarda yapılan ve tam olarak kesin olmayan değerlendirmeye göre tüm kaynaklardan yayılan yıllık toplam cıva emisyonları 4400-7500 metre ton civarındadır [34].



Şekil 1.7. Civa emisyonlarının Dünya çapındaki dağılımı

Civa suya karıştığında, bir formdan diğer forma dönüşerek kompleks döngü gerçekleşir (Şekil 1.8.). Suyu karışan civa bakteriler ve organizmalar tarafından metilcivaya çevrilir. Metilciva besin zincirinde birikir ya da atmosferde tekrar emisyonu uğrar. Çözünmüş organik karbon (DOC) derişimi ve pH ekosistemdeki civa miktarını etkileyen en önemli etmenlerdir. Aynı bölgeden alınan aynı tür balıklar üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda suyun asitliği arttıkça (pH azaldıkça) ve/veya DOC arttıkça balıklarda daha fazla civa birikmesi ve daha fazla metillenme gözlenmiştir. Yüksek asitlik ve DOC seviyesi civanın çevredeki hareketliliğini arttırmış ve besin zincirine girmesini daha olası hale getirmiştir. Güneş ışığı metilcivayı, Hg^{2+} ve Hg^0 haline dönüştürerek suda birikmesini veya atmosfere gaz olarak karışmasını sağlar. Sudaki ve topraktaki Hg^{2+} 'nin metillenme hızı ve boyutu sıcaklığa, sülfür konsantrasyonuna, Hg^{2+} bileşiminin türüne (civa asetat, civa klorüre göre daha kolay metillenir), metilleme ajanına, suyun ya da toprağın kimyasal bileşimine ve bunların oksijen derişimi ile pH'ına bağlıdır. Civa türlerinin topraktaki önderişmesine ve bağlanmasına topraktaki sülfür etkili olmaktadır [35].



Şekil 1.8. Çevredeki civa dönüşümü

Toksik özelliği daha fazla olan metilciva organizmada Hg^{2+} 'nin karbonik biyometillenmesi ile oluşur [36]. Metilciva sülfidril gruplarına ve hayvanların yağlarına yüksek afinite göstermesi nedeni ile organizmalarda ve memelilerde birikir. Hayvanlarda metilciva birikmesi eliminasyondan daha fazla olur. Büyük balıklarda küçük balıklara göre daha fazla miktarda civa birikimi gözlenir [36-39].

Civanın toksik etkisi kimyasal yapısına, ne kadar alındığına, nasıl alındığına, maruz kalma yoluna ve maruz kalma süresine bağlıdır. Genel olarak metallerin organik yapıları (daha fazla hidrofobik oldukları için) inorganik yapılarına göre, biyolojik zarlardan daha kolay geçer. Bu nedenle organociva bileşikleri inorganik civa bileşiklerinden daha toksiktir. Organociva bileşikleri enzimlerin bağlanma bölgelerini bloke eder ve protein sentezini bozar [37, 38]. Civa bileşiklerinin toksikliği daha çok metalin sistein gibi tiyol ligandlarına yüksek afinite göstermesine dayanmaktadır. Oksijen verici ligandlar Hg^{2+} ile zayıfça bağlanırlar. Metilcivanın nükleotitteki bazlara bağlanması daha çok reaksiyon koşuluna bağlıdır. Nötral ve bazik çözeltideki primer aminlerine metilcivanın bağlanması daha baskındır [36].

Civa vücuda civa buharının solunması ile (başlıca Hg^0 yapısında), içme suyundan (başlıca Hg^{2+} olarak), balık ve diğer deniz ürünlerinin tüketilmesi ile (başlıca CH_3Hg^+ yapısında) karışabilir [40]. 1950'lerde Japonya'nın Minamata Körfezinin endüstriyel civa ile kirlenmesi ile balıklarda civa birikmesi olmuş ve yerli halkta metilciva zehirlenmesi olarak adlandırılan Minamata hastalığı gözlenmiştir [31, 37, 38, 41].

Farklı yapıdaki civa bileşikleri vücutta farklı yolla taşındığı için sinir sistemi üzerinde farklı etkileri söz konusudur. Metilciva ve metalik civa vücuda alındığında kana karışarak beyine kadar gider ve beyinde akümüle olur. Buna karşın inorganik civa bileşiklerinin alınması durumunda bu bileşikler beyine gidemezler ve ancak böbreklerde akümüle olarak böbreklerin çalışmasını engeller. Vücutta civa konsantrasyonunun artması, tansiyon yükselmesine, kalp krizine, deride kızarıklık ve yara oluşmasına neden olur. Kısa süre yüksek oranda civa buharı ile maruz kalma akciğer hasarına, mide bulantısına, kusmaya, kan basıncının artmasına, cilt isiliğine neden olur ve göz sinirini etkiler. Solunum yolu ile metalik ve organik civanın alınmasının kalp krizine ve ani kan basıncının artmasına bağlı olarak ölüme neden olduğu tespit edilmiştir. Yüksek seviyede metalik, inorganik ve organik civa ile maruz kalmak beyin, böbrek ve bebeğin gelişmesinde kalıcı hasara neden olur. Beyinin fonksiyonlarını etkileyerek sinirlilik, utangaçlık, titreme, duyma ve görüşte değişim ve hafıza problemlerine neden olur. Civa ve bileşikleri bağışıklık sistemine etki eder, genetik ve enzim sisteminde değişiklikler oluşturur, sinir sisteminde koordinasyon, dokunma, tatma ve görüş duyularına zarar verir. Elementel civa cilde adsorbe olabilir ve alerjik reaksiyonlara neden olabilir. Metilciva embriyonun gelişmesine zarar verir ve embriyo yetişkinlere göre 5-10 kat daha fazla duyarlıdır. Civa klorür ve metil civanın farelerde bazı tümör çeşitlerine neden olduğu gözlenmiştir. Metilcivadan daha az zararlı olsa da altın madeni gibi yerlerde elementel civa daha yüksek konsantrasyonda bulunur. Elementel civa yenilirse daha yavaş adsorblanır ve sindirim sisteminde zarara neden olmadan atılır. $HgCl_2$ yenilirse böbreklerde zarara neden olur [42]. Vücut sıvısında bulunan anyonlarla çözünemeyen bileşik oluşturmadıkları ve pH 7'de kolaylıkla çözülebildikleri için Hg^{2+} toksik yapıdadır [35]. Normal bir insanın saçında toplam civa seviyesi 0.4-6.0 $\mu g/g$ aralığında

olabilirken, derişimi 50 µg/g'dan daha fazla olduğunda toksiktir. Sağtaki civa seviyesi kandakine göre 300 kez daha yüksektir [40]. Metilciva topraktaki toplam civanın yaklaşık % 0.1-1.5'ine, deniz suyunun % 2'sine karşılık gelir [37].

1.8. Katı-faz Ekstraksiyonu

Eser elementin analizden önce matriksten ayrılması için kullanılan yöntemlere önderiştirme veya zenginleştirme denir. Önderiştirme için kullanılan en basit yöntem, zcnn buharlaştırılmasıdır. Ancak bu durumda ilgilenilen elementin yanısıra diğer elementlerin derişimlerinde arttığı ve bunun sonucu olarak matriks etkisinden dolayı seçiciliğin azaldığı bilinmektedir. Bu nedenle üzücü buharlaştırma yöntemi çok basit bir yöntem olmasına karşın pek ilgi görmemiştir. ktrme, uygulanan alternatif teknikler arasında en eski olanıdır. Çok basit bir yöntem olmasına karşın, okelek znrlğnn az olması, çok az okelek oluşması gibi kısıtlayıcı yönleri vardır. Sıvı-sıvı ekstarksiyonu yaygın olarak kullanılan önderiştirme yöntemlerindedir. Sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemi basitliği, hızlılığı, analitin ve adsorbanın geri kazanımı kolay olması nedeni ile yaygın olarak kullanılsa da son zamanlarda katı-faz ekstraksiyonu ile yer değiştirmiştir [9]. Bunun nedeni katı faz ekstraksiyonunun hızlı, basit, kararlı olması, katı fazın tekrar kullanılabilmesi, yüksek önderiştirme faktörü elde edilmesi, az miktarda üzücü kullanılması ve ucuz olması gibi avantajlara sahip olmasıdır.

Katı faz ekstraksiyonu (SPE) kompleks matriks ortamında ya da düşük derişimdeki analitin analizinde yaygın olarak kullanılan önderiştirme ve ayırma tekniğidir. SPE'nin temeli sulu fazdan komşu katı fazdaki aktif bölgelere analitlerin transferine dayalıdır. Katı faz daha sonra örnek ortamından uzaklaştırılarak elüsyon ile ya da gaz fazına termal desorpsiyon ile analitler geri kazanılır. Katı faz girişime neden olan maddelerin eliminasyonu ve matriksin kompleksliğini azaltmak için seçici eluentlerle yıkanır. Çözücü katı fazdan analitin hızlı uzaklaşmasını sağlayabilmelidir. Katı-faz ekstraksiyonu farmakolojik, klinik, endüstriyel ve çevresel sektörlerde yaygın olarak kullanılan bir işlemdir [43].

Silika jel veya silika membran diskler [40, 44, 45], aktif karbon, iyon değiştirici reçineler [10, 46-48], selülozik türevler, polistiren-divinilbenzen esaslı adsorbanlar, poliüretan polimerler, şelatlaştırıcı reçineler [49, 50], şelatlaştırıcı fiberler [51-53], naftalin ve moleküler baskılanmış polimerler [4, 5-10, 16, 17, 19, 21, 54-58] gibi bazı farklı katı destekler seçilen şelatlaştırıcı reaktiflerin fiziksel yüklenmesi ile ya da kimyasal bağlanması ile eser miktardaki metale seçici katı faz destekler hazırlanabilir. Herhangi bir sabit fazla doldurulan SPE kolonlarına başlıca sorun tutunma mekanizmasının seğiciliğinin düşük olmasıdır. İstenen seviyede seçicilik elde etmek için kolonun doldurulmasında moleköl baskılanmış polimerler kullanılabilir. Katı faz ekstraktın ya da önderiştiricisinin seğiciliği immobilize edilen organik bileşiğin yapısına, birleşen donör atomların doğasına (O, N, P ve S), katı fazın yüzeyindeki fonksiyonel grupların pozisyonuna ve arzu edilen metal iyonu alındıktan sonra oluşan kompleksin sterik koşuluna bağlıdır. Bazı fonksiyonel grup atomları eser elementlerin şelatlaştırılmasına yatkındır. Bu atomlar genellikle azot (aminler, azo grupları, amitler, nitrillerdeki N), oksijen (karboksilik asit, hidroksil, fenolik, eter, karbonil, fosforil gruplarındaki O) ve sülfür (tiyol, tiyokarbamat, tiyoeterlerdeki S)'dür. Fonksiyonel grubun doğası eser elementlere ligandın seğiciliği hakkında bilgi verir. İnorganik katyonlar 3 gruba ayrılabilir:

Grup I-Sert katyonlar: Bu grup alkali ve toprak alkali metallerini içerir ve sadece sert oksijen ligandları ile kompleks oluşturur.

Grup II-Sınır katyonlar: Fe^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} ve Mn^{2+} gibi elementler sınır karakterdedirler ve hem sert hem de yumuşak ligandlara afinite gösterirler.

Grup III-Yumuşak katyonlar: Cd^{2+} ve Hg^{2+} orta seviyedeki azot ve yumuşak sülfüre karşı kuvvetli afinite gösterir.

Hg^{+2} ve diğer yumuşak metal iyonları için sülfür, azot ya da fosfor içeren bileşikler immobilize edilerek başarılı bir şekilde katı faz ekstraktör olarak kullanılabilir. Hg^{2+} iyonlarının önderiştirilmesinde ve seçici ekstraksiyonu için ditizon, ditiyokarbamat, sülfidril, 2-merkaptöetanol kompleksleştirici ajan olarak kullanılabilir.

Silika jel bazlı sorbentler çeşitli koşullar altında kimyasal, termal ve mekanik kararlılık gibi avantajlar sağlamasına karşılık yüzey silanol grupları asidik şartlarda protonlanır ve iyon değişim kapasitesi büyük ölçüde azalır. Silika jelin yüzeyi fiziksel adsorpsiyon ya da kimyasal immobilizasyon ile modifiye edilerek katı faz ekstraksiyonunda seçici bir şekilde kullanılabilir. Ditizon bir çok eser elementle reaksiyona girmesine karşın ditizonla fonksiyonlanmış silika jelin Hg^{2+} için seçici olduğu gözlenmiştir.

Organik bazlı sorbentler polimerik ve non-polimerik sorbent olarak ikiye ayrılabilir. Polimerik sorbentler tüm pH aralığında kullanılabilmesi nedeni ile silika bazlı sorbentlere göre eser elementlerin önderiştirilmesinde avantaj sağlar ve yaygın olarak kullanılır [59].

Moleküler baskılanmış polimerlerin ilk olarak katı-faz ekstraksiyonunda kullanımı 1994'de Sellegren ve grubu tarafından gerçekleştirilmiştir. Sellegren bu çalışmada, seyreltik idrar örneğinden pentanamitin ekstraksiyonunu seçici bir şekilde yapan moleküler baskılanmış polimer hazırlamıştır. Daha sonra bir çok grup çeşitli matriks ortamından farklı analitleri ayırmak için MIP hazırlayarak katı-faz ekstraksiyonda kullanmıştır [56]. MIP'in SPE'de kullanılma dezavantajlarından biri de baskılanan analit molekülünün zor uzaklaştırılmasıdır. Yıkama ve elusyon basamakları seçiciliğin optimizasyonu için en önemli adımlardır [57].

1.9. İndüktif Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektroskopisi (ICP-OES)

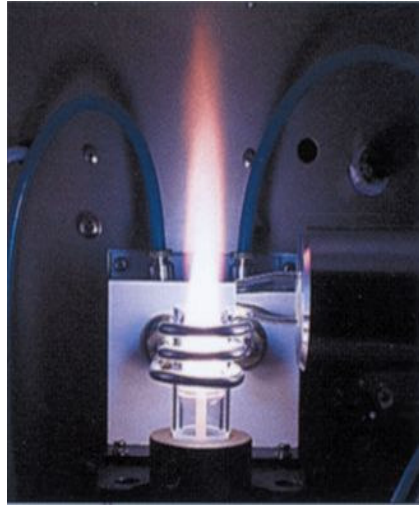
Atomik spektroskopi, elektromanyetik ışımının örnekteki atomlar tarafından absorpsiyonuna ya da emisyonuna dayanır. Atomik spektroskopi teknikleri eser elementlerin analizinde yaygın olarak kullanılır. Atomik emisyon spektroskopisi (AES), uyarılmış enerji düzeyine çıkarılan atomların ve tek atomlu iyonların daha düşük enerjili düzeylere geçişlerinde yaydıkları ultraviyole ve görünür bölge ışımalarının ölçülmesinde yaygın olarak kullanılan bir atomik spektroskopi yöntemidir [60-62].

Atomik emisyon spektroskopisinde duyarlılık temel enerji düzeyinde oluşturulan atom sayısına, uyarılmış düzeydeki atom sayısına, atomların uyarılmış düzeydeki hayat süresine ve sıcaklığa bağlıdır.

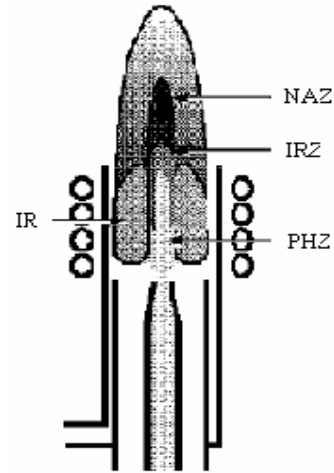
Ark ve kıvılcım gibi klasik AES kaynakları düşük kararlılık ve önemli matriks girişimleri göstermesinden dolayı AES kaynaklarından plazma önem taşır.

