

T.C
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

**POLİSİKLİK AROMATİK HİDROKARBONLARDAN
BENZO[*a*]PİREN VE 7,12-DİMETİLBENZ[*a*]ANTRASEN'İN
KALEM GRAFİT ELEKTROT KULLANARAK
ADSORPTİF SIYIRMA VOLTAMETRİSİ YÖNTEMİYLE
REDOKS ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ VE MİKTAR TAYİNİ**

DOKTORA TEZİ

HAZIRLAYAN : Ertuğrul KESKİN

DANIŞMAN : Prof. Dr. Zühre ŞENTÜRK

VAN-2009

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

**POLİSİKLİK AROMATİK HİDROKARBONLARDAN
BENZO[*a*]PİREN VE 7,12-DİMETİLBENZ[*a*]ANTRASEN'İN
KALEM GRAFİT ELEKTROT KULLANARAK
ADSORPTİF SIYIRMA VOLTAMETRİSİ YÖNTEMİYLE
REDOKS ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ VE MİKTAR TAYİNİ**

DOKTORA TEZİ

HAZIRLAYAN: Ertuğrul KESKİN

VAN-2009

KABUL VE ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Zühre ŞENTÜRK danışmanlığında, Ertuğrul KESKİN tarafından hazırlanan “Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlardan Benzo[a]piren ve 7,12-Dimetilbenz[a]antrasen’in Kalem Grafit Elektrot Kullanarak Adsorptif Sıyırma Voltametrisi Yöntemiyle Redoks Özelliklerinin İncelenmesi ve Miktar Tayini” isimli bu çalışma 13 / 11 / 2009 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı’nda Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Zühre ŞENTÜRK

İmza:

Üye: Prof.Dr. Muzaffer TUNCEL

İmza:

Üye: Doç. Dr. Fevzi KILIÇEL

İmza:

Üye: Yrd.Doç.Dr. Necla ÇALIŞKAN

İmza:

Üye: Yrd.Doç.Dr. Abdulkadir LEVENT

İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun 04.12./2009. Gün ve 009/28-VB sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü
Doç. Dr. Nahit AKTAŞ
Enstitü Müdürü

ÖZET

POLİSİKLIK AROMATİK HİDROKARBONLARDAN BENZO[a]PİREN VE 7,12-DİMETİLBENZ[a]ANTRASEN'İN KALEM GRAFİT ELEKTROT KULLANARAK ADSORPTİF SIYIRMA VOLTAMETRİSİ YÖNTEMİYLE REDOKS ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ VE MİKTAR TAYİNİ

KESKİN, Ertuğrul
Doktora Tezi, Kimya Anabilim Dalı
Tez danışmanı: Prof. Dr. Zühre ŞENTÜRK
Kasım 2009, 190 sayfa

Benzopiren (BaP) ve 7,12-Dimetilbenz[a]antrasen (DMBA) uzun süredir çok güçlü karsinogenler olarak bilinen ve üzerlerinde çok yaygın olarak çalışılan polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH) bileşiklerindendir. İlk olarak susuz ortamda camsı karbon ve kalem grafit elektrotlar üzerinde BaP ve DMBA'nın elektrokimyasal yükseltgenmesi dönüşümlü voltametri ile çalışılmıştır. pH 2.0-9.0 aralığındaki sulu çözeltilerde tek kullanımlık kalem grafit elektrot üzerinde adsorptif sıyırma aktarım voltametrisinin kullanımına özel ilgi gösterilmiştir. Destek elektroliti pH'sinin, biriktirme süresinin, biriktirme geriliminin ve diğer değişkenlerin elektrot yanıtına etkisi incelenmiştir. Kare-dalga sıyırma tekniği kullanılarak asetat tamponu pH 4.8 içerisinde bileşikler çok iyi belirmiş voltametrik yanıt vermişlerdir (BaP ve DMBA için sırasıyla +0.7 ve +0.6 V sabit gerilimde 180 ve 360 s süreyle biriktirme uygulanarak). Redoks işlemi 0.027 μM ($6.82 \mu\text{g L}^{-1}$) ve 0.194 nM (49.7 ng L^{-1}) gözlenebilirlik sınırları ile BaP ve DMBA derişimlerini tayin etmek için kullanılmıştır. Deneyin idrar örneklerindeki uygulaması da çalışılmıştır.

Anahtar kelimeler: Polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH'lar), benzo[a]piren (BaP), 7,12 dimetil benz[a]antrasen (DMBA), adsorptif kare dalga sıyırma voltametrisi, idrar, kalem grafit elektrot.

ABSTRACT

THE INVESTIGATION OF REDOX BEHAVIOURS AND QUANTITY DETERMINATION OF BENZO [a] PYRENE AND 7,12 DIMETHYLBENZ[a]ANTHRACENE FROM POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBON COMPOUNDS USING PENCIL GRAPHITE ELECTRODE BY ADSORPTIVE STRIPPING VOLTAMMETRY

KESKİN, Ertuğrul

PhD, Chemistry Science

Supervisor: Prof.Dr. Zühre Şentürk

November,2009, 190 pages.

Benzo[a]pyrene (BaP) and 7,12-Dimethylbenz[a]anthracene (DMBA), are widely studied polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) that have long been recognized as very potent carcinogens. Initially, the electrochemical oxidations of BaP and DMBA at the glassy carbon and pencil graphite electrodes in non-aqueous media was studied by cyclic voltammetry. Special attention was given to the use of adsorptive stripping transfer voltammetry on disposable pencil graphite electrode in aqueous solutions over the pH range of 2.0-9.0. The response was characterized with respect to pH of the supporting electrolyte, pre-concentration time and accumulation potential. Using square-wave stripping mode, the compounds yielded well-defined voltammetric responses in acetate buffer, pH 4.8 (a pre-concentration step being carried out at a fixed potential of +0.70 and +0.6 V for 180 and 360 s of BaP and DMBA, respectively). The redox processes could be used to determine BaP and DMBA concentrations with detection limits of 0.027 μM (6.82 $\mu\text{g L}^{-1}$) and 0.194 nM (49.7 ng L^{-1}) for BaP and DMBA, respectively. The applicability to assay of spiked human urine samples was also illustrated.

Keywords: Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), benzo[a]pyrene (BaP), 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA), adsorptive square-wave stripping voltammetry (AdSWSV), urine, pencil graphite electrode.

ÖN SÖZ

Yalnızca akademik gelişim sürecinde değil hayatımın kendisi ile kesiştiği andan şu ana kadar fikirleri, önerileri, destekleri ve bazen de tutumları ile farklı düşünmeyi, farklı davranmayı ve farklı olmayı öğreten değerli danışman hocam Prof. Dr. Zühre ŞENTÜRK'e sonsuz teşekkürler...

Tez izleme komitesinin saygıdeğer hocalarından Prof. Dr. Muzaffer TUNCEL'e ve Doç. Dr. Fevzi KILIÇEL'e fikirleri ve ayrıca anlayışlarından dolayı sonsuz teşekkürler.

Akademik çevreye ilk adım attığımdan bu yana kendisiyle tanışmaktan onur duyduğum ve her konuda yardımlarını esirgemeyen sevgili dostum Yrd. Doç. Dr. Abdulkadir LEVENT'e minnettarım. İyi ki varsın....

Gerek deneylerin yapılışı, gerekse tezimin yazımı esnasında farklı zamanlarda sadece evini ve kablosuz internetini kullanımına açmakla kalmayıp bunun ötesinde yüreğini de açan, ilginç anlarda orijinal fikirler sunan sevgili dostum Elek. Elektronik Müh. Nurettin KAYA'ya sonsuz teşekkürler.

Elektrokimyanın deneysel uygulama alanlarıyla beni tanıştırdığı için, tezimin yazım aşamasındaki önerileri için, gösterdiği kadirşinaslık için ve bütün bunların ötesinde sıcak dostluğu için, sevgili dostum Arş. Gör. Dr. Yavuz YARDIM'a sonsuz teşekkürler.

Hayatımın her aşamasında desteklerini sürekli yanımda bulduğum, beni yüreklendiren, ilham veren anneme, babama ve kardeşlerime sonsuz teşekkürler.

Ertuğrul KESKİN

Kasım/2009/ Osmaniye

İÇİNDEKİLER

	sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	iii
ÖNSÖZ	v
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xvii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xix
1. GİRİŞ	1
2. ELEKTROKİMYA	6
2.1. Elektrokimyasal Hücreler	6
2.2. Karıştırılmayan Çözeltilerde Elektrot Profilleri	9
2.3. Karıştırılan Çözeltilerde Elektrot Profilleri	10
2.4. Elektrokimyasal Çift Tabaka	12
2.5. Elektrot Gerilimi-Analit Derişimi İlişkisi ve Faradayik İşlemler	13
2.6. Elektrokimyasal Hücrede Kütle Aktarım Yolları	14
2.7. Elektrokimyasal Hücrede Akımlar	15
2.7.1. Akımın hücre gerilimine etkisi	15
2.7.1.1. Omik gerilim (IR düşüşü)	15
2.7.1.2. Polarizasyon	16
2.7.1.2.1. Derişim polarizasyonu	16
2.7.1.2.2. Kinetik polarizasyon (aşırı gerilim)	17
2.7.1.2.3. Yük aktarım polarizasyonu	17
2.8. Elektrot Tepkime Hızını ve Akımı Etkileyen Faktörler	18
2.9. Elektrokimyasal Hücrelerde Önemli Olan Değişkenler	18
2.10. Elektroanalitik Yöntemler	19
2.11. Voltametri	21
2.11.1. Voltametrik düzenek	23
2.11.2. Voltametrizde uyarma sinyalleri	25
2.11.3. Voltametrizde kullanılan destek elektroliti ve çözücüler	26
2.11.4. Voltametrizde kullanılan karşılaştırma elektrotları	27

2.11.4.1. Karşılaştırma elektrotlarının kullanımında dikkat edilecek hususlar	30
2.11.5. Voltametrizde kullanılan çalışma elektrotları	31
2.11.5.1. Civa elektrotlar	32
2.11.5.2. Katı elektrotlar	34
2.11.5.2.1. Metal elektrotlar	35
2.11.5.2.2. Karbon elektrotlar	35
2.11.5.3. Kimyasal modifiye elektrotlar	41
2.11.5.4. Mikroelektrotlar	41
2.11.6. Voltametrik akımlar	42
2.11.7. Nitel ve nicel yönüyle voltamogramlar	43
2.12. Voltametrik teknikler	44
2.12.1. Polarografi	44
2.12.2. Dönüşümlü voltametri (cyclic voltammetry, CV)	48
2.12.2.1.1. Tersinir tepkimeler	49
2.12.2.1.2. Yarı tersinir tepkimeler	50
2.12.2.1.3. Tersinmez tepkimeler	51
2.12.2.2. Dönüşümlü voltametri ile elektrot tepkime mekanizmasının belirlenmesi.	53
2.12.2.2.1. EC mekanizması	53
2.12.2.2.2. ECE mekanizması	55
2.12.2.2.3. CE Mekanizması	56
2.12.2.3. Dönüşümlü voltametri ile adsorbsiyonun incelenmesi	56
2.12.3. Sıyırma voltametrisi (stripping voltammetry, SV)	58
2.12.3.1. Anodik sıyırma voltametrisi (anodic stripping voltammetry, ASV)	60
2.12.3.2. Katodik sıyırma voltametrisi (cathodic stripping voltammetry, CSV)	60
2.12.3.3. Adsorbtif sıyırma voltametrisi (adsorptive stripping voltammetry, AdSV)	61
2.12.4. Puls voltametrik teknikler	62
2.12.4.1. Diferansiyel puls voltametrisi	62
2.12.4.2. Kare dalga voltametrisi	64

3. POLİSİKLİK AROMATİK HİDROKARBONLAR (PAH'LAR)	65
3.1. Genel Bilgiler ve Tarihçe	65
3.2. PAH Kaynakları ve Çevresel Varlığı	68
3.3. PAH'ların Yapısı, Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	72
3.4. PAH'ların İsimlendirilmesi (Nomenklatör)	74
3.5. PAH Oluşum Mekanizmaları	77
3.6. PAH'lara Maruz Kalma Şekilleri	78
3.7. PAH'ların Sağlık Üzerindeki Etkileri	82
3.8. PAH Metabolizması	84
3.9. PAH'ların Toksikliği	90
4. KAYNAK BİLDİRİŞİ	92
4.1. PAH Analizleri İçin Kullanılan Yöntemler	92
4.2. Biyolojik Örneklerde PAH	92
4.3. Çevresel Örneklerde PAH	96
4.4. Besin Örneklerinde PAH	99
5. MATERYAL ve YÖNTEM	101
5.1. Materyal	101
5.1.1. Deneylerde kullanılan araç ve gereçler	101
5.1.2. Deneylerde kullanılan kimyasallar	102
5.1.3. Camsı karbon elektrot ve ön işlemi	103
5.1.4. Kalem grafit elektrodun hazırlanışı ve ön işlemi	103
5.1.5. Elektrokimyasal deney hücresi	104
5.1.6. Benzo[a]piren (BaP) hakkında genel bilgi	105
5.1.7. 7,12-Dimetilbenz[a]antrasen (DMBA) hakkında genel bilgi	105
5.1.8. Çözeltilerin hazırlanması	106
5.1.8.1. BaP ve DMBA stok çözeltilerinin hazırlanması	106
5.1.8.2. Destek elektroliti çözeltilerinin hazırlanması	107
5.1.8.2.1. Tampon çözeltilerin hazırlanması	107
5.2. Yöntem	108
5.2.1. Susuz çözeltilerde GCE ve PGE üzerinde dönüşümlü voltametri	108
5.2.2. Sulu çözeltilerde PGE üzerinde sıyırma voltametrisi	108
5.2.3. Voltametrik yöntemin idrar örneklerine uygulanması	109

6. BULGULAR	111
6.1. BaP'ın Elektrokimyasal İncelenmesi	111
6.1.1. Susuz çözeltilerde GCE ve PGE üzerinde dönüşümlü voltametri	111
6.1.2. Sulu çözeltilerde PGE üzerinde sıyırma voltametrisi	119
6.1.2.1. Dönüşümlü voltametri	119
6.1.2.2. Voltametrik teknik seçimi	121
6.1.2.3. Destek elektroliti ve pH etkisi	122
6.1.2.4. Elektrokimyasal biriktirme değişkenlerinin etkisi	123
6.1.2.5. Kare-dalga değişkenlerinin etkisi	125
6.2. BaP Tayininde Elektroanalitik Uygulama	127
6.2.1. Voltametrik yöntemin analitik performans özellikleri	127
6.2.2. Voltametrik yöntemin idrar örneklerine uygulaması	129
6.3. DMBA'nın Elektrokimyasal İncelenmesi	130
6.3.1. Susuz çözeltilerde GCE ve PGE üzerinde dönüşümlü voltametri	130
6.3.2. Sulu çözeltilerde PGE üzerinde sıyırma voltametrisi	137
6.3.2.1. Dönüşümlü voltametri	137
6.3.2.2. Destek elektroliti ve pH etkisi	138
6.3.2.3. Elektrokimyasal biriktirme değişkenlerinin etkisi	140
6.3.2.4. Kare-dalga değişkenlerinin etkisi	141
6.4. DMBA Tayininde Elektroanalitik Uygulama	144
6.4.1. Voltametrik yöntemin analitik performans özellikleri	144
6.4.2. Voltametrik yöntemin idrar örneklerine uygulaması	146
7. TARTIŞMA ve SONUÇ	148
KAYNAKLAR	161
ÖZGEÇMİŞ	190

ŞEKİLLER DİZİNİ

	sayfa
Şekil 2.1. İki elektrotlu tipik bir elektrokimyasal hücre	7
Şekil 2.2. Voltametrik ölçümlerde kullanılan üç elektrotlu elektrokimyasal hücre	8
Şekil 2.3. Karıştırılmayan çözeltilere uygulanan kare dalga uyarma gerilimi sonucunda zamanla akımın değişimi.	10
Şekil 2.4. Karıştırılan çözeltideki mikroelektrodun yüzey akış profili	11
Şekil 2.5. Elektrot yüzeyinde oluşan elektriksel çift tabaka	13
Şekil 2.6. Bir elektrottaki yükseltgenme ve indirgenme tepkimelerinin basamakları	18
Şekil 2.7. Elektrokimyasal hücrelerde önemli olan değişkenler	19
Şekil 2.8. Yaygın elektroanalitik yöntemlerin şematik gösterimi	20
Şekil 2.9. Voltametrde üç elektrotlu potansiyostatik sistem diyagramı	24
Şekil 2.10. Voltametrde en çok kullanılan uyarma sinyalleri	25
Şekil 2.11. Tipik bir kalomel karşılaştırma elektrodu ve ilgili eşitlikler	28
Şekil 2.12. Tipik bir Ag/ AgCl karşılaştırma elektrodu ve ilgili eşitlikler	29
Şekil 2.13. Çift-değmeli karşılaştırma elektrodu kesiti	31
Şekil 2.14. Grafit tozunda bulunan karbon atomlarının dizilimi	36
Şekil 2.15. Camsı karbon elektrodun amorf yapısı	37
Şekil 2.16. Karbon pasta elektrot	38
Şekil 2.17. Çapı 7-30 µm'ye kadar değişen karbon fiber elektrot.	39
Şekil 2.18. Kalem grafit elektrot	41
Şekil 2.19. Bazı yaygın mikroelektrot tipleri (a) disk elektrot (b) asılı civa damla elektrot (c)damlayan civa elektrot (d) durgun civa damla elektrot	42
Şekil 2.20. Doğrusal taramalı bir voltamogram	44
Şekil 2.21. Normal polarografi için akım-gerilim ilişkisi	45
Şekil 2.22. Dönüşümlü voltametrde elektroda uygulanan gerilimin zamana karşı grafiği.	47

Şekil 2.23.	Dönüşümlü voltametrde akım-gerilim eğrisi	48
Şekil 2.24.	Civa elektrot üzerinde (a) tersinir, (b) tersinmez, (c) yarı tersinir dönüşümlü voltamogramlar.	52
Şekil 2.25.	EC mekanizmasını gösteren çoklu tarama yapılmış voltamogram örneği	55
Şekil 2.26.	ECE mekanizmasını gösteren çoklu tarama yapılmış voltamogram örneği	55
Şekil 2.27.	Sıyırma analizlerinde gerilim-zaman grafiği ve elektrot yüzeyindeki olaylar	59
Şekil 2.28.	Dijital cihazlarda diferansiyel puls voltametrisi için kullanılan uyarma sinyali.	63
Şekil 2.29.	Diferansiyel puls voltametrisinde elde edilen bir voltamogram	63
Şekil 2.30.	Kare dalga voltametrisinde uyarma sinyali(a) ve elde edilen bir voltamogram(b)	64
Şekil 3.1.	Bazı önemli PAH bileşikleri ve kimyasal yapıları	66
Şekil 3.2.	PAH kaynakları	69
Şekil 3.3.	PAH yapılarının farklı tipleri	73
Şekil 3.4.	PAH'ların biyolojik aktiviteleriyle ilişkili bölgeleri	74
Şekil 3.5.	Diels-Alder tepkimesiyle piren oluşumu	77
Şekil 3.6.	Benzen halkalarından türeyen PAH ailesi	78
Şekil 3.7.	Bazı benzo[a]piren metabolitlerinin kimyasal yapısı	84
Şekil 3.8.	Benzo[a]piren'in bazı konjuge biçimlerinin kimyasal yapıları	85
Şekil 3.9.	Benzo[a]piren'in metabolizması ve olası etkileri.	86
Şekil 3.10.	7,12-Dimetilbenz[a]antrasen'in olası metabolik aktivasyon yolağı	87
Şekil 3.11	Benzo[a]piren'in olası metabolik aktivasyon yolakları	88
Şekil 3.12	7,12-Dimetilbenz[a]antrasen'in olası metabolik aktivasyon yolakları	89
Şekil 4.1.	Tipik bir karmaşık analizde genel ayırma yöntemleri	97
Şekil 5.1.	Benzo[a]piren'in açık kimyasal formülü.	105
Şekil 5.2.	7,12-Dimetilbenz[a]antrasen'in açık kimyasal formülü.	106

Şekil 6.1.	8×10^{-4} M BaP'ın DMF/0.1 M LiClO ₄ içerisinde GCE üzerinde üç döngülü voltamogramı.	112
Şekil 6.2.	BaP'ın DMF/0.1 M LiClO ₄ içerisinde gerilim tarama hızı-pik akımı ilişkisi	114
Şekil 6.3.	8×10^{-4} M BaP'ın DMSO/0.1 M LiClO ₄ içerisinde (A) GCE ve (B) PGE üzerinde üç döngülü voltamogramı.	115
Şekil 6.4.	BaP'ın DMSO/0.1 M LiClO ₄ içerisinde gerilim tarama hızı pik akımı ilişkisi.	117
Şekil 6.5.	BaP'ın DMSO/0.1 M LiClO ₄ içerisinde GCE üzerinde üç döngülü voltamogramı.	118
Şekil 6.6.	4×10^{-5} M BaP'ın asetat tamponu (pH 4.8)/0.02 M NaCl içerisinde PGE üzerinde dönüşümlü voltamogramı.	119
Şekil 6.7.	BaP'ın asetat tamponu (pH 4.8)/0.02 M NaCl içerisinde gerilim tarama hızı-pik akımı ilişkisi.	121
Şekil 6.8.	4×10^{-5} M BaP'ın asetat tamponu (pH 4.8)/0.02 M NaCl içerisinde değişik uyarma gerilim sinyalinde sıyırma voltamogramları.	122
Şekil 6.9.	Farklı pH değerlerinde 4×10^{-5} M BaP çözeltilerinin sıyırma voltamogramları.	123
Şekil 6.10.	4×10^{-6} M BaP'ın asetat tamponu (pH 4.8)/0.02 M NaCl içerisindeki sıyırma sinyali üzerine elektrokimyasal biriktirme değişkenlerinin etkisi.	124
Şekil 6.11.	4×10^{-6} M BaP'ın asetat tamponu (pH 4.8)/0.02 M NaCl içerisinde farklı frekanslardaki kare-dalga voltamogramları.	125
Şekil 6.12.	4×10^{-6} M BaP'ın asetat tamponu (pH 4.8)/0.02 M NaCl içerisinde farklı gerilim adımındaki kare dalga voltamogramları ve dağılım grafiği.	126
Şekil 6.13.	4×10^{-6} M BaP'ın asetat tamponu (pH 4.8)/0.02 M NaCl içerisinde farklı puls amplitüd değerlerindeki kare dalga voltamogramları ve dağılım grafiği	126

Şekil 6.14.	(a) 2.5×10^{-7} , (b) 5×10^{-7} , (c) 7.5×10^{-7} M, (d) 1.00×10^{-6} , (e) 1.25×10^{-6} M BaP'ın asetat tamponu (pH 4.8)/0.02 M NaCl içerisinde kare dalga adsorptif sıyırma voltamogramları	128
Şekil 6.15.	(A) İdrar örneğine katılmış BaP'ın tayini için elde edilen sıyırma voltamogramları	129
Şekil 6.16.	8×10^{-4} M DMBA'nın DMF/0.1 M LiClO ₄ içerisinde GCE üzerinde üç döngülü voltamogramı.	131
Şekil 6.17.	DMBA'nın DMF/0.1 M LiClO ₄ içerisinde gerilim tarama hızı-pik akımı ilişkisi.	133
Şekil 6.18.	8×10^{-4} M DMBA'nın DMSO/0.1 M LiClO ₄ içerisinde (A) GCE ve (B) PGE üzerinde üç döngülü voltamogramı.	134
Şekil 6.19.	DMBA'nın DMSO/0.1 M LiClO ₄ içerisinde gerilim tarama hızı-pik akımı ilişkisi.	136
Şekil 6.20.	4×10^{-5} M DMBA'nın DMSO/0.1 M LiClO ₄ içerisinde GCE üzerinde üç döngülü voltamogramı.	137
Şekil 6.21.	4×10^{-5} M DMBA'nın asetat tamponu (pH 4.8)/0.02 M NaCl içerisinde PGE üzerinde dönüşümlü (A) ve kare-dalga (B) voltamogramı.	138
Şekil 6.22.	Farklı pH değerlerinde 4×10^{-5} M DMBA çözeltilerinin diferansiyel puls voltamogramları.	139
Şekil 6.23.	Farklı pH değerlerinde 4×10^{-5} M DMBA çözeltilerinin kare-dalga voltamogramları.	139
Şekil 6.24.	4×10^{-5} M DMBA'nın asetat tamponu (pH 4.8)/0.02 M NaCl içerisindeki sıyırma sinyali üzerine elektrokimyasal biriktirme değişkenlerinin etkisi.	141
Şekil 6.25.	4×10^{-5} M DMBA'nın asetat tamponu (pH 4.8)/0.02 M NaCl içerisinde farklı gerilim adımındaki kare dalga voltamogramları ve dağılım grafiği.	142
Şekil 6.26.	4×10^{-5} M DMBA'nın asetat tamponu (pH 4.8)/0.02 M NaCl içerisinde farklı puls amplitüdündeki kare dalga voltamogramları ve dağılım grafiği.	142

Şekil 6.27.	4×10^{-5} M DMBA'nın asetat tamponu (pH 4.8)/0.02 M NaCl içerisinde farklı frekanslardaki kare-dalga voltamogramları.	143
Şekil 6.28.	(a) 2×10^{-9} M, (b) 4×10^{-9} M, (c) 6×10^{-9} M, (d) 8×10^{-9} M, (e) 1×10^{-8} M DMBA'nın asetat tamponu (pH 4.8)/0.02 M NaCl içerisinde kare dalga adsorptif sıyırma voltamogramları	145
Şekil 6.29.	(A) İdrar örneğine katılmış DMBA'nın tayini için elde edilen sıyırma voltamogramları.	147
Şekil 7.1.	BaP'ın olası yükseltgenme mekanizması	153

ÇİZELGELER DİZİNİ

	sayfa
Çizelge 1.1. BaP ve DMBA ile türedikleri PAH bileşiklerinin moleküler yapısı	3
Çizelge 2.1. Çeşitli analitik tekniklerin uygulama aralığı ve derişim aralığının farklı kimyasal analiz uygulama alanları ile karşılaştırılması	22
Çizelge 2.2. Kalomel karşılaştırma elektrodunun geriliminin sıcaklıkla ve derişimle değişimi	28
Çizelge 2.3. Gümüş-gümüş klorür karşılaştırma elektrodunun geriliminin sıcaklıkla ve derişimle değişimi	30
Çizelge 2.4. Farklı tipteki çalışma elektrotlarının farklı elektrolit çözeltilerindeki gerilim aralıkları	32
Çizelge 2.5. Civa elektrodunun kullanıldığı modern polarografik ve voltametrik teknikler için çalışma elektrotları ve gözlenebilirlik sınırları	34
Çizelge 3.1. Bazı PAH bileşiklerinin fiziksel özellikleri	67
Çizelge 3.2. Kaynaklarına göre bazı ülkelerdeki PAH dağılımının tahmini değerleri	71
Çizelge 6.1. BaP'ın pik gerilimi ve pik akımı üzerine gerilim tarama hızının etkisi.	113
Çizelge 6.2. BaP'ın pik gerilimi ve pik akımı üzerine gerilim tarama hızının etkisi	116
Çizelge 6.3. BaP'ın pik gerilimi ve pik akımı üzerine gerilim tarama hızının etkisi	120
Çizelge 6.4. BaP analizi için voltametrik yöntem ile elde edilen en iyi deneysel koşullar.	127
Çizelge 6.5. İdrar örneklerine eklenen BaP'ın geri kazanımına ait bulgular.	130
Çizelge 6.6. DMBA'nın pik gerilimi ve pik akımı üzerine gerilim tarama hızının etkisi	132

Çizelge 6.7.	DMBA'nın pik gerilimi ve pik akımı üzerine gerilim tarama hızının etkisi	135
Çizelge 6.8.	DMBA analizi için voltametrik yöntem ile elde edilen en iyi deneysel koşullar.	144
Çizelge 6.9.	İdrar örneklerine eklenen DMBA'nın geri kazanımına ait bulgular.	147

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

Na_2SO_4	Sodyum sülfat
CH_3COOH	Asetik asit
H_3PO_4	Fosforik asit
H_2SO_4	Sülfürik asit
KCl	Potasyum klorür
HNO_3	Nitrik asit
LiClO_4	Lityum perklorat
Na_2HPO_4	Disodyum hidrojenfosfat
NaOH	Sodyum hidroksit
NaCl	Sodyum klorür
H_3BO_3	Borik asit
HCl	Hidroklorik asit
HClO_4	Perklorik asit
Hg_2Cl_2	Civa(I) klorür
KNO_3	Potasyum nitrat
Pb	Kurşun
Se	Selenyum
L	Litre
mL	Mililitre
μL	Mikrolitre
M	Molarite
mM	Milimolar
mg	Miligram
μg	Mikrogram
ng	Nanogram
$\mu\text{g/mL}$	mikrogram/mililitre
ng/mL	nanogram/mililitre
ng/m^3	nanogram/metreküp
V	Volt
mV	Milivolt

mV/s	milivolt/saniye
A	Amper
μ A	Mikroamper
nA	Nanoamper
°C	Santigrat derece
E_p	Pik gerilimi
E_{pk}	Katodik pik gerilimi
E_{pa}	Anodik pik gerilimi
i_p	Pik akımı
i_{pk}	Katodik pik akımı
i_{pa}	Anodik pik akımı
i_d	Difüzyon akımı
Hz	Hertz
nm	Nanometre
dak	Dakika
s	Saniye
$\text{\AA}$	Angström
C_A	Analit derişimi
v	Tarama hızı
$\log$	logaritma

Kısaltmalar

BaP	Benzo[a] piren
DMBA	7,12 Dimetil benz[a]antrasen
PAH	Polisiklik aromatik hidrokarbonlar
PNH	Polinükleer aromatik hidrokarbonlar
PAC	Polisiklik aromatik bileşikler
EH	Epoksit hidrolaz
AHH	Arilhidrokarbon hidroksilaz

MFO	Karışık fonksiyonlu oksidaz
DNA	Deoksiribonükleik asit
RNA	Ribonükleik asit
dsDNA	Çift sarmal deoksiribonükleik asit
DMSO	Dimetilsülfoksit
DMF	Dimetilformamid
BR	Britton-Robinson tamponu
DPV	Diferansiyel puls voltametri
SWV	Kare-dalga voltametri
AdSV	Adsorptif sıyırma voltametri
SWAdS	Kare-dalga adsorptif sıyırma voltametri
AAP	Alternatif akım polarografisi
DAP	Doğru akım polarografisi
NP	Normal Polarografi
DPP	Diferansiyel puls polarografisi
SWV	Kare dalga polarografisi
CV	Dönüşümlü voltametri
PGE	Kalem grafit elektrot
GCE	Camsı karbon elektrot
CFE	Karbon fiber elektrot
SPCE	Perde baskılı karbon elektrot
BFE	Bizmut-film elektrot
DKE	Doygun kalomel elektrot
SHE	Standart hidrojen elektrot
DME	Damlayan civa elektrot
HMDE	Asılı civa damlayan elektrot
LOD	Gözlenebilirlik sınırı
LOQ	Tayin alt sınırı
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
Y	Yükseltgenmiş tür
İ	İndirgenmiş tür
n	Deney sayısı

f	Frekans
ΔE	Gerilim adımı
E_{sw}	Puls amplitüd
A	Absorbans
UV/GB	Ultraviyole-görünür bölge
rpm	Dakikada dönme sayısı
r	Korelasyon katsayısı
S/N	sinyal/gürültü

1. GİRİŞ

Canlılarda hücrelerin kalıtsal, biyolojik ya da kimyasal yapılarını değiştirerek kontrolsüz ya da doğal işlevlerinden farklı nitelikte çoğalmalarına dolayısıyla organizma içerisinde bulundukları konuma göre farklı kanser oluşumlarını yaratmalarına neden olan kimyasal maddeler ya da diğer etkenler, **karsinojenik** yani kanser oluşturunca olarak bilinirler. Canlı organizmaların nükleik asitlerinde (DNA, RNA) depolanan kalıtsal bilgilerin değişime uğraması sürecine mutasyon ve mutasyona neden olan madde ve etkenlere ise **mutajenik** denir. Birçok karsinojen etkenlerin aynı zamanda mutajenik etkilerinin de olduğu bilinmektedir (Zor, 1999).

Canlılar, karsinojenik ve mutajenik oldukları ispatlanmış çok sayıdaki kimyasala sürekli olarak maruz kalırlar. Maruziyet bu bileşiklerin gıda, hava ya da su içerisinde bulunmalarına bağlı olarak dış kaynaklı olabildiği gibi metabolizma sonucu ya da iltihaplanma gibi patofizyolojik basamaklarda oluşan ürünler olmaları durumunda iç kaynaklı da gerçekleşebilir (Wogan ve ark., 2004).

Petrol ve petrol türevi olan Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar (PAH'lar), karsinojenik ve mutajenik etkili çevresel kirleticilerin önemli sınıfını oluşturan kimyasal bileşiklerdir (Shaw ve Connell, 1994; Connel ve ark., 1997; Srogi, 2007). Bu grup bileşikler, doğal olaylar ya da insan aktiviteleri sırasında organik maddelerin pirolizi ya da tam yanmaması ile oluşarak çevreye bulaşırlar ve sucul/karasal ekosistemlerde uzun süre kalabilirler (Bartle ve ark., 1981; Demir ve Demirbağ, 1999). Başlıca PAH kaynakları arasında orman yangınları, volkanik patlamalar, dizel ve benzinli motor egzozları, petrolün yanması ile oluşan egzozlar, çeşitli şekilde içilen tütün dumanları, grafit ve elektrot üretimi sırasında oluşan ürünler, gıdaların pişirilmesi sonucu oluşan duman, kömürün piroliziyle oluşan kömür katranı sayılabilir (Shaw ve Connell, 1994; Angerer ve ark., 1997a,b; Dabestani ve Ivanov, 1999).