Plazma, önemli derişimde katyon ve elektron (bu ikisinin net elektrik yükü sıfır olacak şekildedir) içeren elektriksel olarak iletken gaz karışımı olarak tanımlanır. Kolay iyonlaştırılabilirliği ve inert olması nedeniyle, plazma argon ile oluşturulabilir. Plazmada argon iyonları oluştuktan sonra bu iyonlar daha fazla iyonlaşma ile plazma halinin sürdürülmesini sağlayacak düzeyde sıcaklık oluşturmak için bir dış kaynaktan yeterli güç absorplama yeteneğine sahiptir; bu sıcaklık 10000 K kadar büyük olabilir. Üç tip yüksek sıcaklıklı plazma vardır: indüktif eşleşmiş plazma (ICP), doğru akım plazma (DCP) ve mikrodalga plazma (MIP) [61, 62].

Plazma, alev benzer bir kuyruğu bulunan çok yoğun, parlak beyaz ve geçirgen olmayan bir merkeze sahiptir. Borunun birkaç milimetre yukarısına kadar uzanan bu merkez, argonun atomik spektrumunu bastıran sürekli spektrum oluşturur. Sürekli ışımamın olduğu merkezin üzerindeki 10-30 mm'lik bölgede, plazma optik olarak geçirgendir. Spektral gözlemler genel olarak indüksiyon bobininin üzerinde 15-20 mm'lik bir yükseklikte yapılır. Bu bölge önemli ölçüde argon çizgilerini içermez ve analiz için uygundur (Şekil 1.9.).



(A)

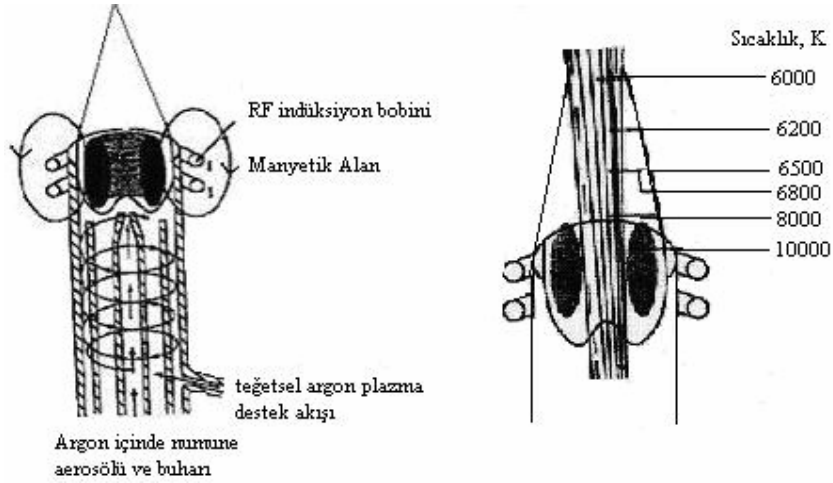


(B)

Şekil 1.9. Plazma ve hamlaç görünümü, (PHZ: önısıtma bölgesi, IRZ: Başlangıç ışın bölgesi, NAZ: normal analitik bölge)

ICP'nin önemli bileşenlerinden biri plazmanın oluştuğu hamlaç (torch) kısmıdır. Hamlaç, argon gaz akımının içinden geçtiği eş merkezli üç kuvarz borudan yapılmıştır. Hamlaç tasarımına bağlı olarak toplam argon tüketim hızı 5-20 L/dakikadır. Bu yöntemde elektromanyetik olarak argon gazının indüksiyon sarımlarında bir radyofrekans (RF) jeneratörü ile etkileştirilmesiyle plazma elde edilir.

Şekil 1.10'da görüldüğü gibi, örnek çözültisi argon gazı ile birlikte silindirik bir kuvarz silindirin içinden plazmaya pompalanır. En içteki kuvarz borudan 0.3-1.5 L/dakikalık argon akışıyla numuneler taşınır. Çapı bu silindirik tüpten biraz daha büyük olan ikinci bir kuvarz silindirin içinden ise, plazmayı oluşturacak argon gazı geçer. Dış silindirin uç kısmına değişik sayıda su soğutmalı indüksiyon sarımı sarılır ve bu sarımlar bir radyofrekans jeneratörüne bağlanır. Dıştaki silindirin ucunda, radyofrekans jeneratöründen gelen ve indüksiyon sarımlarından geçen akım nedeniyle bir elektromanyetik alan oluşur.

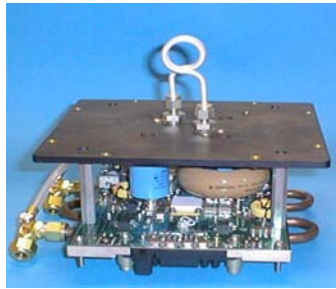


Şekil 1.10. Plazma sıcaklık bölümleri

Argon gazı akımında ilk elektronların oluşturulması, bir elektron kaynağı (Tesla boşalımı) ile sağlanır ve elektronlar, indüksiyon sarımının oluşturduğu manyetik alanda hızlanarak, argon atomlarıyla çarpışırlar ve argon iyonları ile daha fazla sayıda elektronun oluşmasını sağlarlar. Oluşan iyon ve elektronlar indüksiyon bobini tarafından oluşturulan manyetik alan salınımlarıyla etkileşir. Bu etkileşim, düzenli bir yol içinde bobin içindeki iyon ve elektronların akmasına neden olur;

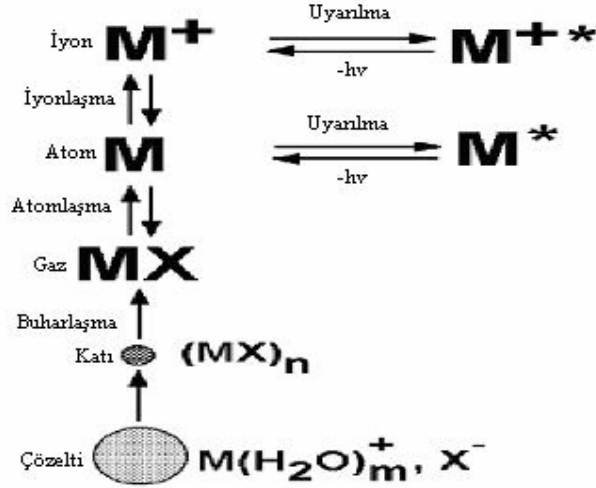
iyon ve elektronların bu harekete karşı direnci sonucunda, bir ohmik ısı oluşur. Bu yolla oluşan plazma sıcaklığı, dıştaki kuvarz silindirin termal izolasyonunu gerektirecek kadar yüksektir. Bu izolasyon şekilden de görüldüğü gibi borunun duvarlarına teğet olacak şekilde argon akışıyla sağlanır. Teğet akış, radyal olarak plazma merkezini ve içteki tüpün iç duvarlarını soğutur. Bu prosesin sürekli olarak tekrarlanmasıyla, ortamdaki argon iyonu ve elektron sayısının artması sonucu oluşan plazma, manyetik alandan enerji absorplayarak 6000-10000 K arasında değişen bir sıcaklığa ulaşır. 4000-8000 K sıcaklık aralığında atomlaşma iyi olur ve daha az kimyasal girişim söz konusudur. Argonun iyonlaşmasından gelen elektron derişimi numune bileşenlerinin iyonlaşması sonucu oluşan elektron derişimine göre çok büyük olduğundan iyonlaşma girişim etkileri yok denecek kadar azdır.

Plazmanın sağlıklı olarak oluşabilmesi için RF gücü oluşturan kaynak önemlidir. Radyofrekans jeneratörünün frekansı, 3-75 MHz arasında değişmekle beraber, ticari ICP-atomik emisyon spektrometrelerinde frekans, 27 MHz lik sabit değerde tutulur [60, 61]. Radyofrekans jeneratörler kısa ve uzun dönemde kararlı güç sağlayabilmelidir. Güçteki küçük değişimler sinyal şiddetinde büyük değişikliklere neden olur. RF güç, hamlacın ucunda bulunan bakır boru görünümündeki sarmal yapı ile uygulanır. Bu amaca yönelik olarak değişik teknikler uygulanmaktadır. Kristal kontrollü RF jeneratörler, vakum güç tüplü “Free-Running” jeneratörler, tamamiyle katı-hal (Solid-State) “Free-Running” jeneratörler olmak üzere 3 tip RF güç kaynağı bulunur [60, 63, 64].



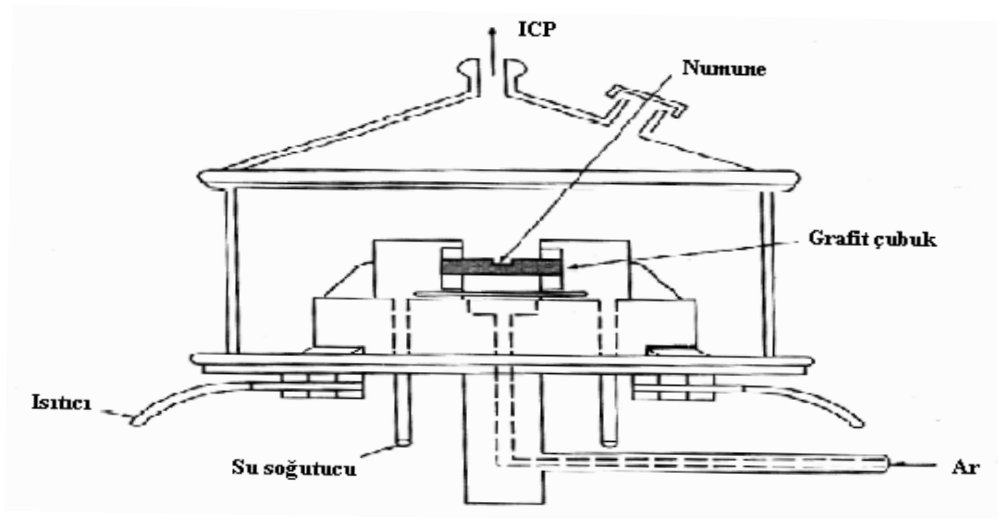
Şekil 1.11. Tamamiyle katı hal jeneratör

Bazı elementler gaz halinde hidrürleri olarak verilirken, çoğu örnek sıvı halde plazmaya verilir. Plazmanın içine giren çözelti, atomlaşır ve uyarılır (Şekil 1.12) [60].



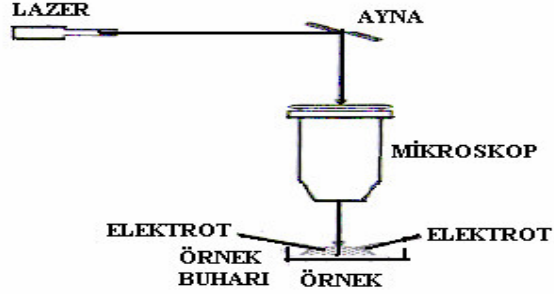
Şekil 1.12. Plazmada gerçekleşen olaylar

Plazmaya sıvı ve katı örnekleri vermek için diğer bir yöntem, elektrotermal buharlaştırmadır. Burada örnek elektrotermal atomlaşma için bir fırında buharlaştırılır. Sonra buhar hamlaca argon akışı ile taşınır (Şekil 1.13.). Bu tür bir sistemle çok az miktardaki örnek ile çalışılabilir ve geniş, doğrusal bir çalışma aralığında düşük gözlenebilirlik sınırlarına ulaşılabilir [61].



Şekil 1.13. Elektrotermal buharlaştırma cihazı

Katılar için lazer aşındırma buharlaştırma cihazları da kullanılabilir. Bu düzende örnek yüzeyinde küçük bir alana lazer ışması odaklanarak buharlaştırma işlemi gerçekleştirilir. Lazer ışması, 10-50 µm çapında yüzeye, bir mikroskop yardımı ile odaklanır. Buhar karışımı, atomlaşma ve uyarmanın gerçekleştiği hamlaca argon akışı ile taşınır (Şekil 1.14) [61, 62].

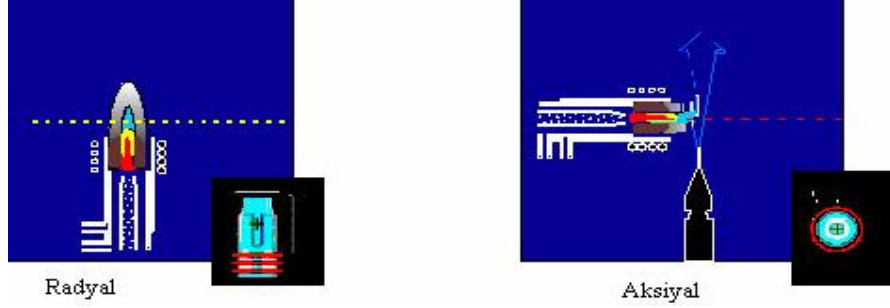


Şekil 1.14. Lazer mikroprobu

AES’de sıvı örneklerde nebulizer kullanılır. Nebulizer sıvı örneği aerosol haline dönüştürür. Sıvı örneklerin nebulizasyonu sıvının viskozitesi ve yüzey gerilimi ile gazın akış hızına bağlıdır. ICP’de pneumatik ve ultrasonik nebulizer kullanılabilir. Konsentrik, çapraz akışlı ve babington tipi nebulizerler pneumatik nebulizer çeşididir.

Nebulizasyon ile oluşan aerosoller püskürtme bölgesine (spray chamber) gelir ve bu bölme büyük damlacıkların plazmaya ulaşmasını engelleyerek 10 µm ya da daha küçük taneciklerin plazmaya taşınmasını sağlar. Örneğin %1-5’i plazmaya taşınırken % 95-99’u atığa gider [60, 63, 64].

ICP teknolojisinin ilk yıllarında sistemlerde, emisyonların plazmanın yan tarafından gözleendiği radyal teknikler kullanılmaktaydı. Daha sonraki yıllarda, plazmanın hamlaç eksenini doğrultusunda izlenebildiği aksiyal sistemler de üretilmeye başlanmıştır (Şekil 1.15).

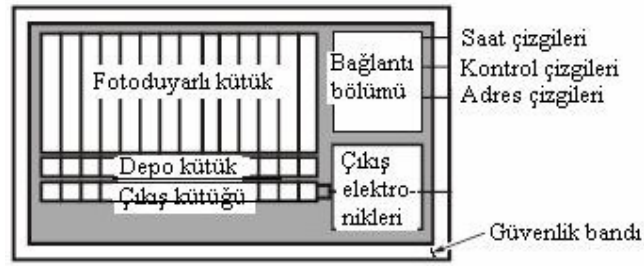


Şekil 1.15. Radyal ve Aksiyal sistem

Farklı elementlerin sıcak bölgede (NAZ) farklı yüksekliklerde emisyon vermesi nedeniyle radyal plazma tekniğinde gözlem yüksekliği çok önemlidir. Genelde optik yapının hemen girişinde bulunan giriş sliti tüm elementler için ortalama bir değerde olacak şekilde yerleştirilmiştir. Bu sistemler geniş bir ölçüm aralığında (ppb - %) çalışabilirler. Aksiyal sistemlerde ise plazma eksenı boyunca daha yoğun olarak gelen emisyonlar kullanılmakta, dolayısıyla duyarlılık artmaktadır. Ancak; duyarlılığın artmasına (dedeksiyon limitinin azalmasına) karşılık bu sistemlerde dinamik sınır (çalışma üst sınırı) düşmektedir. Bu nedenle aksiyal sistemlerde ancak düşük derişimdeki örneklerin analizi mümkün olabilmektedir. Aksiyal sistemler, radyal sistemlere oranla 5 ila 10 kat arasında daha düşük tayin limitlerine ulaşabilmekle birlikte kullanım açısından bazı kısıtlamaları bulunmaktadır. Plazmanın aksiyal olarak gözleendiği uç kısmındaki soğuk bölgede bulunan taban enerji düzeyindeki atomlar emisyonları absorbe ederek kendiliğinden absorpsiyona (Self-Absorpsiyon) neden olurlar. Radyal sistemlerde ise kendiliğinden absorpsiyon ancak çok yüksek derişimlerde gözlenir. Kendiliğinden absorpsiyon, kalibrasyon grafiğinin lineer olmayan bir yapıda oluşmasına neden olur. Aksiyal sistemlerdeki bu sorunun giderilmesi için sıcak bölgenin ucunda soğuk bölgenin yok edilmesi için basınçlı hava bıçağı kullanılır.