Molekül formülleri bakımından aromatik halkalı yapıda olan PAH'lar düzlemsel (ya da hemen hemen düzlemsel) moleküllerdir. Aromatiklik dereceleri her bir halkada farklıdır. Heteroatom içermeyen aromatik halkalar 3 ya da daha fazla üyeden oluşmuştur. Sudaki çözünürlükleri düşük olup hayli lipofilik bileşiklerdir.

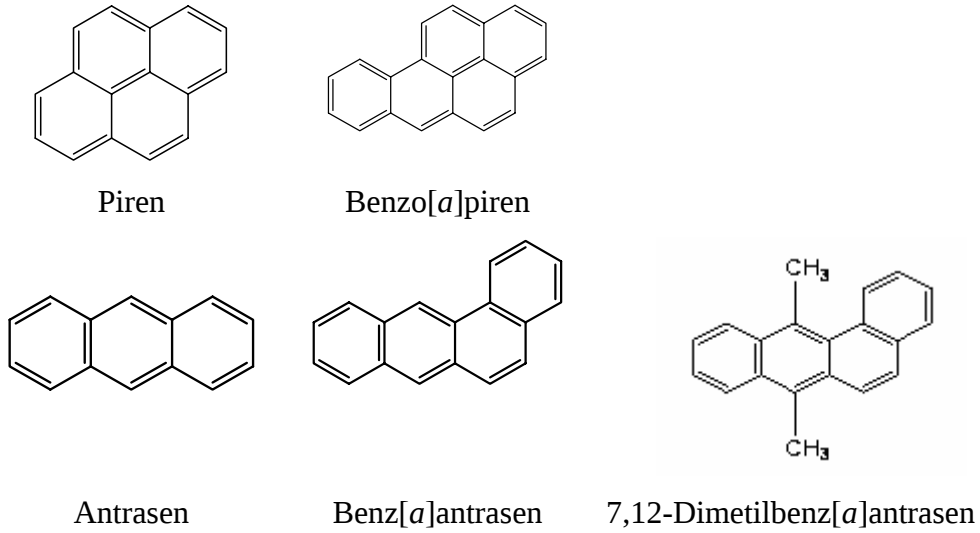
İki ve üç aromatik halkalı PAH bileşikleri atmosferde gaz fazında bulunurken, beş ve daha yüksek halkalı olanlar katı partikül olarak ($<0.1\text{--}100\text{ ng/m}^3$ aralığında) yer alırlar. Arada olanlar (dört halkalı) atmosfer sıcaklığına bağlı olarak gaz ve katı arasında dağılırlar (Anonim, 1988; Howsam ve ark., 2001; Mastral ve ark., 2003). PAH'lar atmosferde ozon, azot oksitler ve kükürt dioksit gibi kirleticilerle tepkimeye girerek sırasıyla dion, nitro- ve dinitro PAH'ları ve sülfonik asiti oluşturabilir. Atmosferik PAH'lara en yüksek maruziyet riski nüfus yoğunluğu ve trafik gibi etmenler nedeniyle kent yaşamında gözlenmektedir (Marr ve ark., 1999; Rockens ve ark., 2000). Kapalı alanda havalandırmaya ve farklı nedenlere bağlı olarak PAH kirliliği yatak odası>mutfak>oturma odası>balkon şeklinde değişme göstermektedir (Liu ve ark., 2001; Lin ve ark., 2002). Toprağa tutunmaları, adsorpsiyon yoluyla topraktaki humuslu maddeler tarafından gerçekleşmektedir. Bileşiklerin bağlanma güçleri de moleküldeki aromatik halka sayısının artması ile artmaktadır. Toprakta bulunan mikroorganizmalarla bozunmaya da uğrayabilirler (Knox ve ark., 1993). PAH'lar, bitkilere genellikle kirlenmiş atmosferden yaprakların mumsu yüzeyleri üzerinde katı partikül olarak birikerek ender olarak da topraktan bitki kökleri yoluyla aktarılırlar (Kipopoulou ve ark., 1999). Sedimentler, doğal ve antropojenik değişkenler arasındaki ilişkinin belirtecidirler. PAH'lar sulu bir çevreye girdiklerinde hidrofobik özelliklerinden dolayı hızla sedimentlerle birleşirler. Sedimentin alıkoyma kapasitesi, fizikokimyasal özellikleri ile ilişkilidir (Viguli ve ark., 2002).

Diğer lipofilik çevresel karsinojenlere benzer biçimde PAH bileşikleri de canlı organizmada yağ dokusunda depolanırlar (Todorovic ve ark., 1997). Çevrede her yerde bulunabilen PAH'ların başta akciğer, mesane ve deri olmak üzere kanser tümörlerini tetiklediği düşünülmektedir (Talaska ve ark., 1996). PAH bileşikleri, fizyolojik koşullar altında biyolojik makromoleküllere karşı göreceli olarak etkisizdirler. Vücuda girdikleri zaman, hücresel koruma sistemi bu yabancı bileşikleri metabolizma yoluyla uzaklaştırmaya çalışır. Memelilerde PAH metabolizması karaciğerde gerçekleşir ve özellikle sitokrom P450 enzimi tarafından katalizlenir (Kleiner ve ark., 2002). Metabolizmaya bağlı olarak PAH'lar daha polar ve suda çözünebilir şekle dönüşerek dışarı atılırlar. Ancak bazı PAH bileşiklerinin metabolizmaları sırasında monooksijenasyon ve/ya da bir-elektron yükseltgenmesiyle dönüştükleri aktif metabolitleri (diolepoksitler ve/ya da serbest radikal katyon araürünleri), DNA'ya

kovalent bağlanarak karsinojenik ve mutajenik etkidenden sorumlu katım ürünlerini (adduct, addükt) oluştururlar (Conney, 1982; Sullivan, 1985; RamaKrishna ve ark., 1992a,b; Rogan ve ark., 1993; Cavalieri ve Rogan, 1995; Fu ve Herrero-Saenz, 1999; Baird ve ark., 2005; Yusuf ve ark., 2007).

PAH bileşikler içinde en zararlılarının kömür katranında bulunan mono ve dibenzopirenler ile mono ve dibenzantrasenlerin çeşitli izomerleri ve türevleri oldukları anlaşılmıştır (Zor, 1999; Mastral ve ark, 2003). Özellikle bu bileşiklerin ilk örneği olan Benzo[*a*]piren (BaP) ile 7,12-Dimetilbenz[*a*]antrasen (DMBA) moleküllerinin çok tehlikeli oldukları ispatlanmıştır (Wolfe, 1977, Baker, 1978; Davila ve ark.,1997; Binet ve ark., 2002; De Flora ve ark., 2006; Yusuf ve ark., 2007).

Çizelge 1.1. BaP ve DMBA ile türedikleri PAH bileşiklerinin moleküler yapısı



Çevresel önemi olan kimyasal karsinojenlerin (N-nitrozo bileşikler, azo bileşikler, heterosiklik bileşikler, polisiklik aromatik hidrokarbonlar, aromatik ve heterosiklik aminler, vb) çok düşük derişimleri bile çeşitli kanser türlerinin oluşumunu artırabilmektedir (Anonim, 1970–94). Bu nedenle bu bileşiklerin geniş yelpazede izlenmesi giderek çok daha fazla önem kazanmaktadır (Anonim, 1978–94). Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC)’nın web sayfasında (<http://www.iarc.fr>) karsinojenik bileşiklerin listesi sürekli olarak yenilenmektedir. Uçucu karsinojenler için gaz kromatografisi, duyarlık ve seçicilik açısından en fazla başvurulan yöntemdir. 10^{-6} – 10^{-7} M aralığında gözlenebilirlik sınırına (LOD) sahip bulunan UV spektrofotometrisi,

karmaşık matrisler için yeterli düzeyde seçici değildir. UV ($\text{LOD} \sim 10^{-6}$ M), florimetrik ($\text{LOD} \sim 10^{-9}$ M) ve kütle ($\text{LOD} \sim 10^{-11}$ M) dedektörlü HPLC en sık kullanılan yöntemlerdir. Örneğin analize hazırlanması yapısına bağlı olarak değişir. Matrisin karmaşık olması durumunda tüketme, süzme, fraksiyonlama, kurutma, yeniden çözme gibi bir dizi zaman alıcı işlem gereklidir. Analitik ölçüm yöntemlerinin, kimyasal karsinogenlerin çevresel izlenmelerinin yanı sıra moleküler epidemiyoloji ve maruziyet ile ilgili yönetmeliklerin oluşturulmasında da kritik bir rolü olmalıdır. Cihaz ve deneysel materyal açısından ucuz olmaları, yüksek duyarlılıkları, olağanüstü geniş kalibrasyon aralığına sahip bulunmaları nedeniyle modern elektroanalitik yöntemler, bu alanda önemli bir görev üstlenirler (Barek ve ark., 2001a). Ayrıca bu yöntemler, şimdiye kadar geçerli olan spektrofotometrik ve kromatografik tekniklerle elde edilen bilgilerin doğrulamasında kullanılabildikleri için bağımsız birer alternatif de oluştururlar. Bazı durumlarda organik bileşiklerin genotoksik özellikleri ile voltametrik ve/ya da polarografik davranışları arasında ilişki bulunmaktadır (Vachalkova ve Novotny, 1997; Novotny ve ark., 1999). Bu nedenle genotoksik bileşiklerin elektrot tepkime mekanizmaları, onların canlı organizmalarla etkileşme mekanizmalarının anlaşılması ile çevredeki varlığı hakkında önemli ipuçları verir.

Voltametrik/polarografik tekniklerin bu alandaki gerçek gücü, elektrokimyasal olarak yükseltgenebilen ya da indirgenebilen karsinogenlere uygulanmasıdır. Modern elektroanalitik teknikler içerisinde yer alan adsorptif sıyırma voltametri (AdSV); ucuzluğu, basitliği, hızı, duyarlılığı, aynı anda çoklu ve mikrohacim analit tayinine olanak tanınması ve gerektiğinde taşınabilir ölçülere de sahip olması açısından çevre analizlerinde en çok kullanılan ve geleceği en parlak olan iki adımlı (elektrokimyasal biriktirilme ve tayin) bir tekniktir (Özkan ve Biryol, 1993; Zuhri ve Voelter, 1998; Barek ve ark., 2008; Pesavanto ve ark., 2009). Birinci adım, analiz çözeltisindeki çok düşük derişimli analitin elektrot yüzeyine biriktirilmesini içerir. İkinci adımda biriktirilen analit, elektrot yüzeyinden anodik ya da katodik yönde çözülür ya da sıyırılır ve ileri bir voltametrik teknikle (genellikle kare-dalga (SW) ve diferansiyel puls (DP) yöntemiyle) tayin edilir. Sıyırma tekniğinde çalışma elektrodunun seçimi çok önemlidir. İdeal bir çalışma elektrodu; etkili bir ön-deriştirme, hedef analit için istenen bir redoks tepkimesi, tekrarlanabilir ve yenilenebilir yüzey ve geniş bir gerilim aralığında küçük bir artık akıma sahip olmalıdır. Karbon esaslı elektrotlar (camsı karbon

(GCE), karbon pasta, pirolitik grafit, karbon fiber ve karbon kompozitleri); düşük artık akım, geniş gerilim aralığı, yüksek duyarlık, kimyasal dayanıklılık özellikleri ile voltametrik sensör olarak çok geniş bir uygulama alanına sahiptirler (Cai ve ark., 1996; Uslu ve Ozkan, 2007). Ancak karbon elektrotlarda olduğu gibi tüm katı elektrotlarla çalışılırken en bilinen sorun; analiz sırasında bazı bileşiklerin yükseltgenme ürünlerinin elektrot üzerinde ince bir film olarak birikmesi sonucu analitik yanıtın büyüklüğünün azalması, elektrot temizleme işlemleri uygulansa bile tekrarlanabilirlik kayıplarının oluşmasıdır. Bu nedenle elektrot temizliği, elektrokimyasal tekniklerin analizlerde geniş çapta kullanılmasını kısıtlayıcı en önemli sorundur. 1990'lı yılların sonundan başlayarak el-yapımı kalem grafit (kalem ucu) elektrotlar (PGE) yukarıda sayılan karbon elektrotlara tek kullanımlık özelliklerinin yanı sıra çok düşük maliyetlerinden dolayı alternatif olmuşlardır (Bond ve ark., 1997; Wang ve ark., 2000; Wang ve Kawde, 2001).

Canlı organizmadaki etkilerinin, biyolojik değişimleri sırasında gelişen yükseltgenme işlemine dayalı olduğu bilgisinden yola çıkılarak bu araştırmada karsinogenik ve mutajenik etkili PAH bileşiklerinden BaP ile DMBA'nın voltametri yöntemiyle analizleri amaçlanmıştır. Çalışma, üç ana başlık altında toplanacaktır. İlk bölümde GCE ve PGE kullanılarak susuz ortam çözücülerinde BaP ve DMBA'nın dönüşümlü voltametri tekniğiyle elektrokimyasal davranışları incelenecektir. İkinci bölümde ilgili bileşiklerin PGE üzerinde sulu çözeltielerde adsorptif davranışları araştırılacak, sulu çözeltielerden ölçümleri için etkili bir sıyırma voltametrik yöntemi tanımlanacak ve optimize edilecektir. Son bölümde ise ikinci bölümdeki olumlu bulguların ışığında geliştirilecek yöntemle bileşiklerin insan idrar örneklerinden miktarlarının tayin edilebilirliği sınanacaktır.

2. ELEKTROKİMYA

Elektrokimya, maddenin elektrik enerjisiyle etkileşimi sonucu oluşan fiziksel değişimleri ve kimyasal dönüşümleri konu alan bilim dalıdır. Elektrik enerjisinin kimyasal dönüşümleri gerçekleştirebilmesi ve kimyasal dönüşümlerin de elektrik enerjisi üretebilmesi yükseltgenme ve indirgenme süreçlerine bağlıdır. Bu olaylar gerçekleştiği anda sistemde elektron geçişleri ve aktarımı meydana gelir. Elektrik-madde etkileşimi, elektrokimyasal hücre adı verilen bir düzenek içerisinde gerçekleştirilir. Bir elektrokimyasal tepkimenin oluşması incelenecek maddeyi (analit) içeren bir çözeltiyi, analitin kimyasal dönüşüme uğradığı elektrot sistemini (genellikle üçlü elektrot sistemi) ve elektrotları birbirine bağlayan bir dönüştürücü sistemini (transistor) gerektirir.

Elektroanalitik kimya, analit çözeltisinin bir elektrokimyasal hücrenin parçası olması durumunda çözeltinin elektrokimyasal özelliklerinin incelenmesine dayanan bir grup nicel analitik yöntemin genel adıdır. Elektroanalitik teknikler, çok düşük tayin sınırlarına olanak tanımlarının yanı sıra uygulandıkları sistemler hakkında kapsamlı bilgiler (yük ve kütle aktarım hızı, adsorbsiyon derecesi, kimyasal tepkimelerin hız ve denge sabitleri) sunmalarıyla var olan yöntemleri tamamlayıcı hatta onlara alternatif olma konumunu da taşırlar.

Geçen zamanla birlikte bu alanda yapılan yenilikler; analizlerin daha kısa sürede, daha düşük tayin sınırında ve daha ekonomik koşullarda yapılmasına olanak sağladığı için elektroanalitik yöntemler analitik kimyada tercih edilen öncelikli konuma gelmiştir (Skoog ve ark., 1998, Gündüz, 2004, Yıldız ve ark., 1997).

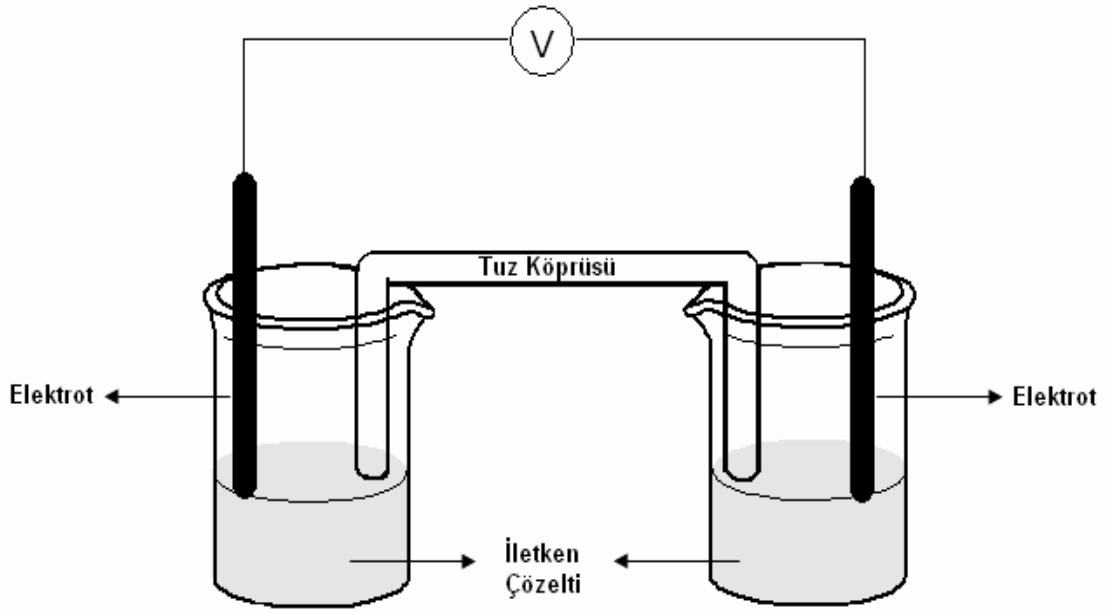
2.1. Elektrokimyasal Hücreler

Elektrokimyasal hücre, özelliği incelenecek analit çözeltisi ile bu çözeltiye daldırılmış elektriksel iletkenliği sağlayıcı elektrotlardan oluşur. Bir elektrokimyasal hücrede akımının oluşabilmesi için elektrotların bir iletkenle dış bağlantılarının

sağlanması (elektron akışı) ve çözeltiler arasında tuz köprüsü kullanılması (iyonik geçiş) gereklidir.

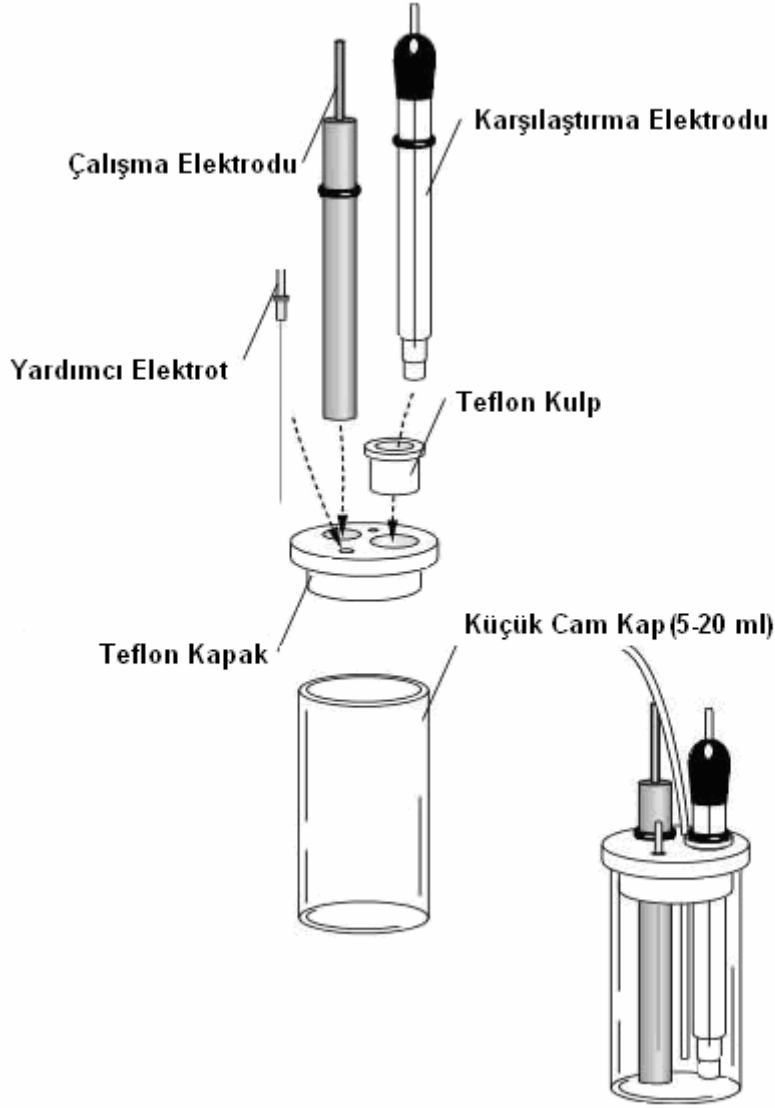
Elektrokimyasal hücreler iki elektrotlu ve üç elektrotlu olmak üzere sınıflandırılabilirler.

İki elektrotlu hücrelerde bir çalışma elektrodu ile bir karşılaştırma elektrodu vardır. İki elektrotlu elektrokimyasal hücrelerin kısımları Şekil 2.1’de verilmiştir.



Şekil 2.1. İki elektrotlu tipik bir elektrokimyasal hücre

Çözelti direncinin önemli olduğu elektrokimyasal hücrelerde çalışma ve karşılaştırma elektrotlarına ek olarak yardımcı (karşıt) elektrot olarak bilinen üçüncü bir elektrot kullanılır. Hücre materyali, elektrot girişleri bulunan bir kapakla kapatılmış genellikle küçük bir cam kaptan (5-20 mL) oluşmuştur. Çözünmüş oksijeni uzaklaştırmak amacıyla inert gaz aktarım borusu ve seçime bağlı olarak karıştırıcı içerir. Voltametriye kullanılan üç elektrotlu düzeneğin tipik bir örneği Şekil 2.2’de verilmiştir.



Şekil.2.2. Voltametrik ölçümlerde kullanılan üç elektrotlu elektrokimyasal hücre (Als Co. Ltd., 2006).

Çalışma Elektrodu: Yüzeyinde çözeltideki indirgenme ve yükseltgenme tepkimelerinin gerçekleştiği ve zamanla gerilimi doğrusal olarak değişen elektrottur.

Karşılaştırma Elektrodu: Sabit bir gerilime sahip olan bu elektrot, çalışma elektrodunun geriliminin kıyaslandığı elektrottur. Gerilimi analizi yapılacak analitin derişiminden bağımsız olup tekrarlanabilen, kararlı ve sabit bir değerdedir.

Yardımcı Elektrot: Elektrokimyasal hücre içinde akımın aktarılması görevini yürüten, çalışma elektrodu ile bir çift oluşturan ve genellikle inert materyalden oluşan elektrot tipidir.

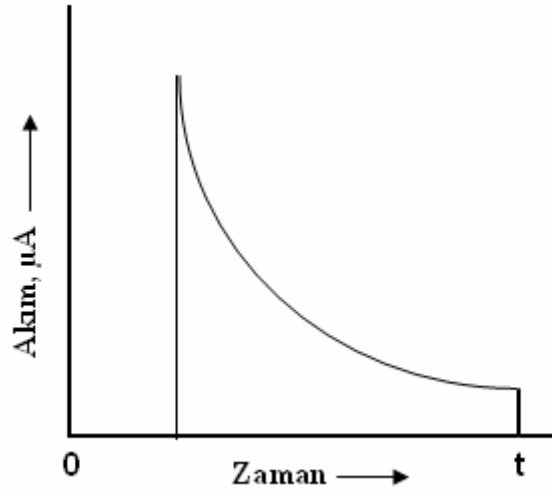
Hücre içindeki elektrotların yerleşimi oldukça önemlidir. Çalışma elektrodu, karşılaştırma elektroduna oldukça yakın olmak koşuluyla yardımcı elektrot ve karşılaştırma elektrodu arasına yerleştirilir. Üçlü elektrot sistemi kullanılmasının gerekçesi, potansiyostatın çalışma elektrodu aşırı gerilim yüklemesi durumunda sistemi otomatik olarak verilen doğru gerilime getirmektir. Bu işlem, çalışma elektrodu ve karşılaştırma elektrodu arasındaki gerilim sürekli ölçülerek ve ayarlı gerilimle karşılaştırarak yapılır.

Elektrokimyasal hücreye yerleştirilen üçlü elektrot girişleri, iletken bir telle potansiyostata bağlanarak devre tamamlanır.

Analiz sırasında çözeltinin karıştırılıp karıştırılmamasına bağlı olarak elektrot-elektrolit ara yüzeyinde gerçekleşen olaylar da farklı olur.

2.2. Karıştırılmayan Çözeltilerde Elektrot Profilleri

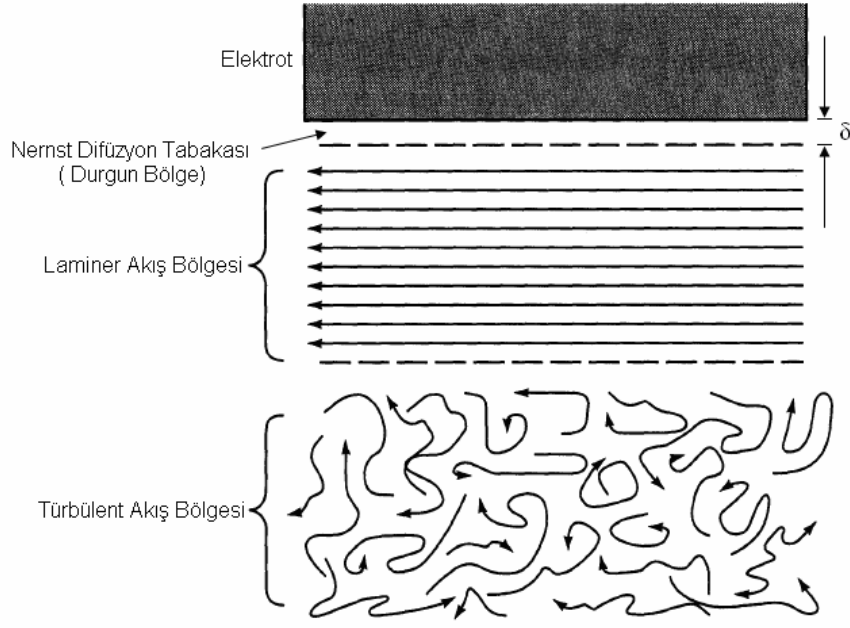
Şekil 2.3’de gösterildiği gibi karıştırılmayan bir çözeltide çalışma elektroduna bir uyarma geriliminin t saniye süreyle uygulandığını varsayalım. Gerilimin uygulanmaya başlaması ile birlikte elektrot-elektrolit arayüzeyinde analit indirgenme/yükseltgenme tepkimesiyle başka bir türe dönüşür. Bu değişim sonucu arayüzeydeki derişimi azalan analit ana çözeltiden yeniden elektrot yüzeyine taşınır. Karıştırılmayan bir çözeltide analitin çalışma elektroduna taşınması difüzyon (ileriki bölümlerde açıklanacak) ile gerçekleşir (konveksiyon ve elektriksel göç ihmal edilir). Difüzyon hızı uzaklığa bağlı olarak azaldığından başlangıçta çok yüksek olan akım değeri de zamanla düşer.



Şekil 2.3. Karıştırılmayan çözeltilere uygulanan kare dalga uyarma gerilimi sonucunda zamanla akımın değişimi (Gündüz, 2004' ten uyarlanmıştır).

2.3. Karıştırılan Çözeltilerde Elektrot Profilleri

Karıştırılan çözeltiye daldırılmış bir çalışma elektrodunun ara yüzeyi ile çözelti arasında elektron alışverişi nedeniyle heterojen bölgeler oluşur. Karıştırılan bu şekildeki sistemlerde üç bölge ve buna bağlı olarak üç hareket şekli vardır. Hareketli (karıştırılan) sistemlerdeki heterojen bölgelerin bileşimi Şekil 2.4'te görülmektedir.



Şekil 2.4. Karıştırılan çözeltideki mikroeletrodun yüzey akış profili (Skoog ve ark., 1998'den uyarlanmıştır).

Türbülent akış bölgesi: Elektroda en uzak çözelti yığnında gözlenen harekettir. Sıvı hareketinin düzenli bir akış modeli yoktur.

Laminer akış bölgesi: Elektrot yüzeyine yaklaşıldığında tabakalar birbiri üzerinden elektrot yüzeyine paralel olacak şekilde kayarlar.

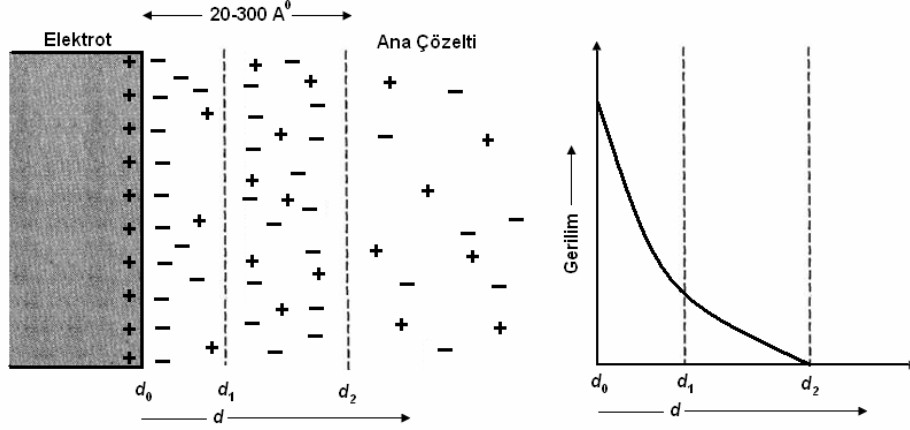
Nernst difüzyon tabakası: Elektrot yüzeyine çok yaklaşıldığında (δ cm) laminer akış yaklaşık sıfır olur. Bu bölgeye "durgun bölge" de denir. Durgun bölgenin oluşmasının nedeni ince çözelti filmiyle elektrot yüzeyinde oluşan kuvvetli çekim ve sürtünmedir.

2.4. Elektrokimyasal Çift Tabaka

Elektrokimyasal ölçümler yapılırken elektrodun kendisine bitişik çözelti bölgesindeki (Nernst difüzyon tabakası) bir türe elektron vermesi ya da ondan elektron alması sonucunda heterojen sistem oluşur. Sonuçta, bu bölgenin bileşimi çözeltinin diğer kısımlarının bileşiminden önemli ölçüde farklılaşır. Elektroda pozitif bir gerilim uygulandıktan hemen sonra elektrot yüzeyinde tepkimeye girecek aktif bir tür yoksa hızla sıfıra düşecek anlık bir akım dalgası oluşacaktır. Bu akım, her iki elektrodun da yüzeyinde bir negatif yük fazlalığı (ya da eksikliği) yaratan bir yükleme akımıdır. Fakat iyonik hareketliliğin bir sonucu olarak elektroda bitişik olan çözelti tabakalarında derhal bir zıt yüklenme oluşur. Bu etkileşim Şekil 2.5'te gösterilmektedir. Örnekteki elektrodun yüzeyinde uygulanan pozitif gerilimin bir sonucu olarak pozitif yük fazlalığı oluşmuştur. Yüklü çözelti tabakası iki kısımdan oluşmaktadır:

- 1- Yoğun iç tabaka (d_0 'dan d_1 'e); bu tabakada elektrot yüzeyinden uzaklaştıkça ortaya çıkan gerilim, uzaklık ile doğru orantılı olarak azalır. Bu tabaka, çözücü moleküllerinden ve bazen özel olarak adsorblanmış diğer türlerden (iyonlar ya da moleküller) oluşur.
- 2- Difüz tabaka (d_1 'dan d_2 'e); bu tabakada elektrot yüzeyinden uzaklaştıkça ortaya çıkan gerilim üstel olarak azalır.

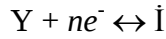
Elektrot yüzeyindeki ve yüzeye bitişik çözeltideki bu yük topluluğu ‘‘elektriksel çift tabaka’’ olarak adlandırılır (Bard ve Faulkner, 1980; Skoog ve ark., 1998). Şekil 2.5'te elektriksel çift tabakanın görünümü ve elektrot yüzeyinden uzaklaştıkça gerilim değişimi verilmiştir (Skoog ve ark., 1998; Gündüz, 2004).



Şekil 2.5. Elektrot yüzeyinde oluşan elektriksel çift tabaka.

2.5. Elektrot Gerilimi-Analit Derişimi İlişkisi ve Faradayik İşlemler

Kontrollü gerilimin uygulandığı elektroanalitik deneylerde amaç, hedef analitin derişimiyle orantılı olan akım yanıtını elde etmektir. Elektrot-elektrolit ara yüzeyinde meydana gelen redoks tepkimesi sırasında akım, elektronların doğrudan aktarımı yoluyla iletilir. Çözelti ve elektrot arasındaki yüzeyden akımın iletimi sırasında, elektrotlardan birinde yükseltgenme, diğerinde ise indirgenme tepkimesi oluşur. Bu tepkimeler genel olarak;



Y ve $\dot{I}$ 'nin, sırasıyla, redoks çiftinin yükseltgenmiş ve indirgenmiş şeklini ifade ettiği tepkime ile gösterilmektedir. Termodinamik kurallarla kontrol edilen sistemlerde, elektrot gerilimi (E), elektroaktif türünün elektrot yüzeyindeki derişiminin (C_0 ve C_R), Nernst Denklemine göre saptanmasında kullanılabilir.

$$E = E^0 + (2.3RT/nF) \log C_0/C_R$$

E^0 = Redoks tepkimesi için standart gerilim

R = Gaz sabiti ($8.314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$)

T = Sıcaklık ($^{\circ}\text{K}$)

n = Elektrot tepkimesinde aktarılan elektron sayısı

F = Faraday sabiti ($96.487 \text{ coulomb mol}^{-1}$)

Bir elektrottaki kimyasal madde miktarının geçen akımla doğru orantılı olduğunu ifade eden bu tip işlemlere “faradayik işlemler”, bu şekilde oluşan akımlara da “faradayik akımlar” adı verilir.

Analizlenecek madde ve ürünlerin derişimleri yalnızca elektrot yüzeyinden uzaklığın bir fonksiyonu olarak ve Nernst tabakası içinde değişir (Bard ve Faulkner, 1980; Wang, 2000).