ICP-OES cihazında dedektör olarak fotoçoğaltıcı tüpler yaygın olarak kullanılırken daha sonra silikon esaslı yük transfer cihazı (CTD) yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Yük enjeksiyon dedektörleri (CID) ve yük eşleşmiş dedektörü CTD sınıfındadır. Yük eşleşmiş dedektörlerin aksine yük enjeksiyon

dedektörlerinde, herhangi bir anda bir elemanda biriken yük miktarı parçalanma olmadan izlenebilir. Diğer CTD dedektörlerine kıyasla segmented-array yük transfer dedektörlerinin tüm dalgaboyu boyunca quantum etkinliği daha yüksektir. İyi bir dedektör sistemi, yüzeyine 72 elementin her biri için üç veya dört ana emisyon çizgisinin düşeceği şekilde düzenlenmiş alt seriler bulunduran silikon çipler üzerinde sayısız alt seriler veya seri dağıtıcılar içerir (Şekil 1.16). Dedektörün verdiği elektrik sinyali elektronik devrelerle yükseltılarak dijital okuyucularla ölçülür.



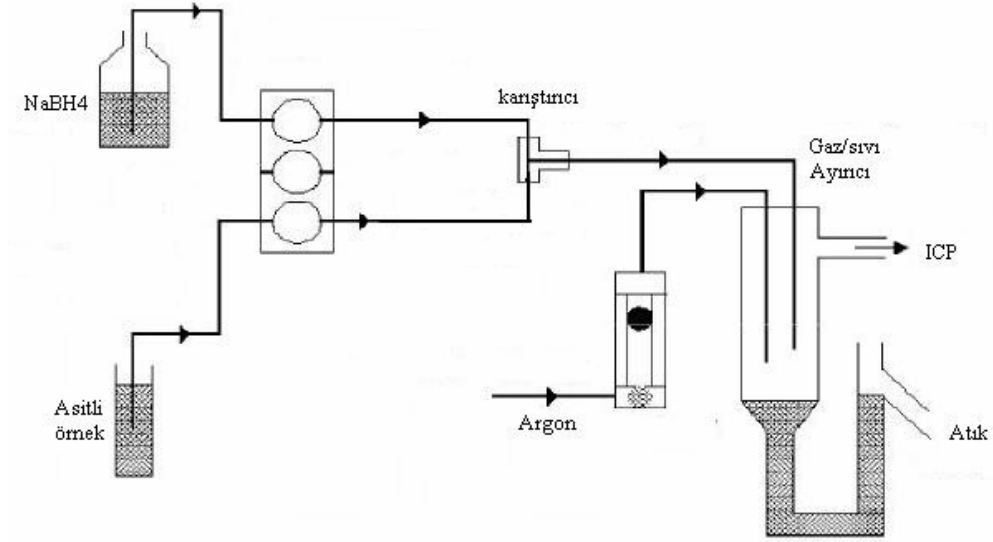
Şekil 1.16. Dedektör alt serileri

ICP-OES'te yüksek sıcaklıklara çıkılabildiği için bor, fosfor, tungsten, uranyum, zirkonyum ve niyobiyumun oksitleri gibi çok kararlı bileşikler bile plazma sıcaklığında atomlaşır. Uygulanan yüksek sıcaklık nedeni ile elementler arası girişim daha azdır. Plazmadaki yüksek elektron yoğunluğu iyonlaşmayı büyük ölçüde engeller. Bir çok element için iyi emisyon spektrumu elde edilmesini sağlar ve 50-60 elementin spektrumu aynı anda kaydedilebilir. Bu nedenle çok küçük hacimdeki örneklerle daha çok elementin analizi yapılabilir. İndüktif eşleşmiş plazma kaynakları ile elde edilen gözlenebilme sınırları daha iyidir. Bununla birlikte çizgi örtüşmelerinden kaynaklanan spektral girişim olasılığı çoktur.

Hidrür Oluşumu ve Soğuk Buhar Yöntemi

ICP-OES sisteminde örnek giriş sistemi olarak hidrür sistemi de yaygın olarak kullanılabilir. Bu teknik, seyreltik asitteki numune ile indirgeme ajanının

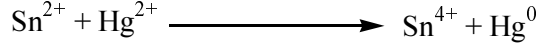
(yaygın olarak kullanılan seyreltik sodyum hidroksit çözeltisindeki sodyum borohidür çözeltisi) karışması ile oluşan atomik hidrojen Hg, Sb, As, Bi, Ge, Pb, Se, Te ve Sn gibi hidrürleşen elementlerin uçucu hidrürlerini oluşturur (Şekil 1.17) [60, 64]. Uçucu hidrürler taşıyıcı gaz ile plazmaya taşınırlar.



Şekil 1.17. Hidrür Sistemi

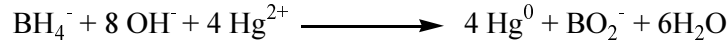
Civa, oda sıcaklığında bile buharlaşabilen tek metal olduğundan, atomlaşması için atomlaştırıcıya dışarıdan ısı enerjisi verilmesini gerektirmez. Civa analizi için yapılacak çözeltiliye bir indirgeyici reaktif eklenerek civa iyonları metalik hale indirgenir. Bu nedenle özellikle civa analizi için soğuk buhar yöntemi olarak bilinen bir atomlaştırma yöntemi geliştirilmiştir [64]. Soğuk buhar işleminin iki önemli avantajı vardır. Öncelikle civa örnek matrisinden uzaklaştırıldığından matris girişim etkisi azalmış olur. İkincisi, tüm civa örneği birkaç dakika içerisinde atomlaştırıcıya gittiği için tayin sınırı artmış olur. Veri toplama esnasında (tayin tekniğine bağlı olarak absorpsiyon, floresans ya da emisyon) hücredeki civa yoğunluğu tipik örnek girişiyle kıyaslandığında önemli ölçüde artmıştır. Civa buharının absorpsiyonu ve emisyonu için daha çok 253.7 nm'de çalışılır. Absorpsiyon veya emisyon (pik yüksekliği) civa derişimi fonksiyonu olarak ölçülür.

Soğuk buhar analizinde uçucu elementel civanın oluşması için kalay (II) klorür (SnCl_2) ya da sodyum borohidrür (NaBH_4) indirgeme ajanları olarak kullanılabilir. Kalay (II) klorür Hg ile eşitlikteki gibi reaksiyona girer.



Civa buharı taşıyıcı gaz ile atom hücresine gönderilir. Kalay (II) klorür kuvvetli indirgeyici olmadığı için matrikste bulunan pek çok metali indirgeyemez. Kalay (II) klorür atmosferik oksijen varlığında kolayca SnO_2 'e dönüşür ve bu nedenle çözelti günlük olarak hazırlanmalı ve degaze edilmelidir. SnO_2 tanecikleri örnek tüplerinin ve gaz-sıvı ayırıcısının üzerinde birikir. Bu eser miktardaki civa analizi için önemli bir sorundur ve analizden önce fazla temizleme gerektirir. SnCl_2 kullanımı fazla miktarda SnCl_2 (5-17 % w/v) kullanımına, analiz süresinin ve analiz maliyetinin artmasına neden olur [65]. Civanın indirgenmesi için SnCl_2 kullanıldığında, organociva bileşikleri inorganik civaya dönüştürülmelidir. Organociva bileşiklerinin oksidasyonu için potasyum persülfat, UV ışığı veya potasyum bromat ve bromür çözeltilerinin karışımı kullanılabilir [60].

Daha duyarlı sonuçların alındığı bir başka yöntemde ise, asitlendirilmiş örnek çözeltilisine bazik çözeltideki sodyum borohidrür (NaBH_4) eklenerek hidrürün oluşması sağlanır.



Sodyum borohidrür çözeltisi SnCl_2 çözeltisine göre daha kuvvetli indirgeme ajanıdır. Sn^{2+} gibi atmosferik oksijen ile reaksiyona girmediği için çözelti hazırlanırken degaze edilmesine gerek yoktur [60]. Sodyum borohidrür kuvvetli indirgeyicidir ve bakır ve nikel civayı tutan taneciklerin oluşmasını sağlayabilir. Örnekteki sülfürün olası girişimi potasyum permanganat eklenmesi ile giderilir.

Kesikli yapıdaki soğuk buhar sisteminde, belirli hacimdeki örnek ve indirgeyici işlemin başında karışırlar. Bu yöntemle fazla miktarda örnek tüketilir, yöntem yavaştır ve fazla işlem gerektirir.

Akış enjeksiyonlu sistemde, örnek ve indirgeme reaktifleri sürekli olarak eş zamanlı olarak pompalanır, reaksiyonun gerçekleştiği karışma bölümünden gaz-sıvı ayırıcıya gelerek taşıyıcı gaz ile cihaza taşınır. Bu sistemde daha az miktarda örnek kullanılır. Kesikli sistemle akış enjeksiyonlu sistemin duyarlılıkları benzer

olsa da akış enjeksiyonlu sistemde daha az miktarda örnek kullanılması nedeni ile daha avantajlıdır.

1.9.1. Civa Türlendirilmesi ve Civa Tayini İçin Uygulamalar

Civa tayini için soğuk buhar atomik absorpsiyon spektroskopisi (CV-AAS), grafit fırın atomik absorpsiyon spektroskopisi (GF-AAS), elektrokimyasal soğuk buhar atomik absorpsiyon spektroskopisi (EC-CV-AAS), soğuk buhar atomik floresans spektroskopisi (CV-AFS), indüktif eşleşmiş plazma emisyon spektroskopisi (ICP-OES), indüktif eşleşmiş plazma kütle spektroskopisi (ICP-MS) kullanılabilir. Civanın toksik özelliği civa miktarının yanında civanın türüne daha çok bağlı olması nedeni ile civa bileşiklerinin türlendirilmesi önemlidir. Eser element türlendirmesi için kullanılan hibrit sistemlerde, sistemlerden biri etkili bir ayırma sağlarken, diğeri ayrılan türlerin nitel ve nicel analizinin gerçekleşmesini sağlar. Ayırmayı gerçekleştiren tekniklerden elementel türlendirme için gaz kromatografisi (GC) ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi yaygın olarak kullanılırken, ayrılan türlerin analizi için atomik absorpsiyon spektroskopisi (AAS), atomik emisyon spektroskopisi (AES) ve atomik floresans spektroskopisi yaygın olarak kullanılır. GC sisteminin türlendirme amacı ile kullanılabilmesi için örnekte bulunan bileşenlerin parçalanmaksızın kolayca buharlaşması gerekmektedir. Civa türlendirmesinde türlerin ara bağlantıdaki yüksek sıcaklıkta civa buharı şeklinde taşınımı söz konusudur. HPLC sistemi türevlendirme basamağını gerektirmemesi nedeni ile ve oda sıcaklığında civa bileşiklerini ayırabildiği için kullanımı daha kolaydır.

Soğuk buhar atomik absorpsiyon spektroskopisi özellikle civa buharının altınla amalgamlaştırılması ile deriştirildiğinde basit, hızlı, interferansların uzak olması, düşük maliyet ve yüksek duyarlılık göstermesinden dolayı yaygın olarak tercih edilir. Diğeri kullanılan teknik ise GFAAS'dir. Burada asıl sorun civa ve bileşiklerinin buharlaşmasıdır. Atomizasyondan önce analit kaybını önlemek için termal stabilizasyon önemlidir. Bunun için bazı asal metaller ve bunların karışımları civa stabilizasyonu için yüksek duyarlılık ve düşük tayin sınırında elde etmek için fırının girişine modifiye ediciler kullanılır [66].

Tayin sınırının $< 0.01 \mu\text{g l}^{-1}$ olmasından dolayı ICP-MS son zamanlarda yaygın olarak kullanılır. $1-5 \mu\text{g l}^{-1}$ gibi düşük derişimlerde bile civanın yapışma sorunundan dolayı rutin analiz şartlarında ICP-MS ile analiz zordur. Bunun için her analiz sonrasında seyreltik hidrobromik asit ile 10 dakikayı aşan yıkama yapılmalıdır [66].

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Kullanılan Kimyasallar

Bu çalışmada kullanılan L-sistein ve metakroilklorür Sigma (St. Louis) firmasından, metilciva klorür, civa klorür ve polivinilalkol (PVAL; MW: 10.000, % 98) Aldrich (ABD) firmasından, azobisizobutironitril (AIBN) Fluka (İsviçre) firmasından temin edilmiştir. Etilenglikolmetakrilat (EDMA) Fluka A. G. (Buchs, İsviçre) firmasından sağlanarak kullanılmadan önce hidrokinon varlığında düşük basınçta damıtılmış ve kullanıncaya kadar 4 °C'da muhafaza edilmiştir. LUTS-1 (yağından arındırılmamış ıstakoz hepatopankreas) referans maddesi Kanada Ulusal Araştırma Konseyinden sağlanmıştır. Kalibrasyon işlemleri 1000 ppm'lik NIST SRM 3133 Hg standardının % 5'lik HCl ile seyreltilmesi ile hazırlanmıştır. İndirgeme işlemi % 0.05 NaOH çözeltisindeki % 0.5'lik NaBH₄ çözeltisi ile gerçekleştirilmiştir. NaBH₄ çözeltisi ile standartlar günlük hazırlanmış ve kullanılmıştır. Kullanılan tüm malzemeler bir gün boyunca % 20'lik HNO₃ asit çözeltisinde bekletilmiş ve deiyonize su ile yıkanmıştır. Tiyoüre Carlo Erba, HCl Merck (Almanya) ve HNO₃ Carlo Erba firmalarından temin edilmiş ve olduğu gibi kullanılmıştır. Diğer bütün kimyasallar analitik saflıkta olup, Merck AG (Darmstadt, Almanya) firmasından sağlanmıştır. Deneylerde kullanılan tüm deiyonize su Barnstead (Dubuque, IA) RO saf LP ters ozmoz cihazı ile yapılmıştır.

2.2. Kullanılan Cihazlar

İyon analizleri İndüktif Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektrometresi (ICP-OES), Perkin Elmer 4300 DV Model ile gerçekleştirilmiştir. Çözeltilerin pH ayarları Fisher Scientific, Accumet® Basic AB15-pH-metresi ile yapılmıştır. Monomer ve polimerlerin karakterizasyon çalışmalarında ise Perkin Elmer 2000 Model FT-IR, Raster Elektron Mikroskopi Leitz-AMR-1000 model taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve ASAP 2000 model spesifik yüzey alanı ölçüm (BET) cihazları kullanılmıştır. Metilciva ve civa iyonlarını içeren standart referans

maddesinin önderiştirilmesi HPLC HP-Series 1100 (Agilent) cihazı ile yapılmıştır.

2.3. Yöntem

2.3.1 Polimerik Mikrokürelerin Hazırlanması

2.3.1.1. 2-Metakroil-(L)-amidosistein Monomerinin Sentezi

Metakroilamido sistein monomerinin (MAC) sentezi Denizli ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir [18]. 5.0 g sistein ve 0.2 g NaNO₂ 30 ml K₂CO₃ (% 5, v/v) çözeltisinde çözülmüş ve bu çözelti 0 °C'a soğutulmuştur. 4.0 ml metakroil klorür bu çözeltiliye yavaşça ilave edilmiş ve bu çözelti 2 saat oda sıcaklığında azot atmosferinde karıştırılmıştır. Bu işlemin sonunda çözeltinin pH'sı 7.0'ye ayarlanmış ve etilasetat ile ekstrakte edilmiştir. Sulu faz döner buharlaştırıcıda uzaklaştırılmış ve kalan kısım (MAC) etanol ve etilasetat ile kristallendirilerek saflaştırılmıştır.

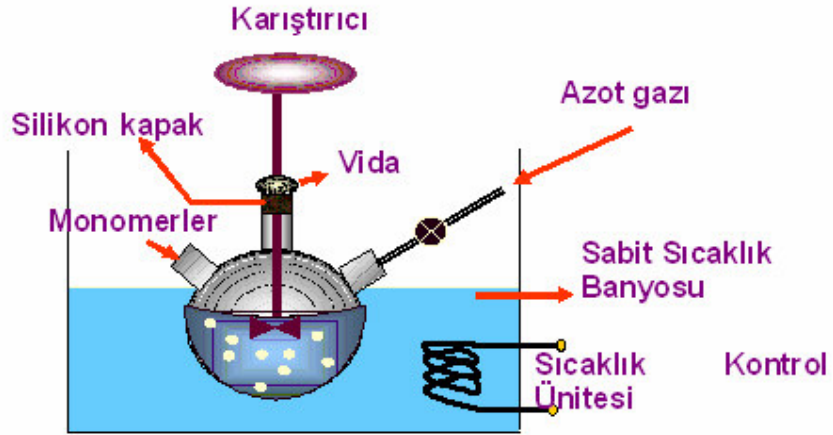
2.3.1.2. Metilciva-metakroil(L)amido-sistein Kompleks Monomerinin Sentezi

Metilciva-metakroil(L)amido-sistein (MM-MAC) kompleks monomerinin sentezi için uygulanan yöntemde: 0.251 g (1.0 mmol) metilciva klorür 15 ml etanolde çözülmüş ve 3.0 mmol MAC eklenerek oda sıcaklığında yavaşça karıştırılmıştır. Oluşan metilciva-MAC kompleks monomeri süzülerek etanol ile yıkanmış ve vakumlu desikatörde kurutulmuştur.

2.3.1.3. Metilciva Baskılanmış Polimerik Mikrokürelerin Sentezi

Metilciva baskılanmış mikroküreler dispersiyon polimerizasyon tekniği ile hazırlanmıştır. Metilciva-metakroil-(L)-amidosistein-co-etilenglikolmetakrilat [p(MM-MAC-co-EDMA)] küreciklerinin tipik süspansiyon kopolimerizasyon işlemi aşağıdaki gibi gerçekleştirilmiştir:

Dispersiyon ortamı 0.2 g PVAL'ün 70 ml distile suda çözülmesi ile hazırlanmıştır. 0.06 g AIBN, 4.0 ml etanol/12.0 ml (EDMA/MAC-CH₃Hg⁺/toluen)'deki 5.0 ml/1.0 mmol monomer fazında çözülmüştür. Bu çözelti daha sonra termostatik su banyosundaki manyetik olarak karıştırılan (600 rpm) ve azot ortamında bulunan cam polimerizasyon reaktöründeki (100 ml) dispersiyon ortamına eklenmiştir. Reaktör 9 saat boyunca 70°C'da tutularak karıştırılmış ve polimerizasyon 3 saat 90°C'da karıştırılarak tamamlanmıştır. Polimerizasyon işleminden sonra p(MM-MAC-co-EDMA), polimerizasyon ortamından ayrılarak oluşan kürecikler etanol ve su ile yıkanarak reaksiyona girmemiş monomer, başlatıcı ve çözücü uzaklaştırılmıştır. MAC ve EDMA kullanılması ile aynı işlemlerin gerçekleştirilmesi sonucunda baskılanmamış polimer hazırlanmıştır. Baskılanan polimerden metilcivanın (baskılanan molekül) uzaklaştırılması 1 M tiyöre ve 6 M HCl çözeltisi ile 48 saat 60 °C'de ısıtılması ile gerçekleştirilmiştir.



Şekil 2.1. p(MAC-CH₃Hg⁺-co-EDMA) mikrokürelerinin hazırlanmasında kullanılan polimerizasyon sistemi

2.3.2. Metilciva Baskılanmış p(MAC-co-EDMA) Mikrokürelerin Karakterizasyonu

2.3.2.1. Yüzey Alanı Ölçümü

p(MAC-co-EDMA) mikrokürelerinin spesifik yüzey alanı BET cihazı kullanılarak belirlenmiştir. p(MM-MAC-co-EDMA) mikrokürelerinin ortalama

boyu ve boy dağılımı Standart test elekleri kullanılması ile yüzey analizi gerçekleştirilmiştir.

2.3.2.2. Şişme Testi

p(MAC-co-EDMA) mikrokürelerinin su tutma oranı, deiyonize su kullanılarak volumetrik yöntemle belirlenmiştir. Bu işlemde 100 mg kuru polimer mezüre koyulup en üst noktası tüpe işaretlenmiştir. Daha sonra tüp deiyonize su ile doldurularak kürelerin oda sıcaklığında şişmesi her 30 dakikada mikrokürelerin yüksekliğinin işaretlenmesi ile belirlenmiştir. Tüpteki şişmiş kürelerin yüksekliği şişme oranının hesaplanmasında kullanılmıştır.

$$\text{Şişme oranı (\%)} = [(h_{\text{şişmiş}} - h_{\text{kuru}}) / h_{\text{kuru}}] \times 100 \quad (2.1)$$

$h_{\text{şişmiş}}$: şişen küreciklerin yüksekliği, h_{kuru} : kuru küreciklerin yüksekliği

2.3.2.3. FTIR Analizi

p(MM-MAC-EDMA) ve p(MAC-EDMA) mikrokürelerinin FTIR spektrumları, FTIR spektrometresi (Perkin Elmer Model 2000) kullanılarak elde edilmiştir. Kuru mikroküreler KBr ile karıştırılarak tablet hazırlanmış ve FTIR spektrumu çekilmiştir.

2.3.2.4. Yüzey Morfolojisi

Polimerik mikrokürelerin yüzey morfolojisi Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) kullanılarak belirlenmiştir. Örnekler analiz edilmeden önce 25 °C'da havada kurutulmuştur. Kuru mikroküreler örnek haznesine yerleştirilmiş ve altın ile kaplandıktan sonra SEM ile görüntüleri alınmıştır.

2.3.3. Adsorpsiyon-Desorpsiyon Çalışmaları

2.3.3.1. Polimerik Mikrokürelere Metilciva Adsorpsiyonu

Sulu çözeltilerden, metilciva adsorpsiyonu kesikli sistemde çalışılmıştır. Zamanın, başlangıç derişiminin ve pH'ın adsorpsiyon kapasitesine etkisi incelenmiştir. Süspansiyonlar istenen pH aralığına 0.1 M NaOH ve 0.1 M HNO₃ eklenerek getirilmiş ve pH \pm 0.1 birim aralığında dengede olacak şekilde ayarlanmıştır. Tüm deneylerde polimer konsantrasyonu 25mg/50 ml olacak şekilde sabit tutulmuştur. Metilciva iyonunun adsorpsiyonu için denge adsorpsiyon süresi 1 saat 600 devir/dakika hızda karıştırılarak elde edilmiştir. Bu süre sonunda sulu çözeltideki polimerik mikrokürelere santrifüj edilmesiyle sulu çözeltideki metilciva iyonu derişimi İndüktif Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektrometresi ile tayin edilmiştir (ICP-OES, Perkin Elmer Optima 4300 DV, ABD). Cihazın cevabı bilinen derişimdeki ICP civa standart çözeltileri ile periyodik olarak kontrol edilmiştir. Deneyler 3 kez gerçekleştirilmiş ve örnekler de 3 kez analiz edilmiştir. Her bir veri takımı için, ortalama ve standart sapmayı belirlemede standart istatistik metot kullanılmıştır. Hata payını belirlemek için her bir örnek takımı için değerler % 95 güven aralıklarında hesaplanmıştır. Birim kütle başına, mikrokürelere adsorplanan metilciva iyonunun miktarının hesaplanmasında aşağıdaki eşitlik kullanılmıştır.

$$Q = [(C_0 - C) \times V] / m \quad (2.2)$$

Bu eşitlikte Q, birim polimer mikroküre başına adsorplanan metilciva iyon miktarını (mg/g),

C₀ ve C sulu çözeltideki metilciva iyonunun başlangıç ve son derişim değerlerini (mg/L),

V sulu çözelti hacmi (ml) ve m ise kullanılan mikrokürelere kütlesini (g) vermektedir.

2.3.3.2. Polimerik Mikrokürelerden Metilciva Desorpsiyonu

Adsorplanan metilciva iyonları, asidik tiyoüre (1 M tiyoüre, 6 M HCl) çözeltisinin kullanılması ile oda sıcaklığında 2 saat boyunca 600 rpm hızında karıştırılarak desorbe edilmiştir. Sulu fazda son kalan metilciva derişimi ICP-OES ile belirlenmiştir. Desorpsiyon oranı aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır. Desorpsiyon= $[\text{Desorpsiyon ortamına salınan } \text{CH}_3\text{Hg}^+/\text{Adsorplanan } \text{CH}_3\text{Hg}^+] \times 100$ Metilciva baskılanmış mikrokürelerinin tekrar kullanılabilirliği, metilciva adsorpsiyon-desorpsiyon işleminin 10 kez aynı baskılanmış mikrokürelerin kullanılması ile belirlenmiştir.

2.3.4. Seçicilik Çalışmaları

Polimerik mikrokürelerin seçicilik çalışmaları; baskılanmış ve baskılanmamış polimerin, CH_3Hg^+ , Hg^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} ve Pb^{2+} iyonlarına adsorpsiyonunun kesikli sistemde incelenmesi ile gerçekleştirilmiştir. 50 mg/L $\text{Hg}^{2+}/\text{CH}_3\text{Hg}^+$, $\text{Zn}^{2+}/\text{CH}_3\text{Hg}^+$, $\text{Cd}^{2+}/\text{CH}_3\text{Hg}^+$, $\text{Cu}^{2+}/\text{CH}_3\text{Hg}^+$ ve $\text{Pb}^{2+}/\text{CH}_3\text{Hg}^+$ içeren 50 ml sulu çözeltiliye 25 mg metilciva baskılanmış polimerik mikroküreler eklenmiş ve pH 7'ye ayarlanarak denge adsorpsiyon süresine kadar çoklu karıştırıcıda oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Adsorpsiyonun dengeye ulaşmasından sonra, polimer karışımı santrifüjlenerek, çözelti polimerik mikrokürelerden ayrılmış ve kalan çözeltildeki metal iyonu derişimi ICP-OES ile tayin edilmiştir. Hg^{2+} ve CH_3Hg^+ 'ın seçiciliğinin kıyaslanması Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi-Fotodiyod Serili Dedektör (HPLC-DAD) ile yapılmıştır.

Seçicilikteki baskılama etkisi aşağıdaki formüle göre belirlenmiştir:

$$K_d = (C_i - C_f / C_f) (V/m) \quad (2.4)$$

Burada;

K_d = Dağılma katsayısı

C_i =Başlangıç derişimi

C_f = Son derişimi

V = Ekstraksiyonda kullanılan çözeltilinin hacmi

m= Ekstraksiyonda kullanılan polimerin ağırlığı

Farklı metal türleri içerisinde hedef iyonun seçici olarak baskılı mikroküreye bağlanmasındaki seçicilik katsayısı ise şöyle belirlenmiştir:

$$k = \frac{K_{\text{Baskılanan metal iyonu}}}{K_{\text{Karışım metal iyonu}}} \quad (2.5)$$

Burada;

k= Seçicilik katsayısı

$K_{\text{Baskılanan metal iyonu}}$ = Baskılanan metal iyonunun dağılım katsayısı

$K_{\text{Karışım metal iyonu}}$ = Karışım metal iyonunun dağılım katsayısı

Seçicilikte baskılamanın etkisini ortaya çıkarmak için, baskılı mikrokürelerle baskısız mikrokürelerin seçicilik katsayısının karşılaştırılması ile bağıl seçicilik katsayısı bulunmuştur:

$$k' = \frac{k_{\text{Baskılı Mikroküre}}}{k_{\text{Baskısız Mikroküre}}} \quad (2.6)$$

Burada;

k' = Bağıl seçicilik katsayısı

$k_{\text{Baskılı Mikroküre}}$ = Baskılı mikrokürenin seçicilik katsayısı

$k_{\text{Baskısız Mikroküre}}$ = Baskısız mikrokürenin seçicilik katsayısı

2.3.5. Önderiştirme Çalışmaları

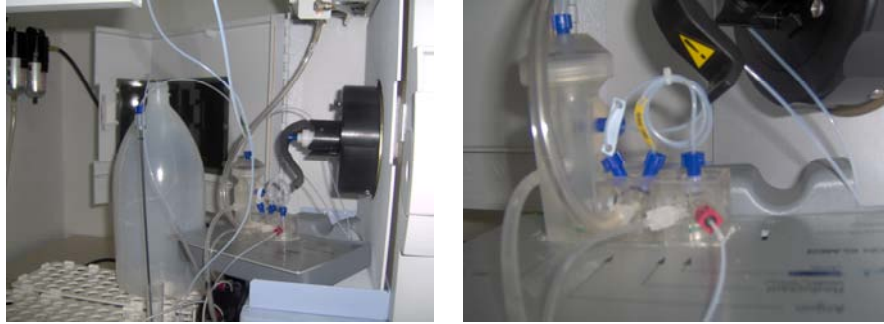
Civa ve metilciva iyonlarının önderiştirilmesi için, 80 mg metilciva baskılanmış mikroküreler pH'ı 7'ye ayarlanmış 100 ml 50 ng/L CH_3Hg^+ ve 100 ng/L Hg^{2+} çözeltileri ile ayrı olarak 1 saat boyunca karıştırılmıştır. Baskılanmış polimerik mikroküreler santrifüjlenerek adsorpsiyon ortamından ayrılmış, 5 ml'lik 2 M HCl ve 1M tiyoüre çözeltisi ile 1 saat 600 rpm hızında karıştırılmıştır. Daha sonra baskılanmış mikroküreler santrifüjlenerek desorpsiyon ortamından uzaklaştırılmış ve desorpsiyon ortamındaki Hg^{2+} ve CH_3Hg^+ iyonlarının derişimi ICP-OES ile belirlenmiştir.

ICP cihazı ile yapılan ölçümlerde buhar oluşturma aparatı (FIAS Perkin Elmer) örnek girişi olarak kullanılmıştır. Bu sistemde, civa içeren çözelti ve indirgeme çözeltisi (% 0.05'lik NaOH çözeltisindeki NaBH_4) peristaltik pompanın çalışması ile FIAS aparatına pompalanmış ve burada reaksiyon sonucu oluşan civa buharı argon gazının kullanılması ile gaz-sıvı separatöründen geçerek

enjektörle plazmaya ulaşmıştır. Civa örnekleri ve standart çözeltileri 1-2 damla % 5'lik KMnO_4 çözeltisinin eklenmesi ile stabilize edilmiştir. Analiz koşulları Çizelge 2.1'de, ICP-OES cihazında kullanılan FIAS sisteminin şekli ise Şekil 2.2'de verilmiştir.

Çizelge 2.1. ICP-OES cihazı için analiz koşulları

RF kuvveti :	1450 W	Okuma süresi:	75 sn
Plazma gaz akış hızı:	16 L/dak	Enjektör:	2 mm alümina
Yardımcı akış hızı:	0.2 L/dak	Purge gazı:	Azot
Nebulizer akış hızı:	0.55 L/dak	Taşıyıcı gaz:	Hava
Örnek akış hızı:	1.5 ml/dak	Plazma gazı:	Argon
Görüş modu:	Aksiyal-Radyal	Plazma aerosol türü	Kuru
Pik şiddeti ölçümü:	Pik yüksekliği		
Analitik dalga boyları:	Hg: 253.652 nm, Cu: 327.393 nm, Cd: 228.802, Pb: 220.353 nm, Zn: 206.200 nm		



Şekil 2.2. FIAS sistemi

2.3.6. HPLC-DAD ile Civa Bileşiklerinin Türlendirilmesi

HPLC-DAD ile civa bileşiklerinin türlendirilmesi çalışması, CH_3Hg^+ baskılanmış katı-faz ekstraksiyon kolonundan 0.5 ml/dak akış hızında CH_3Hg^+ ve Hg^{2+} iyonlarını içeren çözelti yüklendikten sonra kolondan 5 dakika hava geçirilmesi ile gerçekleştirilmiştir. Sonra kolon ditizon içeren 1 M asetik asitten 5 ml geçirilerek CH_3Hg^+ baskılanmış mimik reseptörden civa, civa-ditizonat olarak

elue edilmiştir. Civa türlerinin ölçümü Sanchez ve arkadaşlarının yaptığı yöntemle benzer olarak HPLC-DAD ile gerçekleştirilmiştir [44]. HPLC-DAD analiz koşulları Çizelge 2.2’de verilmiştir.