2.6. Elektrokimyasal Hücrede Kütle Aktarım Yolları

Elektrokimyasal hücrede maddenin bir yerden başka bir yere hareketine kütle aktarımı denir. Hücrede elektrot yüzeyine kütle aktarımı üç yolla gerçekleşir. Bu kütle aktarım yolları, elektriksel göç (migrasyon), difüzyon ve karıştırma (konveksiyon) olarak adlandırılır. Uygulanan analizin türüne de bağlı olarak bu olaylardan biri ya da birkaçı kütle aktarımına katkı sağlar.

Elektriksel Göç (Elektriksel Migrasyon): Elektriksel alanın etkisi altındaki yüklü parçacıkların hareketidir. Pozitif yüklü iyonların negatif yüklü elektroda ya da negatif yüklü iyonların pozitif yüklü elektroda hareketi ile sağlanır. Hemen tüm elektrokimyasal analiz yöntemlerinde elektriksel göç etkisi istenmez, bunu engellemek için genelde elektrolit çözeltisine bu göçü kendi üzerine alacak KCl, HNO₃ gibi derişimi 0.1–1 M arasında değişen elektrolitler katılır.

Karıştırma (Konveksiyon): Sıcaklık/yoğunluk farkına ya da çözeltinin karıştırılması, elektrodun döndürölmesi, titreştirilmesi ile oluşan mekanik bir harekete dayanan bir kütle aktarım yoludur. Genellikle akan bir sıvı yoğunluk farkından dolayı doğal bir konveksiyon meydana getirirken, karıştırma ise dış bir etki ile konveksiyon oluşturur.

Difüzyon: Elektrotta tüketilen elektroaktif maddenin arayüzeyde azalan derişimini artırmak üzere çözeltiden madde aktarımı difüzyon adını alır. Difüzyonla kütle aktarımının hızı, arayüzeyle çözeltinin iç kesimleri arasındaki derişim farkına ve elektroaktif madde ile çözücünün türlerine bağlıdır. Difüzyon, kütle aktarım çalışmalarında üzerinde en çok çalışılandır. Elektrokimyasal sistemler genelde bir ya da iki kütle aktarım türlerinin yok sayılacağı şekilde tasarlanır (Yıldız ve ark.,1997; Bauer ve ark, 1978; Skoog ve ark., 1998).

2.7. Elektrokimyasal Hücrede Akımlar

Elektrokimyasal yöntemlerin çok az bir kısmı hücreden akım geçmezken yapılan ölçümlere dayanır. Ancak diğer pek çok yöntemde hücreden geçen akım ve bu akımların ölçümü önemlidir. Akımın ölçüldüğü sistemlerde hücre davranışlarının incelenmesi gerekmektedir. Elektrik akımı hücre içinde iyon hareketliliği ile sağlanır. Düşük akımlarda ‘‘Ohm Yasası’’ geçerlidir. Ohm Yasası;

$$E = I.R$$

eşitliği ile tanımlanır. Burada

E = Volt cinsinden iyon hareketliliğini sağlayan gerilim farkını

I = Amper cinsinden akımı

R = Ohm cinsinden elektrolitin akıma olan direncini göstermektedir.

Bir elektrokimyasal hücreden doğru akım geçtiğinde hücre gerilimi daha önce hesaplanan değerlerden sapmalar gösterir. Bu sapmalar omik direnç, yük aktarım aşırı gerilimi, tepkime aşırı gerilimi, difüzyon aşırı gerilimi ve kristalizasyon aşırı gerilimi gibi polarizasyon faktörlerinden kaynaklanabilir.

2.7.1. Akımın hücre gerilimine etkisi

2.7.1.1. Omik gerilim (IR düşüşü)

Gerek elektrolitik gerekse galvanik hücrelerde akımın geçişi hücre gerilimini etkiler. Bu etki kısmen akımın geçişine hücrenin göstermiş olduğu dirençten kaynaklanır. Bu ‘‘R’’ direncini yenebilmek için fazladan uygulanması gereken gerilim farkı Ohm Yasası’na göre IR olup buna ‘‘omik gerilim’’ ya da ‘‘IR düşüşü’’ denir.

Sonuçta elektrolitik bir hücrenin çalışması için hücre gerilimi teorik değerden IR kadar fazla, galvanik hücrelerde ise IR kadar az olur. Bu yüzden her iki hücre için IR düşüşü termodinamik gerilimden çıkarılır.

$$E_{\text{hücre}} = E_k - E_a - IR$$

2.7.1.2. Polarizasyon

Birçok önemli elektroanalitik yöntem, hücredeki akım değişiminin gerilim değişiminin bir fonksiyonu olarak ölçüldüğü akım-gerilim eğrilerine dayanır. Hücreden akım geçmesi durumunda akımın çok yüksek değerlerinde bu eğrilerde doğrusallıktan sapmalar baş gösterir. Bu sapmaya ‘‘polarizasyon’’ denir. Polarizasyon terimi, bir elektrokimyasal hücrede ya da bir elektrotta akım geçişi sırasında gerilimin teorik gerilim ve IR düşüşü ile hesaplanan değerden sapmasını ifade eder. Bu yüzden polarize olmuş elektrolitik hücrelerde belirli bir akım değerini elde etmek için teorik değerden η kadar daha büyük, galvanik hücrelerde ise η kadar daha küçük bir gerilim uygulanmalıdır. Bu durumda hücre gerilimi:

$$E_{\text{hücre}} = E_k - E_a - IR - \eta$$

eşitliği ile verilir. Bazı durumlarda akım, hücre geriliminde bağımsız hale gelir ki buna da ‘‘tam polarizasyon’’ denir. Polarizasyon başlıca iki kısımda incelenir.

2.7.1.2.1. Derişim polarizasyonu

Hızlı ve tersinir yürüyen bir elektrot olayında, elektrot- elektrolit ara yüzeyinde hücreden akım geçtiği zaman, tepkimeye giren maddelerin derişimleri azalır. Bu azalışı karşılamak için Ohm Yasası gereğince gerilimle doğrusal bir akım elde etmek amacıyla tepkimeye giren maddelerin hızla elektrot yüzeyine taşınması gerekmektedir. Eğer bu taşınma hızı tepkime hızına ayak uyduramıyorsa akım teorik değere göre düşer ya da aynı akımı elde edebilmek için teorik değerden daha büyük bir gerilim uygulamak gerekir. İşte derişim değişmesine dolayısıyla madde taşınma hızına bağlı olarak gerilimin teorik değerden sapmasına bağlı bu polarizasyon türüne ‘‘derişim polarizasyonu’’ denir. Derişim polarizasyonu pek çok elektroanalitik yöntemde oldukça önemlidir. Bazı yöntemlerde ortadan kaldırılmaya çalışılırken bazı yöntemlerde özellikle oluşturulmaya çalışılır.

Voltametrik yöntemlerde tam derişim polarizasyonunun olduğu koşullar altında çalışılmak istenir. Genel olarak derişim polarizasyonu koşullarını sağlamak için;

1-Analit derişimleri düşük tutulur.

2-Elektrolit derişimleri yüksek tutulur.

3-Elektrodun yüzey alanı küçük tutulur (mikro elektrotlarla çalışmak idealdir).

2.7.1.2.2. Kinetik polarizasyon (aşırı gerilim)

Elektrot-elektrolit ara yüzeyinde oluşan elektriksel çift tabakada her elektrot tepkimesinde analitin tepkimeye girmesi için aşması gereken bir enerji barajı vardır. Elektriksel çift tabaka tarafından oluşturulan bu barajın geçilmesi teorik değerden sapan bir gerilim uygulanmasını gerektirir. Sapan bu gerilim değerine “kinetik polarizasyon” ya da “aşırı gerilim” denir. Aşırı gerilim değerleri:

- 1) Birim elektrot yüzeyi başına düşen akım şiddetine (akım yoğunluğu)
- 2) Sıcaklık değişimlerine(sıcaklık artışıyla azalır)
- 3) Elektrodun kimyasal bileşimine
- 4) Elektrokimyasal tepkime sonucunda oluşan türlerin fiziksel durumuna (örneğin; tepkime sonucunda gaz ürünleri çıkışı olursa aşırı gerilim daha da büyüyecektir. Bunu önlemek amacıyla karşılaştırma elektrotlarının yüzey alanı akım yoğunluğunu azaltmak için mümkün olduğunca büyük tutulur. Eğer tepkime sonucunda elektrot yüzeyinde madde katı olarak birikmişse bu durumda aşırı gerilim ihmal edilecek düzeye iner
- 5) Bir dizi kontrol edilemeyen değişkenlere bağlıdır.

2.7.1.2.3. Yük aktarım polarizasyonu

Elektrotların birinde ya da her ikisinde birden yükseltgenme ya da indirgenme tepkimesinin hızı teorik olarak gerekli olan akımı oluşturabilecek kadar hızlı değilse, oluşan polarizasyona “yük aktarım polarizasyonu” denir (Yıldız ve ark., 1997; Skoog ve ark., 1998; Gündüz, 2004).

2.8. Elektrot Tepkime Hızını ve Akımını Etkileyen Faktörler

Elektrokimyasal hücrelerde akım ya da elektrot tepkime hızı başlıca dört faktör tarafından tayin edilir.

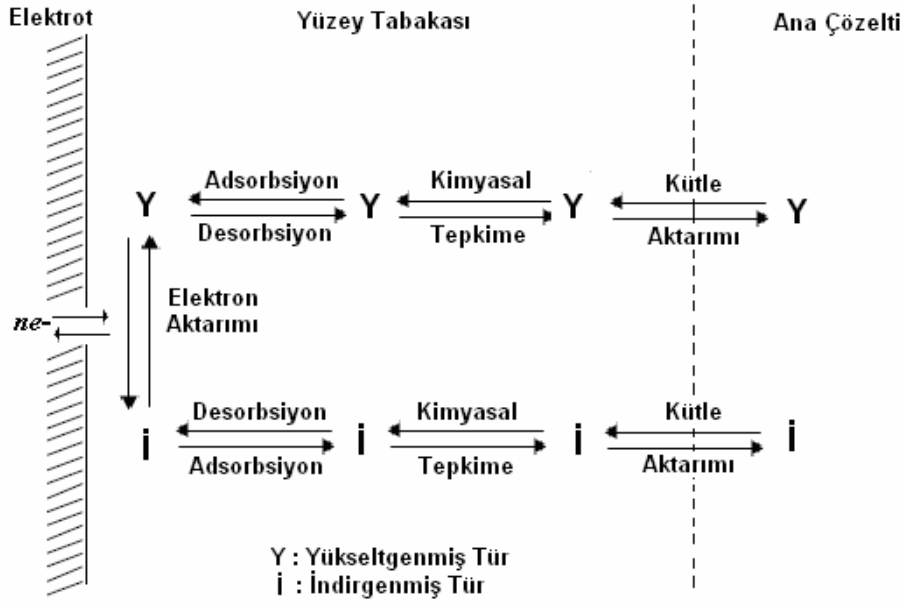
i-Analiz çözeltisinden elektroda doğru elektroaktif maddenin aktarımı (kütle aktarım hızı)

ii-Elektrot yüzeyinde elektroaktif madde ile elektrot arasındaki elektronların aktarım hızı

iii-Elektron aktarımı sırasında oluşan yükseltgenme-indirgenme tepkimeleri

iv-Diğer yüzey tepkimeleri (adsorpsiyon, desorpsiyon, kristalizasyon)

Şekil 2.6’da bir elektrokimyasal hücrede elektrot tepkime hızını etkileyen işlemlerin bölgesel gösterimleri verilmiştir.



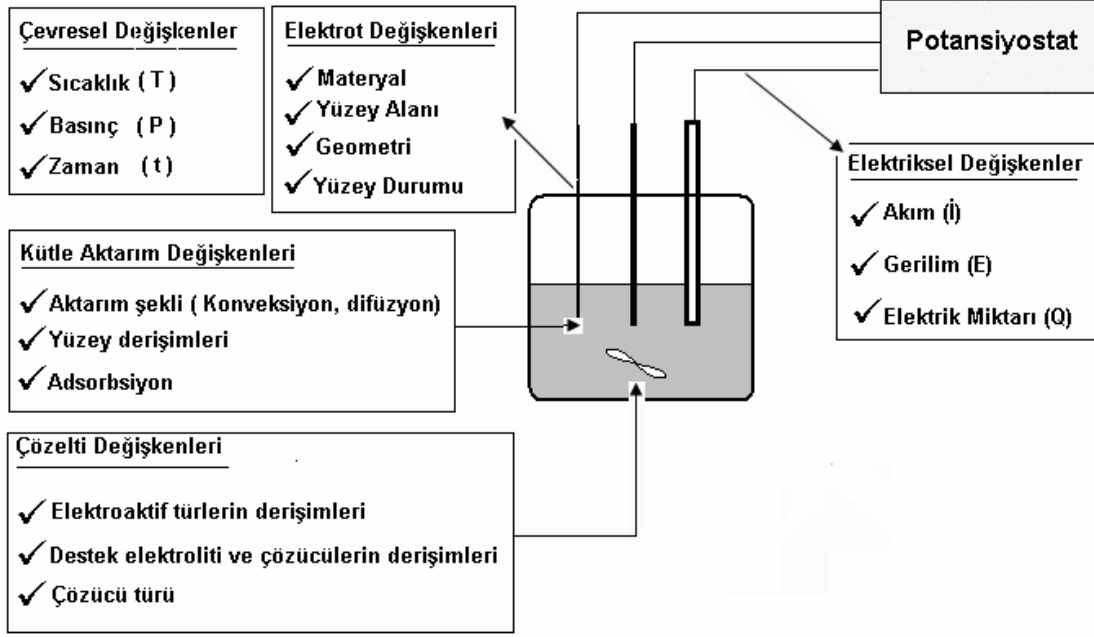
Şekil 2.6. Bir elektrottaki yükseltgenme ve indirgenme tepkimelerinin basamakları (Bard ve Faulkner'den, 1980).

2.9. Elektrokimyasal Hücrelerde Önemli Olan Değişkenler

Elektrokimyasal ölçümlerde amaç, analizi yapılan türler hakkında nitel, nicel, yapı aydınlatması vb. gibi veriler elde etmektir. Bu verilerin sağlanmasında analizi

gerçekleştirilecek olan türün (ya da türler) derişimi; analizin gerçekleştirildiği çevresel koşullar, kullanılacak cihaza ait değişkenler gibi pek çok faktör tarafından belirlenir. En iyi verilerin elde edilmesi ancak bu değişkenlerin en uygun koşullarının oluşturulması ile sağlanacaktır.

Şekil 2.7’de elektrokimyasal hücrelerde önemli olan değişkenler sunulmuştur.



Şekil 2.7. Elektrokimyasal hücrelerde önemli olan değişkenler

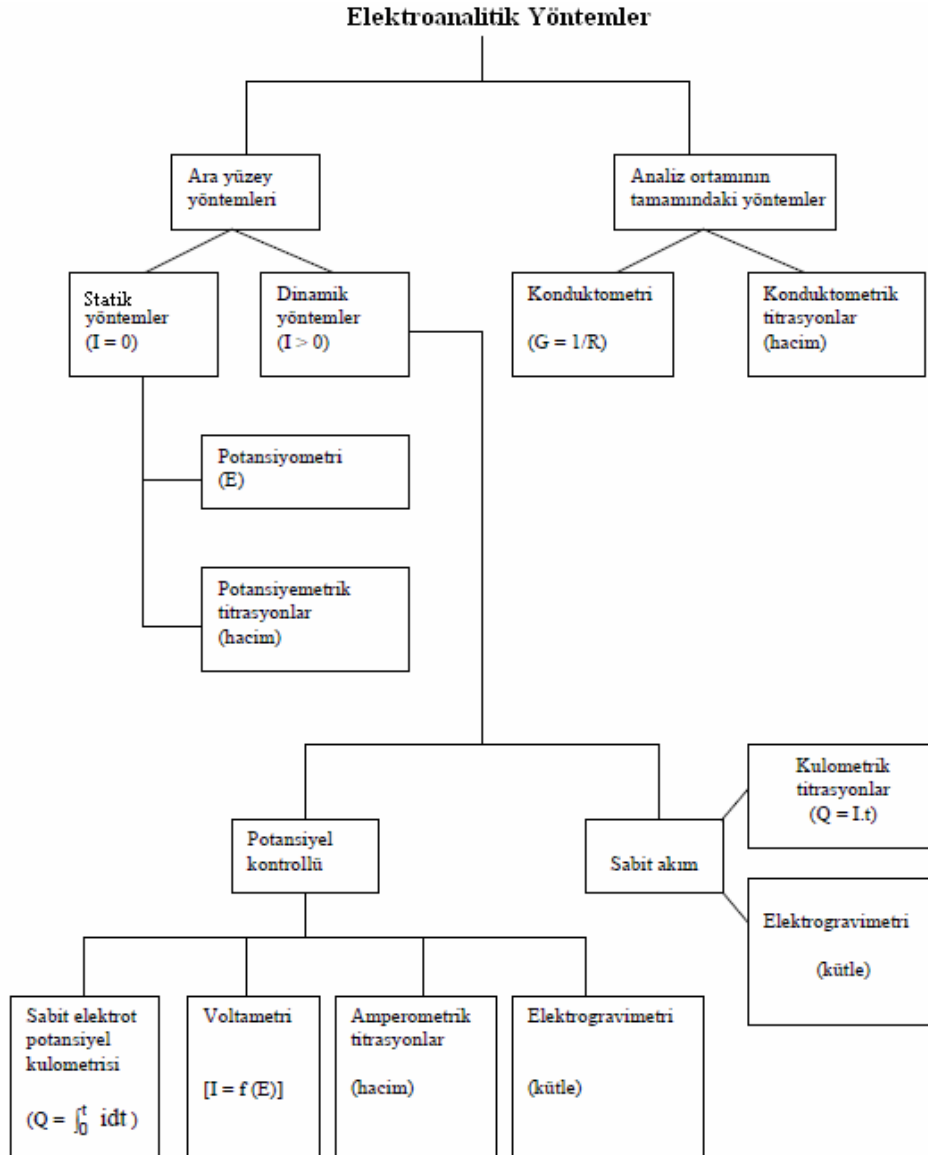
2.10. Elektroanalitik Yöntemler

Elektroanalitik yöntemler, ara yüzey yöntemleri ve analiz ortamının tamamında gerçekleşen yöntemler olmak üzere iki ana başlık altında incelenirler. Ara yüzey yöntemleri elektrot yüzeyleri ile bu yüzeye hemen bitişik konumdaki ince tabakadaki (elektriksel çift tabaka) çözelti arasında gerçekleşen olayları inceler. Analiz ortamının tamamındaki yöntemler ise çözeltinin tamamında gerçekleşen olayları incelemek üzerine kurgulanmıştır ve ara yüzey olaylarından olabildiğince uzak durulur.

Ara yüzey yöntemleri, elektrokimyasal hücrelerin akımın varlığında ya da yokluğundaki işleyişine göre durağan (statik) ve dinamik olmak üzere iki ana sınıfa ayrılır. Statik yöntemlerin hızlarının ve seçiciliklerinin elektroanalitik kimyada ayrı bir

önemi olsa da akımın çok önem taşıdığı dinamik ara yüzey yöntemleri elektroanalitik kimyada daha yaygın bir kullanım alanına sahiptir.

Şekil 2.8’de yaygın olarak kullanılan elektroanalitik yöntemler gösterilmiştir.



Şekil 2.8. Yaygın elektroanalitik yöntemlerin şematik gösterimi (Gökçe, 2004)

2.11. Voltametri

Voltametri; bir çalışma (indikatör) elektrodunun polarize olduğu koşullar altında elektroda uygulanan gerilimin bir fonksiyonu olarak akımın ölçülmesinden yararlanılarak analit hakkında bilgi edinilen elektroanalitik yöntemler grubudur.

Voltametri de elektrot gerilimi, faradayik akım ya da her ikisi birden zamanla değiştirilir (Bond ve ark., 1989; Yaacob, 2006). Uygulanan gerilimin bir fonksiyonu olarak elektroaktif türlerin derişimleri ile doğrudan orantılı akım eğrilerine “voltamogram” denir. Voltamogram, çalışma elektrodu üzerinde indirgenme, yükseltgenme ya da her ikisinin de gerçekleştiği türler hakkında nitel ve nicel bilgi verir.

Voltametrik tekniklerin üstün yanı; eser miktardaki metallerin, organik ve inorganik bileşiklerin saptanmasına olanak sağlaması (Fifield ve Kealey, 2000), elektroaktif (elektrot tepkimesine katılan) türlere karşı seçiciliğe sahip olması (Barek ve ark., 2001a), geniş bir doğrusal çalışma aralığına izin vermesi, taşınabilir ve düşük maliyetli analiz yapılabilmesidir. Günümüzde çok sayıda çevresel (Inam ve Somer, 1998; Zhang ve ark., 2002; Ghoneim ve ark., 2000; Buffle ve ark., 2005; Levent ve ark., 2009), ilaç (Şentürk ve ark., 2000; Berzas ve ark., 2000; Özkan ve ark., 1997; Özkan ve ark., 2002; Özkan ve ark., 2004; Fraga ve ark., 1998; Demircigil ve ark., 2003; Kontoyannis ve ark., 1999; Doğan ve ark., 2005; Yardımcı ve ark., 2001; Abdine ve ark., 2002; Hilali ve ark., 2003 ve Carapuca ve ark., 2005; Uslu ve ark., 2006) gıda (Ximenes ve ark., 2000; Karadjova ve ark., 2000; Sanna ve ark., 2000), boya (Gooding ve ark., 1997) ve adli (Liu ve ark., 1980; Wasiak ve ark., 1996; Wooler ve Dewald, 2001) özellikli örneklerin analizi voltametrik tekniklerle gerçekleştirilmektedir.

Voltametrik teknikler; çalışma elektroduna bağlı olarak çeşitli ortamlarda oluşan yükseltgenme-indirgenme olaylarının, yüzeydeki adsorpsiyon olaylarının ve kimyasal olarak modifiye edilmiş elektrot yüzeylerindeki elektron aktarım mekanizmalarının temel çalışmalarını kapsayan ve analitik olmayan amaçlarla da (anorganik kimya, fizikokimya, biyokimya, vb. alanında) yaygın olarak kullanılmaktadır (Skoog ve ark., 1998).

Geçen birkaç yıl boyunca geliştirilen yeni elektrot şekil ve tasarımı (modifiye elektrotlar), elektrot aktivasyon işlemleri ve modern teknikler (puls-dalga formları,

adsorptif teknikler, sıyırma) kullanılarak gerçekleştirilen “katı elektrot voltametrisi sayesinde” pikomolar altı derişim düzeylerinde çalışmaya izin olanak vermesi bu tekniklerin diğer bir üstünlüğüdür. Voltametrik tekniklerin ve diğer analitik tekniklerin farklı uygulama alanlarındaki karşılaştırması Çizelge 2.1’de verilmiştir (Czoe ve Wang,1999; Barek ve ark. 2001a).

Çizelge 2.1. Çeşitli analitik tekniklerin uygulama aralığı ve derişim aralığının farklı kimyasal analiz uygulama alanları ile karşılaştırılması.

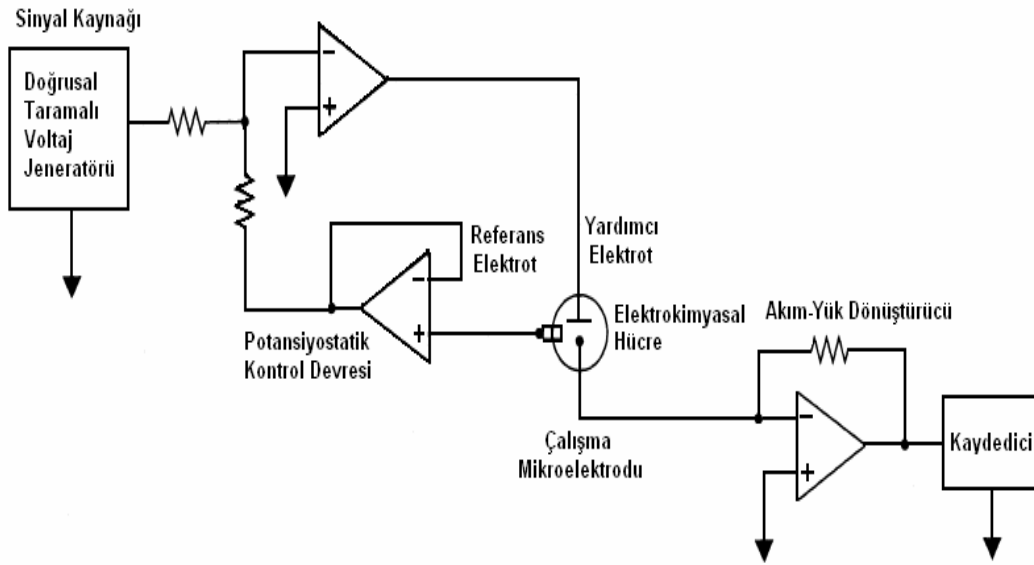
UYGULAMA ALANLARI	DERİŞİM ARALIĞI/M
Çevresel Görüntüleme	10^{-12} - 10^{-4}
Toksikoloji	10^{-11} - 10^{-2}
İlaç Analizleri	10^{-10} - 10^{-4}
Besin Denetimi Analizleri	10^{-8} - 10^{-4}
Adli Tıp Analizleri	10^{-7} - 10^{-3}
ANALİTİK TEKNİKLER	UYGULAMA ARALIĞI
Adsorptif Sıyırma Voltametrisi	10^{-12} - 10^{-7}
Anodik/ Katodik Sıyırma Voltametrisi	10^{-11} - 10^{-6}
Diferansiyel Puls Voltametrisi	10^{-8} - 10^{-3}
Diferansiyel Puls Polarografisi	10^{-7} - 10^{-3}
Tast Polarografisi	10^{-6} - 10^{-3}
Doğru Akım Polarografisi	10^{-5} - 10^{-3}
Spektrofotometri	10^{-6} - 10^{-3}
Elektrokimyasal Dedektörlü HPLC	10^{-7} - 10^{-3}
Floresans Dedektörlü HPLC	10^{-9} - 10^{-3}
Spektrofluorometri	10^{-9} - 10^{-3}
Atomik Absorbsiyon Spektrometrisi	10^{-8} - 10^{-3}
Atomik Floresans Spektrometrisi	10^{-9} - 10^{-3}
Radyoimmünoanaliz	10^{-13} - 10^{-3}
Nötron Aktivasyon Analizi	10^{-9} - 10^{-3}
X-Ray Floresans Analizi	10^{-7} - 10^{-3}
Kütle Spektrometrisi	10^{-9} - 10^{-3}

2.11.1. Voltametrik düzenek

Voltametrik ölçümler; çalışma elektrodu, karşılaştırma elektrodu ve yardımcı elektrodu içeren üçlü elektrot sistemi içinde yürütülür. Tüm düzenek; çeşitli hacim kapasitelerine sahip voltametrik hücreden, manyetik karıştırıcıdan ve sisteme sinyal sağlayan gerilim kaynağından (potansiyostat) ibarettir. Bazı sistemlerde elektrolit çözeltisindeki oksijeni uzaklaştırmak amaçlı inert gaz borusu da voltametrik düzeneğe eklenir (Reinke ve Simon, 2002; Colombo ve Van den Berg, 1998).

Hücrede bulunan çalışma elektrodunun gerilimi doğrusal olarak değiştirilir. Polarizasyonun sağlanması amacıyla çalışma elektrodunun yüzeyi olabildiğince küçük tutulur. Karşılaştırma elektrodu olarak sıklıkla doygun kalomel elektrot ya da gümüş/gümüş klorür elektrodu kullanılır. Ölçüm boyunca karşılaştırma elektrodunun gerilimi sabit kalır. Üçüncü elektrot olarak hücredeki geçirgenliği sağlamak amacıyla yüzeyi büyük tutulan yardımcı elektrot (genellikle inert platin) kullanılır.

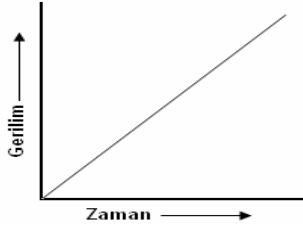
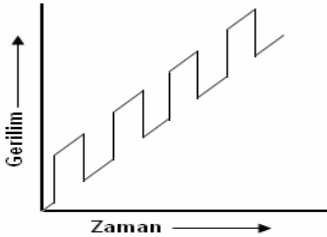
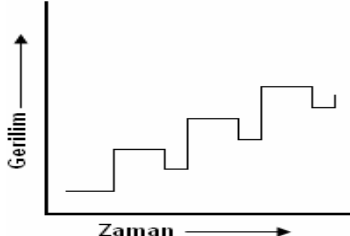
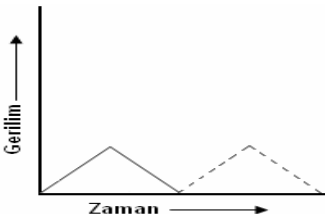
Sinyal kaynağı doğrusal taramalı voltaj jeneratörüdür. Buradan gönderilen sinyal, direnci çok büyük olan ($\sim 10^{11} \Omega$) potansiyostatik kontrol devresine gelir. Böylelikle akım ihmal edilecek düzeye indirilir. Kaynaktan gelen akım doğrudan yardımcı elektroda gider. Potansiyostatik kontrol devresi akımı ayarlayarak voltaj jeneratörü ile çalışma ve karşılaştırma elektrotlarının gerilimlerinin aynı olmasını sağlar. Sonuçta devreden geçen akım gerilime dönüştürülerek zamana karşı grafiğe geçirilir. Şekil 2.9'da modern voltametrik cihazlardaki potansiyostatik sistem diyagramı gösterilmiştir.



Şekil 2.9. Voltametrizde üç elektrotlu potansiyostatik sistem diyagramı.

2.11.2. Voltametrizde uyarma sinyalleri

Voltametrizde, çalışma elektroduna değiştirilebilir bir gerilim uyarma sinyali uygulanır. Bu uyarma sinyali, özel bir akım yanıtı oluşturur. Voltametrizde en çok kullanılan dört uyarma sinyalinin (doğrusal taramalı, diferansiyel puls, kare dalga ve üçgen) şekli Şekil.2.10'da verilmiştir.

İsmi	Dalga Şekli	Voltametri Tipi
Doğrusal Taramalı		Polarografi Hidrokinamik Voltametri
Difarensiyel Puls		Difarensiyel Puls Polarografisi Diferansiyel Puls Voltametrisi
Kare Dalga		Kare-Dalga Voltametrisi
Üçgen		Dönüşümlü Voltametri

Şekil 2.10. Voltametrizde en çok kullanılan uyarma sinyalleri (Skoog ve ark., 1998).

2.11.3. Voltametrizde kullanılan destek elektroliti ve çözücüler

Elektrokimyasal ölçümler bir çözücü-destek elektroliti sisteminde yapılır. Voltametrik ölçümlerde kullanılan çözücünün ve destek elektrolitinin çok saf olması önemlidir. Yapılacak olan ölçüm öncesi çözücü ve destek elektrolitinin belirlenmesi gerekmektedir.

Seçilecek olan çözücünün elektrokimyasal inertlik, elektriksel iletkenlik, çözme gücü, kimyasal inertlik, vizkozite, dielektrik sabiti, kolay bulunabilirliği, ucuzluğu ve kolay saflaştırılabilir olması özelliklerinin bilinmesi gereklidir. Ayrıca çözücü, analit ile tepkimeye girmemeli ve geniş bir gerilim aralığında elektrokimyasal inert olmalıdır. Su, en çok kullanılan çözücü olup genellikle iki kez arıtılmış olması yeterlidir. Organik çözücülerden dimetilformamid (DMF), dimetilsülfoksit (DMSO), asetonitril ve metanol sıklıkla kullanılan çözücülerdir. Bazı uygulamalarda çözücü karışımları da kullanılmaktadır. DMF'nin toksik olması ve istenmeyen tepkimelere girmesi gibi olumsuzlukları vardır. Bu nedenle DMSO ve asetonitril, DMF'ye göre daha uygun çözücülerdir. DMSO'nun tek olumsuz yanı çalışma aralığının dar olmasıdır. Piyasada çok saf bulunur ve herhangi bir saflaştırma işlemine gerek duyulmadan kullanılır.

Destek elektroliti ise çözünmüş örneğe;

- a) çözelti iletkenliğinin sağlanması,
- b) pH değerinin kontrolü (verilen gerilim aralığında organik maddelerin elektroaktifliğinin korunması ve inorganik maddelerin hidroliz olmaması için),
- c) bazı kompleks oluşumlarının iyi ayrılmış ve iyi geliştirilmiş piklerinin elde edilmesi,
- d) hidrojen pik değerlerinin daha negatif gerilimlere kaydırılması ve hidrojen pikinin katalitik etkilerinin yok edilmesi için eklenmek zorundadır (Heyrovsk ve Zuman, 1968).

Destek elektrolitinin bileşimi voltametrik ölçümlerin seçiciliğini etkileyebilir. İdeal elektrolit, tayin edilen türlerin eşzamanlı tayini için iyi tanımlanmış ve iyi ayrılmış pikler vermelidir. Voltametrik yöntemlerin duyarlılığından dolayı destek elektrolitindeki bazı safsızlıklar yapılan işlemin doğruluğunu etkileyebilmektedir. Bu nedenle destek elektrolitleri oldukça yüksek saflıktaki belirteçlerden hazırlanmalı ve kolaylıkla yükseltgenip indirgenmemelidir. Destek elektroliti derişimi, diğer tüm

elektroaktif türlerin derişiminden büyük olmalıdır. Genel olarak 0.1–1 M arasındaki çözelti derişimlerinde hazırlanır. Bu derişim değerleri, en az kontaminasyon ve yüksek bir iletkenlik sağlar (Wang, 2000).

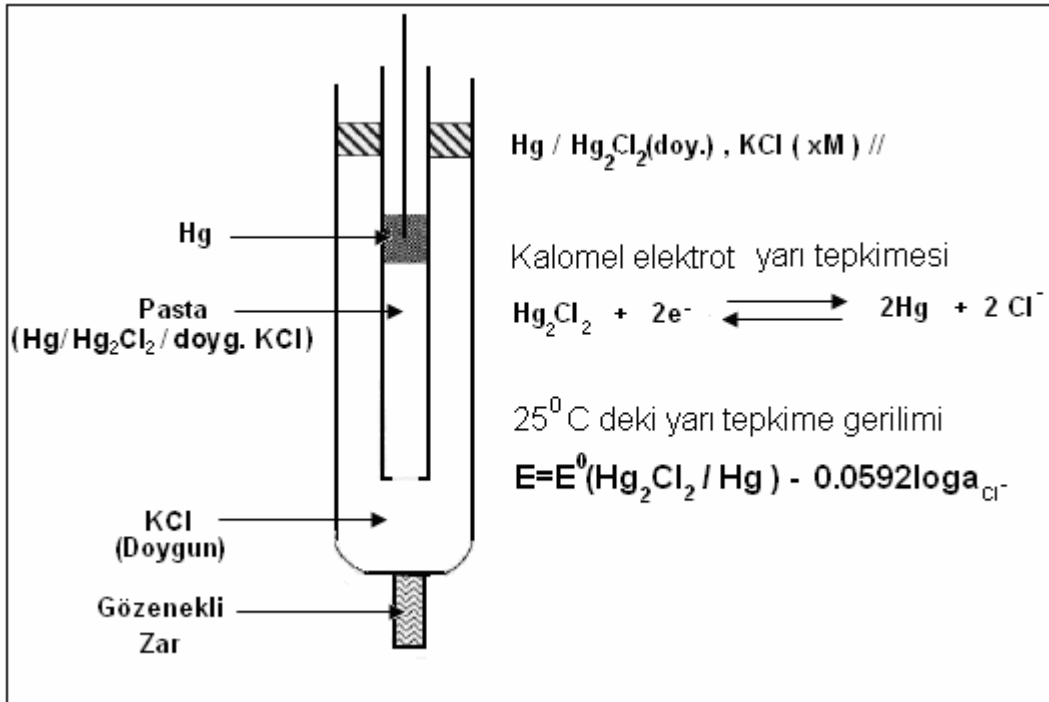
2.11.4. Voltametrde kullanılan karşılaştırma elektrotları

Birçok elektroanalitik uygulamada, elektrotlardan birinin yarı-hücre geriliminin sabit olması, çalışılan çözeltinin bileşiminden bağımsız olması ve değerinin bilinmesi istenir. Bu özelliklere sahip elektrotlara karşılaştırma (referans) elektrotları denir. İdeal özellikteki bir karşılaştırma elektrodu tersinirdir ve Nernst eşitliğine uyar. Zamanla değişmeyen bir gerilime sahiptir (Hyrovsky and Zuman, 1968). Küçük bir akım altında bile tekrar önceki gerilimine döner. Her ne kadar bu koşulları tamamen karşılayan bir karşılaştırma elektrodu bulunmamakla birlikte kalomel ve gümüş karşılaştırma elektrotları bu özelliklere yakın davranışlar sergilerler.

Standart hidrojen elektrodu (SHE), elektrokimyasal çalışmalarda ilk kullanılan karşılaştırma elektrodu olmasına karşın ideal koşulların çoğuna sahip olmayışı ve kullanımı esnasında karşılaşılan zorluklar nedeniyle yerini kalomel ve gümüş/gümüş klorür elektroduna bırakmıştır.

En çok kullanılan karşılaştırma elektrotları:

Kalomel Karşılaştırma Elektrodu: Kalomel elektrotlar, doygun civa(I) klorür (Hg_2Cl_2) ile temas halindeki civadan oluşur ayrıca bilinen derişimde potasyum klorür (KCl) içerir. Şekil 2.11’de tipik bir kalomel elektrodunun şematik gösterimi, ilgili yarı tepkimesi ve 25°C ’deki yarı hücre gerilimi gösterilmiştir.



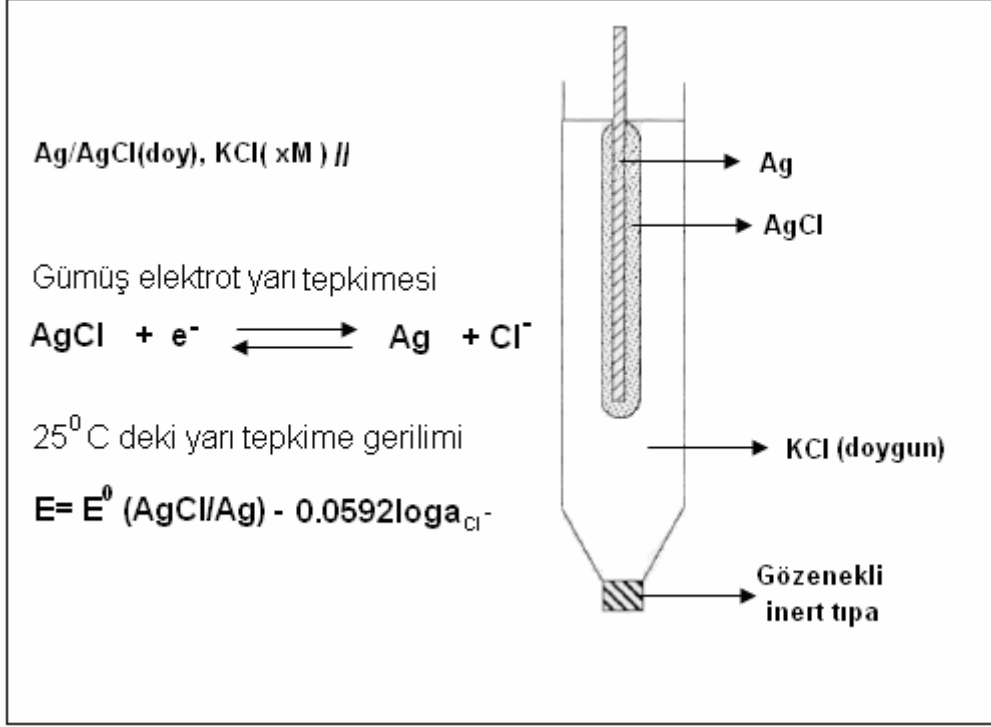
Şekil 2.11. Tipik bir kalomel karşılaştırma elektrodu ve ilgili eşitlikler.

Bu elektrodun gerilimi yalnızca elektrot içerisindeki klorür iyonunun aktifliğine bağlı olarak değişir. Bunların verdikleri gerilim az çok sıcaklığa bağlıdır. Bu elektrotlardan en çok kullanılanı doygun kalomel elektrot (DKE) olup gerilimi sıcaklıkla diğerlerine göre daha fazla değişmesine karşın akım alımlarına karşı çok dayanıklıdır. DKE'un SHE'a karşı 25⁰C de ölçülen gerilimi + 0.244 V olarak bulunmuştur. Farklı derişimlere ve sıcaklığa bağlı kalomel elektrodunun gerilimindeki değişimler Çizelge 2.2'de verilmiştir.

Çizelge 2.2. Kalomel karşılaştırma elektrodunun geriliminin sıcaklıkla ve derişimle değişimi.

Farklı Derişimlerde Cl ⁻ İyonu İçeren Kalomel Elektrot Gerilimleri			
Sıcaklık(⁰ C)	0.1 M KCl	3.5 M KCl	Doygun KCl
15	0.336 V	0.254	0.251
25	0.335 V	0.250	0.244
38	0.334 V	0.244	0.235

Gümüş/Gümüş Klorür Karşılaştırma Elektrodu: Bu elektrot gümüş klorür ile kaplanmış bir gümüş telin belli derişimdeki klorür çözeltisine daldırılması ile elde edilir. Şekil 2.12’de tipik bir gümüş/gümüş klorür elektrodunun şematik gösterimi, ilgili yarı tepkimesi ve 25⁰C deki yarı hücre gerilimi gösterilmiştir.



Şekil 2.12. Tipik bir Ag/AgCl karşılaştırma elektrodu ve ilgili eşitlikler.

Bu elektrot ya doygun KCl ya da 3.5 M lık KCl çözeltisiyle hazırlanır. Bu elektrotlar kalomel elektrotlara göre daha yüksek sıcaklıklarda çalışmaya olanak vermesi açısından daha kullanışlıdır. Ayrıca civa(I) iyonları gümüş iyonlarına kıyasla daha az örnek bileşeniyle tepkimeye girer. Bu tür tepkimeler, elektrotla analit çözeltisi arasındaki bağlantının tıkanmasına neden olabilir. Farklı derişimlere ve sıcaklığa bağlı gümüş/gümüş klorür elektrodunun gerilimindeki değişimler Çizelge 2.3’te verilmiştir.

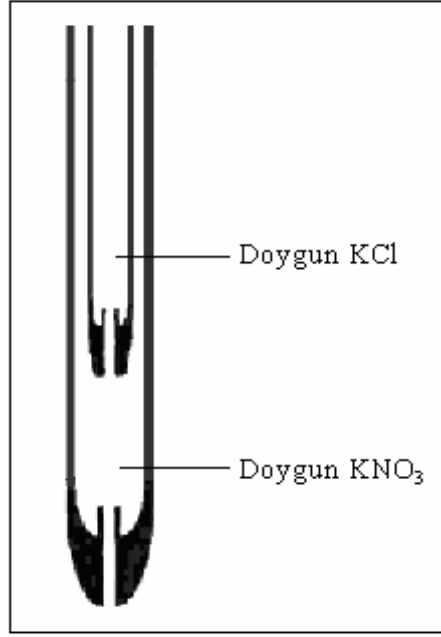
Çizelge 2.3. Gümüş/gümüş klorür karşılaştırma elektrodunun geriliminin sıcaklıkla ve derişimle değışimi.

Farklı Derişimlerde Cl ⁻ İyonu İçeren Gümüş/Gümüş Klorür Elektrot Gerilimleri		
Sıcaklık(°C)	3.5 M KCl	Doygun KCl
15	0.212 V	0.209 V
25	0.205 V	0.199 V
35	0.197 V	0.189 V

Yüksek sıcaklıklarda da kullanıma olanak verdiğiinden gümüş/gümüş klorür elektrodunun en sık kullanılan karşılaştırma elektrodu olduğu söylenebilir (Pietryzk ve Frank, 1979; Evans, 1991; Yıldız ve ark., 1997; Skoog ve ark., 1998).

2.11.4.1. Karşılaştırma elektrotlarının kullanımında dikkat edilecek hususlar

Karşılaştırma elektrotları kullanırken, elektrot çözeltisinin kirlenmesini ve iç çözeltiden gelen gümüş ya da civa(I) iyonları ile analit çözeltisinin tepkimesinden dolayı bağlantının tıkanmasını önlemek için iç sıvı düzeyinin örnek çözeltisinin üstünde olmasına özen gösterilmelidir. Bağlantının tıkanması gerilim ölçümlerinin en önemli hatalarındandır. Sıvı düzeyinin analit çözeltisinin üstünde olması örnek çözeltisinin kirlenmesini kaçınılmaz kılar. Pek çok durumda kirlenme dikkate alınamayacak kadar küçükken klor, potasyum, gümüş ve civa gibi iyonların tayininde fazladan önlem alınmalıdır. Bu iyonların analizi esnasında karşılaştırma elektrodu arasına ikinci bir tuz köprüsü kurulur. Eklenen bu ikinci tuz köprüsü, KNO₃ ya da Na₂SO₄ gibi girişim oluşturmeyen elektrolitlerden seçilir. Bu tip elektrotlara çift-değmeli (double-junction) elektrotlar denir. Şekil 2.13'te çift-değmeli bir karşılaştırma elektrodunun kesiti şematize edilmiştir (Gündüz,2004).



Şekil 2.13. Çift-değmeli karşılaştırma elektrodu kesiti

2.11.5. Voltametrinde kullanılan çalışma elektrotları

Çalışma elektrodu yük aktarımının gerçekleştiği ve elektroaktif türlerin indirgenme/yükseltgenme tepkimelerinin gerçekleştiği elektrottur. Çalışma elektrodu, gerilimi kontrol eder ve hücre direncinden gelen hataları azaltır. Voltametrinin performansı büyük oranda çalışma elektroduna bağlıdır. Bu elektrodun ideal özellikleri geniş bir gerilim aralığı, düşük direnç, yeniden oluşturulabilir yüzey ve yüksek sinyal-gürültü yanıtı sağlayabilmesidir. Elektrotların gerilim aralığı Çizelge 2.4’de özetlendiği gibi elektrolitin bileşimine ve elektrot materyaline bağlıdır (Wang 2000). Elektrokimyasal yöntemlerin çoğunda katodik gerilim alanı için civa elektrotlar, anodik işlemlerin gerçekleştirildiği deneylerde ise katı elektrotlar kullanılır.

Çalışma elektrodunu sınırlayan en önemli faktör, sulu çözeltilerde çalışırken pozitif gerilimlerde sudaki oksijenin yükseltgenmesi, negatif gerilimlerde ise sudaki hidrojenin indirgenmesidir.

Çizelge 2.4. Farklı tipteki çalışma elektrotlarının farklı elektrolit çözeltilerindeki gerilim aralıkları.

ELEKTROT	ELEKTROLİT	GERİLİM ARALIĞI
Hg	1M H ₂ SO ₄	+0.3 - -0.1 V
	1M KCl	0 - -1.9 V
	1M NaOH	-0.1 - -2.0 V
	0.1M Et ₄ NH ₄ OH	-0.1 - -2.3 V
Pt	1M H ₂ SO ₄	+1.0 - -0.5 V
	1M NaOH	+0.5 - -1.0 V
C	1M HClO ₄	+1.5 - -1.0 V
	1M KCl	+1.0 - -1.3 V

Voltametrde sıklıkla kullanılan çalışma elektrotları aşağıdaki şekilde sınıflandırılabilir:

- 1-Civa elektrotlar
- 2-Katı elektrotlar
- 3-Kimyasal modifiye elektrotlar
- 4-Mikroelektrotlar

2.11.5.1. Civa elektrotlar

Civa ilk voltametrik teknik olan polarografide kullanılan çalışma elektrodudur. Civa elektrodu, hidrojen iyonunun hidrojen gazına indirgenmesi için istenenden yüksek gerilime sahip olması gibi üstünlüğe sahiptir. Bu özelliği standart kalomel elektroda karşı asidik çözeltilerde -1.0 V, diğer çözeltilerde ise -2.0 V' kadar negatif gerilimlere inilebilmesine olanak sağlar (Çizelge 2.5). Çalışma elektrodu olarak civa kullanmanın diğer üstün yanı, civa içinde metallerin çözünmelerinin amalgam şeklinde sonuçlanmasıdır. Bu elektrodun en büyük üstünlüğü ise her yeni damla ile yeni ve ince bir film tabakasının kolaylıkla oluşturulabilmesi ve bu temizleme işlemiyle önceki analizden kalan kirliliklerin oluşturduğu sorunların ortadan kaldırılmasıdır. Civa elektrodun önemli sakıncası, +0.3 V'da kolaylıkla yükseltgendiğinden dolayı standart kalomel elektroda karşı çözelti bileşimine bağlı olarak +0.4 V'dan daha pozitif

gerilimlerde kullanılamamasıdır (Dahmen, 1986; Fifield ve Haines, 2000). Bu gerilimde civa çözülerek civa(I) oluşturur ve anodik polarografik dalga piki verir (Skoog ve ark., 1996). Ayrıca kullanılan civanın temizlenmesi, damlama süresinin ayarlanması, kılcalların tıkanması, civa buharlarının sağlığa zararlı olması, doğrudan dokuya uygulanamaması civa elektrodun voltametrik analizlerdeki diğer sakıncalarını oluşturmaktadır.

En çok kullanılan civa elektrot tipleri şunlardır:

- 1-Damlayan civa elektrot (dropping mercury electrode, DME)
- 2-Asılı civa damla elektrot (hanging mercury drop electrode, HMDE)
- 3-Civa-film elektrot (mercury-film electrode, MFE)

DME’de civa damlaları yerçekiminin etkisiyle kapiler borunun ucundan damlar. Sürekli damla akışının birkaç dakikayla sınırlı bir ömrü vardır. Bu sürenin sonunda ya yerçekimi ile veya elle civa damlası çıkarılır ve yeni bir damla yerleştirilir. HMDE’ de ise istenilen boyutta bir civa damlası oluşturulur ve ince kapiler bir borunun ucuna asılır. Civa; karbon, platin ve altın gibi uygun bir katı elektrot yüzeyinde elektrokimyasal biriktirilerek MFE de yapılabilir (Castro ve ark., 2004; Economou ve Fielden,1995).

Civa ve tuzlarının toksik olmaları nedeniyle 2000’li yıllarla birlikte çevre dostu bizmut-film elektrotları (bismuth-film electrode, BFE), MFE’ların yerini almaya başlamıştır. (Kefala ve ark., 2003; Morfobos ve ark., 2004; Economou, 2005; Lin ve ark., 2005a ve Lin ve ark.,2005b).

DME, elektrokapiler araştırmalar için polarografik teknikte, HMDE ise dönüşümlü voltametri ve sıyırma yöntemleri için çalışma elektrodu olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. MFE ise özellikle sıyırma yöntemlerinde çok kullanılır (Skoog ve ark., 1998; Wang, 2000).

Civa elektrodunun kullanıldığı modern polarografik/voltametrik teknikler için çalışma elektrotlarının tipleri ve gözlenebilirlik sınırları Çizelge 2.5’de verilmiştir.

Çizelge 2.5. Civa elektrodunun kullanıldığı modern polarografik ve voltametrik teknikler için çalışma elektrotları ve gözlenebilirlik sınırları.

TEKNİK	ÇALIŞMA ELEKTRODU	LOD/M
Normal Puls Polarografisi	Damlayan civa elektrot	$\sim 10^{-7}$
Normal Puls Voltametrisi	Asılı damla civa elektrot	$\sim 10^{-7}$
Diferansiyel Puls Polarografisi	Damlayan civa elektrot	$\sim 10^{-7}$
Diferansiyel Puls Voltametrisi	Asılı damla civa elektrot	$\sim 10^{-8}$
Kare Dalga Polarografisi	Damlayan civa elektrot	$\sim 10^{-8}$
Kare Dalga Voltametrisi	Asılı damla civa elektrot	$\sim 10^{-8}$
Alternatif Akım Polarografisi	Damlayan civa elektrot	$\sim 10^{-7}$
Alternatif Akım Voltametrisi	Asılı damla civa elektrot	$\sim 10^{-8}$
Anodik Sıyırma Voltametrisi	Damlayan civa elektrot	$\sim 10^{-10}$
Katodik Sıyırma Voltametrisi	Civa-film elektrot	$\sim 10^{-9}$
Potansiyometrik Sıyırma Analizi	Civa-film elektrot	$\sim 10^{-12}$

2.11.5.2. Katı elektrotlar

Civa elektrotların pozitif gerilim (anodik) aralıklarında kullanımının sınırlı olması nedeniyle yükseltgenebilen bileşiklerin elektrokimyasal özelliklerinin incelenmesi için daha geniş bir anodik gerilimde çalışmaya olanak sağlayan katı elektrotlar tercih edilir. Farklı materyallerden yapılan değişik katı çalışma elektrotları bulunmaktadır. Analizi yapılacak analite de bağlı olarak tel, disk biçiminde sabit elektrotlar kullanılabildiği gibi dönen ve titreşen katı elektrotlar da tasarlanmıştır.

Katı elektrotların en büyük sıkıntısı her yeni analiz için homojen bir yüzey yaratmanın zorunluluğudur. Ayrıca deneyler sırasında elektrot yüzeyinde biriken katı maddeler ve oksitler elektrodun voltametrik davranışını etkiler. Bu sakıncaları ortadan kaldırmak için her analiz öncesi elektrot yüzeyinin yenilenmesi ve temizlenmesi gerekir. “Ön işlem” denilen bu adım değişik tipteki katı elektrotlar için farklılık gösterir. Mekanik parlatma ve dönüşümlü gerilim taraması uygulamak sıklıkla

kullanılan teknikler olmakla birlikte kimyasal, elektrokimyasal ve termal yüzey yöntemleri kullanılarak yüzey aktivasyonu da sağlanır (Wang, 2000).

Katı elektrotlar yaygın kullanımları açısından aşağıdaki şekilde sınıflandırılabilir:

1-Metal elektrotlar

2-Karbon elektrotlar

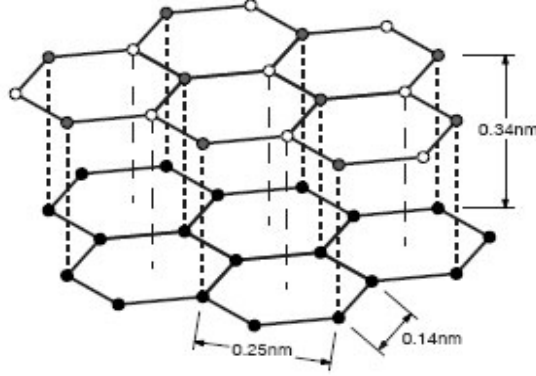
2.11.5.2.1. Metal elektrotlar

Metal elektrot yapımında genellikle soy metaller kullanılmaktadır. En yaygın kullanıma altın ve platin elektrotlar sahiptir. Bazı özel uygulamalarda bakır, nikel, gümüş de kullanılabilir. Ayrıca çinko, indiyum, iridyum, rutenyum oksit gibi metal oksitlerinden de yararlanılmaktadır. Metal elektrotlar istenilen bir elektron aktarım kinetiği ve geniş bir anodik gerilim aralığında çalışma sağlarlar. Düşük hidrojen aşırı gerilimine sahip olmaları, bu elektrotların katodik gerilim aralığında çalışmalarını sınırlamıştır. Ancak çalışma ortamının pH değerine bağlı olarak -0.2 V ve -0.5 V aralığındaki daha az negatif gerilimlerde kullanılabilirler. Yüzey tabaka sorunlarının küçük olması nedeniyle susuz ortam çalışmalarında bu elektrotların kullanımı idealdir. Metal elektrotlar elektrokimyasal ya da kimyasal işlemlere sokularak modifiye edilebilir. Tiyol gruplarının özellikle altın ve platine ilgisi ve yüksek akım yanıtı nedeniyle son yıllarda biyosensör teknolojisinde kullanımını artırmıştır (Wang, 2000).

2.11.5.2.2. Karbon elektrotlar

Karbon temelli katı elektrotlar; geniş bir gerilim aralığında çalışmaya olanak tanınması, zengin yüzey kimyasının olması, ucuzluğu, kimyasal inertliği, düşük artık akım vermesi, yüksek duyarlılığı nedeniyle elektrokimyasal analizlerde sık olarak kullanılır. Elektron aktarım hızları metal elektrotlardan daha yavaştır. Karbon, yüksek yüzey aktivitesi olması nedeniyle organik bileşikler tarafından kolayca kirletilebilir. Grafit tozundaki aromatik halkaların aktif oksijen grupları içermesine bağlı olarak

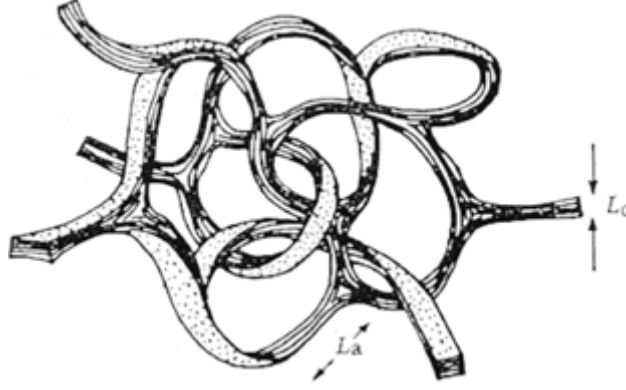
çeşitli fonksiyonel guruplar (hidrojen, hidroksil, karboksil gurupları ve hatta kinonlar) karbon yüzeyinde bağlar oluşturabilmektedir. Bu fonksiyonel gurupların varlığı nedeniyle karbon yüzeyine birçok değişik madde tutturulabilir (Wang, 2000). Karbon elektrotlar; camsı karbon, karbon pasta, perde baskılı karbon, karbon-fiber ve kalem grafit olmak üzere beş alt başlık olarak incelenebilir. Şekil 2.14'te grafit tozunda bulunan karbon atomları dizilimi görülmektedir.



Şekil 2.14. Grafit tozunda bulunan karbon atomlarının dizilimi.

Camsı karbon elektrot (glassy carbon electrode, GCE):

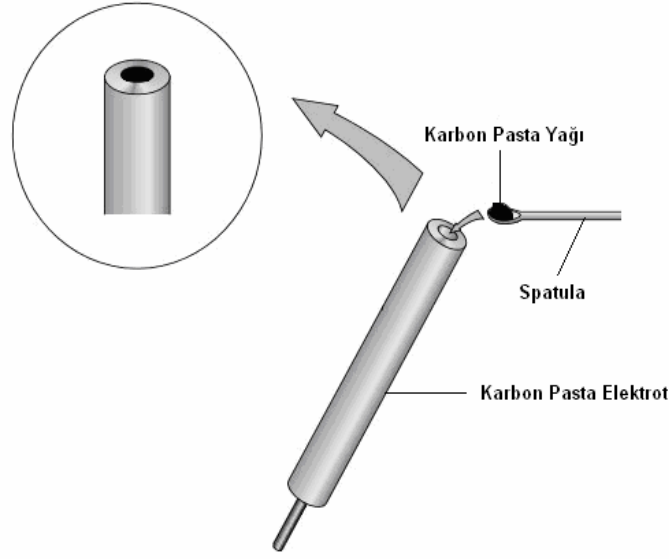
Camsı karbon elektrot, çok yüksek mekaniksel ve elektriksel özellikleri, geniş gerilim çalışma aralığı, kimyasal inertliği ve tekrarlanabilirlik performansı nedeniyle kullanımı oldukça yaygın olan bir elektrottur. GCE, inert bir malzemeden yapılmış elektrot gövdesi içerisine camsı karbonun elektrot yüzeyinden sadece 1–2 mm konuma sıkıştırılması ile elde edilir. Camsı karbon materyali ya fenol-formaldehit polimerlerinin kontrollü ısı programlarıyla (300–1200 °C) ya da poliakrilonitrilin 1000–3000 °C sıcaklık aralığında basınç altında karbonizasyona uğratılması ile elde edilir. Yüksek yoğunluğa sahip, küçük porlar içeren amorf bir yapıdır. Birbiri içine geçmiş ince grafit benzer şekillerden oluşmuştur (Şekil 2.15). Camsı karbon elektroda uygulanacak olan yüzey ön işlemi, elektrotta tekrarlanabilirliği ve aktivasyonu sağlayarak analitik performansı artırır. Karbon pasta elektrota göre fiziksel dayanıklılığı daha fazla olup yüzeyinin çok daha pürüzsüz ve düzgün olması nedeniyle elektrot yanıtı daha tekrarlanabilir. Diğer karbon elektrotlarda olduğu gibi metal iyonlarının negatif gerilimde biriktirilmesine ve çeşitli polimerlerin kaplanmasına olanak verir (Wang, 2000).



Şekil 2.15. Camsı karbon elektrodun amorf yapısı.

Karbon pasta elektrot (carbon paste electrode, CPE):

Karbon pastası, grafit tozunun suda karışmayan çeşitli organik bağlayıcılarla karıştırılması ile hazırlanır. Hazırlanan karışım 2–4 mm çapında teflon ya da camdan yapılmış elektrot gövdesi içerisine sıkıştırıldıktan sonra elektriksel iletkenlik, iletken bir telin gövdenin 2/3'ne kadar yerleştirilmesi ile sağlanır. Karbon pasta elektrotlar; kolaylıkla yenilenebilir ve modifiye edilebilir bir yüzeye sahip olmaları, düşük artık akım oluşturmaları, ucuz olmaları nedeniyle tercih edilmektedir. Organik bağlayıcı olarak pek çok bileşik kullanılabilir olmakla birlikte bu bağlayıcıların saflıkları, ucuz ve kolay bulunabilme özellikleri dikkate alındığında geriye birkaç seçenek kalmaktadır. Bunlar mineral yağ (Nujol), parafin yağı, silikon yağı ve bromonaftalindir. Karbon pastası olarak en iyi performansı mineral yağ ve grafit karışımı sağlar. Karbon pastasının bileşimi elektrot aktivitesini oldukça fazla etkilemektedir. Organik bağlayıcı sıvı oranı arttıkça elektron aktarım hızı azalmaktadır. CPE'nin en önemli sakıncası, yüksek oranda organik çözücü içeren çözeltilerde kullanıldığı zaman karbon pastasının çözeltide dağılmasıdır. CPE, farklı ve geniş gerilim aralıklarında çalışmaya olanak sağlayan, kısa sürede ve kolaylıkla hazırlanabilen bir elektrot olmasına karşın diğer elektrotlara göre tekrarlanabilirliği kötüdür (Urbaniczky ve Lundstrom, 1984; Wang, 2000; Kalcher, 1990). Karbon pasta elektrodun genel bir görünüm ve içeriği Şekil 2.16'da verilmiştir.



Şekil 2.16. Karbon pasta elektrot (Als Co. Ltd., 2006).

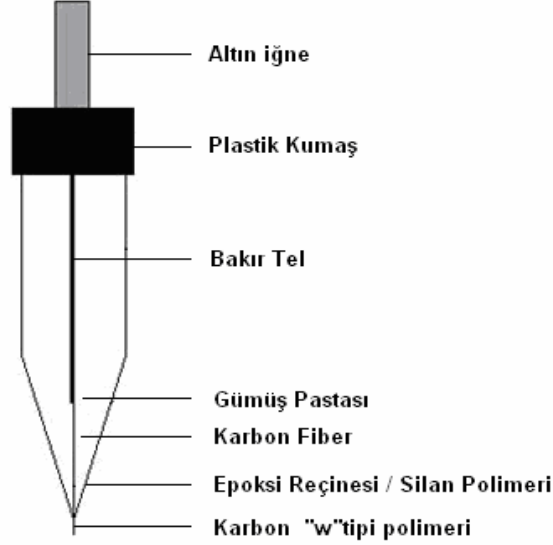
Perde baskılı karbon elektrot (screen printed carbon electrode, SPCE):

Perde baskı teknolojisi; çeşitli mürekkeplerin, poliestere esnek film, seramik ya da plastik materyaller üzerine baskısından oluşur. Karbon ve platin mürekkep formülasyonları, çalışma elektrodunun baskısında, gümüşe dayalı formülasyonlar ise karşılaştırma elektrodunun baskısında sıklıkla kullanılmaktadır. Karbon mürekkepleri, ucuz olmaları ve ölçümlerin düşük fon akımında ve geniş gerilim aralığında yapılmasını sağlamaları nedeniyle SPCE hazırlamada sıklıkla kullanılmaktadır. SPCE'ler uygulamada önemli bir kullanım alanına sahip olmalarına karşın, karmaşık yüzeylerde oluşan elektrot tepkimelerinin mekanizması hakkında yeterli bilgi vermemektedir (Hart, 1997; Prudenziati, 1994). Özellikle biyosensör teknolojisinin geleceği olan DNA mikroçip teknolojisinde uygulanabilirliği açısından oldukça başarılı sonuçlar veren bu elektrotlar geleceğin elektrotları olarak gösterilmektedir (Lucarelli ve ark., 2002; Honeychurch ve Hart, 2003).

Karbon-fiber elektrot (carbon fiber electrode, CFE):

Ultramikro elektrotlara artan ilgi, elektrokimyasal analizlerde karbon fiberlerin geniş bir alanda kullanılmasına yol açmıştır. Bu tür materyaller, polimer tekstil pirolizlerinin yüksek sıcaklığa dayanıklı bileşiklere katalitik kimyasal gaz biriktirilmesi yoluyla bağlanmasıyla üretilmektedir. Birçok elektroanalitik uygulamada çapları 5–20

μm fiberler kullanılmakta ve bunlar istenilen radyal difüzyona olanak sağlamaktadır. CFE'nin en önemli üstünlüğü, küçük ölçütleri nedeniyle çeşitli mikro çevresel (beyin gibi) ölçümlere olanak sağlamalarıdır (Wang, 2000).



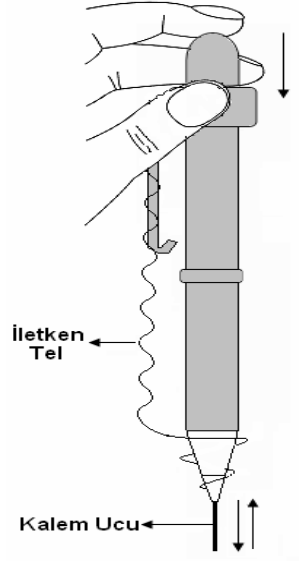
Şekil 2.17. Çapı 7-30 μm 'ye kadar değişen karbon fiber elektrot.