Moleküler baskılanmış katı faz ekstraksiyonu (MISPE) metodunun doğruluğu civa türlerinin Kanada Ulusal Araştırma Konseyinden sağlanan LUTS-1 (eser metaller için yağından arındırılmamış ıstakoz hepatopankreas) referans maddesi ile gerçekleştirilmiştir. 25.9 g NaCl, 13.6 g MgCl₂.6H₂O ve 4.15 g Na₂SO₄’ın çözülmesi ve herbiri 0.1 mmol olan Cu²⁺, Zn²⁺, Cd²⁺ ve Pb²⁺ iyonlarının 1 L deiyonize suya eklenmesi ile sentetik deniz suyu da hazırlanmıştır. Örneklerin ve sertifikalı standart maddenin hazırlanması ve analizi CH₃Hg⁺ ve Hg²⁺ önderiştirme bölümündeki gibi yapılmıştır.

Çizelge 2.2. HPLC-DAD Analiz Koşulu

Kolon :	Nükleozil C-18 (250x4.6 mm, 100Å-5µM, Macharey-Nagel)	Örneğin Akış hızı:	0.5 ml/min
Dedektör:	FotoDiyod Serili Dedektör (300-600 nm)	Pompa modu:	İzokrotik
Dalgaboyu:	475 nm	Analiz süresi	60 dakika
Enjeksiyon hacmi:	20 µl	Hareketli faz	% 35:35:35 metanol: tetrahidrofurana: 0.1 M Asetat tamponu)+ 166 µM EDTA

3. SONUÇLAR, TARTIŞMA ve ÖNERİLER

3.1. Polimerik Mikrokürelerin Karakterizasyonu

3.1.1. Yüzey Alanı Ölçümü

Süspansiyon polimerizasyonu ile çapraz bağlı 63-120 µm çapında küresel p(MAC-co-EDMA) mikroküreler elde edilmiştir. Baskılanmamış mikrokürelerinin spesifik yüzey alanı 33.4 m²/g iken, baskılanmış mikrokürelerin spesifik yüzey alanı 90.7 m²/g olarak bulunmuştur. Polimerik yapıya CH₃Hg⁺ iyonunun ilavesi iç yüzey alanını ve gözenekliliği arttırmaktadır. Elde edilen bu bulgular baskılanmamış ve baskılanmış mikrokürelerin SEM fotoğrafları ile de (Şekil 3.1) desteklenmektedir.

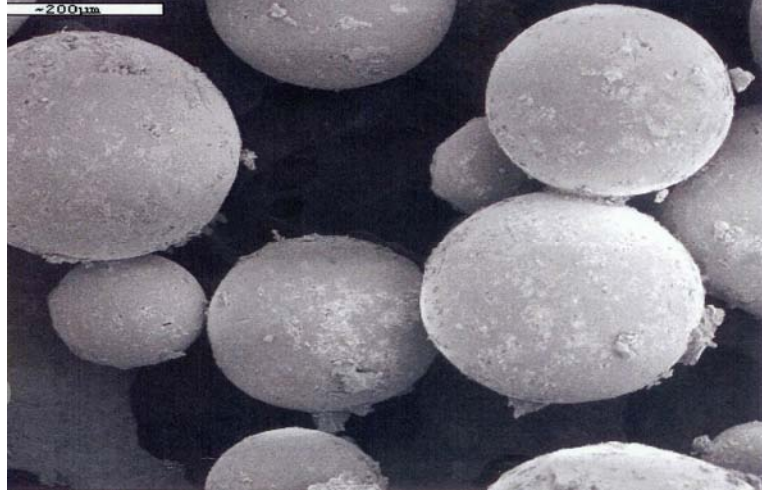
3.1.2. Şişme Testi

Baskılanmamış ve baskılanmış mikrokürelerin denge şişme değerleri sırası ile % 28 ve % 39'dur. p(MAC-co-EDMA) mikroküreleri ile CH₃Hg⁺ baskılanmış mikrokürelerin su tutma oranları kıyaslandığında baskılanmış mikrokürelerin su tutma oranları artmıştır. Polimer yapısında baskılama ile boşlukların oluşumu sayesinde polimer zincirinde daha fazla hidrodinamik hacim nedeni ile polimer matriksi daha fazla su tutmaktadır.

3.1.3. Yüzey Morfolojisi

p(MM-MAC-EDMA) ile p(MAC-co-EDMA) mikrokürelerinin yüzey morfolojisi Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) kullanılarak incelenmiştir. Şekil 3.1 a'da görüldüğü gibi süspansiyon polimerizasyonu sonucu elde edilen p(MM-MAC-co-EDMA) mikroküreleri küresel forma ve düzgün bir yapıya sahiptirler. Şekil 3.1 b'de ise, polimerik yapıdan CH₃Hg⁺ iyonunun uzaklaştırılması ile oluşan mikrogözeneklerin varlığı açıkça görülmektedir. Mikroküre yüzeyinin düzgün bir yapıya sahip olmaması yüzey alanını arttıran bir

faktördür. Bu durum polimerik mikrokürelerin pratik uygulamaları için bir avantaj sağlamaktadır. Yapıdaki mikrogözenekler polimerik yapının yüksek iç yüzey alanına sahip olmasına neden olurlar. Sonuçta kütle aktarımını zorlaştıran yüzey ve difüzyon dirençleri azalmakta ve böylece kütle aktarımı nispeten kolaylaşmaktadır.



a



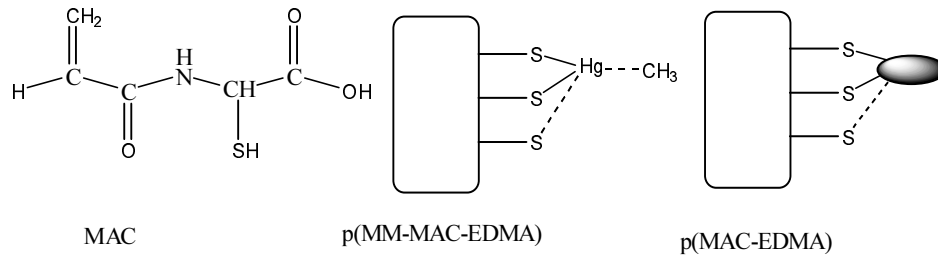
b

Şekil 3.1 Mikrokürelerin SEM görüntüsü

- a) p(MM-MAC-co-EDMA) polimerinin SEM görüntüsü
- b) p(MM-MAC-co-EDMA) polimerinden CH₃Hg⁺ iyonu uzaklaştırıldıktan sonraki SEM görüntüsü

3.1.4. FTIR Analizi

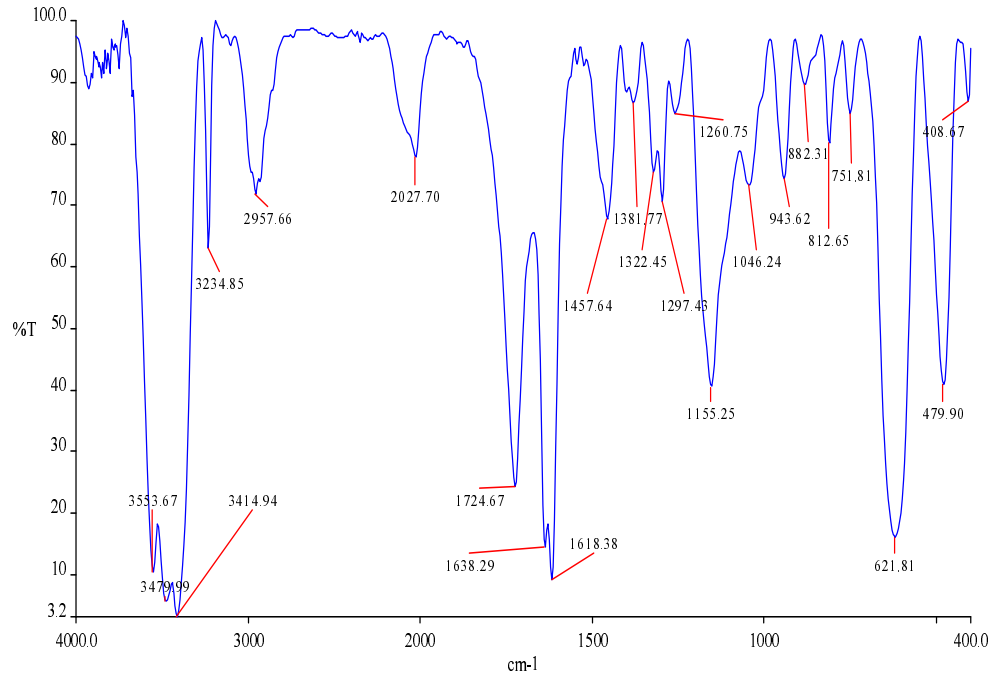
CH_3Hg^+ iyonlarının seçici olarak ayrılması için N-metakroilamidosistein (MAC) fonksiyonel monomer olarak seçilmiştir. İlk olarak sistein ve metakroilklorür kullanılarak MAC monomeri sentezlenmiş, ardından MAC monomeri CH_3Hg^+ ile kompleksleştirilmiş ve EDMA ile polimerleştirilmiştir. Şekil 3.2.'de MAC monomerinin, p(MM-MAC-EDMA) polimerinin ve p(MAC-EDMA) polimerinin molekül formülü verilmiştir.



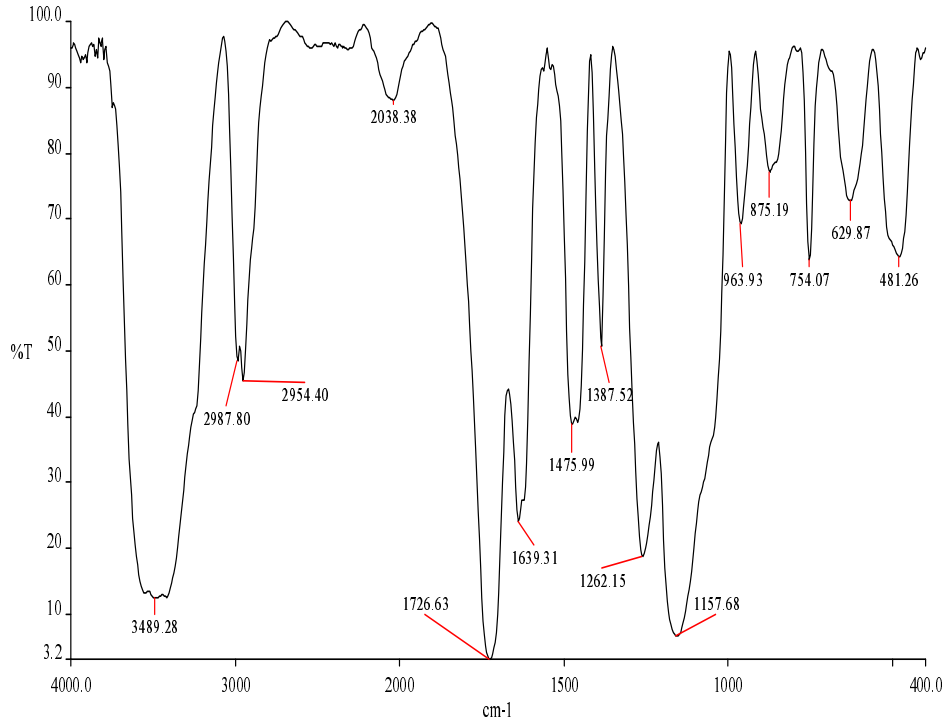
Şekil 3.2. MAC monomeri, p(MM-MAC-EDMA) ve p(MAC-EDMA) polimerinin molekül formülü

Şekil 3.3'de p(MM-MAC-EDMA) mikrokürelerinin, Şekil 3.4'de ise bu mikroküreden CH_3Hg^+ uzaklaştırılması ile oluşan mikrokürelerin FTIR spektrumları görülmektedir. Spektrumlara göre; 3500 cm^{-1} 'de karboksilik asit grubundaki O-H gerilmesi, 3234 cm^{-1} 'de sekonder amit grubundaki N-H gerilmesi, 1726 cm^{-1} 'de karboksilik asit grubundaki C=O gerilmesi, 1639 cm^{-1} 'de sekonder amit grubundan dolayı C=O gerilmesi (Amit I bandı, dublet), $1457\text{-}1475\text{ cm}^{-1}$ 'de sekonder amit grubundaki NH deformasyonu (Amit II bandı), $1300\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ 'de karboksilik asitin C-OH gerilmesi, 1155 cm^{-1} 'de C-N antisimetrik gerilmesi ve 620 cm^{-1} 'de C-S gerilmesi görülmektedir.

p(MAC-co-EDMA) polimerinin SH bandı, baskılanmış mikrokürede SH ile CH_3Hg^+ 'nin kompleksleşmesi sonucu gözlenmemektedir. Baskılanmış mikroküreden CH_3Hg^+ iyonunun uzaklaştırılması sonucu polimerde zayıf SH bandı $2550\text{-}2600\text{ cm}^{-1}$ 'de yer almaktadır. Ayrıca 409 cm^{-1} 'de C-Hg gerilmesinin gözlenmesinden dolayı baskılanmanın başarılı bir şekilde gerçekleştirildiği söylenebilir.



Şekil 3.3. p(MM-MAC-EDMA) mikrokürelerinin FTIR spektrumu

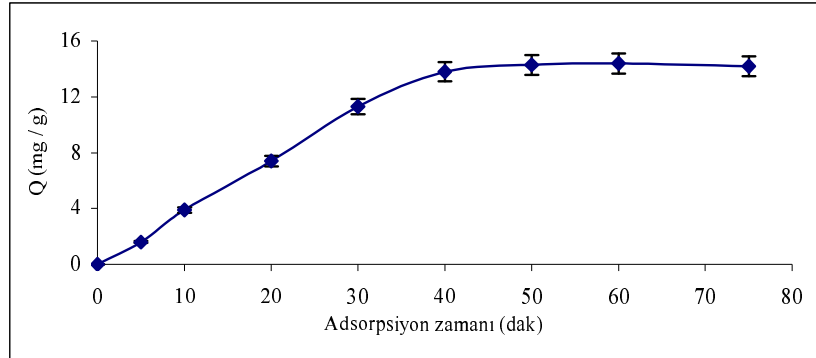


Şekil 3.4. CH₃Hg⁺ uzaklaştırılması ile oluşan mikrokürelerin FTIR spektrumu

3.2. CH₃Hg⁺-Baskılı Mikrokürelere Adsorpsiyon Çalışması

3.2.1 Adsorpsiyon Denge Zamanı

Baskılanmış p(MAC-co-EDMA) mikrokürelere CH₃Hg⁺ adsorpsiyonunun denge adsorpsiyon zamanını bulmak için; oda sıcaklığında 10 ppm'lik CH₃Hg⁺ çözeltisi pH: 7'de farklı süreler tutularak (5-75 dakika) polimerik yapı ile muamele edilmiştir. Şekil 3.5.'de polimerik mikrokürelere CH₃Hg⁺ adsorpsiyonunun zamanla değişim grafiği verilmiştir. Mikrokürenin yapısındaki CH₃Hg⁺ boşlukları ile CH₃Hg⁺ iyonlarının geometrik şekil belleği nedeniyle CH₃Hg⁺ adsorpsiyonu ilk 40 dakikada hızla gerçekleşmiş ve 50 dakikada doygunluğa ulaştığı gözlenmiştir. Polimerin yapısından CH₃Hg⁺ iyonunun uzaklaştırılması ile CH₃Hg⁺'nın büyüklüğüne, şekline ve kimyasal yapısına uyumlu boşluklar oluşmaktadır. Bu çalışma sonucunda, CH₃Hg⁺ iyonlarının adsorpsiyonunun çok hızlı olduğu belirlenmiştir. p(MM-MAC-EDMA) mikrokürelere maksimum CH₃Hg⁺ adsorpsiyonu 14.4 mg/g (66.79 µmol/g) olarak bulunmuştur.