Kalem grafit elektrot (pencil graphite electrode, PGE):

Daha önce de belirtildiği şekilde karbon elektrotlarda olduğu gibi tüm katı elektrotlarla çalışılırken en bilinen sorun; analiz sırasında bazı bileşiklerin yükseltgenme ürünlerinin elektrot üzerinde ince bir film olarak birikmesi sonucu analitik yanıtın büyüklüğünün azalması, elektrot temizleme işlemleri uygulansa bile tekrarlanabilirlik kayıplarının oluşmasıdır. Bu nedenle elektrot temizliği, elektrokimyasal tekniklerin analizlerde geniş çapta kullanılmasını kısıtlayıcı en önemli sorundur. 1990'lı yılların sonundan başlayarak el-yapımı kalem grafit (kalem ucu) elektrotlar (PGE) camı karbon ve karbon pasta elektrotlara tek kullanımlık özelliklerinin yanı sıra çok düşük maliyetlerinden dolayı alternatif olmuşlardır (Bond ve ark., 1997; Wang ve ark., 2000; Wang ve Kawde, 2001). Elektrot olarak farklı sertlik ve çapta her yerde bulunabilen ticari mekanik kurşun kalem uçlarından yararlanılır. Kalem uçları, doğal grafitin kil ve balmumu karışımı içerisinde dispersiyonu (dağılması) ve ardından ısıtılarak uygulanması ile üretilir. Kil yerine selüloz gibi organik temelli materyal kullanılıp oksijensiz atmosferde yakıldığı zaman selüloz karbon şekline dönüşür. Oluşan yapı son derece elastiktir. PG elektrotlar, ne karbon pasta ve pirolitik karbon kadar kırılğan, ne de camı

karbon kadar serttir. Tek kullanımlık olmaları nedeniyle elektrot temizleme işlemlerine gerek yoktur; dolayısıyla yeni bir elektrot yüzeyi yaratmak çok daha basit ve hızlı olup tekrarlanabilirlik yüksektir. Ekonomik oluşları ve tek kullanımlık açısından benzerliği bulunan SPCE'ler, PGE'lerden daha önce tanımlanmıştır. Ancak "ileri teknoloji" litografik teknikler kullanılarak üretilen SPCE'ler, ekonomik açıdan tek kullanımlıktır. Oysa tüm iş sağlığı ve çevresel konular dikkate alındığında iz analizlerde kullanılan elektrotların fiziksel açıdan da tek kullanımlık olması önem taşımaktadır. "Düşük teknoloji" PG elektrotlar ise; kullanılan materyalin azlığı ve kullanımdan sonra atılmak üzere kolay biriktirilmesi nedeniyle çevre duyarlılığı açısından çok cazip elektrotlardır. Kaynakça araştırmasında PG elektrotların pek çok uygulaması görülmektedir. İz metal analizleri (Demetriades ve ark., 2004), hepatit B virus DNA'sının saptanması (Erdem ve ark., 2005), kafein analizi (Ly ve ark., 2004), titre edilebilir asitlik tayini (Kotani ve ark., 2003), nitrit, serotonin ve dopaminin eş zamanlı tayini (Miyazaki ve ark., 1999), ilaç analizleri (Masawat ve ark., 2002; Gao ve ark., 2005), likörin-DNA etkileşim çalışması (Karadeniz ve ark., 2003), DNA hibridizasyon çalışması (Fojta ve ark., 2003) ve sıvı kromatografisinde elektrokimyasal dedektör olarak fenol ve klorofenol analizi (Jin ve ark., 2002), PG elektrotunun kullanıldığı araştırmalara örnek olarak verilebilir. Kalem ucunun sertlik ve siyahlığı ticari olarak grafit ve kil oranlarının ve sıcaklığının değiştirilmesi ile modifiye edilmektedir. Daha fazla grafit içermesi durumunda daha yumuşak ve daha kalın uçlar elde edilir. Kurşun kalemin sertliği 19 farklı derece olarak 9H (en sert)'den 8B (en yumuşak)'ye kadar değişir. Bu elektrot kullanılarak gerçekleştirilen analizlerde doğru kalem sertliğinin seçimi de önemlidir (Tavares ve Barbeira, 2008).

Şekil 2.18'de PGE ve kalem ucunun yerleştirilmesi şematize edilmiştir.



Şekil 2.18. Kalem grafit elektrot.

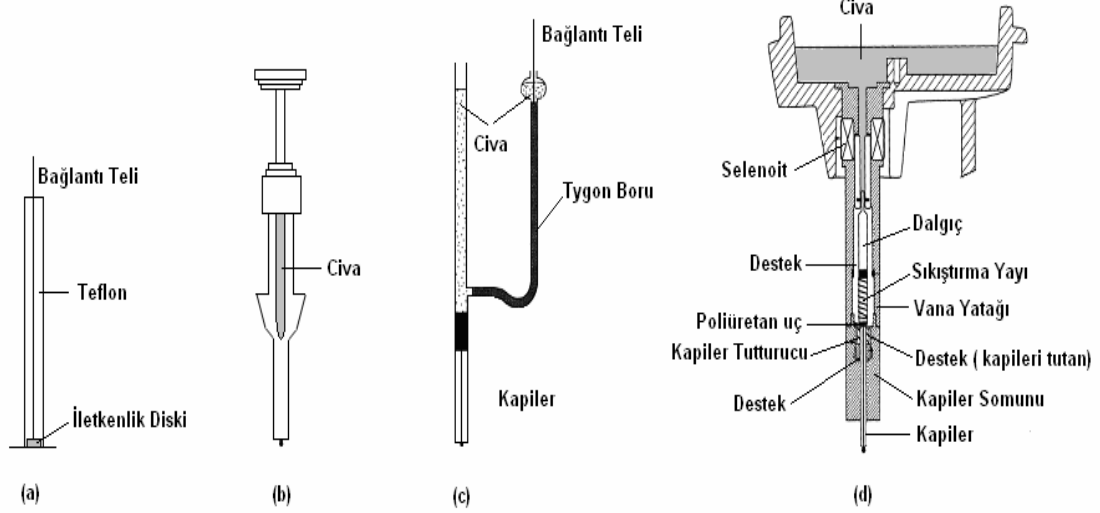
2.11.5.3. Kimyasal modifiye elektrotlar

Elektrot yüzeyine bir kimyasal belirtecin tutturulması temeline dayanan bu elektrotların analitik uygulamalarda yararlanılan birçok yönleri vardır. Elektron aktarım tepkimelerini hızlandırmaları, seçimli bir biriktirme ve membran sağlamaları nedeniyle elektrokimyasal cihazlar için kararlılık, duyarlılık ve seçiciliği artırmaktadırlar. Elektrosentez, korozyondan korunma, elektrot yüzeyinin radyal tasarımı ve ilaçların kontrollü salınım çalışmalarında bu modifiye elektrotlar çok kullanılmaktadır (Wang, 2000).

2.11.5.4. Mikroelektrotlar

Elektrot çapı 25 μm 'den daha büyük olmayan elektrotlar için kullanılmaktadır. Minyatürizasyona analitik kimyada artan bir ilgi vardır. Bu elektrotların uygulamadaki üstünlüğü; mikroskobik alanların incelenmesinde, bölgesel derişim profillerinin ölçülmesinde, elektroforez kapilerinin içindeki mikroakım sistemlerinin belirlenmesinde ve çok küçük hacimli örneklerin analizinde kullanılmaları sayılabilir (Wang, 2000).

Mikroelektrotlar genellikle inert bir materyalden yapılan bir çubuğa baskılanarak tutturulmuş küçük düz iletken disklerdir. Bu iletken platin ya da altın gibi inert bir metal olabileceği gibi, pirolitik grafit, camsi karbon, civa filmiyle kaplanmış bir metal de olabilir. Bazı özel analizler için kalay ve indiyum oksit gibi yarı iletkenler de kullanılabilir.



Şekil 2.19. Bazı yaygın mikroelektrot tipleri (a) disk elektrot (b) asılı civa damla elektrot (c) damlayan civa elektrot (d) durgun civa damla elektrot (Skoog ve ark.,1998).

2.11.6. Voltametrik akımlar

İncelenen bir elektroliz işleminde akım, difüzyon tabakasının dış kısmından elektrot yüzeyine analitin taşınma hızı ile kontrol edilir ve bu hız ;

$$\partial C_A / \partial X$$

ilişkisi ile verilir. Burada X , cm cinsinden elektrottan olan uzaklığı göstermektedir. Düzlemsel bir elektrot için akım;

$$i = nFD_A(\partial C_A / \partial X)$$

Şeklinde bir eşitlik ile verilebilir. Eşitlikte;

i = Amper cinsinden akımı,

n = Analitin molü başına elektronların mol sayısını,

F = Faraday sabitini (96.487 coulomb mol⁻¹),

$A = \text{cm}^2$ cinsinden elektrot yüzey alanını,

$D_A = A'$ nın $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ cinsinden difüzyon katsayısını,

$C_A = \text{mol cm}^{-3}$ cinsinden A 'nın derişimini göstermektedir.

Oluşan difüzyon akımın zamana karşı fonksiyonu, Cottrell denklemini verir.

$$i = \frac{nFACD^{1/2}}{\pi^{1/2}t^{1/2}}$$

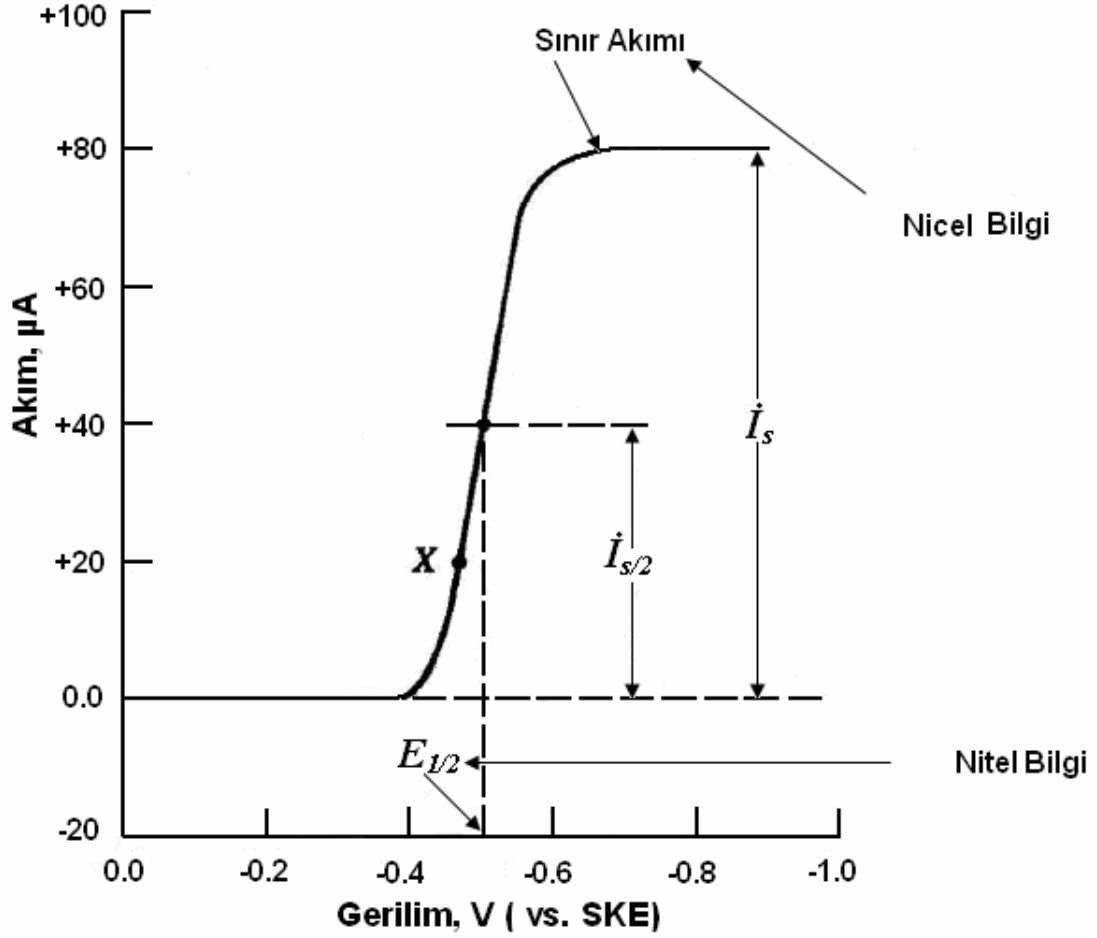
2.11.7. Nitel ve nicel yönüyle voltamogramlar

Doğrusal taramalı voltamogramlar, genelde “voltametrik dalga” adı verilen sigmoidal şekilli (S şeklinde) eğrilerdir (Şekil 2.20). Dik bir artıştan sonra gelen sabit akıma difüzyon kontrollü akım ya da sınır akımı (i_s) adı verilir. Çünkü bu akım, analizlenecek maddenin kütle aktarım işlemiyle elektrot yüzeyine taşınma hızıyla sınırlıdır. Sınır akımları analizlenecek maddenin derişimi ile doğru orantılı olup

$$i_s = k C_A$$

eşitliği ile verilir. Burada, C_A analit derişimi, k ise bir sabittir. Nicel doğrusal taramalı voltametri bu ilişkiye dayanır. Difüzyon tabakasını aşırı basitleştiren varsayımlara dayanarak türetilmiş bu eşitlik; hareketli ve durgun tabakalar arasındaki arayüzeyin, konveksiyonla taşınmanın son bulduğu, difüzyonla taşınmanın başladığı keskin bir kenar olduğu varsayımı temeline dayandırılmıştır.

Yarı-dalga gerilimi, akımın sınır akımının yarısına eşit olduğu gerilime denir ve $E_{1/2}$ ile gösterilir. Yarı-dalga gerilimi, yarı-tepkimenin standart gerilimi ile yakından ilgili olmakla birlikte genellikle ona eşit değildir. Yarı dalga gerilimi, çözeltideki bileşenlerin belirlenmesinde (nitel analiz) kullanılabilir.



Şekil 2.20. Doğrusal taramalı bir voltamogram.

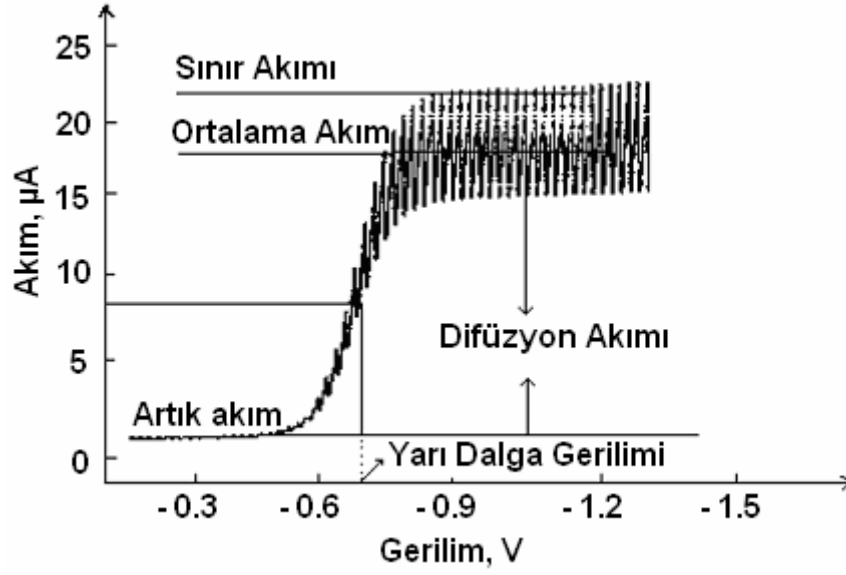
2.12. Voltametrik teknikler

2.12.1. Polarografi

Voltametrinin tarihsel gelişim süreci, 1920'lerin başında Çekoslovak Kimyacı Jaroslav Heyrovsky'nin "polarografi" tekniği üzerine yaptığı çalışmalarla başlamıştır

Polarografi diğer voltametri tiplerinden konveksiyonun önlenmiş olması ve çalışma elektrodu olarak bir damlayan civa elektrodu kullanılması bakımından farklılık gösterir. Polarografik sınır akımları çözelti karıştırılmadığından sadece difüzyon ile kontrol edilir (Harvey, 2000).

İlk polarografik yöntemler, bir damlayan civa elektroda uygulanan gerilimin bir fonksiyonu olarak akımın ölçülmesine dayanıyordu. Birçok deneyde damlayan elektrot, doğru akım kaynağının negatif ucuna bağlanmış ve bu kaynağın gerilimi, çözücünün ya da destek elektrolitinin indirgenmesinin bir sonucu olarak, akım üstel olarak artuncaya kadar doğrusal biçimde artırılmıştır. Damlayan civa elektrodu içeren bir hücredeki akım, damlama hızının frekansına karşılık gelen periyodik iniş çıkışlar gösterir. Hücreden geçen akım, bir galvanometre ile ölçülür. Galvanometreden okunan akımın, uygulanan gerilim ile değişimini gösteren grafiğe ‘‘polarogram’’ adı verilir.



Şekil 2.21. Normal polarografi için akım-gerilim ilişkisi

Damla kapilerden kopunca akım sıfıra düşer daha sonra, daha büyük yüzeye difüzyon olabileceğinden dolayı, elektrot alanı arttıkça akım hızla artar. Ortalama akım, varsayımsal olarak sabit bir akım olup, bu akım t damlama süresi içinde inişli çıkışlı akımın oluşturduğu yük ile aynı miktarda yük oluşturur. Ortalama akımı tayin etmek için, bu büyük iniş çıkışları süzecek bir düşük geçişli filtre kullanmak ya da akımın zamanla değişiminin göreceli küçük olduğu damla süresinin sonunda akımı ölçmek gerekir.

Damla süresi t 'nin tekrarlanabilir olması kaydıyla ortalama akım (ya da maksimum akım), kolaylıkla tayin edilebilir. Hidrodinamik voltametrde olduğu gibi, akımın büyüklüğü analitin elektrot yüzeyine taşınma hızı ile sınırlı olduğunda sınır akımları gözlenir. Ancak polarografide kütle aktarım şekli sadece difüzyonla olduğu için polarografik sınır akımlarına genellikle ‘‘difüzyon akımları’’ adı verilir ve I_d ile

gösterilir. Şekil 2.21’de de görüldüğü gibi, difüzyon akımı, elektrokimyasal türün indirgendiği/yükseltildiği, belli bir gerilimden sonra sabit bir değere ulaşan sınır akımı ile elektrokimyasal olayın henüz gerçekleşmediği artık akım arasındaki farka eşittir. Difüzyon akımı(I_d), analit derişimi(C_A) ile doğru orantılıdır. Sınır akımı ile artık akım arasındaki ilişki İlkovic eşitliğine göre hesaplanır (Ewing,1997; Heyrosky,1968; Dahmen,1986).

$$(I_d) = 708 n C_A D^{1/2} m^{2/3} t^{1/6}$$

Burada;

I_d = sınır akımını (μA)

n = yükseltgenme veya indirgeme sonucu aktarılan elektron sayısını

C_A = polarize olmayan analit derişimini (mol L^{-1})

D = analitin difüzyon katsayısını ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$)

m = civa damlasının akış hızını (g s^{-1})

t = damlama süresini (s) göstermektedir.

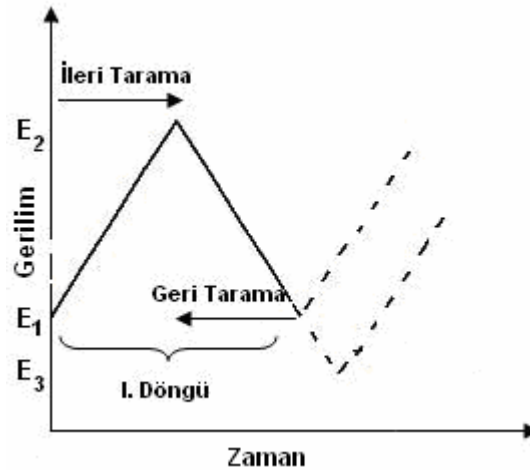
İlkoviç eşitliğindeki $m^{2/3} t^{1/6}$ çarpımı, kapiler sabiti olarak bilinir ve damlayan elektrot karakteristiklerinin difüzyon akımına etkisini açıklar; hem m , hem de t deneysel olarak kolayca bulunabilir. Böylece farklı kapilerden elde edilen difüzyon akımları karşılaştırılabilir.

Anorganik katyonlar, anyonlar, nötral moleküller ve çok çeşitli türden organik bileşikler polarografik yöntemlerle analiz edilebilir. Birçok madde ise kompleks ya da çökelek oluşturarak civanın yükseltgenmesini kolaylaştırdıklarından dolayı yoldan polarografik bir dalgaya neden olurlar ve böylece tayin edilebilirler. Metaller, alaşımlar, filiz, gübre ve polimer örnekleri, petrol ürünleri, tekstil malzemesi, pestisitler, herbisitler, insektisitler, gıda maddeleri, biyolojik maddeler, bitki ve toprak örnekleri doğal ve endüstriyel su örnekleri, kirlenmiş havadaki kirlilikler ve oksijen polarografik yoldan analiz edilebilirler. Puls, diferansiyel puls, kare dalga polarografisi yöntemleri oldukça duyarlı yöntemler olduğundan, eser analizde kullanılırlar. Bu yöntemlerin uygulandığı sistemlerde yöntemin duyarlılığı, atomik ve moleküler absorpsiyon spektroskopisi yöntemlerindeki duyarlıktan daha fazladır (Barek ve ark., 2001b).

2.12.2. Dönüşümlü voltametri (cyclic voltammetry, CV)

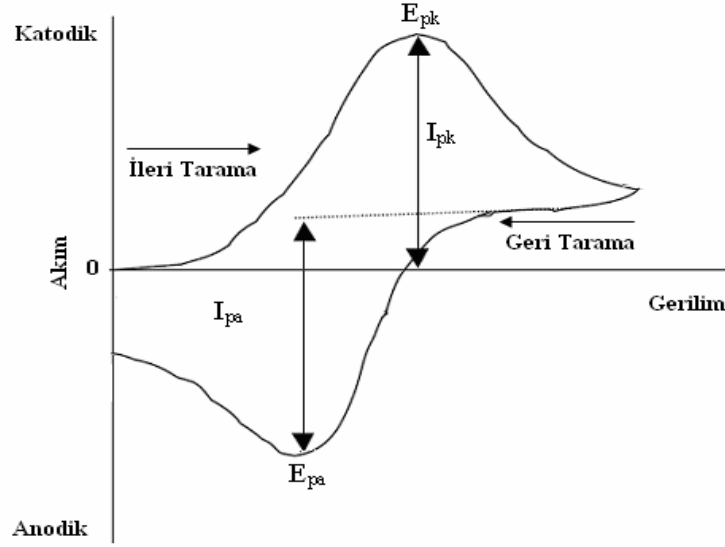
Dönüşümlü voltametri tekniğinde, gerilim ilk olarak bir değere kadar artar, daha sonra başlangıç değerine yine doğrusal olarak geri döner (Şekil 2.22). Voltametrik tekniğe; gerilim taraması E_1 ve E_2 gerilim değerleri arasında olursa “doğrusal taramalı voltametri”, E_2 geriliminden sonra aynı tarama hızında ve ters yönde tarama yapılırsa “dönüşümlü voltametri” denir. Ters taramada başlangıç gerilimine (E_1) tekrar dönülebileceği gibi farklı bir gerilime de (E_3) gidilebilir. Bu işlem zamanın bir fonksiyonu olarak kaydedilen akımla defalarca tekrar edilebilir. Sürekli değişen gerilim değerlerine karşı belirli bir aralıkta akımdaki değişim grafiğe geçirilerek “dönüşümlü voltamogram” elde edilir (Şekil 2.23). CV tekniği ile karıştırılmayan durgun sistemde ve üçlü elektrot sistemlerinde çalışılır. CV’de hız difüzyon tarafından belirlenir. Analitin yükseltgenmesi ve indirgenmesi voltamogram üzerinde gözlenebilmektedir. Başlangıç gerilim taramasının yönü, analiz örneğinin bileşimine bağlı olarak negatif ya da pozitif olabilir.

Dönüşümlü voltamogramların şekli ve yapısında seçilen gerilim aralığının yanı sıra, seçilen tarama hızının, kaç kez tarama yapıldığının da etkisi vardır. Tarama hızı 10 mV s^{-1} ’den birkaç yüz V s^{-1} ’e kadar yükseltilebilir. Ancak çok yüksek tarama hızlarında IR düşüşü ve çift tabaka yüklenmesi gibi olumsuzluklar yaşanır.



Şekil 2.22. Dönüşümlü voltametri de elektroda uygulanan gerilimin zamana karşı grafiği.

Duyarlılığın 10^{-5} M ile sınırlı olduğu bu yöntem, miktar tayinine dayalı bir yöntem değildir ancak özellikle organik ve metalorganik sistemlerde yükseltgenme/indirgenme işlemlerin hız ve mekanizma çalışmaları için önemli bilgi sağlar. Tarama hızının pik akımıyla değişimi incelenerek adsorbsiyon, difüzyon ve heterojen elektrot tepkimelerinin özellikleri, ters taramada ise elektrot tepkime mekanizması ve kinetik bulgulara ulaşılabilir.

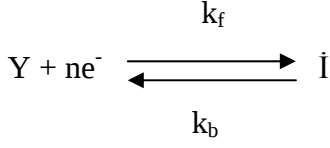


Şekil 2.23. Dönüşümlü voltametrde akım-gerilim eğrisi.

Bir dönüşümlü voltamogramın önemli parametreleri; katodik pik gerilimi (E_{pk}), anodik pik gerilimi (E_{pa}), katodik pik akımı (I_{pk}) ve anodik pik akımı (I_{pa})'dır. Bu teknikte ileri yöndeki gerilim tarama sırasında bir indirgenme olmuşsa, gerilim taraması tersine çevrildiğinde indirgenme sırasında oluşan ürünün elektrotta yeniden yükseltgenmesinden ötürü bu yönde de bir pik gözlenebilir (Gökçe, 2004; Çekirdek, 2005).

2.12.2.1.1. Tersinir tepkimeler

Elektrot-çözelti ara yüzeyinde oluşan;



şeklinde tersinir bir tepkime başlamadan önce ortamda sadece “Y” türünün bulunduğunu, elektrokimyasal olay öncesi ve sonrasında bu olayla beraber bir kimyasal tepkime gerçekleşmediğini varsayalım. Çok düşük tarama hızlarında akım-gerilim grafiği belli bir gerilimden sonra sınır akımına ulaşır ve akım gerilimden bağımsız hale gelir. Tarama hızı artışıyla, akım-gerilim grafiği de pik halini alır ve bu pik yüksekliği tarama hızı ile doğrusal olarak artar. Yavaş tarama hızında elektrottan belirli bir uzaklıkta bulunan analit derişimi sabittir. Aynı zamanda difüzyon tabakasındaki derişim değişimi de doğrusaldır. Difüzyon tabakasındaki tersinir bir tepkime için , $[Y]/[I]$ oranı Nernst eşitliğine göre gerilime bağlıdır.

$$E = E^o - \frac{RT}{nF} \ln \frac{Y}{I}$$

Sisteme, negatif bir gerilim uygulandığında analitin elektrot yüzeyindeki derişimi ($[Y]$) azalır. Sonuçta derişim farklaşması ve akım artar. Elektrot yüzeyindeki $[Y]$ ’nin derişimi bir süre sonra sıfır olur. Bu aşamada “Y” ve “I” türleri arasındaki derişim farklaşması ortadan kalkar ve akım sabit hale gelir.

Yüksek tarama hızlarında çözeltiden elektrot yüzeyine kütle aktarım hızı, denge koşullarını sağlayacak kadar yüksek değildir. Bu yüzden difüzyon tabakasındaki derişim farklaşması doğrusallıktan sapar. O zaman uygulanan gerilimle $[Y]/[I]$ ilişkisi Nernst eşitliğince ifade edilemez. Uygulanan gerilim “Y” türünü indirgemeye başladığı anda elektrot yüzeyi ile çözeltideki “Y” türü arasında da derişim farklaşması oluşacak, “Y” türünün elektrot yüzeyine taşınması sürecinde de bir akım oluşacaktır. Yüksek tarama hızlarında daha fazla derişim farklaşması oluşacağından oluşan akım da daha büyük olacaktır. “Y” türü derişiminin sıfır olduğu yüksek tarama hızlarında akım da pik değerine ulaşacaktır.

Gerilim tarama hızı tersine çevrildiğinde ve yüksek tarama hızında elektrot yüzeyinde bulunan indirgenmiş tür “I” pozitif gerilimlerde yükseltgenip “Y” türünü oluşturacak sonuçta tekrar bir akım doğacaktır. İndirgenme olayında gerçekleşen olay yükseltgenme olayında da tekrarlanacaktır. İndirgenme esnasında “I” türünün

difüzenmesi çözeltiye doğru olacağından geri yönde oluşan akım (anodik akım) katodik akımdan biraz daha düşük olacaktır.

Kütle aktarımının difüzyonla gerçekleştiği böyle sistemlerde Fick yasaları geçerlidir. Bu şartlarda pik akımı (I_p)-tarama hızı ilişkisini, Randles-Sevcik eşitliğiyle ifade edebiliriz.

$$I_p = 0.4463 nFC \left(\frac{nF}{RT} \right)^{1/2} v^{1/2} D^{1/2}$$

Bu eşitlik, 25 °C için aşağıdaki şekle dönüşür:

$$I_p = - (2.69 \times 10^5) n^{3/2} A C D^{1/2} v^{1/2}$$

Bu eşitlikte

A = elektrodun yüzey alanı (cm²),

n = aktarılan elektron sayısı,

C = elektroaktif türün başlangıçtaki derişimi (mol cm⁻³),

D = difüzyon katsayısı (cm² s⁻¹),

v = tarama hızıdır (V s⁻¹).

Fick yasalarından türetilen Randles-Sevcik eşitliğinin en önemli sonucu, pik akımının, tarama hızının kareköküyle doğru orantılı olarak değişmesidir.

Bir dönüşümlü voltamogram;

a) Tüm tarama hızlarında, 25 °C’de, katodik ve anodik pik gerilimleri arasındaki fark

$\Delta E_p (= E_{pk} - E_{pa}) = 58 / n$ mV ise,

b) Tüm tarama hızlarında pik akımları oranı, $I_{pa} / I_{pk} = 1$ ise,

c) Pik akım fonksiyonu ($I_p / v^{1/2}$), tarama hızından (v) bağımsız ise tersinirdir.

2.12.2.1.2. Yarı tersinir tepkimeler

Bir sistemde akım, hem elektron aktarımı hem de kütle aktarımının katkısıyla oluyorsa ve standart elektron aktarım hız sabiti (k_s) ile tarama hızı (v) oranı (k_s/v), Nernst derişimlerini sabit tutamayacak kadar küçükse böyle sistemler yarı tersinirdir.

Yarı tersinir sistemlerde tarama hızının artışıyla katodik ve anodik pik gerilimleri arasındaki fark $58/n$ mV'dan büyük olur. Düşük tarama hızlarında $58/n$ mV'a yaklaşır.

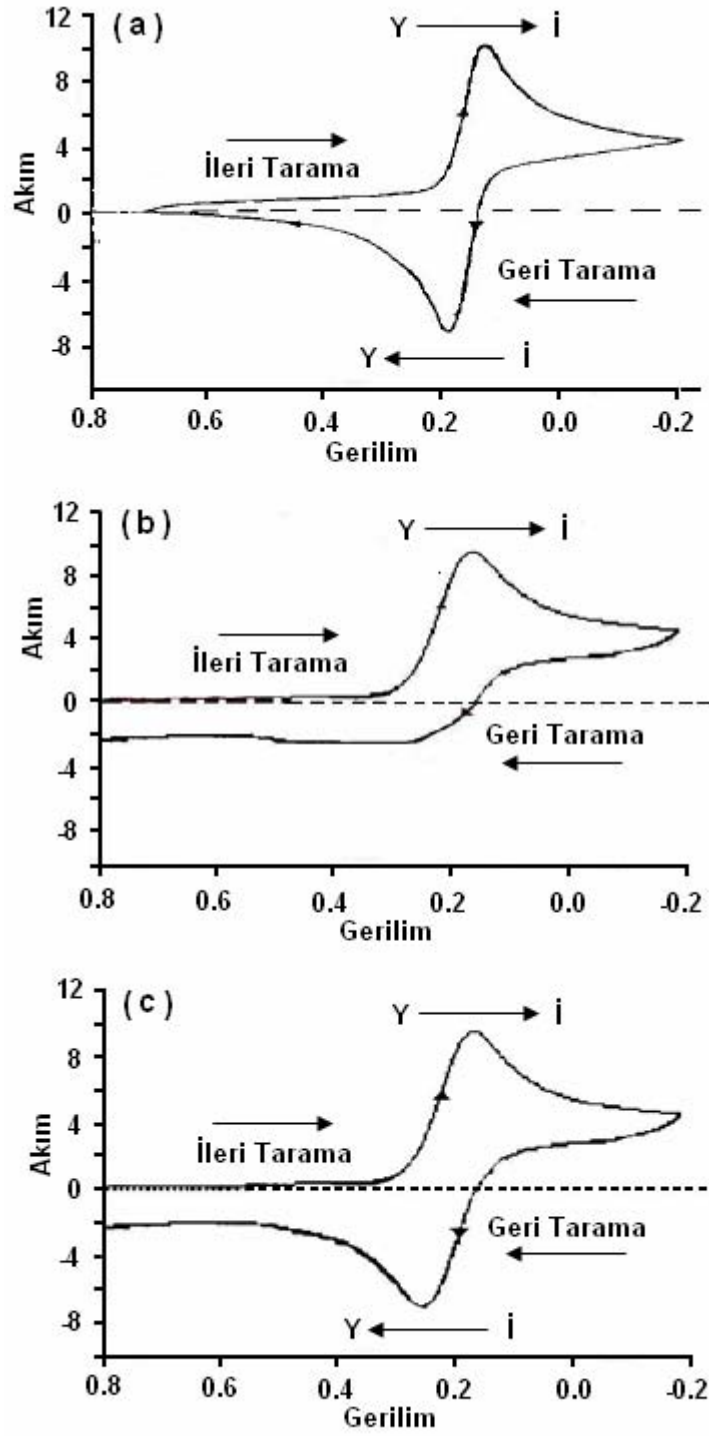
Pik akımı tarama hızının kareköküyle artar ancak doğrusallık sağlanmaz.

2.12.2.1.3. Tersinmez tepkimeler

Tamamen tersinmez sistemlerde katodik pikin karşılığı olarak anodik bir pik (ya da tersi) gözlenmez. Tersinmez sistemler için Fick Yasası;

$$I_p = (2.99 \times 10^5) n_a^{1/2} A C D^{1/2} v^{1/2}$$

şeklinde ifade edilebilir. Burada n_a , aktarılan elektron sayısıdır. Denklemden de görüldüğü gibi pik akımı (I_p), tarama hızının kareköküyle ($v^{1/2}$) doğru orantılıdır. Düşük tarama hızlarında elektron aktarım hızı yüksek olduğundan sistem tersinirmiş gibi görünebilir. Tarama hızının artışıyla anodik ve katodik pik gerilimleri birbirinden uzaklaşır (Çekirdek, 2005; Gökçe, 2004; Gökmeşe, 2004, Yaacob, 2006). Şekil 2.24'te tersinir, tersinmez ve yarı tersinir tepkimelere ilişkin dönüşümlü voltamogramlar verilmiştir



Şekil 2.24. Civa elektrot üzerinde (a) tersinir, (b) tersinmez, (c) yarı tersinir dönüşümlü voltamogramlar (Y= yükseltgen tür, İ= indirgen tür).

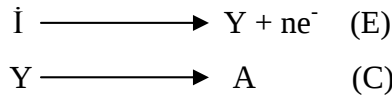
2.12.2.2. Dönüşümlü voltametri ile elektrot tepkime mekanizmasının belirlenmesi

Dönüşümlü voltametriden elde edilen voltamogramların tarama hızı ile değişimi, elektrot-çözelti ara yüzeyinde gerçekleşen olaylar hakkında önemli bilgiler verir. Elektrokimyasal olayın öncesinde ve sonrasında kimyasal bir olayın olup olmadığını, sonrasında elektron aktarım tepkimesinin gerçekleşip gerçekleşmediğinin yanıtını farklı tarama hızlarındaki voltamogramlardan çıkarabiliriz. Elektron aktarım basamağının öncesinde ve sonrasında kimyasal bir olayın gerçekleşmesi voltamogramların şekillerinin belirlenmesinde rol oynar.

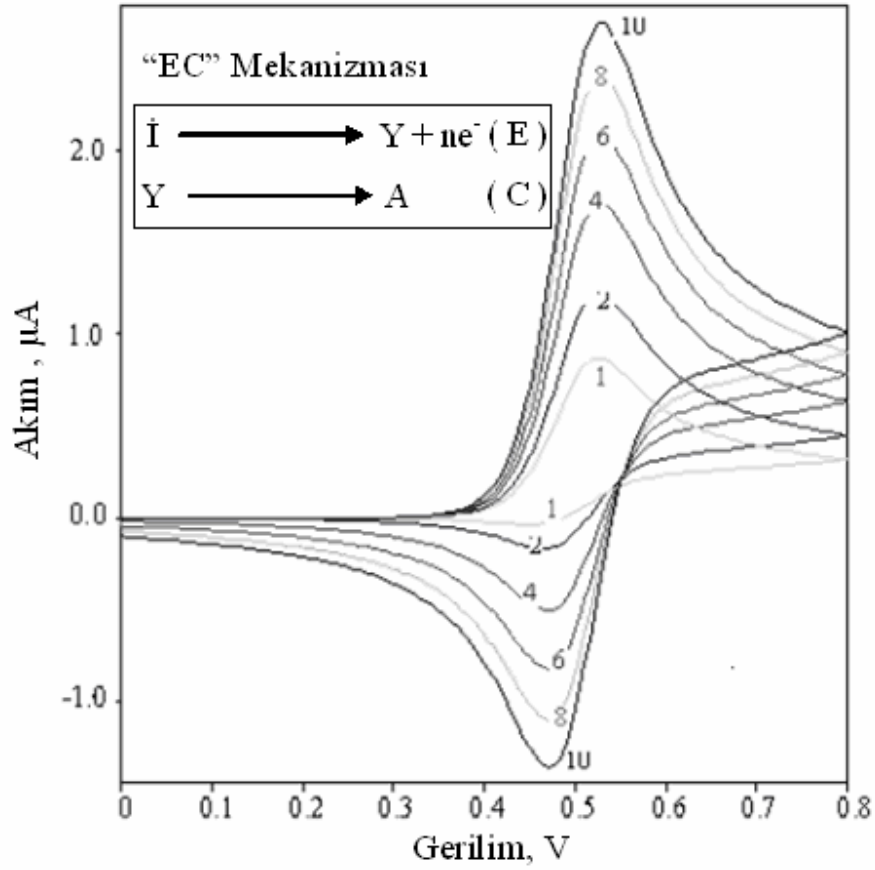
Elektrot tepkime mekanizmalarının aydınlatılmasında elektron aktarımının gerçekleştiği elektrokimyasal bir olay (E), kimyasal bir olay (C) ile sembolize edilir. Bu harflerin yazılış adımları aynı zamanda elektrot üzerinde gerçekleşen tepkime adımlarının da sırasını verir. Örneğin ECE şeklindeki bir elektrot tepkimesi mekanizmasında elektron aktarımının gerçekleştiği elektrokimyasal bir olayı, kimyasal bir olayın takip ettiğini ve sonrasında tekrar elektron aktarım tepkimesinin gerçekleştiği sonucuna varabiliriz.

2.12.2.2.1. EC mekanizması

“EC” mekanizması, elektron aktarım basamağından (E) sonra oluşan ürünün kimyasal bir tepkime (C) gerçekleştirdiği olayları anlatmada kullanılır.



İlk basamakta (E), indirgenmiş tür ($\dot{I}$), elektrot yüzeyinde “Y” türüne yükseltgenir. Elektrokimyasal basamakta oluşan “Y” türü kararsız olup çözücü ile ya da ortamda bulunan başka türlerle kimyasal tepkimeye girip “A” türünü oluşturur. “A” türü elektroaktif olmadığından (ya da verilen gerilim aralığında elektroaktif olmadığından) tepkimeler bu adımda durur. Şekil 2.25, “EC” mekanizmasının bulunduğu bir elektrot tepkimesinde pik akımlarının tarama hızı ile değişimini göstermektedir.



Şekil 2.25. “EC” mekanizmasını gösteren çoklu tarama yapılmış voltamogram örneği
($\nu = 1, 2, 4, 6, 8, 10 \text{ V s}^{-1}$)

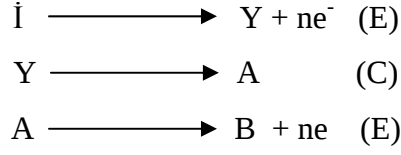
Çok hızlı gerçekleştiği kabul edilen elektrokimyasal olayın heterojen hız sabiti “ k_{het} ” ile kimyasal tepkimenin hız sabiti “ k_f ” ile belirtilir.

“EC” mekanizmasının varlığı, aşağıdaki parametrelerce de doğrulanmalıdır.

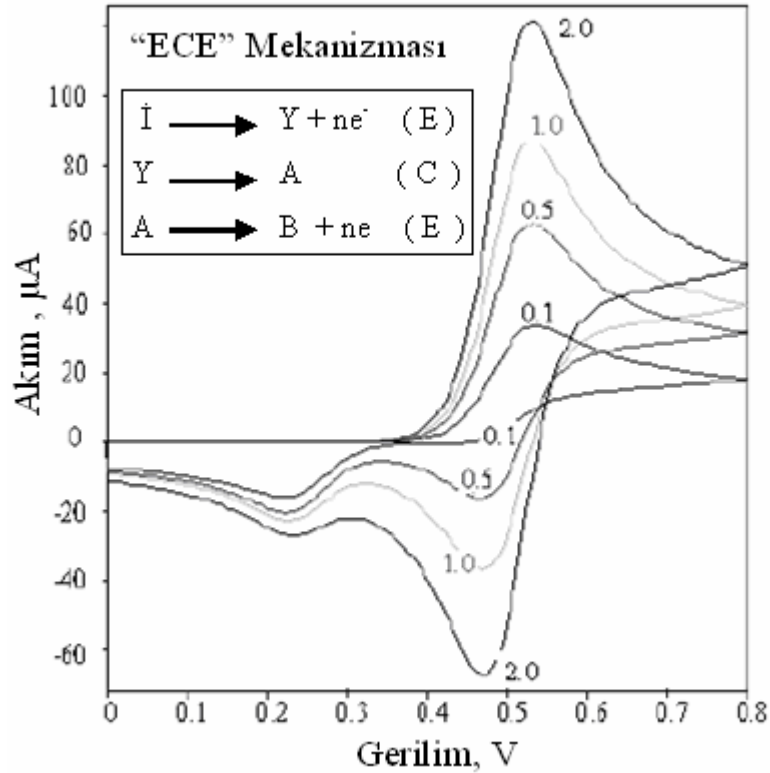
- $|I_{\text{pa}} / I_{\text{pk}}| < 1$ dir. Ancak ν arttıkça 1’e yaklaşır.
- $I_{\text{pk}} / \nu^{1/2}$ oranı ν arttıkça çok az da olsa azalır.
- E_{pk} , tersinir durumdakinden daha pozitifdir.

2.12.2.2.2. ECE mekanizması

Dönüşümlü voltametrideki diğer bir önemli mekanizma “ECE” mekanizmasıdır. Bu mekanizma üç adımda gerçekleşir.



İlk basamak elektron aktarımı içeren elektrokimyasal bir olay, sonrasında ara ürünün başka bir türe dönüştüğü kimyasal bir olay, bu kimyasal olay sonucu oluşan ürünün yükseltgendiği ve elektron aktarımını takip eden üçüncü bir adımla son bulur. Kimyasal olay sonucu oluşan ürün çözeltideki diğer türlerden daha zor yükseltgeniyorsa ikinci elektrokimyasal olay ileri taramada da gözlenebilir. Şekil 2.26, “ECE” mekanizmasının bulunduğu bir elektrot tepkimesinde, pik akımlarının tarama hızı ile değişimini göstermektedir.



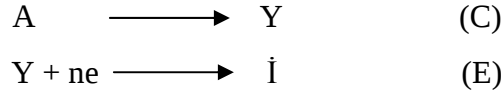
Şekil 2.26. “ECE” mekanizmasını gösteren çoklu tarama yapılmış voltamogram örneği
($v=0,1; 0,5; 1,0; 2,0 \text{ V s}^{-1}$)

ECE mekanizması şu parametrelerce de doğrulanmalıdır;

- a) $|I_{pk} / v^{1/2}|$ değeri (akım fonksiyonu), tarama hızı ile değişir. Ancak yüksek ve düşük tarama hızlarında sınır değere ulaşır ve $|I_{pk} / v^{1/2}|$ (düşük v) $> |I_{pk} / v^{1/2}|$ (yüksek v) dir.
- b) $I_{pa} / I_{pk} v^{1/2}$ değeri, artan tarama hızı ile artar ve yüksek tarama hızlarında 1'e yaklaşır.

2.12.2.2.3. CE Mekanizması

Bu tür elektrot olaylarında önce elektroaktif madde kimyasal bir olayla oluşturulur ardından elektron aktarım basamağı gerçekleşir.



C basamağı yavaş, E basamağı tersinir ise akım kinetik kontrollüdür ve CV de pik gözlenmez.

CE mekanizması aşağıdaki parametrelerce de doğrulanmalıdır:

- 1) Tarama hızı artışıyla $I_{pk} / v^{1/2}$ azalır.
- 2) I_{pa} / I_{pk} oranı v ile artar ve oran ≥ 1 dir.
- 3) Tarama hızı artışı E_p 'yi anodik yöne kaydırır (Çekirdek, 2005; Gökçe, 2004).

2.12.2.3. Dönüşümlü voltametri ile adsorbsiyonun incelenmesi

Çözelti içerisindeki iyonlar ya da moleküller elektrot yüzeyine çeşitli şekillerde adsorbe olabilirler. Adsorbe olan iyon ya da molekül ile elektrot yüzeyi arasında bir çeşit bağ meydana gelir. Bu bağ, anyon ve katyonlarda elektrostatik karakterli olabildiği gibi yüklü elektrot yüzeyi ile dipol özellikteki moleküller arasında yük–dipol etkileşmesi şeklinde de olabilir. Elektroaktif maddeler, ara ürünler ya da son ürünlerin elektrot yüzeyine adsorplanması elektrot tepkimesini kuvvetli bir şekilde etkiler. Elektrot tepkimesinde doğrudan yer almayan iyon ya da moleküllerin adsorplanması ise elektron aktarım hızını etkilediği gibi elektrot tepkimesinin mekanizmasını değiştirerek

farklı ürün oluşumuna yol açabilir. Bu nedenlerden dolayı, beklenmeyen elektrokimyasal davranışlar adsorpsiyon olayına bağlanır. Eğer oluşan ürün kuvvetli adsorbe oluyorsa CV voltamogramında bir ön pik gözlenir. Reaktantın kuvvetli adsorbe olması durumunda ise difüzyon pikinden sonra bir arka pik gözlemlenir.

Dönüşümlü voltametri tekniği ile kuvvetli ve zayıf adsorpsiyonun varlığı aşağıdaki testlerle belirlenir:

1. CV voltamogramlarında ön pik ya da arka pik gözlenmelidir.
2. $\log I_p - \log v$ grafiğinin eğimi 0,5'ten büyük olmalıdır
3. Akım fonksiyonu ($I_p / v^{1/2}$) tarama hızı ile artmalıdır.
4. Derişim artışı ile I_p / C oranı azalmalıdır (Wopschall ve Shain 1967).
5. I_p / C - v değişimi sabit olmalıdır (Bard ve Faulkner, 2001; Gosser 1989).

2.12.2. Sıyırma voltametrisi (stripping voltammetry, SV)

Sıyırma tekniği, eser miktardaki metallerin ve organik bileşiklerin analizlerini gerçekleştirmek için geliştirilmiş oldukça önemli ve duyarlı bir elektrokimyasal tekniktir. Sıyırma kavramı, bir gerilim tarama yoluyla dolaylı ve dolaysız yollardan analizleri gerçekleştirmeden önce çalışma elektrodu üzerinde analizi yapılacak maddenin önderişimini içeren bir grup uygulamalı işlemler adımıdır (Wang, 1985; Fogg ve Wang, 1999). Önderişim (ya da biriktirme) adımını adsorbif, katodik ve anodik olmak üzere üç farklı yöntemle yapmak olasıdır. Blanc ve ark. (2000)'a göre son derece iyi sinyal/gürültü oranı oluşturan ileri ölçüm işlemlerine ek olarak etkili önderişim basamağı ile olağanüstü duyarlılık sağlanmıştır. Brainina ve ark. (1974), bu tekniğin üstünlüklerini; yüksek duyarlılık, düşük gözlenebilme sınırı, geniş spektrumlu analit ve deney materyallerine sahip oluşu, hem organik hem de inorganik bileşiklerin analizlerine olanak sağlaması, bazı maddelerin önemsiz matris etkisini gidermesi, diğer yöntemlerle uyumlu olması, görece olarak basitliği, düşük maliyetli donanıma sahip olması, taşınabilir ve otomasyonlu hale dönüştürülebilmesi şeklinde özetlemişlerdir. Bu teknikle pek çok analit birlikte saptanabilir (Ghoneim ve ark. 2000). Sıyırma voltametri tekniği birkaç aşamadan oluşmaktadır.

Biriktirme (pre-concentration, accumulation) Adımı

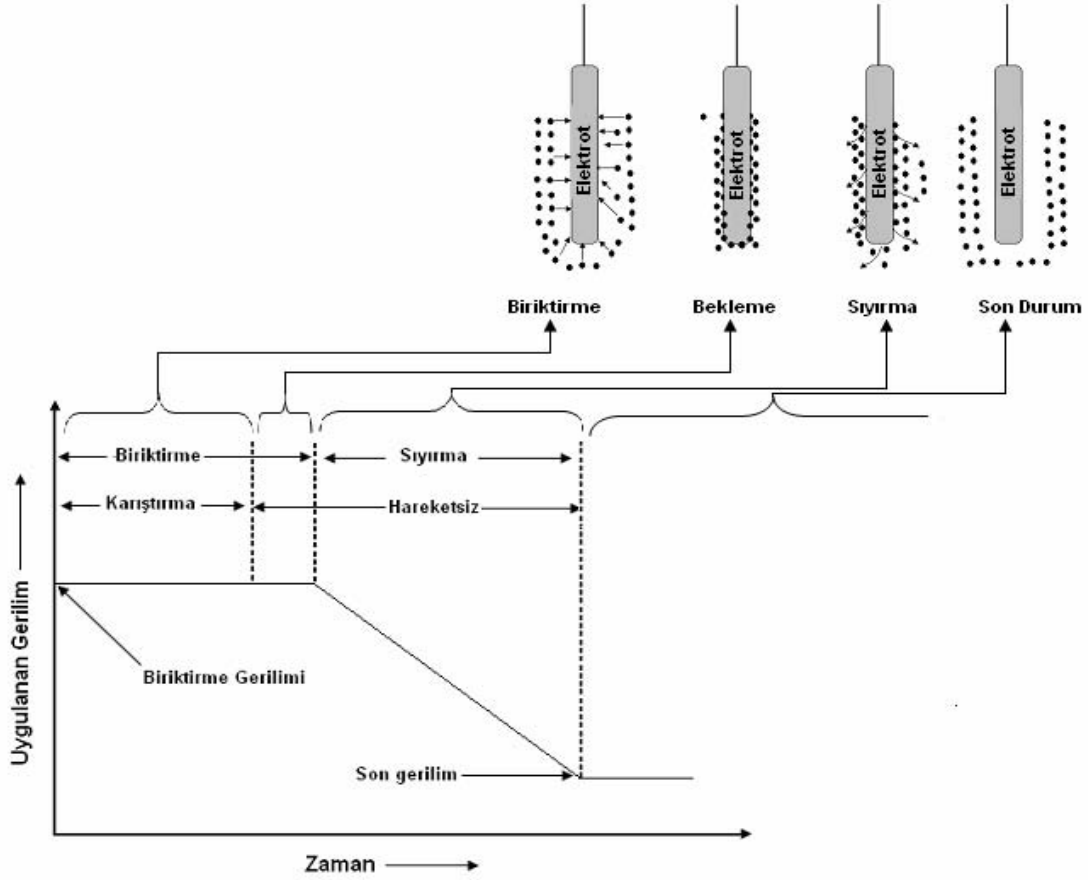
Bu adımda analit, çözeltinin çalışma elektrodu üzerinde belirli bir süre karıştırılmasıyla önderişim işlemine bırakılır. Çalışma elektroduna uygulanan biriktirme gerilimi, analitin derişimine de bağılı olarak biriktirme zamanı boyunca uygulanır ve analizlenecek türler seçilir. Biriktirme geriliminin uygulanması ölçümlerin oldukça seçici olmasını sağlar (Sun ve ark., 2005). Biriktirme zamanı, sıyırma süresince elektrot üzerindeki analitin daha fazla miktarı için daha fazla süre uygulanarak kontrol edilmelidir. Biriktirme boyunca çözeltinin karıştırılmasıyla çalışma elektrodu yüzeyine ilgili iyonların taşınması kolaylaşır.

Bekleme (resting) Adımı

Bu adımda amaç çalışma elektrodu üzerinde ilgili iyona ait değişmez tekbiçim bir yüzey elde etmek ve elektrot üzerindeki kirlilikleri gidermektir. Aynı özelliklere sahip elektrot yüzeyindeki analit derişiminin çok hızlı bir şekilde saptanabildiği ve biriktirme akımının sıfır olduğu biriktirme süresi sonunda iletim durdurulur. Bekleme adımı, bir sonraki sıyırma adımının hareketsiz bir çözeltide gerçekleşmesini sağlayan aşamadır.

Sıyırma (stripping) Adımı

Bu aşamada gerilim, katodik sıyırma için katodik olarak, anodik sıyırma için anodik olarak taranır. Gerilim ilgili elektroaktif analitin belirli olan standart gerilimine ulaştığında özellikle analit çözelti ortamına geri dönerek tekrar yükseltgenir ya da indirgenir ve bu sırada hücreden akım geçer. Bu adım boyunca ortaya çıkıp kaydedilen voltamogram, ilgili analit hakkında analitiksel bilgi sağlar. Kubiak ve ark.(2001), bildirdiğine göre önderişim adımından sonraki sıyırma adımı farklı pik gerilimlerine sahip olduğu düşünülen farklı maddelerin seçici olarak saptanmasına olanak tanır. Şekil 2.27'de sıyırma analizi için gerilim-zaman grafiği ve çalışma elektrodu üzerinde ilgili analitin değişimi gösterilmektedir.



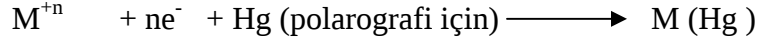
Şekil 2.27. Sıyırma analizlerinde gerilim-zaman grafiği ve elektrot yüzeyindeki olaylar.

Sıyırma ölçümlerinin çoğu, uygun destek elektrolitinin eklenmesini gerektirir. İlk önce difüzyonla (elektriksel göçle değil) elektroda doğru ilgili analitin aktarılmasını sağlamak ve çözelti direncini azaltmak gerekmektedir. Destek elektrolitinin hazırlanmasında kullanılan belirteçlerin oluşturduğu safsızlıklar sonucu oluşan analiz çözeltisi kirliliği önemli bir sorun olarak karşımıza çıkar. Negatif gerilim değerlerinde çalışıldığında çözünmüş oksijen analizlerde büyük oranda sorunlar çıkarır bu nedenle uzaklaştırılmalıdır. Sıyırma analizlerindeki asıl girişim şekli; çalışma elektrodu üzerinde birlikte biriken bileşiklerin sıyırma sinyallerinin üst üste binmesidir. Üst üste binen sinyaller benzer redoks gerilimlerine sahip analitlerin birlikte saptanmasında sorunlara neden olur. Organik yüzey aktif maddelerin varlığı da sıyırma analizlerinde düşüşe neden olur ve aynı zamanda sinyal konumunu da kaydırır.

Sıyırma voltametrisi anodik, katodik ve adsorbif sıyırma voltametrisi olmak üzere üç teknikten oluşmuştur.

2.12.3.1. Anodik sıyırma voltametrisi (anodic stripping voltammetry, ASV)

Bu teknik; çalışma elektrodunun biriktirme esnasında katot, sıyırma esnasında anot olarak görev yaptığı sıyırma tekniğidir. Bu yöntem genellikle çalışma elektrodu üzerinde indirgenebilen sonra yeniden yükseltgenebilen metal iyonlarının belirlenmesinde kullanılır (Arancipia ve ark., 2004 ve Shams ve ark., 2004). Bu yöntemde biriktirme gerilimi genellikle belirlenecek metal iyonunun standart indirgenme geriliminden daha negatif bölgelerde gerçekleştirilir. ASV tekniği iki adımdan oluşur. Birinci adım, çalışma elektrodunun yeterli katodik gerilimde tutulduğu ve metal iyonlarının (M^{+n}) çalışma elektrodu ile amalgam $M(Hg)$ oluşturduğu kontrollü gerilim elektroliz adımdır. Bu adım biriktirme adımı olarak adlandırılır ve eşitlik;



şeklinde verilir.

Biriktirme oranının artışı boyunca çözelti karıştırılır. Biriktirme zamanı sonunda kütle aktarımı yolu olan konveksiyonu gidermek için karıştırma sonlandırılır. Biriktirme süresince metal iyonları derişim düzeyine göre ayrılır.

İkinci adımda gerilim anodik olarak daha pozitif bölgelere doğru taranır. Çalışma elektrodu yeterli pozitif gerilime ulaştığında analit elektrot yüzeyinden sıyrılır ve yükseltgenmiş olarak tekrar çözelti ortamına döner. Bu adım sıyırma adımı olarak bilinir ve aşağıdaki eşitlik gerçekleşir.



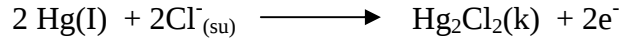
Sıyırma adımı boyunca akım, pik biçimli voltamogram olarak uygulanan gerilimin bir fonksiyonu şeklinde görüntülenir. Pik akımı analitin derişimi ile orantılıdır.

2.12.3.2. Katodik sıyırma voltametrisi (cathodic stripping voltammetry, CSV)

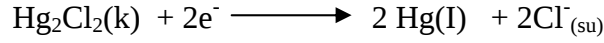
Bu teknik; çalışma elektrodunun biriktirme esnasında anot, sıyırma esnasında katot olarak görev yaptığı sıyırma tekniğidir. Bu teknik, geniş bir aralıktaki organik bileşiklerin aynı zamanda elektrot materyali ile çözünmeyen tuz formları oluşturan inorganik bileşiklerin analizlerinde kullanılır. Bu teknik pek çok klinik ölçümlerde, ilaç

analizlerinde ve toksikolojik analizlerde geniş bir uygulama alanı bulmuştur (Wang,1988; Ghoneim ve ark.,2003; Arranz ve ark., 1999; Rodriquez ve ark., 2004; Ghoneim ve Beltagi, 2003; Canabillas ve ark., 2003; Hourch ve ark.,2003; Safavi ve ark., 2004).

Bu teknik anodik sıyırma tekniğinden iki açıdan farklıdır. İlki civa elektrodun (polarografi için) Hg nin Hg^{+1} 'e yükseltgenmesini içeren biriktirme adımıdır. Bu adımda analit çalışma elektrodu yüzeyinde çözünmeyen tuzu şeklinde tepkime verir. Örneğin Cl^- analizi için çalışma elektrodu olarak Hg nin kullanıldığı bir sistem için ilgili adımı yazarsak



İkincisi, Hg^{+1} 'in Hg'ye indirgendiği ve analitin de tekrar çözeltiye döndüğü daha negatif gerilime doğru katodik taramanın gerçekleştirildiği sıyırma adımıdır.



2.12.3.3. Adsorbtif sıyırma voltametrisi (adsorptive stripping voltammetry, AdSV)

Bu tekniğin ilk kez Lam ve ark., (1983) tarafından kullanıldığı düşünülmektedir. AdSV tekniği, geniş bir aralıktaki organik bileşiklerin ve inorganik türlerin nanomolar düzeyde analizinin yapılmasına olanak tanıyan etkili bir tekniktir (Smyth ve Smyth,1978; Smyth ve Vos, 1992; Fogg ve Wang 1999; Ghoneim ve ark., 2003; Farias ve ark., 2003; Hourch ve ark., 2003; Ensafi ve ark., 2004; Zimmerman ve ark.,2001).

Bu teknikte biriktirme adımı, elektroliz adımı olmaksızın gerçekleştirilir. Bunun yerine analit elektrot yüzeyi üzerinde adsorblanır. Biriktirme boyunca elektrot, artan bir adsorbsiyonun geriliminde tutulur. Biriktirme yeterli düzeye ulaştığında isteğe bağlı olarak anodik ya da katodik bir yönde gerilim taraması gerçekleştirilir.

2.12.4. Puls voltametrik teknikler

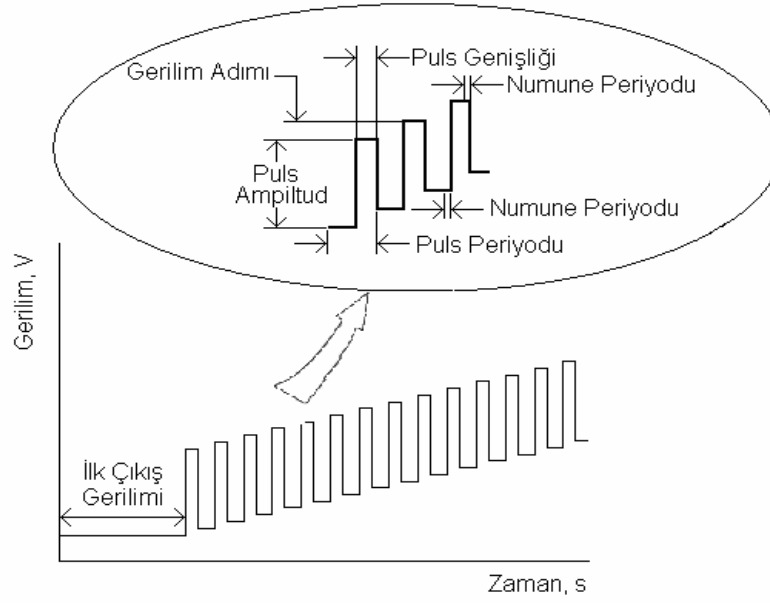
Puls voltametrik tekniklerle voltametrik ölçümlerin tayin sınırlarının daha düşük derişimlere çekilmesi amaçlanmıştır. Bu tekniklerle faradayik olan ve faradayik olmayan akımlar arasındaki oran arttırılmış ve duyarlılık 10^{-8} M düzeyine indirilmiştir. Bu tekniklerde çalışma elektroduna yaklaşık 50 ms zaman aralıklarıyla bir dizi gerilim adımı uygulanır. Her aralıklı gerilim uygulamasından sonra kapasitif akım hızlı bir şekilde azalarak yok sayılabilecek bir düzeye gelir; bu arada faradayik akımda azalma ise çok küçüktür. Böylece tayin sınırı daha düşük ölçümler gerçekleştirilir. Puls voltametrik teknikler; “normal puls”, “diferansiyel puls” ve “kare-dalga” voltametrik teknikler olmak üzere üç ana başlık altında toplanabilir. Bu tekniklerden diferansiyel puls ve kare-dalga voltametrik teknikler günümüzde kendilerine geniş bir uygulama alanı bulmuştur.

2.12.4.1. Diferansiyel puls voltametrisi (differential pulse voltammetry, DPV)

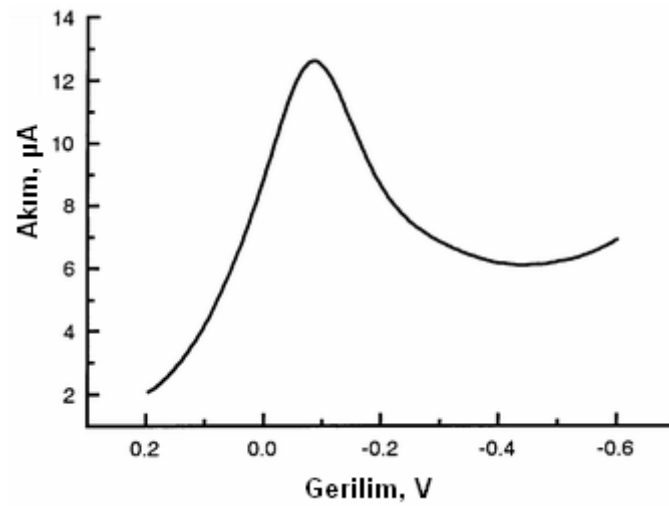
Diferansiyel puls voltametrisi; organik ve inorganik türlerin eser analizlerinde yaygın olarak kullanılan bir tekniktir. Bu teknikte, çalışma elektroduna sabit büyüklükteki pulslar (periyodik darbeler) doğrusal gerilim basamaklarının üzerine yerleştirilerek uygulanır (Şekil 2.28). Puls uygulamadan hemen önceki bir zamanda ölçülen bir akım ile puls uygulamasının bitimine yakın belli bir zamandaki akımlar ölçülür ve bu akımlar arasındaki fark ($\Delta i = i(t_1) - i(t_2)$) doğrusal olarak artan gerilimin fonksiyonu olarak kaydedilir. Uygulanan gerilime karşı elde edilen akımdaki fark grafiğe geçirildiğinde elde edilen diferansiyel eğri pik şeklinde olup (Şekil 2.29), yüksekliği analitin derişimiyle doğru orantılıdır. Elde edilen voltamogramdaki pik gerilimi (E_p), türlerin tanımlanmasında kullanılabilir; bu pik gerilimi, yarı dalga gerilimine yakın bir değerdir.

Faradayik akımın yüksek, faradayik olmayan yükleme akımının ise düşük değerde olması yani sinyal/gürültü oranının artması sonucu duyarlılık artmıştır. DPV tekniği, 10^{-8} M’den daha düşük derişimlerdeki ölçümlere olanak tanıyan duyarlı bir

yöntem olup yarı dalga gerilimleri 0.04-0.05 V kadar farklı olan maddeler için bile özgün pik maksimumları elde edilmektedir (Wang, 2000; Skoog ve ark., 1998).



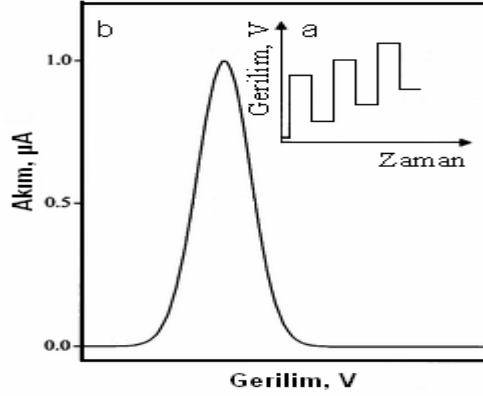
Şekil 2.28. Dijital cihazlarda diferansiyel puls voltametrisi için kullanılan uyarma sinyali.



Şekil 2.29. Diferansiyel puls voltametrisinde elde edilen bir voltamogram.

2.12.4.2. Kare-dalga voltametrisi (square-wave voltammetry, SWV)

Kare-dalga voltametrisi, basamaklı bir gerilim taraması sırasında çalışma elektroduna kare dalga şeklinde darbenin uygulandığı diferansiyel bir tekniktir. Basamaklı sinyalde her basamağın boyu ve darbe periyodu eşit olup 5 ms'dir. Ölçüm sırasında akım, darbe uygulanmasından hemen önce ve hemen sonra olmak üzere iki kere ölçülür ve iki ölçüm arasındaki akım farkı uygulanan gerilime karşı grafiğe geçirilir (Şekil 2.30).



Şekil 2.30. Kare dalga voltametrisinde uyarma sinyali(a) ve elde edilen bir voltamogram(b).

Şekil.2.30'da kare-dalga voltametrisinde uyarma sinyalinin oluşumunda elde edilen akım farkı (Δi), birinci gerilimdeki akım değerinden ikinci gerilimdeki akım değerinin çıkarılması ile bulunur. Tersinir bir indirgenme tepkimesinde bir pulsun boyutu, ileri tarama sırasında oluşan ürünün geri tarama sırasında yükseltgenmesini sağlamaya yetecek kadar büyüktür. İleri puls bir katodik akım (i_1), geri puls bir anodik akım (i_2) oluşturur. Genellikle voltamogramları elde etmek için Δi grafiğe geçirilir. Bu fark derişimle doğru orantılıdır.