Şekil 3.5. CH₃Hg⁺ baskılı mikrokürede CH₃Hg⁺ iyonlarının adsorpsiyon hızı ..(10 ppm; pH: 7.0; T: 25 °C)

Navarro ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, polietilenimin ile modifiye edilen gözenekli selüloz ile Hg²⁺ adsorpsiyonu 200 dakikada doygunluğa ulaşmıştır [67].

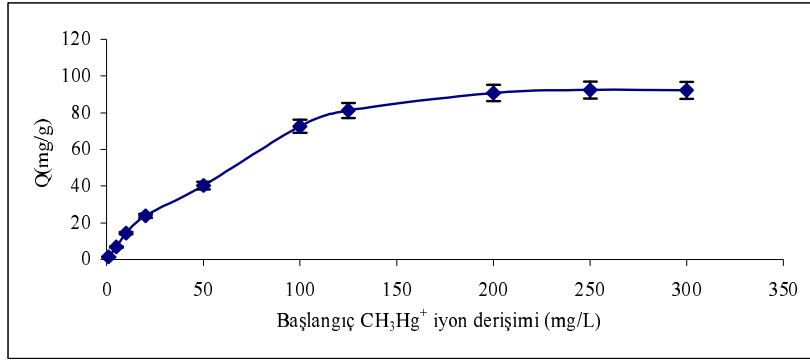
Liu ve grubunun yaptığı bir çalışmada, sorbent olarak Hg^{2+} baskılanmış diazoaminobenzen-vinilpridin kopolimeri kullanılmış ve Hg^{2+} adsorpsiyonu 60 dakikada dengeye ulaşmıştır [19]. Aynı grup sorbent olarak 2-(metiltiy)anilin ve 2-aminoasetiltiyofenol ile modifiye edilmiş Amberlite XAD-2 reçineleri kullandıklarında; Cd^{2+} , Hg^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} ve Zn^{2+} iyonları için 40 dakikada adsorpsiyonun dengeye ulaştığı gözlemlenmiştir [49, 50].

Denizli ve arkadaşlarının çalışmasında, ditizon ile kaplı p(HEMA-EDMA) mikrokürelerin farklı miktarlardaki civa türleriyle (Hg^{2+} , CH_3Hg^+ ve $C_2H_5Hg^+$) adsorpsiyon denge süresi incelendiğinde; civa türlerinin derişimi arttığında adsorpsiyonun daha hızlı gerçekleştiği belirtilmiştir [54]. Aynı grubun bir diğer çalışmasında, polietilenimin ile modifiye edilmiş poli(2-hidroksietilmetakrilat) kürecikler Hg^{2+} iyonunun adsorpsiyonu için kullanılmış ve 60 dakikada adsorpsiyonun dengeye ulaştığı gözlenmiştir. Yapılan çalışmada, Hg^{2+} derişimi arttığında polietilenimin molekülündeki amin fonksiyonel grubu ile Hg^{2+} iyonları arasında hızlı kompleksleşme oranından dolayı adsorpsiyonun daha hızlı gerçekleştiği belirtilmiştir [68]. Bu çalışmalar sonucunda; sulu fazdaki karıştırma hızı, sorbent maddesinin yapısal özelliği (gözeneklilik, yüzey alanı gibi), sorbent miktarı, iyonun özelliği (iyon çapı gibi), civa türlerinin başlangıç derişimi, şelat oluşum hızı, diğer metal iyonlarının varlığında aktif adsorpsiyon bölgeleri için civa türlerinin yarışı gibi parametrelerin adsorpsiyon hızını etkilediği belirtilmiştir [54, 68]. Bu nedenle adsorpsiyon hızını kıyaslamak zordur.

3.2.2. CH_3Hg^+ Başlangıç Derişiminin Etkisi

Şekil 3.6.'da CH_3Hg^+ baskılanmış p(MAC-co-EDMA) mikrokürelerine adsorplanan CH_3Hg^+ iyonunun CH_3Hg^+ başlangıç derişimine etkisi verilmiştir. Polimerin birim kütlesi başına adsorplanan CH_3Hg^+ miktarı, CH_3Hg^+ başlangıç derişiminin artması ile artmaktadır. CH_3Hg^+ baskılanmış p(MAC-co-EDMA) mikrokürelerinin aktif bağlanma boşluklarının doygunluğa ulaşması, CH_3Hg^+ iyon derişiminin 250 ppm değerine ulaşmasına kadar devam etmektedir. Baskılı mikrokürelerin maksimum adsorpsiyon kapasitesi 92.4 mg/g (428.6 μ mol/g) olarak bulunmuştur. p(MAC-co-EDMA) mikrokürelere CH_3Hg^+ iyonunun

bağlanması MAC yapısındaki kükürt atomu üzerinden gerçekleşmektedir. Shamsipur ve arkadaşlarının çalışmasında, Hg^{2+} iyonunun adsorpsiyonu oktadesil silika membran disklerinin izopropil 2-[(izopropoksikarbotiyol)disülfanil]etan tiyoat ile modifiye edilmesi ile yine kükürt atomu üzerinden gerçekleştirilmiştir [40]. Bir çok çalışmada civa türlerinin ortamdaki ayrılması için ditizon, ditiyokarbamat türevleri, 2-merkaptolanol, diazoaminobenzen, akrilaminoimidazol, polietilen diamin, polietilenimin gibi azot ve kükürt atomu içeren maddelerle modifiye edilmiş çeşitli adsorbanlar kullanılmaktadır [19, 40, 44, 49-51, 54, 68, 69].



Şekil 3.6. Polimerik mikrokürelere adsorplanan CH_3Hg^+ miktarının CH_3Hg^+ başlangıç derişimi ile değişimi (pH: 7.0; T: 25 °C)

3.2.3. Langmuir Adsorpsiyon Modeli

Adsorpsiyon izotermi, her bir molekülün adsorbanlarla etkileşimlerinin karakterizasyonu için kullanılır. Adsorpsiyon izotermi, iki faz dengede iken katı faza adsorbe olan iyon miktarı ve çözeltideki moleküllerin derişimi arasında ilişki kurulmasını sağlar. Langmuir adsorpsiyon modeli, her biri yalnız bir molekülü tutmaya elverişli belirli sayıdaki tanımlanmış bölümlere moleküllerin adsorbe olduğunu varsayar. Bu bölümlerin enerji olarak eşdeğer olduğu ve yakın bölümlerdeki adsorbe olmuş moleküllerle arasında hiçbir etkileşim olmayacak kadar birbirinden uzak olduğu varsayılır. Langmuir denklemi aşağıdaki gibi gösterilebilir.

$$Q = Q_{\max} b C_{\text{eq}} / (1 + b C_{\text{eq}}) \quad (3.1)$$

Q = Adsorbana adsorplanmış CH_3Hg^+ iyonu derişimi (mmol/g)

C_{eq} = Çözeltideki CH_3Hg^+ denge derişimi (mg/L)

b = Langmuir sabiti (L/mg)

Q_{\max} = Maksimum adsorpsiyon kapasitesi (mmol/g)

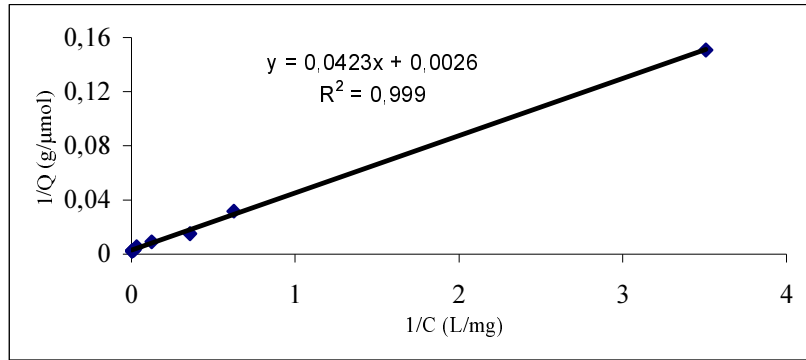
Bu denklem aşağıdaki gibi lineerleştirilebilir.

$$1/Q = [1/(Q_{\max} b)] [1/C_{\text{eq}}] + [1/Q_{\max}] \quad (3.2)$$

$1/Q$ 'ya karşı $1/C_{\text{eq}}$ grafiğe geçirildiğinde; kesim $1/Q_{\max}$, eğim ise $1/Q_{\max} b$ 'yi verir

Şekil 3.7'de CH_3Hg^+ iyonunun adsorpsiyonu için Langmuir adsorpsiyon modelinin grafiği verilmiştir.

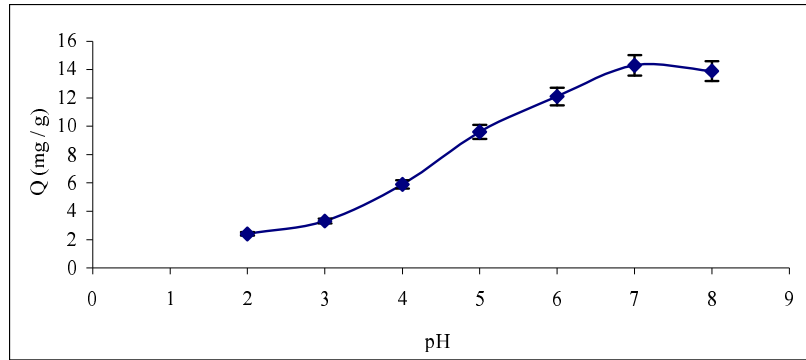
Adsorpsiyon izotermi, adsorpsiyon özelliklerini değerlendirmek amacıyla yapılan kesikli deneylerle belirlenmiştir. Bu sistemler göz önüne alındığında, CH_3Hg^+ baskılanmış mimik reseptör küreciklere CH_3Hg^+ adsorpsiyonu için Langmuir modelinin uygulanabilir olduğu gözlenmiştir. Deneysel veriler sonucunda, CH_3Hg^+ iyonlarının adsorpsiyonu için maksimum adsorpsiyon kapasitesi (Q_{\max}) elde edilmiştir. CH_3Hg^+ baskılanmış p(MAC-co-EDMA) mikroküreleri için, korelasyon katsayısı (R^2) 0.999 gibi yüksek bir değer, maksimum adsorpsiyon kapasitesi 384.6 $\mu\text{mol/g}$ ve Langmuir sabiti ise 0.0615 L/mg olarak bulunmuştur.



Şekil 3.7. CH_3Hg^+ iyonu için Langmuir Adsorpsiyon Modeli

3.2.4. CH₃Hg⁺ Adsorpsiyonuna pH Etkisi

Belirli adsorbanlarla metal iyonunun adsorpsiyonu ortamın pH'ına bağlıdır. Kompleksleştirici ajanlar bulunmadığında, metal iyonlarının hidrolizi ve çökmesi derişime ve çözünür metal türlerinin oluşmasına bağlıdır. Civa iyon derişimine de bağlı olarak pH 8.0 dolayında civa iyonlarının çöktüğü görülmektedir [67, 68]. Şekil 3.8.'de CH₃Hg⁺ baskılı mikrokürelere CH₃Hg⁺ adsorpsiyonuna pH'ın etkisi verilmiştir. CH₃Hg⁺ adsorpsiyon deneyinde ortamın pH'ı 2-8 aralığında değiştirilmiştir. CH₃Hg⁺ baskılı mikrokürelere asidik koşullarda (pH < 5.0) düşük adsorpsiyon, fakat pH 7.0'de yüksek adsorpsiyon değerleri göstermiştir. pH arttıkça MAC grubundaki kükürt atomu ile CH₃Hg⁺ iyonu arasında kompleksleşme artmaktadır. p(MAC-co-EDMA) mikrokürelere CH₃Hg⁺ iyonlarını bağlama kapasitesi 14.3 mg/g (66.33.mol/g) olarak bulunmuştur.



Şekil 3.8. Polimerik mikrokürelere adsorplanan CH₃Hg⁺ miktarının pH ile değişimi ; (10 ppm; T: 25 °C)

3.3. Mimik Reseptörlerin Seçicilik Çalışması

CH₃Hg⁺/Hg²⁺, CH₃Hg⁺/Cd²⁺, CH₃Hg⁺/Zn²⁺, CH₃Hg⁺/Cu²⁺ ve CH₃Hg⁺/Pb²⁺ ikili karışımın adsorpsiyonu kesikli sistemde çalışılmıştır. Hg²⁺/CH₃Hg⁺ atık suda ve biyolojik örneklerde genellikle birlikte bulunması nedeni ile yarıştırlan civa türleri olarak seçilmiştir. Bunun yanında, Cd²⁺ tiyol gruplarına seçicilik göstermesinden ve diğer iyonlar da girişim etkisinin olması nedeni ile seçilmiştir.

Adsorpsiyon, 50 ppm'lik ikili karışımlar halinde hazırlanan çözeltiler ile oda sıcaklığında pH 7.0'de gerçekleştirilmiştir. Çizelge 3.1.'de CH_3Hg^+ iyonuna bağlı olarak Hg^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} ve Pb^{2+} iyonlarının K_d , k ve k' (Bölüm 2.3.4) değerleri verilmiştir.

Çizelge 3.1. Seçicilikte baskılama etkisi

Mikroküreler	$K_d(\text{CH}_3\text{Hg}^+)$	$K_d(\text{Hg}^{2+})$	k	k'
Baskılanmamış	347	754	0.460	---
CH_3Hg^+ Baskılanmış	3326	347	9.58	20.83

Mikroküreler	$K_d(\text{CH}_3\text{Hg}^+)$	$K_d(\text{Cd}^{2+})$	k	k'
Baskılanmamış	365	862	0.423	---
CH_3Hg^+ Baskılanmış	3458	391	8.84	20.9

Mikroküreler	$K_d(\text{CH}_3\text{Hg}^+)$	$K_d(\text{Zn}^{2+})$	k	k'
Baskılanmamış	314	1746	0.180	---
CH_3Hg^+ Baskılanmış	2659	822	3.23	17.9

Mikroküreler	$K_d(\text{CH}_3\text{Hg}^+)$	$K_d(\text{Cu}^{2+})$	k	k'
Baskılanmamış	328	954	0.344	---
CH_3Hg^+ Baskılanmış	3528	261	13.5	39.2

Mikroküreler	$K_d(\text{CH}_3\text{Hg}^+)$	$K_d(\text{Pb}^{2+})$	k	k'
Baskılanmamış	295	2066	0.142	---
CH_3Hg^+ Baskılanmış	3372	208	16.2	114

Çizelgeden de görüldüğü gibi, CH_3Hg^+ -baskılı mikroküreler CH_3Hg^+ iyonlarını diğer iyonlardan daha iyi adsorplamaktadır. CH_3Hg^+ -baskılı mikrokürelerin CH_3Hg^+ 'yı adsorplama kapasitesi baskısız mikrokürelere göre daha iyidir. Kontrol örnekleri ile CH_3Hg^+ baskılanmış mikrokürelerinin K_d değerleri kıyaslandığında CH_3Hg^+ için artma gözlenirken, Hg^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} ve Pb^{2+} iyonlarının K_d değerlerinde azalma gözlenmiştir. Bağlı seçicilik katsayısı, baskılanmış mikrokürelerin tanıma bölgelerinin adsorpsiyon afinitesini göstermesinde kullanılır ve baskılanmış mikroküreler için k' değerinin 1'den büyük olması gerekir. Baskılanmış mikrokürelerin bağlı seçicilik katsayısı $\text{CH}_3\text{Hg}^+/\text{Hg}^{2+}$, $\text{CH}_3\text{Hg}^+/\text{Zn}^{2+}$, $\text{CH}_3\text{Hg}^+/\text{Cd}^{2+}$, $\text{CH}_3\text{Hg}^+/\text{Cu}^{2+}$ ve $\text{CH}_3\text{Hg}^+/\text{Pb}^{2+}$ için sırası ile 20.83, 17.9, 20.9, 39.2 ve 114 olarak bulunmuştur.

Liu ve grubunun yaptığı benzer çalışmada, Hg^{2+} baskılanmış diazoamino-benzen-vinilpridin kopolimerinin adsorpsiyon kapasitesi baskılanmamış mikroküreye göre daha fazla bulunmuştur. Hg^{2+} baskılanmış polimer Hg^{2+} ile Zn^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} , CH_3HgCl ve $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{HgCl}$ çözeltilerinin ikili karışımlarının adsorpsiyon kapasitesi incelendiğinde Hg^{2+} iyonunun diğer iyonlara göre daha iyi absorblandığı gözlenmiştir. Hg^{2+} baskılanmış mikrokürelerin bağlı seçicilik katsayısı $\text{Hg}^{2+}/\text{Cu}^{2+}$, $\text{Hg}^{2+}/\text{Zn}^{2+}$, $\text{Hg}^{2+}/\text{Cd}^{2+}$, $\text{Hg}^{2+}/\text{CH}_3\text{Hg}^+$, $\text{Hg}^{2+}/\text{CH}_3\text{CH}_2\text{Hg}^+$ için sırası ile 45.5, 63.5, 55.1, 49.6 ve 84.0 olarak bulunmuştur [19].

3.4. Desorpsiyon ve Tekrar Kullanılabilirlik

Baskılanan mikrokürelerden CH_3Hg^+ iyonlarının desorpsiyonunu kıyaslamak amacıyla ditizon içeren 1 M metanolik asetik asit çözeltisi ile tiyoüre içeren 2 M HCl çözeltileri desorpsiyon ajanı olarak kullanılmıştır. Baskılanmış mikrokürelerden CH_3Hg^+ iyonlarının desorpsiyonu için ditizon içeren 1 M metanolik asetik asit çözeltisi kullanıldığında kantitatif olarak % 94.2 CH_3Hg^+ desorbe edilebilirken, tiyoüre içeren 2.0 M HCl kullanıldığında kantitatif olarak % 95.3 CH_3Hg^+ desorbe edilmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda yapılan ön çalışmalar sonrasında desorpsiyon ajanı olarak tiyoüre içeren 1 M metanolik asetik asit ve 2 M HCl çözeltisi kullanılmıştır. Tiyoüre içeren metanolik asetik asit ve HCl desorpsiyon ajanı olarak kullanıldığında, şelatlaşmış CH_3Hg^+ iyonlarının

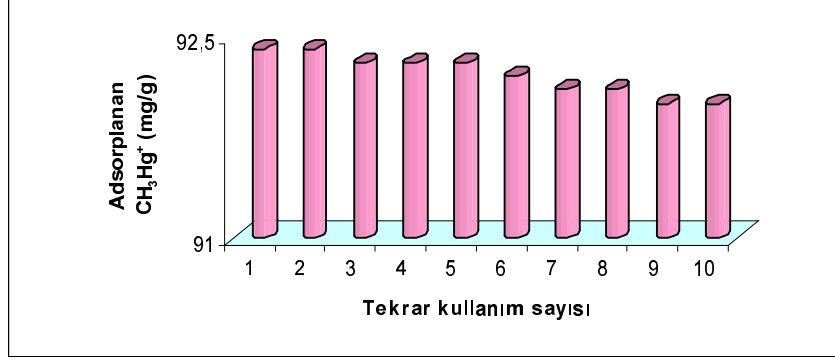
koordinasyon alanı bozulur ve desorpsiyon ortamına CH_3Hg^+ iyonları serbest bırakılır.

Denizli ve arkadaşlarının çalışmasında, ditizon ile modifiye edilmiş p(HEMA-EDMA) mikrokürelerden organociva bileşiklerinin desorpsiyonu için 1 M CuSO_4 ve derişik H_2SO_4 'te KBr çözeltisi, inorganik Hg^{2+} 'nin uzaklaştırılması için ise 1 M HNO_3 çözeltisi kullanılmıştır. Bu çalışmada civa bileşikleri ile yüklenmiş ditizon kaplı p(HEMA-EDMA) mikrokürelerden 60 dakikada etkili bir şekilde desorpsiyon yapılmıştır [54]. Denizli ve arkadaşlarının başka bir çalışmasında, polietilenimin ile modifiye edilmiş p(HEMA) küreciklerinden Hg^{2+} iyonunun uzaklaştırılması için 1M HNO_3 ile 5 dakika muamele edilmiştir. pH azaldıkça Hg^{2+} iyonları ile polietilenimin kaplı mikroküreler arasındaki şelat oluşum etkileşimlerinin azaldığı belirtilmiştir [68].

Liu ve grubunun yaptığı çalışmada, Hg^{2+} baskılanmış diazoaminobenzenvinilpridin kopolimerlerinden Hg^{2+} iyonunun uzaklaştırılma işlemi sürekli sistem ile çalışılmıştır. Desorpsiyon ajanı olarak 2 M HCl ya da HNO_3 çözeltisi kullanıldığında 6 saatte etkili bir şekilde Hg^{2+} iyonu uzaklaştırılabilirken, 0.1 M HCl ve tiyoüre çözeltisi kullanıldığında desorpsiyon 30 dakikada etkili bir şekilde gerçekleştirilmiştir [19].

Shamsipur ve grubunun yaptığı çalışmada, izopropil 2-[(izoprosikarbotioil)disülfanil] etan tiyoat (IIDE) ile modifiye edilmiş oktadesil silika diskten Hg^{2+} iyonunun desorpsiyon yüzdesi 1 M KSCN, 1 M KBr, 0.25-1 M EDTA, 1 M HNO_3 , 2 M HCl, 0.1-0.5 M HBr gibi bazı çözeltilerle kıyaslanmıştır. 0.5 M HBr asidin kullanılması ile diskten kantitatif olarak civanın uzaklaştırılması gerçekleştirilmiştir [40].

CH_3Hg^+ baskılı mikrokürelerinin tekrar kullanılabilirliğini incelemek amacıyla aynı adsorbent 10 kez ard arda adsorpsiyon-desorpsiyon işlemine tabi tutulmuştur. Sonuç olarak, Şekil 3.9'da da görüldüğü gibi CH_3Hg^+ baskılı mikrokürelerin adsorpsiyon kapasitesini kaybetmeden tekrar kullanılabilmiştir.



Şekil 3.9. CH₃Hg⁺ baskılanmış mikrokürelerin tekrar kullanılabilirliği

3.5. Önderiştirme

CH₃Hg⁺ ve Hg²⁺ iyonlarının önderiştirilmesi için, 100'er mL 50 ng/L CH₃Hg⁺ ve 100 ng/L Hg²⁺ çözeltisi (pH:7.0), 80 mg CH₃Hg⁺ baskılanmış mikroküreler ile 1 saat muamele edilmiştir. Mikroküreler santrifüjlenerek çözeltiden uzaklaştırılmış ve bu mikroküreler 5 mL'lik 2 M HCl ve 1 M tiyoüre çözeltisi ile 1 saat karıştırılarak adsorbe olan CH₃Hg⁺ iyonları ortamdan uzaklaştırılmıştır. Baskılanmış mikroküreler desorpsiyon ortamından uzaklaştırıldıktan sonra desorpsiyon ortamındaki Hg²⁺ iyonları ile CH₃Hg⁺ iyonları ICP-OES cihazı ile ölçülmüştür. Önderiştirme işlemi ile, Hg²⁺ iyonları için 450, CH₃Hg⁺ iyonları için 1700 kat bir önderiştirme faktörü gözlenmiştir. Böylece MISPE-ICP-OES sistemi ile CH₃Hg⁺ iyonları için tayin sınırı 20 ng/L olarak bulunmuştur. Daha önce yapılmış çalışmalarda CH₃Hg⁺ iyonlarının ve Hg²⁺ iyonlarının tayin sınırı katı-faz ekstraksiyon yöntemi kullanarak 500 ml örnek için HPLC-DAD sisteminde 4.0 ng/L [44], LC-ICP-MS sisteminde CH₃Hg⁺ için 5.6 ng/L ve Hg²⁺ için 5.2 ng/L olarak verilmiştir [70]. Iwask ve arkadaşları çalışmalarında tüm hücre bakteriyel sensörü için civanın organik bileşiklerinin tayininde tayin sınırını 50 ng/L olarak belirtmişlerdir [71]. Fulleren kolon ayırımının GC-MS ile kullanılması ile CH₃Hg⁺ ve Hg²⁺ için tayin sınırı 50 mL örnek için 1.5 ng/L bulunmuştur [5]. Diğer bir çalışmada da katıfaz mikro ekstraksiyon yöntemi ve kolorimetrik yöntem birlikte kullanılarak civa tayini için 300 ng/L tayin sınırı elde edilmiştir [72].

Önderiştirme ve tayin işlemleri aynı zamanda Çizelge 2.2’de verilen koşullarda MISPE/HPLC-DAD sistemi ile de yapılmıştır. MISPE/HPLC-DAD tayin sınırı analitin verdiği sinyalin 3 katına, örnek hacminin 100 ml’si için körün standart sapması ve net kör şiddetinin toplamına eşdeğerdir. MISPE/HPLC-DAD sisteminde tayin sınırı CH_3Hg^+ için 0.80 ng/ml ve Hg^{2+} için 2.50 ng/ml olarak bulunmuştur.

3.6. MISPE/ICP-OES Metodunun Analitik Performansı

Kesikli sistemde önderiştirme işleminin karakteristik performansı ve ICP-OES ile tayini Çizelge 3.2.’de verilmiştir. Standart için metodun kesinliği, 50.0 ng/L CH_3Hg^+ iyonlarının bağlı standart sapması olarak (R.S.D. n=9) belirlenmiştir. Tayin sınırı analitin verdiği sinyallerin derişiminin 3 katına eşdeğer olarak tanımlanır ve 100 ml örnek hacmi için körün standart sapmasına net kör şiddeti eklenmesi ile 20 ng/L olarak bulunmuştur. Önderiştirme işlemi 0.02-25 ng/mL derişim aralığında bir lineer kalibrasyon eğrisi göstermiştir. Zenginleştirme faktörü, önderiştirmeden önce ve sonraki kalibrasyon grafiklerinin lineer bölümünün eğimlerinin oranı olarak tanımlanır ve CH_3Hg^+ için 1700, Hg^{2+} için ise 450 olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 3.2. MISPE-ICP-OES için önderiştirme işleminin performansı

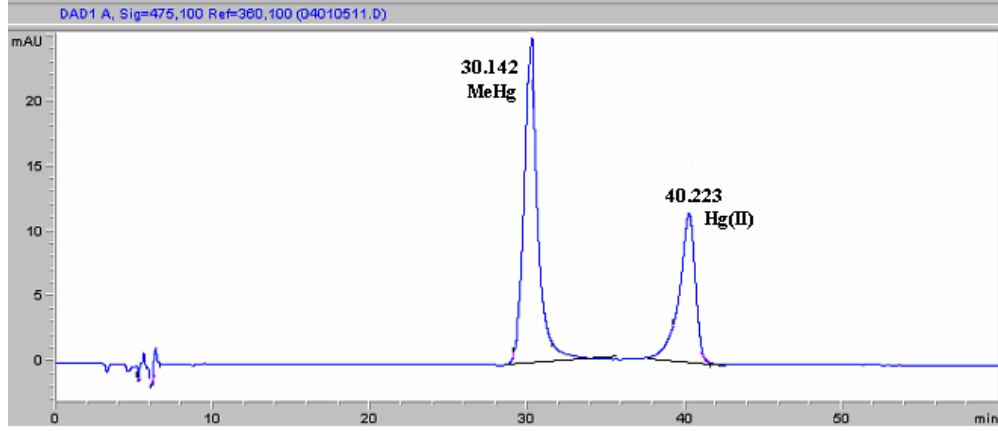
Parametreler	CH_3Hg^+ ve Hg^{2+}
Kesinlik (B.S.S.)	% 4,3
Gözlenebilme sınırı (3s)	20 ng/L (CH_3Hg^+) 50 ng/L (Hg^{2+})
Lineer kalibrasyon aralığı	20-25000 ng/L
Regresyon ifadesi (önderiştirmeden sonra)	AA=1456 $\text{C}_{\text{CH}_3\text{Hg}^+}$ +12470 (ng/L) AA=378 $\text{C}_{\text{Hg}^{2+}}$ +6031 (ng/L)
Regresyon ifadesi (önderiştirmeden önce)	AA=838 $\text{C}_{\text{Hg}^{2+}}$ +6031 ($\mu\text{g/L}$)
Zenginleşme faktörü	1456/0.838=1737 (CH_3Hg^+) 378/0.838=451 (Hg^{2+})

3.7. Sertifikalı Referans Maddesinin ve Deniz Suyunda CH_3Hg^+ ve Hg^{2+} İyonlarının Tayini

MISPE metodunun doğruluğu, civa türlerinin bulunduğu yağlıdan arındırılmamış ıstakoz hepatopankreas referans maddesi (Kanada Ulusal Araştırma Konseyinden sağlanan LUTS-1) ile gerçekleştirilmiştir. Ayrıca 25.9 g NaCl, 13.6 g $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ve 4.15 g Na_2SO_4 'ın çözülmesi ve herbiri 0.1 mmol olan Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} ve Pb^{2+} iyonlarının eklenmesi ile 1 L deiyonize suda sentetik deniz suyu da hazırlanmıştır. Örneklerin ve sertifikalı standart maddenin hazırlanması ve analizi CH_3Hg^+ ve Hg^{2+} önderiştirme bölümündeki gibi yapılmıştır. Sentetik deniz suyu analiz sonuçları ve LUTS-1'in analitik sonuçları Çizelge 3.3'de görüldüğü gibi sertifikalı sonuçların aralığındaki değerlerde elde edilmiştir. Şekil 3.10'dan ve Çizelge 3.3'den de görüldüğü gibi metilciva baskılanmış katı fazın mimik reseptör olarak kullanılması ile kesikli önderiştirme işleminden sonra organik ve inorganik içerikli matrikslerin bulunduğu örneklerde bile civa ve metilcivanın HPLC-DAD ile tayini gerçekleştirilebilmiştir.

Çizelge 3.3. Sertifikalı referans maddesindeki ve sentetik deniz suyundaki Hg^{2+} ve CH_3Hg^+ tayini

Sertifikalı (mg/kg)	Bulunan (mg/kg)	Eklenen (ng/ml)	Bulunan (ng/ml)
*LUTS-1:			
CH_3Hg^+	0.0094 ± 0.0006		0.0098 ± 0.0009
Hg^{2+}	0.0167 ± 0.0022		0.0163 ± 0.0024
*Sentetik Deniz suyu :			
CH_3Hg^+		5.0	5.2 ± 0.77
Hg^{2+}		5.0	4.7 ± 0.63
CH_3Hg^+		20.0	20.4 ± 1.8
Hg^{2+}		20.0	18.6 ± 1.3



Şekil 3.10. CH_3Hg^+ ve Hg^{2+} iyonlarının HPLC ile ayrımı

Sonuç olarak, önemli bir toksik element olan metilcivanın önderiştirilmesi, ayrılması ve tayini için sentetik reseptör ilk defa bu çalışmada geliştirilmiştir. Metilciva baskılanmış katı fazın mimik reseptör olarak kullanılmasıyla organik ve inorganik içerikli matris ortamlarında bile metilcivanın seçici olarak tayini gerçekleştirilebilmiştir. Ayrıca hazırlanan bu mikroküreler adsorpsiyon kapasitesini kaybetmeden tekrar kullanılabilir.