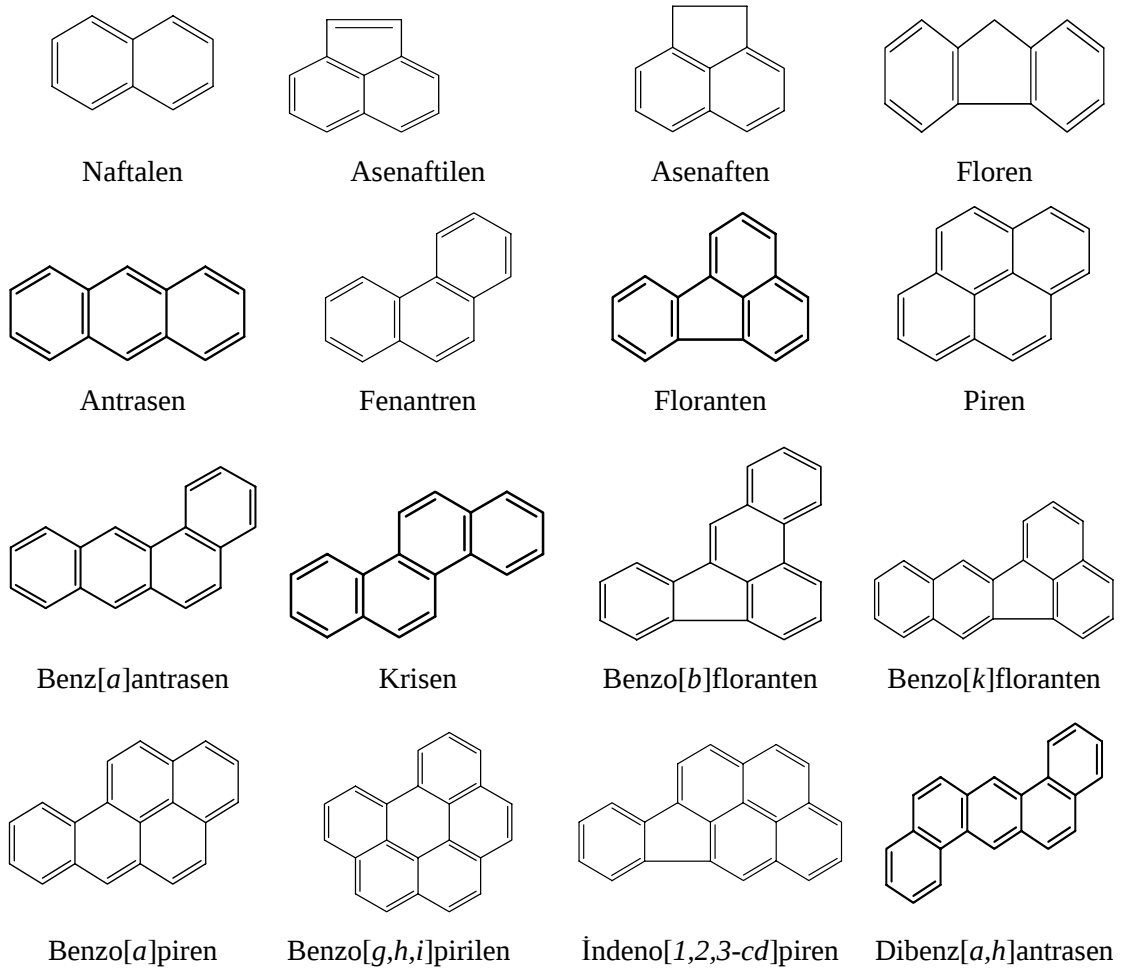
DPV ve SWV karşılaştırıldığında ikincisi ile elde edilen akımların daha büyük olduğu gözlemlenmiştir. SWV tekniğinin en önemli üstünlüğü, hızının yüksek olmasıdır. Ölçüm son derece hızlı yapıldığından birkaç voltametrik taramanın sinyal ortalaması alınarak analizin kesinliğinin artırılması olasıdır.

Bu teknikte etkili tarama hızı, $f\Delta E_s$ ifadesi ile belirlenir (f ; kare dalga frekansı, ΔE_s ; puls yüksekliği). Örneğin $\Delta E_s = 10$ mV ve $f = 50$ Hz olduğunda etkili gerilim tarama hızı $v = 0.5$ V s⁻¹ olarak elde edilir (Wang, 2000; Skoog ve ark., 1998).

3. POLİSİKLIK AROMATİK HİDROKARBONLAR (PAH'LAR)

3.1. Genel Bilgiler ve Tarihçe

Polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH'lar) ya da polinükleer aromatik hidrokarbonlar (PNH'ler), her biri benzen yapısını temel alan iki ya da daha fazla halkalı yapı içeren polisiklik aromatik bileşiklerin (PAC) genel adıdır. PAH'lar daha çok homosiklik organik bileşikleri tanımlamakta kullanılırken PAC'lar hem homosiklik hem de heterosiklik bileşikleri tanımlamakta kullanılırlar. Bu grup bileşiklerin en basiti iki benzen halkasının birleşmesinden oluşan naftalindir. Aromatik halkadaki hidrojen yerine halojenlerin ya da başka sübstitüentlerin geçtiği daha geniş sınıf, PAC'larla temsil edilir. Çevre kimyası açısından da önemli olan ve çok bilinen PAH bileşiklerinin bir kısmının kimyasal yapıları Şekil 3.1'de fiziksel özellikleri ise Çizelge 3.1'de verilmiştir (Raluca ve Vasile, 2006, Harvey, 1997; Jacop, 2008).



Şekil 3.1. Bazı önemli PAH bileşikleri ve kimyasal yapıları.

Çizelge 3.1. Bazı PAH bileşiklerinin fiziksel özellikleri.

Bileşik	Formül	Molekül ağırlığı	Erime Noktası (°C)	Kaynama Noktası (°C)	Buhar Basıncı (kPa)
Naftalin	C ₁₀ H ₈	128.18	80.2	218	1.1x 10 ⁻²
Asenaftilen	C ₁₂ H ₈	152.20	92–93	265–280	3.9x 10 ⁻³
Asenaften	C ₁₂ H ₁₀	154.20	90–96	278–279	2.1x 10 ⁻³
Floren	C ₁₃ H ₁₀	166.23	116–118	293–295	8.7x 10 ⁻⁵
Antrasen	C ₁₄ H ₁₀	178.24	216–219	340	3.6x 10 ⁻⁵
Fenantren	C ₁₄ H ₁₀	178.24	96–101	339–340	2.3x 10 ⁻⁵
Floranten	C ₁₆ H ₁₀	202.26	107–111	375–393	6.5x 10 ⁻⁷
Piren	C ₁₆ H ₁₀	202.26	150–156	360–404	3.1x 10 ⁻⁶
Benz[<i>a</i>]antrasen	C ₁₈ H ₁₂	228.30	157–167	435	1.5x 10 ⁻⁸
Krisen	C ₁₈ H ₁₂	228.30	252–256	441–448	5.7x 10 ⁻¹⁰
Benzo[<i>b</i>]loranten	C ₂₀ H ₁₂	252.32	167–168	481	6.7x 10 ⁻⁸
Benzo[<i>k</i>]loranten	C ₂₀ H ₁₂	252.32	198–217	471–480	2.1x 10 ⁻⁸
Benzo[<i>a</i>]piren	C ₂₀ H ₁₂	252.32	177–179	493–496	7.3x 10 ⁻¹⁰
Benzo[<i>g,h,i</i>]pirilen	C ₂₂ H ₁₂	276.34	275–278	525	1.3x 10 ⁻¹¹
İndeno[1,2,3- <i>cd</i>]piren	C ₂₂ H ₁₂	276.34	162–163	-	-
Dibenz[<i>a,h</i>]antrasen	C ₂₂ H ₁₄	278.35	266–270	524	1.3x 10 ⁻¹¹

PAH'ların ilk tanımlanması Londra'da bir cerrah olan Percival Pott'un baca temizlikçilerinde görülen cilt kanseri vakalarını araştırdığı 1775 tarihine uzanır. Yaklaşık yüz yıl sonra Volkmann ve Bell, Alman ve İskoç parafin endüstrisinde çalışan işçilerde Pott tarafından belirlenen testislerde ur oluşturan cilt kanseri teşhisini doğrulamışlardır. 1907'de İngiltere İşçi Tazminat Yasası'nın içeriğine "baca işçilerinde görülen cilt kanserinin katran ve katran türevli bileşiklerinin neden olduğu" notu girilmiştir. Birkaç yıl sonra katrana ek olarak mineral yağları ve parafinle ilgili uyarılar da yasanın içeriğine eklenmiştir. On dokuzuncu yüzyılın ikinci yarısında ve yirminci yüzyılın başlarında is nedeniyle oluşan cilt kanserinin değişik iş yeri koşullarındaki PAH bileşiklerinden meydana geldiği doğrulanmıştır. O zamana dek doktorlar büyük ölçekli doğal deneylerin beklenmedik ve öngörülemeyen sonuçlarından sakınarak bunu endüstrileşmenin ortaya çıkışına bağlamışlardır. Ancak bundan sonra yapılması gereken hastalığı araştırma koşulları içerisinde tekrar oluşturmak ve ilgili kanser araştırmalarını

yürütmekti. Birkaç başarısız denemeden sonra, Yamagiwa ve Ichikawa 1915'te insan bulgularını deney hayvanları üzerinde oluşturup tavşanlara kömür katranı bileşenlerini enjekte etmişler ve tavşan kulakları epitel hücrelerinde kötücül urlar oluşturmayı başarmışlardır. Bu çalışma aynı zamanda PAH'larla ilişkili modern kanser araştırmalarının başlangıcı olmuştur (Luch, 2005).

1915'den günümüze PAH'lar ve içerikleriyle ilgili pek çok çalışma gerçekleştirilmiş olup bu konudaki çalışmalar halen devam ettirilmektedir.

3.2. PAH Kaynakları ve Çevresel Varlığı

Polisiklik aromatik hidrokarbon kaynakları genel olarak doğal PAH kaynakları ve yapay PAH kaynakları olmak üzere ikiye ayrılır. PAH'lar çevrede aynı anda her yerde bulunduğundan dolayı kaynağına göre PAH'ları saptamak oldukça zordur. PAH kaynaklarını sınıflandırmada kabul edilen diğer bir yöntem ise biyolojik kaynaklı, petrol kaynaklı ve yangın kaynaklı PAH'lar olmak üzere üç genel kısımda incelemektir (Page ve ark., 1997).

Biyolojik kaynaklı PAH'lar bitkilerin ilk oluşum sürecinden başlayarak doğal biyolojik işlem basamakları sonucunda oluşur. Büyük doğal PAH kaynakları; volkanik patlamalar, orman yangınları ve çürümüş bitki atıklarından kaynaklanan yangınlardır. Bunun yanı sıra kendiliğinden oluşan ham petrol yangınları da bu sınıfta değerlendirilebilir. Doğal kaynaklar bu süreçte büyük oranda PAH üretirler.

Dünyada asıl PAH kaynakları gerçekte insan faaliyetleri kaynaklıdır (Anonim, 1995). Petrol kaynaklı PAH'lar petrolden elde edilir ve genellikle sucül ortama sudan, havadan ve ham petrol gibi çözünmüş organik maddelerden girer.

Yangın kaynaklı PAH'lar yakıtların tam yanmaması sonucunda is gibi yanma ürünleriyle beraber oluşur ve partiküler olarak çevreye yayılır (Neff, 1979; Goldberg, 1985). Yangın kaynaklı PAH'lar çoğunlukta olan PAH bileşiklerince ve büyük oranda antrasen ve benzo[a]piren gibi 3-5 halkalı PAH'larca temsil edilir. Bu basit sınıflandırma oldukça kullanışlı olmakla birlikte ayrı ayrı PAH analitlerinin ve göreceli bolluklarının belirtilmesinde yetersiz kalır. İnsanlar PAH'lara tam yanmamış bitki ve canlı atıklarından, sigara dumanından, hayvansal atıkların yanmasından, petrol

rafinerilerinden, asfalttan, atık su depolarından, metalürjiden, alüminyum üretiminden ve ham petrolün katalitik bozunması gibi endüstriyel teknolojilerden, termik santrallerden, katı ve fosil yakıt fırınlarından maruz kalabilir.

Küçük miktarlarda PAH'lar ise laboratuvar analizlerinde, pestisit ve boya sentezlerinde, ilaçların sentezinde endüstriyel amaçlı olarak üretilebilir. Bu endüstriyel ürünler; naftalen, antrasen, fenantren, piren ve karbazol gibi karsinojenik olmayan kimyasallardır (Raluca ve Vasile, 2006). Şekil. 3.2'de başlıca PAH kaynakları resmedilmiştir.



Şekil 3.2. PAH kaynakları

Atmosferdeki PAH'lar orman yangınları ve volkanik patlamalar gibi doğal yanma süreçleri sonucunda oluşur (Nikolaou ve ark., 1984). Bununla birlikte insan aktiviteleri sonucu oluşan PAH kaynakları daha baskındır. İnsan kaynaklı PAH'lar sabit ve hareketli kaynaklar olmak üzere iki genel kısımda incelenirler. Hareketli kaynaklar; araç yakıtları ve dizel motorların ürettiği kirliliktir. Sabit kaynaklar ise konut ısınmaları ve endüstriyel aktiviteler (alüminyum ve kömür imalatı gibi), fırınlama ve enerji üretimi gibi faaliyetler sonucunda atmosfere karışır (Masclat ve ark.1988). Atmosferdeki PAH kaynaklarının dağılımı; kaynağın dağılma hızı, coğrafik konum ve yerel iklim koşulları gibi bazı faktörlere bağlıdır (Harkov ve Greenberg, 1985).

Dünyanın farklı bölgelerinde PAH dağılımı ile ilgili pek çok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmaların bazıları belirli bir zaman dönemi için var olan PAH miktarları ile bu bileşiklerin ilgili dönem içinde olası kaynakları arasında ilişki

kurmuşlardır. Her ne kadar bu çalışmalar birkaç yıla dayanan uzun süreçler sonunda ortaya çıkmış olsa da küçük bir zaman dilimini incelemişlerdir. Genel bir fikir vermesi açısından Çizelge 3.2 de bazı ülkelerdeki PAH kaynaklarının dağılımları gösterilmiştir.

Çizelge 3.2. Kaynaklarına göre bazı ülkelerdeki PAH dağılımının tahmini değerleri.

Kaynak Tipi	Toplam PAH dağılımı (ton yard ⁻¹)			
	ABD (a)	(b)	İsveç (c)	Norveç (d)
Konut Isınması				
Kömür ve ağaç yakılması	3939	450	96	48
Petrol ve doğal Gaz	17	930	36	15
Toplam	3956(%36)	1380 (%16)	132(%26)	63(%21)
Endüstriyel İşlemler				
Kömür imalatı	632	2490	277	43
Asfalt üretimi	5	4	-	-
Karbon isi	3	3	-	-
Alüminyum üretimi	-	1000	35	160
Diğerleri	2	-	-	-
Toplam	640 (%6)	3497(%41)	312(%62)	203(%69)
Fırınlama				
Belediye	-	-	-	-
Ticari	56	50	2	1
Toplam	56(%1)	50 (%1)	2(%1)	1(%0)
Yangınlar				
Kömür kalıntısı yangınları	29	100	-	-
Zirai yangınlar	1190	400	1	2
Orman yangınları	1478	600	1	5
Diğer	1328	-	-	-
Toplam	4025(%36)	1100(%13)	2(%1)	7(%2)
Enerji Üretimi				
Elektrik santralleri	13	1	-	-
Buhar kazanları	75	400	7	1
Toplam	88(%1)	401(%5)	7(%7)	1(%0)
Mobil kaynaklar				
Benzin motorları	2161*	2100*	33	13
Dizel Motorlar	105	70	14	7
Toplam	2266(%21)	2170(%25)	47(%9)	20(%7)
GENEL TOPLAM	11031	8598	502	294

* Bu değerler emisyon kontrollü araçlar için düzeltilmemiş değerleri içermektedir (yaklaşık %50 olduğu tahmin ediliyor).

(a) verileri Peters ve ark., 1981

(b), (c) ve (d) verileri Ramdahl ve ark.,1982' den alınmıştır.

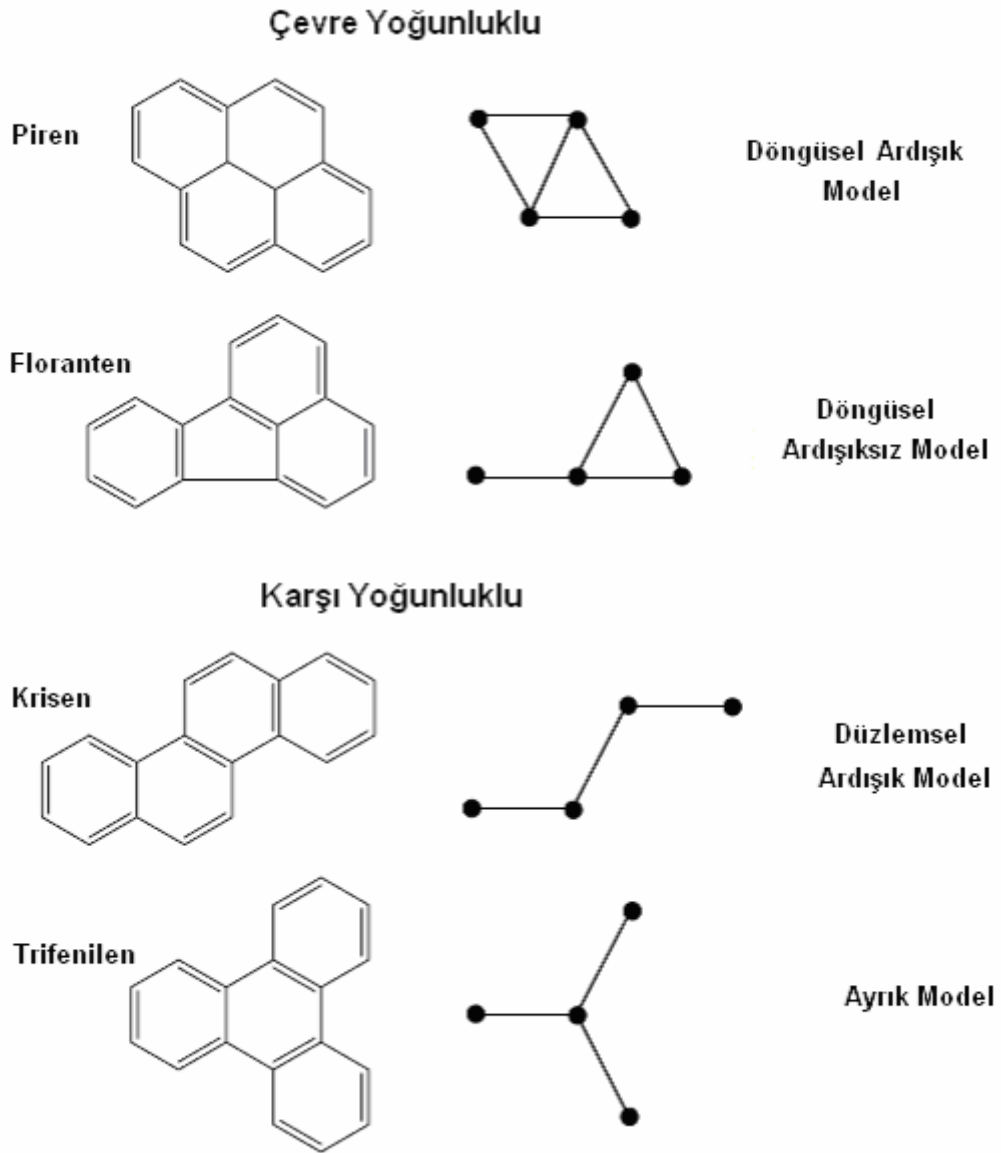
3.3. PAH'ların Yapısı, Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

PAH'lar benzen halkasının yerleşimine göre çevre ve karşı yoğunluklu olmak üzere iki genel başlık altında incelenebilir. Şekil 3.3'de gösterildiği üzere çevre yoğunluklu PAH'lar döngüsel ardışık model ve döngüsel ardışıksız model olmak üzere tanımlanabilir (Ramesh ve ark.2004).

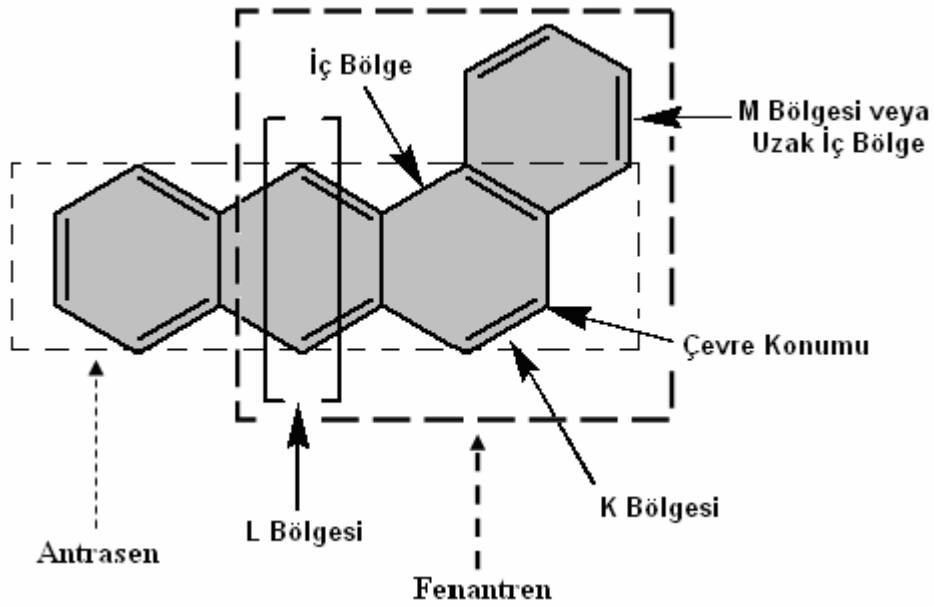
Çevre yoğunluklu PAH'lar döngüsel ardışık modelde özellikle altı üyeli benzen halkasının birleştirilmesinden oluşurken, döngüsel ardışıksız model bazı beş üyeli halkalar da içerebilir.

Karşı yoğunluklu PAH'lar ise çizgiler bir döngü oluşturmayıp ardışık ve ayrık modeller olarak sınıflandırılabilirler. Ayrık modeller düzlemsel ardışık modellere göre termodinamik olarak daha kararlı ve kimyasal olarak daha az reaktiftir.

PAH'ların yapısı (karbon atomlarının konumu ve bazı bölgeleri) biyolojik aktivitenin saptanması açısından oldukça önemlidir. Şekil 3.4'te PAH moleküllerinin yapısı ve bölgeleri temsili bir PAH olarak benz[a]antrasen üzerinden gösterilmiştir. "K" bölgesi bir fenantren molekülünün yarısının dış köşesi olarak tanımlanır. "L" bölgesi bir antrasen atomunu simetrik ayıran atomların olduğu bölgedir. "İç" bölge bir fenantrenin yarısının açık iç köşesi olarak tanımlanır. "Uzak iç" bölge, "M" bölgesi olarak da adlandırılır. Açılı halkanın yanında ve iç bölgenin karşısındaki "çevre konumu" karbon atomları iç bölge karbon atomlarına benzer (Raluca ve Vasile, 2006).



Şekil 3.3. PAH yapılarının farklı tipleri (Ramseh ve ark., 2004'ten uyarlanmıştır).

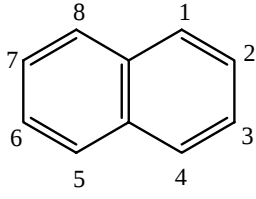


Şekil 3.4. PAH'ların biyolojik aktiviteleriyle ilişkili bölgeleri (Guillen ve Sopelana, 2003 den uyarlanmıştır)

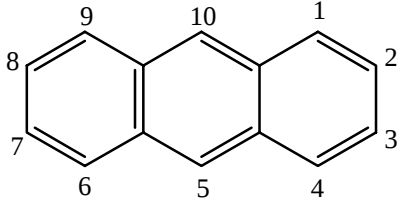
Organik maddelerin tam yanmamaları sonucunda oluşan ve tüm çevresel ortama yayılan önemli çevresel kirleticilerden PAH ürünleri ile ilgili çalışmalarda, bu bileşiklerin karsinojenik ve mutajenik aktivitelerinin kimyasal yapıları ile ilişkilendirilmesi son derece önemlidir. Kemirgenler üzerine yürütülen çalışmalarda yüksek molekül ağırlıklı dibenzo[*a,l*]piren bileşiğinin PAH'lar içerisindeki en karsinojen bileşik olduğu görülmüştür (Higginbotham ve ark., 1993).

3.4. PAH'ların İsimlendirilmesi (Nomenklatör)

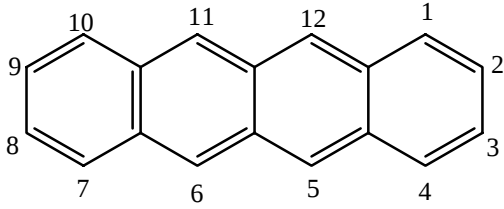
PAH'ların isimlendirilmesi; doğrusal birleşen ilk üç üye için adlarının sonuna –en eki getirilerek, 5, 6 ve 7 halkalı üyelerde de sonuna –sen eki getirilerek yapılır. Birleşen halkalar için numara verilirken en üst konumlu halkadan başlanıp saat yönünde numara vermeye devam edilir. Halkaların birleşme yerlerindeki karbonlara numara verilmez.



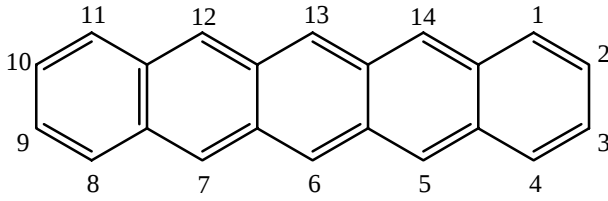
Naftalen



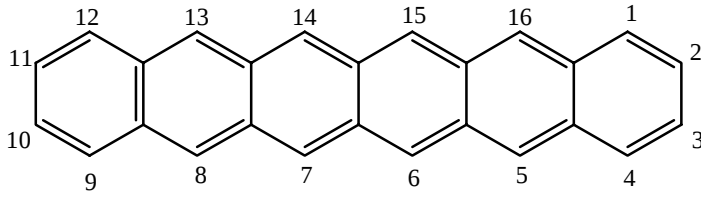
Antrasen



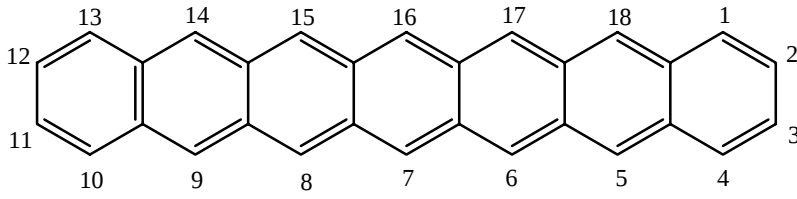
Naftasen



Pentasen

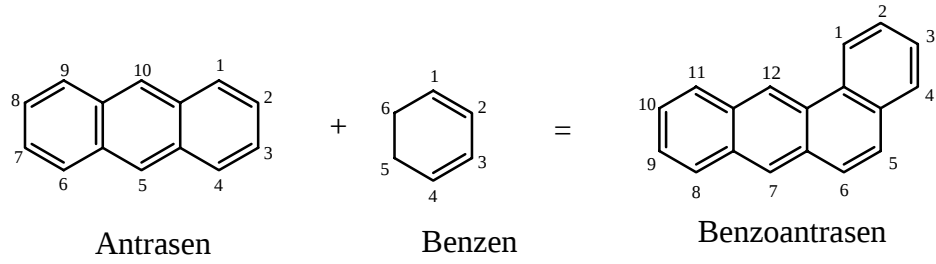


Hegzasen

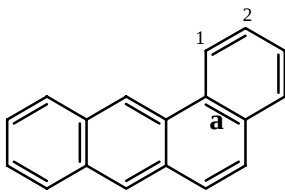
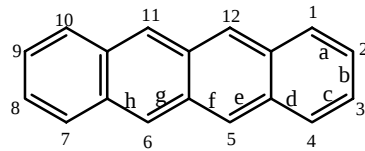


Heptasen

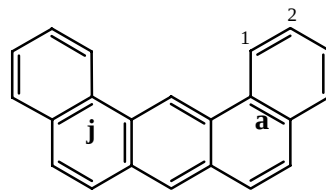
Özel ismi bulunmayan halka sistemlerinin isimlendirilmesi için özel ismi olan halka sistemlerinden yararlanılır. İsimlendirilecek halka sistemi için esas oluşturacak bir halka sistemi (ana halka) seçilir ve eklenen diğer halka sistemlerinin adı yazılır.



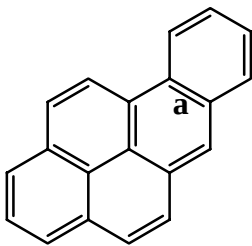
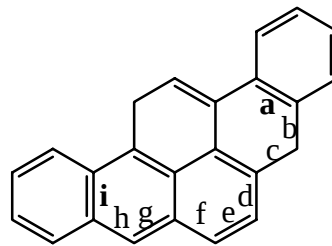
Ana halka sistemine eklenen halkaların konumlarının belirtilmesinde harf sistemleri de kullanılır. Ana halka sisteminin en üst karbon atomları arasına “ a ” harfi getirilerek saat yönünde $b, c, d \dots$ şeklinde harf verilmeye devam edilerek adlandırma yapılır. Harfler köşeli parantez içinde belirtilir.



benz[a]antrasen



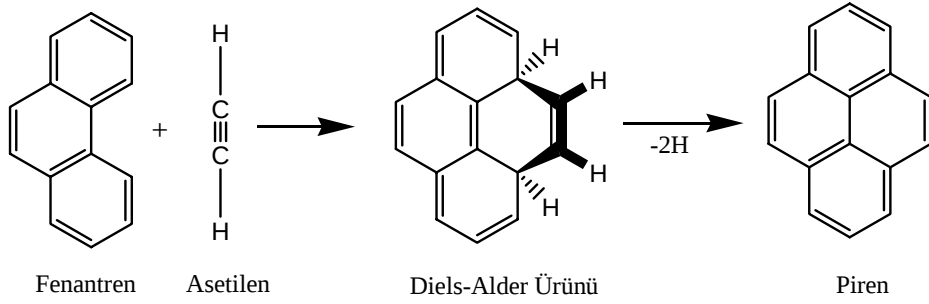
dibenz[*a,j*]antrasen

benzo[*a*]piren

dibenzo[*a,i*]piren

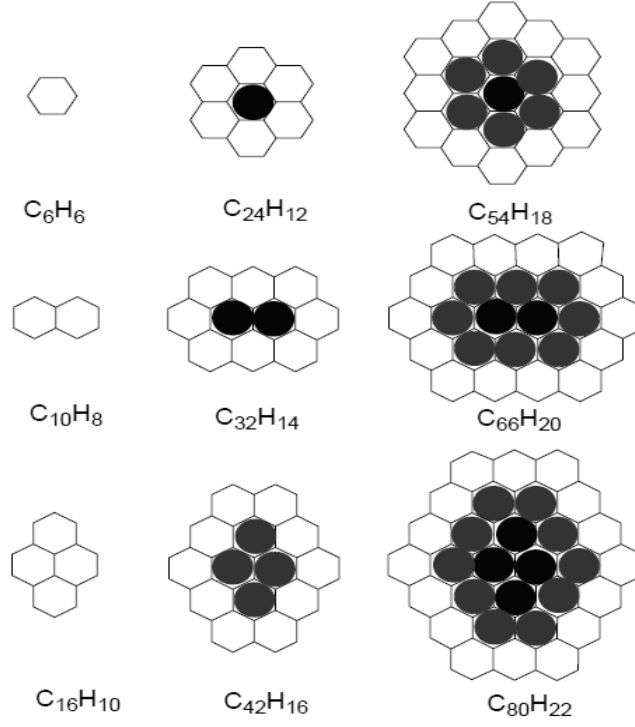
3.5. PAH Oluşum Mekanizmaları

PAH'ların oluşum mekanizmaları üzerine yürütülen pek çok çalışmada aromatik halkaların ilki olan benzenin oluşmasının gerekli bir adım olduğu söylenmiştir (Frenklach ve Warnatz, 1987). İlk aromatik halkanın oluşmasından sonra hidrokarbonların pirolizi ve yükseltgenmesi başlayarak oluşumları gerçekleşir. Halkadan hidrojen ayrılmasını ve molekülün aktive edilmesi adımını asetilen eklenmesi adımı izler (Diels–Adler tepkimesi). Halkalaşma adımı gidebileceği en yüksek sınıra kadar varır. İki halkalı naftalin oluşumundan sonra üç halkalı fenantren, sonrasında dört halkalı piren oluşur (Frenklach ve ark., 1985). Şekil 3.5'te başlangıçta üç halkalı antrasenin izomeri olarak oluşan fenantrenin asetilen katılması sonucu Diels-Alder tepkimesiyle piren oluşturması gösterilmiştir.



Şekil 3.5. Diels-Alder tepkimesiyle piren oluşumu. (Siegmann ve Sattler, 2000)

PAH'ların üç ailesinden bahsedilebilir. Birinci aile benzen ailesi, ikinci aile naftalen ailesi, üçüncü aile piren ailesi olarak adlandırılabilir. Şekil 3.6'da soldaki ilk kolon bu molekülleri, sağdaki diğer iki kolon ise ilk kolondaki üyelerin altıgen halkaların düzenlenmesinden elde edilmiştir (Siegmann ve Sattler, 2000).



Şekil.3.6. Benzen halkalarından türeyen PAH ailesi (II bağları şekli daha açık göstermek için şekil üzerinde verilmemiştir).

3.6. PAH' lara Maruz Kalma Şekilleri

PAH'ların hava partiküllerindeki bileşimi trafik ya da diğer yanma işlemleri gibi yayılma kaynaklarına göre önemli oranda değişiklik gösterir. İnsanlar zamanlarının büyük bir kısmını kapalı ortamlarda geçirdiğinden partiküler maddelere kapalı ortamlarda maruz kalmak önemli sağlık sorunları oluşturur. İnsan sağlığını ilgilendiren partiküllerin çapı $2.5 \mu m$ 'den daha küçüktür. Çoğu PAH bileşiği, bu ince partiküllerin üzerine atmosferik koşullar ve kimyasal reaktivitelerine de bağlı olarak yavaşça adsorbe olur. Bu şekilde uzak mesafelere taşınıp kirlilik oluşturabilir. PAH partikülleri yanmanın da bir sonucu olarak $1 \mu m$ 'dan daha küçük boyutlarda olabilir. İyi bilinen iki halkalı ve üç halkalı PAH'lar atmosferde gaz fazında bulunurken, beş halkalı PAH'lar katı partiküller halinde, dört halkalı PAH'lar ise atmosfer sıcaklığına da bağlı olarak gaz ve katı partikül arasında bir fazda bulunur (Howsam ve ark., 2000, 2001).