KAYNAKLAR

- [1]. KOMIYAMA, M., TAKEUCHI, T., MUKAWA ve T., ASANUMA, H., *Molecular Imprinting from Fundamentals to Applications*, WILEY-VCH, (2003)
- [2]. SELLERGRÉN, B., *Molecularly Imprinted Polymers Man-made mimics of antibodies and their applications in analytical chemistry*, Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry-Volume 23, (2001)
- [3]. BIJU, V. M., GLADIS, J. M. ve RAO, T. P., *Ion imprinted polymer particles: synthesis, characterization and dysprosium ion uptake properties suitable for analytical applications*, Analytica Chimica Acta, **478**, 43-51, (2003)
- [4]. DANIEL, S., BABU, P. E. J. ve RAO, T.P.; *Preconcentrative separation of palladium (II) using palladium (II) ion-imprinted polymer particles formed with different quinoline derivatives and evaluation of binding parameters based on adsorption isotherm models*, Talanta, **65**, 441-452, (2005)
- [5]. ERSÖZ, A., SAY, R. ve DENİZLİ, A., *Ni(II) ion-imprinted solid-phase extraction and preconcentration in aqueous solutions by packed-bed columns*, Analytica Chimica Acta, **502**, 91-97, (2004)
- [6]. SAY, R., ERSÖZ, A. ve DENİZLİ, A.; *Selective Separation of Uranium Containing Glutamic Acid Molecular-Imprinted Polymeric Microbeads*; Separation Science and Technology, **38**, 3429-3445 (2003)
- [7]. SAY, R., BİRLİK, E., ERSÖZ, A., YILMAZ, F., GEDİKBEY, T. ve DENİZLİ, A.; *Preconcentration of copper ion-selective imprinted polymer microbeads*, Analytica Chimica Acta, **480**, 251-258, (2003)
- [8]. DANIEL, S., GLADIS, J. M. ve RAO, T.P.; *Synthesis of imprinted polymer material with palladium ion nanopores and its analytical application*, Analytica Chimica Acta, **488**, 173-182, (2003)
- [9]. RAO, T. P., DANIEL, S. ve GLADIS, J. M., *Tailored materials for preconcentration or separation of metals by ion-imprinted polymers for solid-phase extraction (II-SPE)*, Trends in Analytical Chemistry, **23**, 28-35, (2004)
- [10]. BAE, S. Y., SOUTHARD, G. L. ve MURRAY, G. M., *Molecularly imprinted ion exchange resin for purification and determination of UO_2^{+2} by spectrophotometry and plasma spectrometry*, Analytica Chimica Acta, **397**, 173-181, (1999)

- [11]. WU, L. ve LI, Y., *Metal ion-mediated molecular-imprinting polymer for indirect recognition of formate, acetate, propionate*, Analytica Chimica Acta, **517**, 145-151, (2004)
- [12]. GARCIA, R., PINEL, C., MADIC, C. ve LEMAIRE, M., *Ionic imprinting effect in gadolinium/lanthanum separation*, Tetrahedron Letters, **39**, 8651-8654; (1998)
- [13]. KANEKIYO, Y., INOUE, K., ONO, Y. ve SHINKAI, S., *Facile design of a metal-imprinted surface from a poly(vinyl Chloride-co-Acrylic Acid) / Poly(propylene Glycol) Blend*, Tetrahedron Letters, **39**, 7721-7724, (1998)
- [14]. DANIEL, S., RAO, P. P. ve RAO, T. P., *Investigation of different polymerization methods on the analytical performance of palladium (II) ion imprinted polymer materials*, Analytica Chimica Acta, **536**, 1-2, 197-206, (2005)
- [15]. ANDAÇ, M., SAY, R. ve DENİZLİ, A.; *Molecular Recognition based cadmium removal from human plasma*, Journal of Chromatography B, **811**, 119-126, (2004)
- [16]. VIGNEAU, O., PINEL, C. ve LEMAIRE, M., *Ionic imprinted resins basde on EDTA and DTPA derivatives for lanthanides (III) separation*, Analytica Chimica Acta, **435**, 75-82, (2001)
- [17]. LIU, Y., CHANG, X., WANG, S., GUO, Y., DIN, B. ve MENG, S., *Solid-phase extraction and preconcentration of cadmium (II) in aqueous solution with Cd (II)-imprinted resin (poly-Cd(II)-DAAB-VP) packed columns*, Analytica Chimica Acta, **519**, 173-179, (2004)
- [18]. DENİZLİ, A., GARİPCAN, B., KARABAKAN, A., SAY, R. ve EMİR, S., PATIR, S., *Metal-complexing ligand methacryloamidocysteine containing polymer beads for Cd (II) removal*, Separation and Purification Technology, **30**, 3-10, (2003)
- [19]. LIU, Y., CHANG, X., YANG, D., GUO, Y. ve MENG, S., *Highly selective determination of inorganic mercury (II) after preconcentration with Hg (II)-imprinted diazoaminobenzene-vinylpyridine copolymers*, Analytica Chimica Acta, **538**, 85-91, (2005)
- [20]. DENİZLİ, A., SAY, R., GARİPCAN, B. ve PATIR, S., *Metacryloylamidoglutamic acid functionalized poly(2-hydroxyethyl metacrylate) beads for UO_2^{+2} removal*; Reactive & Functional Polymers, **58**, 123-130, (2004)
- [21]. DENİZLİ, A., SAY, R., PATIR, S. ve ARICA, Y., *Synthesis and adsorption properties of poly(2-hydroxyethylmethacrylate-co-*

methacrylamidophenylalanine) membranes for copper ions, *Reactive & Functional Polymers*, **46**, 157-164, (2000)

- [22]. <http://www.smi.tu-berlin.de/story/MIT.htm>
- [23]. ENSING, K., BERGGREN, C. ve MAJORS; R. E., *Selective Sorbents for Solid-Phase Extraction Based on Molecularly Imprinted Polymers*, *LC GC*, **19**, No: 9, 943-954, (2001)
- [24]. PILETSKY, S. A., ALCOCK, S. ve TURNER, A. P. F., *Molecular imprinting at the edge of the third millennium*, *Trends in Biotechnology*, **vol.19**, No:1, 9-12, (2001)
- [25]. HAUPT, K., *Imprinted Polymers: The Next Generation*, *Analytical Chemistry*, 377A-383A, (2003)
- [26]. CORMACK, P. A. G. ve ELORZA A. Z., *Molecularly imprinted polymers: synthesis and characterisation*, *Journal Chromatography B*, **804**, 173-182, (2004)
- [27]. <http://ak-sellergren.infu.uni-dortmund.de/>
- [28]. CHAPUIS, F., PICHON, V. ve HENNION, M. C., *Molecularly Imprinted polymers: Developments and applications of New selective Solid-Phase Extraction Materials*; *LC.GC Europe* **17** (7), 408-417, (2004)
- [29]. KRIZ, D., RAMSTRÖM, O. ve MOSBACH; K., *Molecular imprinting-based biomimetic sensors could provide an alternative to often unstable biosensors for industry, medicine, and environmental analysis*, *Analytical Chemistry*, **69**, 345A-349A, (1997)
- [30]. <http://www.kimyaevi.org/polimer.asp>
- [31]. GÜVEN, A., KAHVECİOĞLU, Ö. ve TİMUR, S., *Metallerin Çevresel Etkileri-III*, İTÜ Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü
- [32]. www.webelements.com
- [33]. www.inchem.org
- [34]. www.epa.gov
- [35]. <http://www.usgs.gov/themes/factsheet/146-00/>
- [36]. KAIM, W. ve SCHWEDERSKI, B., *Bioinorganic Chemistry: Inorganic Elements in the Chemistry of Life, an Introduction and Guide*, John Willey & Sons, England, (1994)

- [37]. SÁNCHEZ URÍA, J. E. ve SANZ-MEDEL, A., *Inorganic and methylmercury speciation in environmental samples*, *Talanta*, **47**, 509-524, (1998)
- [38]. HARRINGTON, C. F., *The speciation of mercury and organomercury compounds by using high-performance liquid chromatography*, *Trends in Analytical Chemistry*, **19**, 167-179, (2000)
- [39]. IPOLYI, I., MASSANISSO, P., SPOSATO, S., FODOR, P. ve MORABITO, R., *Concentration levels of total and methylmercury in mussel samples collected along the coasts of Sardinia Island (Italy)*; *Analytica Chimica Acta*, **505**, **1**, 145-151, (2003)
- [40]. SHAMSIPUR, M., SHOKROLLAHI, A., SHARGHI, H. ve ESKANDARI, M. M., *Solid phase extraction and determination of sub-ppb levels of hazardous Hg²⁺ ions*, *Journal of Hazardous Materials B*, **117**, 129-133; (2005)
- [41]. SAĞLAM, N., SAY, R., DENİZLİ, A., PATIR, S. ve ARICA, M. Y., *Biosorption of mercury and alkylmercury species on to phanerochaete chryssporium mycelium*, *Process Biochemistry*, **34**, 725-730, (1999)
- [42]. <http://www.atsdr.cdc.gov/atsdrhome.html>
- [43]. POOLE, C. F., *New trends in solid-phase extraction*, *Trends in Analytical Chemistry*, **22**, **6**, 362-373, (2003)
- [44]. SÁNCHEZ, D. M., MARTIN, R., MARIN, J. ve MUNUERA, M. L., *Preconcentration speciation method for mercury compounds in water samples using solid phase extraction followed by reversed phase high performance liquid chromatography*, *Talanta*, **52**, 671-679, (2000)
- [45]. SOLIMAN, E. M., SALEH, M. B. ve AHMED, S. A., *New solid phase extractors for selective separation and preconcentration of mercury (II) based on silica gel immobilized aliphatic amines 2-thiophenecarboxaldehyde Schiff's bases*, *Analytica Chimica Acta*, **523**, 133-140, (2004)
- [46]. POHL, P. ve PRUSISZ, B., *Pre-concentration of Cd,Co, Cu, Ni, and Zn using different off-line ion exchange procedures followed by the inductively coupled plasma atomic emission spectrometric detection*, *Analytica Chimica Acta*, **502**, 83-90, (2004)
- [47]. MAHESWARI, M. A. ve SUBRAMANIAN, M. S., *Selective enrichment of U(VI), Th(IV) and La (III) from high acidic streams using a new chelating ion-exchange polymeric matrix*, *Talanta*, **64**, **1**, 202-209, (2004)

- [48]. SWAIN, K., RAJE, N. ve KAYASTH, S., *Preconcentration and determination of mercury in high purity arsenic*, *Analytica Chimica Acta*, **405**, 297-301, (2000)
- [49]. GUO, Y., DIN, B., LIU, Y., CHANG, X., MENG, S. ve LIU, J., *Preconcentration and determination of trace elements with 2-aminoacetylthiophenol functionalized Amberlite XAD-2 by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry*, *Talanta*, **62**, 209-215, (2004)
- [50]. GUO, Y., DIN, B., LIU, Y., CHANG, X., MENG, S. ve TIAN, M., *Preconcentration of trace metals with 2-(methylthio)aniline-functionalized XAD-2 and their determination by flame atomic absorption spectrometry*, *Analytica Chimica Acta*, **504**, 319-324, (2004)
- [51]. GONG, B., *ICP-OES determination of traces of gold, mercury and palladium ions preconcentrated and seperated on a new polyacrylaminoimidazole chelating fiber*; *Analytica Chimica Acta*, 21948, 1-5 (2002)
- [52]. CHANG, X., YANG, X., WEI, X. ve WU, K., *Efficiency and mechanism of new poly(acryl-phenylamidrazonophenylhydrazide) chelating fiber for adsorbing trace Ga, In, Bi, V, Ti from solution*, *Analytica Chimica Acta*, **450**, 231-238, (2001)
- [53]. CHANG, X, SU, Q., LIANG, D., WEI, X. ve WANG, B., *Efficiency and application of poly(acrydinitrophenylamidrazone-dinitroacrylphenylhydrazine) chelating fiber for pre-concentrating and separating trace Au (II), Ru (III), In (III), Bi (III), V (V), Ga (III) and Ti (IV) from solution samples*, *Talanta*, **57**, 253-261, (2002)
- [54]. SALİH, B., SAY, R., DENİZLİ, A., GENÇ, Ö. ve PİŞKİN, E., *Determination of inorganic and organic mercury compounds by capillary gas chromatography coupled with atomic absorption spectrometry after preconcentration on dithizone-anchored poly(ethylene glycol dimetacrylate-hydroxyethylmetacrylate) microbeads*, *Analytica Chimica Acta*, **371**, 177-185, (1998)
- [55]. CORMACK, P. A. G. ve MOSBACH, K., *Molecular imprinting: recent developments and the road ahead*, *Reactive & Functional Polymers*, **41**, 115-124, (1999)
- [56]. MASQUÉ, N., MARCÉ, R. M. ve BORRULL, F., *Molecularly imprinted polymers: new tailor-made materials for selective solid-phase extraction*, *Trends in Analytical Chemistry*, **20**, 9, 477-486, (2001)

- [57]. STEVENSON, D., *Molecular imprinted polymers for solid-phase extraction*, Trends in Analytical Chemistry, **18**, 3 154-158, (1999)
- [58]. SELLERGREN B., *Polymer- and template-related factors influencing the efficiency in molecularly imprinted solid-phase extractions*, Trends in Analytical Chemistry, **18**, 164-174, (1999)
- [59]. CAMEL, V., *Solid phase extraction of trace elements*, Spectrochimica Acta Part B, **58**, 1177-1233, (2003)
- [60]. BOSS, C. B. ve FREDEEN, K. J., *Concepts, Instrumentation and techniques in Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*, Perkin Elmer, Second Edition, USA, (1999)
- [61]. SKOOG, D. A., HOLLER, F. J. ve NIEMAN, T. A., *Enstrümental Analiz İlkeleri*, Saunders College Publishing, USA, (1998)
- [62]. YILDIZ, A., GENÇ, Ö. ve BEKTAŞ, S., *Enstrümental Analiz Yöntemleri*, Hacettepe Üniversitesi Yayınları A-64, Türkiye, (1997)
- [63]. DEAN, J. R., *Atomic Absorption and Plasma Spectroscopy*, John Willey& Sons Ltd, Englad, (1997)
- [64]. EBDON, L., EVANS, E.H., FISHER, A. ve HILL, S. J., *An Introduction to Analytical Atomic Spectrometry*, John Willey& Sons Ltd, Englad, (1998)
- [65]. CHEN, Y., TONG, J, D'ULIVO, A. ve BELZILE, N., *Determination of mercury by continuous flow cold vapor atomic fluorescence spectrometry using micromolar concentration of sodium tetrahydroborate as reductant solution*, Analyst, **127**, 1541-1546, (2002)
- [66]. KRATA, A. ve BULSKA, E., *Critical evaluation of analytical performance of atomic absorption spectrometry and inductively coupled plasma mass spectrometry for mercury determination*, Spectrochimica Acta Part B, **60**, 345-350, (2005)
- [67]. NAVARRO, R. R., SUMI, K., FUJII, N. ve MATSUMURA, M., *Mercury removal from wastewater using porous cellulose carrier modified with polyethyleneimine*, Water Research, **30**, 10, 2488-2494, (1996)
- [68]. DENİZLİ, A., SENEL, S., ALSANCAK, G., TÜZMEN, N. ve SAY, R., *Mercury removal from synthetic solutions using poly(2-hydroxyethylmethacrylate) gel beads modified with poly(ethyleneimine)*, Reactive& Functional Polymers, **55**, 121-130, (2003)
- [69]. DENİZLİ, A., SAY, R., PATIR, S. ve ARICA, M. Y.; *Adsorption of heavy metal ions onto ethylene diamine-derived and Cibacron Blue F3GA-*

incorporated microporous poly(2-hydroxyethyl methacrylate) membranes;
Reactive & Functional Polymers, **43**, 17-24, (2000)

- [70]. BLANCO, R.M., VILLANUEVA, M. T., URIA, J.E.S. ve SANZ-MEDEL A., *Field sampling, preconcentration and detröination of mercury species in river waters*, Analytica Chimica Acta, **419**, 137-144, (2000)
- [71]. IWASK, A., HAKKILA, K. ve VIRTA, M.; *Dedection of Organomercurials with Sensor Bacteria*, Analytical Chemistry, **73**, 5168-5171, (2001)
- [72]. GÖTZL, A. ve RIEPE, W.; *Mercury determination-SPME and colorimetric spot test*, Talanta, **54**, 821-827, (2001)