Atmosferik PAH'ların en yüksek derişimi, araç trafiğinin artmasından ve atmosferik kirleticilerin yayılmalarından dolayı kent merkezlerindedir (Caricchia ve ark. 1999). Şehirlerde evsel ısınma için iyi kalite kömürlerin kullanımı, yakıt olarak doğal gaz ve petrol kullanımı kentsel partiküllerin miktarını önemli oranda azaltmış olsa da kentsel nüfusun artışı beraberinde şehirleri birbirine bağlayan yolların da artmasına dolaylı olarak da araç trafiğinin artışına neden olmuştur. Sonuçta kentsel partikül kirliliği tekrar artma eğilimine girmiştir. Ayrıca arabaların ürettiği partiküller, kömürün ortaya çıkardığı partiküllere göre daha küçüktür ve dolayısıyla solunum yoluyla bu partiküllere maruz kalmayı artırır (Manoli ve ark. 2002). Çok halkalı PAH'larla ilgili oldukça fazla bilgi bulunmasına karşın, yanıcı, buhar fazındaki PAH bileşenleri hakkındaki bilgiler ihmal edilmiştir. Bu yanıcı bileşikler düşük karsinogen/mutajen etkiye sahip olsalar da kent atmosferinde oldukça bol miktarda bulunur ve diğer kirlilik yapıcı maddelerle tepkimeye girerek daha toksik türevlerine dönüşürler (Park ve ark. 2002). Böylelikle insanlar tek bir PAH'a maruz kalacakken pek çok maddeye birden maruz kalır.

Yüksek oranda PAH dağılımı gösteren ve bazı kanser hastalıklarının önemli oranda artışına neden olan endüstriyel işyerleri vardır. Kömür işletmeleri, kömür katranı ve zift imalatı, alüminyum üretimi, demir ve çelik endüstrisi, katran ve kauçuk imalatı, mineral yağ ve is üretimi yapan yerler bu gruptan işyerlerine örnek verilebilir. Yüksek oranda PAH'a maruz kalan meslek gruplarından baca temizleyicileri, asfalt ve zift kaplamacılığı yapan yol işçileri ve çatı işçileri yüksek risk grubunu oluşturmaktadır (Jacob ve Seidel, 2002). Otomotiv yan ürünleri sanayisi hem PAH hem de metal kirliliği için ortak bir paydadır. Motorlu araçların yaydıklarının yollardaki ölüm oranlarına yakınlığını araştıran çalışmalar, aralarında yakın bir ilişki olduğu sonucuna varmıştır.

Genel olarak organizmaların çevresel maruziyeti, çevrenin (sediment, toprak, su ve hava) gözlenmesiyle değerlendirilir. Bununla birlikte biyolojik gözlem (biomonitoring) maruz kalmanın tüm yollarını anlayıp değerlendirmeyi sağlar. Bu yalnızca biyolojik olarak bulunan kimyasalların değil aynı zamanda idrar, ter gibi atıkların, vücut sıvısının ve vücutta değişime uğramış olan maddelerin değerlendirilmesi açısından da önemlidir. Biyolojik örneklerin karmaşıklığından dolayı analizler için geleneksel olarak karışık analiz yöntemleri kullanılır. Geleneksel biyolojik görüntüleme yöntemleri yoğun işgücü, maliyet ve zaman harcamayı gerektiren yöntemlerdir. Son

zamanlarda genel nüfustaki düşük düzeyde PAH maruziyetini değerlendirmede uriner-1-OHP (1-hidroksipiren) testi yapılmaktadır (Vyskocil ve ark., 1997). Hava kirliliğine diğer kirlilik türlerinden daha çok aşırı miktarda PAH maruziyetinin neden olduğu görülmüştür. PAH maruziyetinin en önemli faktörlerinden birinin de beslenme tarzı (diyet) olduğu söylenmektedir. Örneğin 1-OHP gibi metabolitlerin en yüksek pik derişimleri San Vicente Bay adasındaki Lenga bölgesi civarından toplanan köpekbalıklarının safra kesesinde görülmüştür. Nedeni olarak bu bölgedeki tekne trafiğinin ve yanma temelli (çelik ve petrokimya) endüstriyel işlemlerin yoğunluğu düşünülebilir. Bununla birlikte değerlendirmenin yapıldığı alanda köpekbalıkları safra kesesinde naftalen tipi metabolitlere de rastlanması insan kaynaklı PAH'ların bu alanın tamamına yayıldığını göstermektedir (Fuentes-Rios ve ark., 2005).

Büyük oranda benzo[a]piren (BaP) kaynağı olduğu şüphelenilen metal boru döküm işletmesinin bulunduğu New Jersey'in Phillispsburg kentinde BaP'a maruz kalan insanlar üzerine bir çalışma yapılmıştır. Şehirdeki dış ortamlarda BaP derişimi 0.9 ng m^{-3} , kapalı ortamlarda ise 0.1 den 8.1 ng m^{-3} değişen aralıkta saptanmıştır. Gıdalarda (yaş ağırlığının) gram başına BaP derişiminin 0.004 ile 1.2 ng m^{-3} olduğu bulunmuştur. Bazı örneklerde dış ortam atmosferinin BaP'ın iç ortamlardaki derişimini arttırdığı görülmüştür. Çalışmada içme sularının BaP'a maruz kalmada yardımcı bir rol oynadığı görülmüştür. Çalışma konusu kapsamında beslenme tarzı yoluyla maruziyetin ($2\text{--}500 \text{ ng gün}^{-1}$) solunum yoluyla maruziyetten ($10\text{--}50 \text{ ng gün}^{-1}$) daha büyük olduğu gözlenmiştir (Lioy, 1988).

Bir sigara dumanı içindeki ortalama benzo[a]piren içeriği 1960'larda 35 ng , 1978–1979 arasında 18 ng ve modern düşük katranlı sigaralarda ise 10 ng düzeyindedir. Sigara dumanıyla aşırı oranda kirlenmiş bir odada bu oran 22 ng m^{-3} düzeyine kadar çıkmaktadır.

İçme sularında 6 PAH (floranten, benzo[b]floranten, benzo[k]floranten, benzo[a]piren, benzo[ghi]pirilen ve indeno[1,2,3-cd]piren) üzerine yapılan çalışmada bu altı PAH'ın %90'ının da derişimi 0.001 ile $0.01 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ aralığında saptanmıştır. %1'inde ise $0.11 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ 'den daha yüksek derişimde bulunmuştur. İçme sularındaki BaP derişiminin ise 0.0002 ile $0.024 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ derişim aralığında olduğu gözlenmiştir (Anonim, 1998).

Sebzelerde, meyvelerde, balıklarda ve geniş bir aralıktaki et ürünlerinde pişirme, saklama ve depolama koşullarına da bağlı olarak önemli miktarda PAH'a rastlanmıştır. Hollanda'da bir marketteki 18 yaş erkekleri diyet ürünlerinde yapılan bir çalışmada 17 PAH bileşeni saptanmıştır. En sık rastlanan PAH bileşenleri %59 oranında benzo[b]floranten, %48 oranında floranten ve %46 oranında benzo[k]floranten olarak bulunmuştur. En yüksek derişime ise 36 µg/kg ile “tatlı ve şekerli” ürün grubunda bulunan krisende rastlanmıştır. Analiz edilen ürünlerden toplam PAH girişı 5 µg gün⁻¹ (en düşük) ve 17 µg gün⁻¹ (en yüksek) değerleri arasında bulunmuştur (De Vos ve ark., 1990).

Bütün yüzey topraklarında karsinojenik PAH'lar saptanmıştır. Orman topraklarındaki tipik derişimleri 5 µg kg⁻¹ ile 100 µg kg⁻¹ arasında bulunmuştur. PAH'ların önemli miktarı yaprak gibi organik maddelerin üzerine havadan adsorbe olur ve bitki atıklarından orman topraklarına geçer. Karsinojenik PAH içeren tarımsal toprak alanları ise atmosferik serpintintiden gelen 10–100 µg kg⁻¹ arasında PAH içerir. Hem orman hem de tarım toprakları bazen 1000 µg kg⁻¹ kadar yüksek değerlere çıkabilir. Pek çok fosil yakıtı nedeniyle metropoliten alanlar orman ve tarımsal alanlara göre daha yüksek PAH derişimlerine sahiptir. Kent topraklarının çoğunda PAH derişimi 600–3000 µg kg⁻¹ aralığındadır. Endüstrileşme ve ağır nakliye alanlarına yakın yerlerde daha yüksek derişimlere rastlanabilir. Bununla beraber tozlu yollarda bu değer 8000–336 000 µg kg⁻¹ aralığında olduğu rapor edilmiştir (Menzei ve ark., 1992).

3.7. PAH'ların Sağlık Üzerindeki Etkileri

PAH'ların canlılar üzerinde pek çok olumsuz sağlık etkisi vardır. Çağımızın en ölümcül hastalıklarından kanserden başlayarak, genetik yapının bozulmasına ve genlerde mutasyona varana dek pek çok olumsuz tablonun en önemli nedenlerinden biri de PAH maruziyetidir (Anonim 1970–1994; Anonim,1994). PAH'lara maruz kalma süresi ve canlıya giriş şekline de bağlı olarak farklı kanser türleri görülebilir. Ağız yoluyla alındığında BaP ve diğer PAH çeşitleri mide, akciğer, karaciğer ve kemirgenlerin meme bezlerinde tümör oluşumuna neden olurken (Anonim 1970-1994), mono ve dinitro pirenler ise hipofiz ve meme bezlerinde tümör oluşturmaktadır (İmaida

ve ark., 1991). PAH'ların insan sağılığı üzerindeki olumsuz etkilerine dair sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalar daha çok mesleki olarak PAH maruziyetinin yüksek olduğu endüstriyel iş alanlarında çalışanlara ve çevresel olarak maruz kalmaya dair bulgulardır (Baker ve ark., 2001; Lodovici ve ark., 2004). Çalışmaların çoğu deney hayvanları üzerinden sağılık etkilerini incelemeye yöneliktir.

Epidemiyolojik çalışmalar; kömür fırınlarında kömürün koklaştırılması ve kömür gazı eldesinde çalışan işçilerde, asfalt işçilerinde, alüminyum dökümhanesinde çalışan işçilerde ve dizel egzozlarında PAH'a maruz kalanlarda yürütülmüştür (Bentsen ve ark., 1998; Baker ve ark., 2001). Kömür fırını işçilerinde ve asfalt işçilerinde PAH maruziyetinden dolayı akciğer tümörü artış hızı görülmüştür (Bentsen ve ark., 1998). Akciğer kanseri için en yüksek bağıl risk grubu kömür fırını işçilerinde görülmüştür (Miller ve ark., 2004). Kömür fırını işçilerinde 30 yıllık bir sürede akciğer kanserinden 124 ölüm vakası yaşanmıştır (Lai ve ark., 2003). Alüminyum fabrikalarında yalnızca üriner mesane kanseri değil aynı zamanda astım gibi belirtiler, akciğer fonksiyonu anormallikleri ve kronik bronşit gözlenmiştir (Tuominen ve ark., 2002).

PAH'ların çoğu deney hayvanlarında tümör oluşturma gücüne sahiptir. Farklı biyolojik çalışmalarda modern gereksinimlere yanıt veren karsinogeniteyle ilgili toksikolojik testlerin tanımlandığı yeterli çalışmalar olmamasına karşın BaP model PAH bileşiğı olarak yıllardır kullanılmaktadır.

BaP; fareleri de içeren, Gine domuzları, tavşanlar ve bazı maymun türlerinde denenmiştir (Goldstein ve ark., 1998). Tüm deneylerde küçük hayvanlarda tümör gözlenirken, yeterli zamanda hayvanları gözlemenin zorluğu, uygun yöntem ve doz üzerine yeterli bilginin eksikliğınin de katkısıyla büyük hayvanlarda tümör oluşumu sağlanamamıştır. Diğer PAH'larla olan çalışmada BaP pozitif kontrol amacıyla kullanılmıştır (Baker ve ark., 2001).

Bazı PAH'lar farelerde bağışıklık sistemini baskılayıcı etkiye sahiptir. PAH'ların karsinogenik etkisiyle bağışıklık sistemini baskılama derecesi arasındaki ilişkiye dair sınırlı sayıda bilgi vardır (White ve ark., 1985).

Yeni doğan fareler PAH'ların karsinogenik etkilerine karşı herhangi bir direnç gösterememişlerdir. BaP ve diğer PAH'ların 15 gün boyunca intraperitoneal ve derialtına enjeksiyonundan sonra altı ay içinde tümör oluşumu gözlenmiştir (Anonim,1970–1994; Lavoie ve ark.,1987).

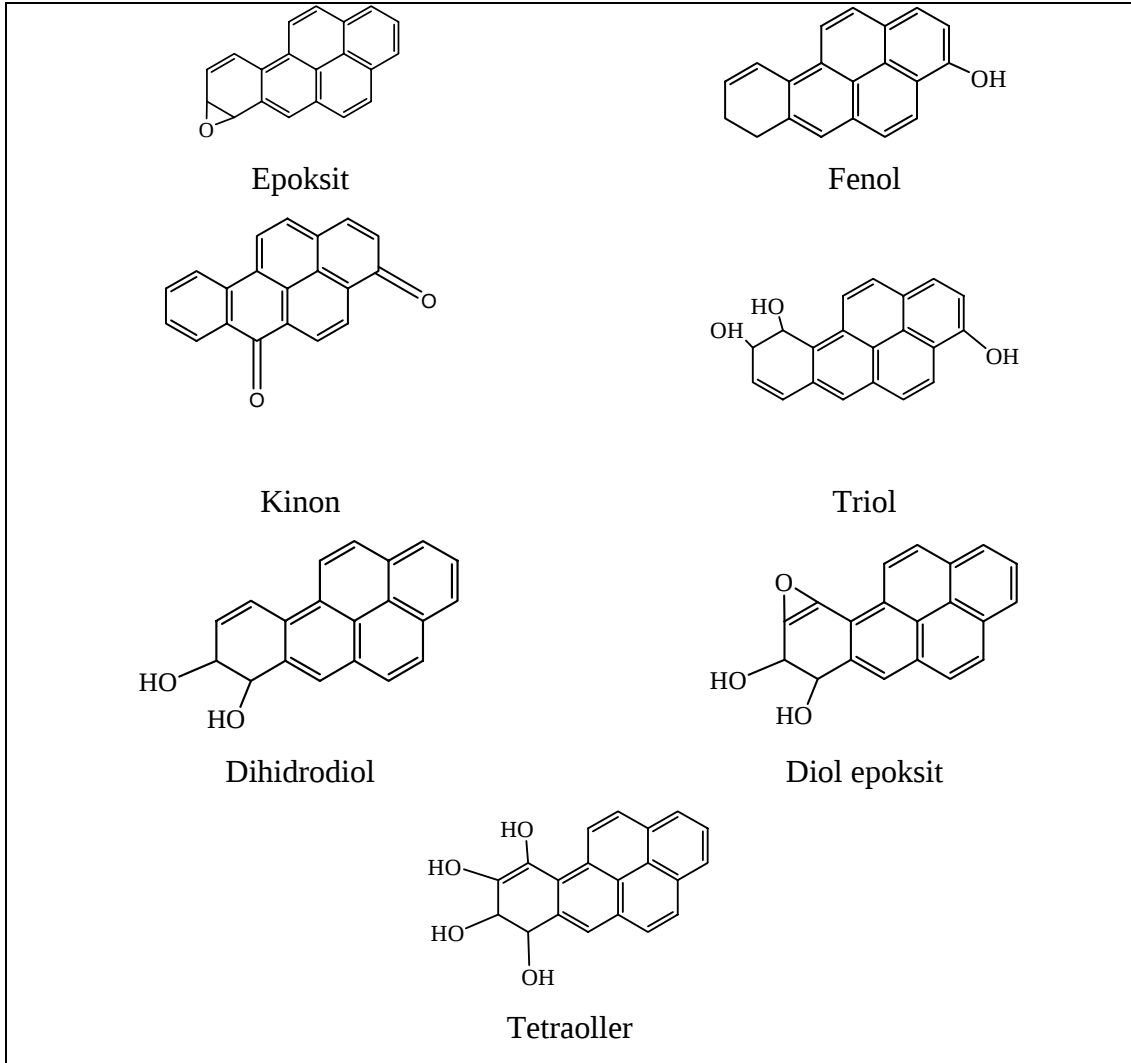
Hayvanlar üzerinde gerçekleştirilen çalışmalar sonucu elde edilen bulgularda PAH'ların immunotoksik, genotoksik, karsinojenik, yeni doğan canlılara aktarılabilir toksiklik ve ateroskleroz (damar sertliği) gelişimi gibi bazı olumsuz etkilere sahip olduğu saptanmıştır (Anonim, 1970–1994).

BaP deney hayvanlarında şimdiye kadar en yoğun çalışılan PAH bileşiğidir. BaP, uygulama şekline ve test edilen türe de bağlı olarak birçok farklı dokuda tümör oluşturur. Solunum yoluyla karsinojenliği test edilen tek PAH olup hamster türü farelerde akciğer tümörü oluşturmuştur. Ratlarda ve hamster türü farelerde akciğer tümörü oluşmasının nedeni akciğer dokusuna doğrudan BaP'ın enjekte edilmesidir. BaP'ın akciğer karsinojenliğinin sigara dumanı, asbest ve kirli hava partiküllerine aşırı maruz bırakmayla daha da arttığı görülmüştür (Pott ve Heinrich, 1990).

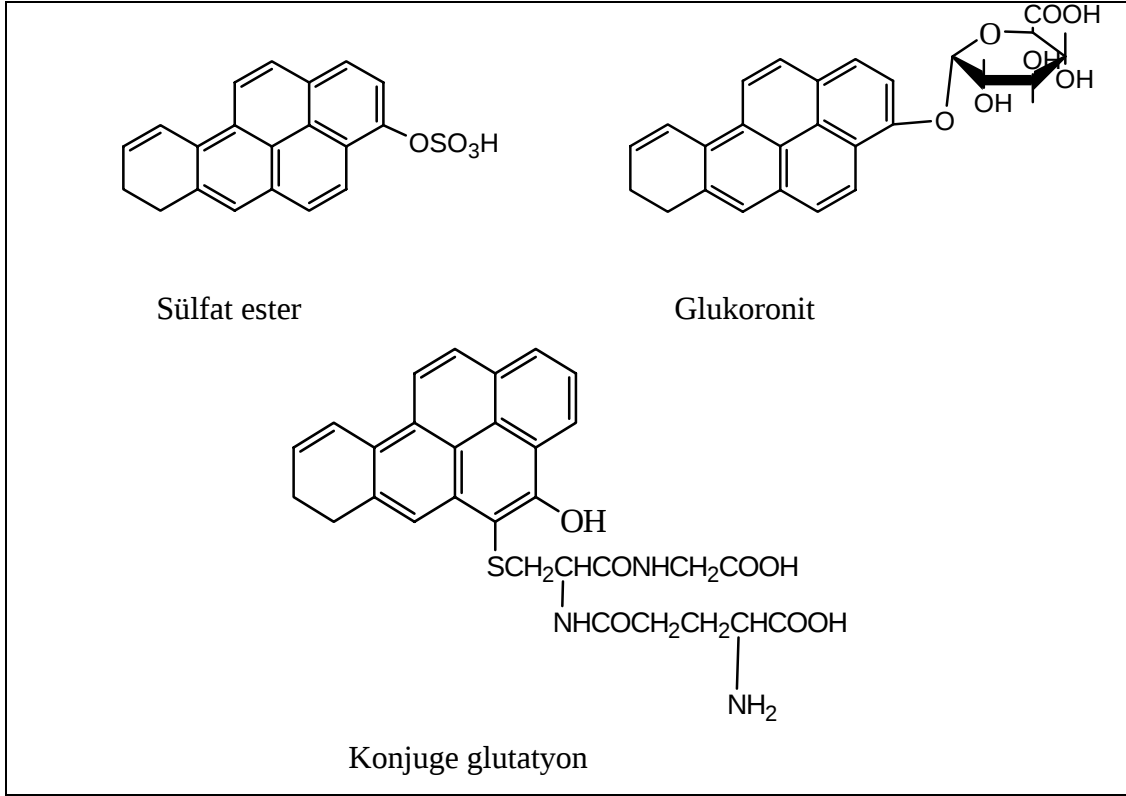
3.8. PAH Metabolizması

PAH'lara memelilerin maruziyeti genel olarak solunum yolu, kontamine olmuş gıda, sulardan sindirim yolu ve deri yolu ile gerçekleşir. Bu bileşikler hidrofobik olmalarına bağlı olarak yağlı dokularda, böbrekte ve karaciğerde depolanırlar (Anonim, 1998). PAH'lar kendi başlarına oldukça düşük toksikliğe sahiptirler (pro-karsinojen). Bu bileşiklerin mutajenik ve tümörjenik etki yapabilmeleri için metabolik aktivasyona uğramaları gerekmektedir. Vücuda girdiklerinde selüler koruma sistemi bu yabancı bileşikleri metabolizma yoluyla vücuttan atmaya çalışır. Memelilerdeki PAH metabolizması esas olarak karaciğerde gerçekleşir ve (diğer enzimlerle birlikte) sitokrom P450 enzimleri ile katalizlenir. Metabolizmaya bağlı olarak PAH'lar daha polar ve suda çözünen yapıya dönüşerek vücuttan atılırlar. Bu işleme "detoksifikasyon" işlemi denir. Ancak bazı PAH'ların metabolizması aynı zamanda reaktif araürünleri oluşturur. Bu ürünler nükleik asitlere kovalent bağlanarak katım ürünlerini (adduct, addükt) oluştururlar ve genotoksik özellik kazanırlar (Yu, 2002).

Model PAH bileşiği olan BaP'ın epoksit, dihidrodiol, fenol, kinon gibi metabolitleri Şekil 3.7de, çeşitli konjuge bileşikleri ise Şekil 3.8'de verilmiştir.



Şekil 3.7. Bazı benzo[a]piren metabolitlerinin kimyasal yapısı.

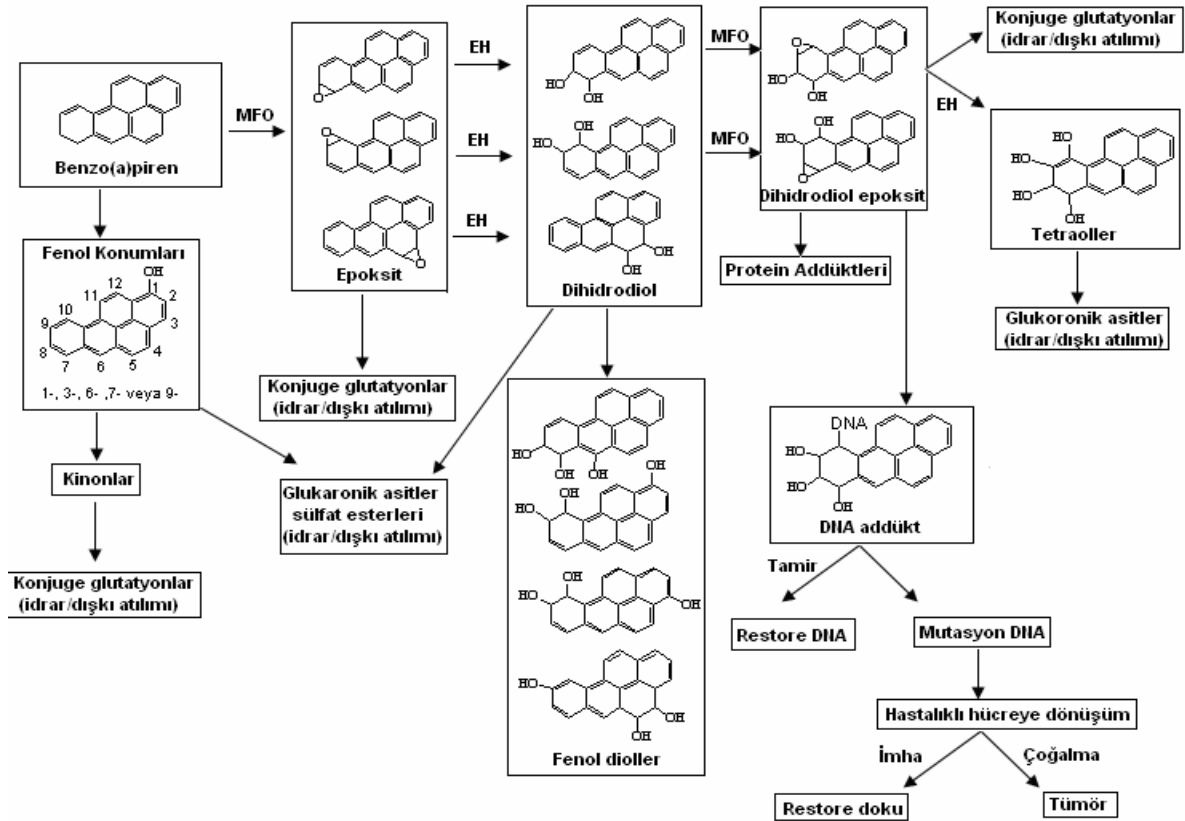


Şekil 3.8. Benzo[*a*]piren'in bazı konjuge biçimlerinin kimyasal yapıları.

Reaktif PAH metabolitlerinin oluşumunu anlamak, PAH'ların karsinojenliğini anlamak açısından oldukça önemlidir (Ramesh ve ark., 2006).

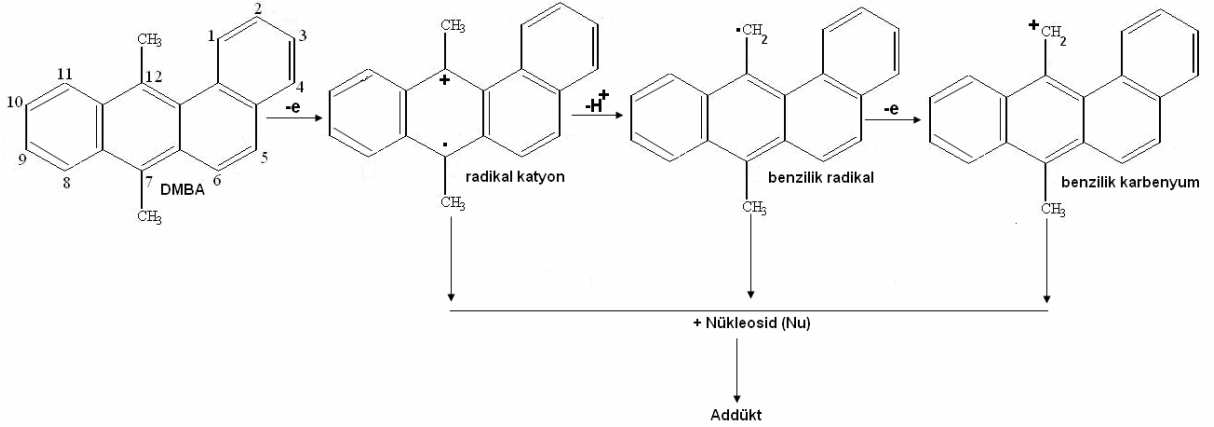
Genel olarak kabul edilen görüşe göre diol epoksitten türemiş DNA addüktlerinin oluşumu, kanserin başlamasına yol açan temel metabolik aktivasyon yolağıdır. PAH'ların metabolik dönüşümü, BaP'ın hem aktivasyon hem detoksifikasyon içeren metabolik yolağı üzerinden Şekil 3.9'da gösterilmiştir. PAH'ların biyolojik dönüşüm adımı sitokrom P450 enzimi tarafından molekülün epoksidasyonu ile başlar. İlk epoksidasyon "kompleks enzim" olarak adlandırılan ve endoplazmik retikulumda bulunan karışık fonksiyonlu oksidaz (MFO) tarafından katalizlenir. İkinci adım diollerin olduğu hidroksilasyon adımıdır. Bu adım MFO enzim kompleksine bağlanmış olan epoksit hidrataz (EH) enzimlerince katalizlenir. Hidrataz içeren enzim kompleksi yerine aril-hidrokarbon-hidroksilaz (AHH) deyişi de sıklıkla kullanılır. Oluşan dioller daha sonra dihidridiol epoksitlerine dönüşebilir. Kimyasal ve fiziksel bakış açısıyla dihidrodiol epoksitler (özellikle BaP'ın diol epoksiti gibi iç bölgede oluşturulmuşsa),

DNA'daki nükleofilik bölgelerce nükleofilik saldırılara uğrayacak kadar reaktiftir (Guillen ve ark.,1997). Aradaki dioller, glukoronik asit ya da glutasyon ile konjugasyona uğrayarak bir detoksifikasyon işlemi geçirip böbrek ve safra kanalıyla dışarı atılabilen konjuge metabolitlerine dönüşürler. İki ve üç halkalı PAH metabolitleri idrarla atılırken, daha yüksek molekül ağırlıklı PAH metabolitleri dışkı yoluyla atılır. Ayrıca konjuge dihidrodioller ileri oksidatif metabolitlerine dönüşürler. Sitokrom P450 enzimi 9,10-dihidrodiollerini ağırlıklı olarak 1- ve/ya da 3-fenol türevlerine, küçük miktarlarda ise 9,10-diol epoksitlerine dönüştürürken BaP-4,5-dihidrodiollerini karakterize edilemeyen bir takım metabolitlerine dönüştürür. 9,10-diollerin aksine BaP-7,8-dioller, 7,8-dihidrodiol-9,10-epoksit ve az miktarda fenol-diol biçimlerine dönüşürler. Diol epoksitler glutasyon-S-transferaz enzimlerinin katalizlediği tepkimeyle konjuge glutasyonlara dönüşebilirler. Aynı zamanda tetraollere de hidroliz olabilirler (Anonim,1995).



Şekil 3.9. Benzo[a]piren'in metabolizması ve olası etkileri (Guillen ve Sopelana, 2003'den uyarlanmıştır).

PAH bileşikleri için kabul edilen ikinci önemli metabolik aktivasyon yolağı ise radikal katyon oluşumuna dayalıdır. Bileşikler, bir elektron kaybederek (1-elektron yükseltgenmesine uğrayarak) reaktif serbest radikal araürünlerine dönüşürler (Higginbotham ve ark., 1993; Cavalieri ve Rogan, 1995; Harvey, 1996). Bu radikal katyonlar ya doğrudan DNA ile tepkimeye girerler (süstitüe olmamış PAH'larda görüldüğü gibi) ya da DNA tepkimesinden önce radikal ve karbokasyon araürünlerine çevrilirler (*mezo*-metil-süstitüe PAH'larda görüldüğü gibi). 1-elektron yükseltgenmesi ile gerçekleşen aktivasyon, monooksijenasyon (diol epoksit oluşumu) ile gerçekleşen aktivasyondan tamamen farklıdır. Ayrıca 1-elektron yükseltgenmesi sonucu gözlenen addüktlerin PAH yapısında oksijenlenme yoktur. Şekil 3.10'da 7,12-dimetilbenz[*a*]antrasen (DMBA) bileşiğinin (metil-süstitüe PAH) yukarıda sözü edilen mekanizma ile olası metabolik aktivasyon yolağı görülmektedir (RamaKrishna ve ark., 1992b).

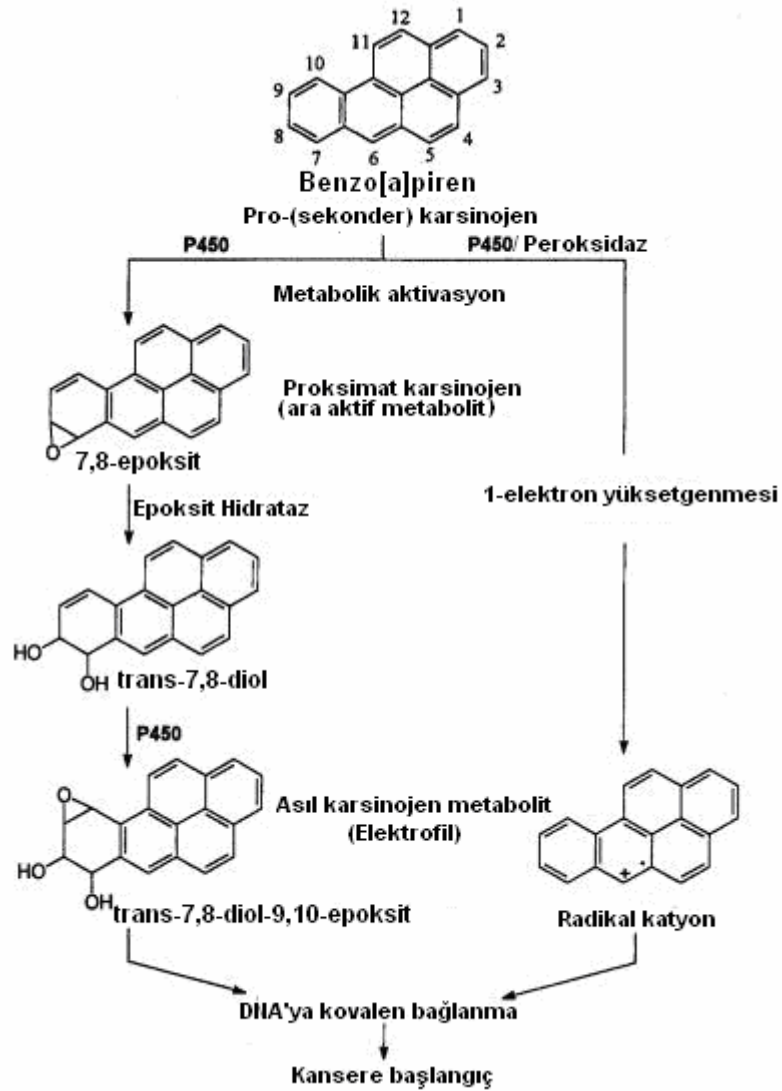


Şekil 3.10. 7,12-Dimetilbenz[*a*]antrasen'in olası metabolik aktivasyon yolağı (RamaKrishna ve ark., 1992b'den uyarlanmıştır).

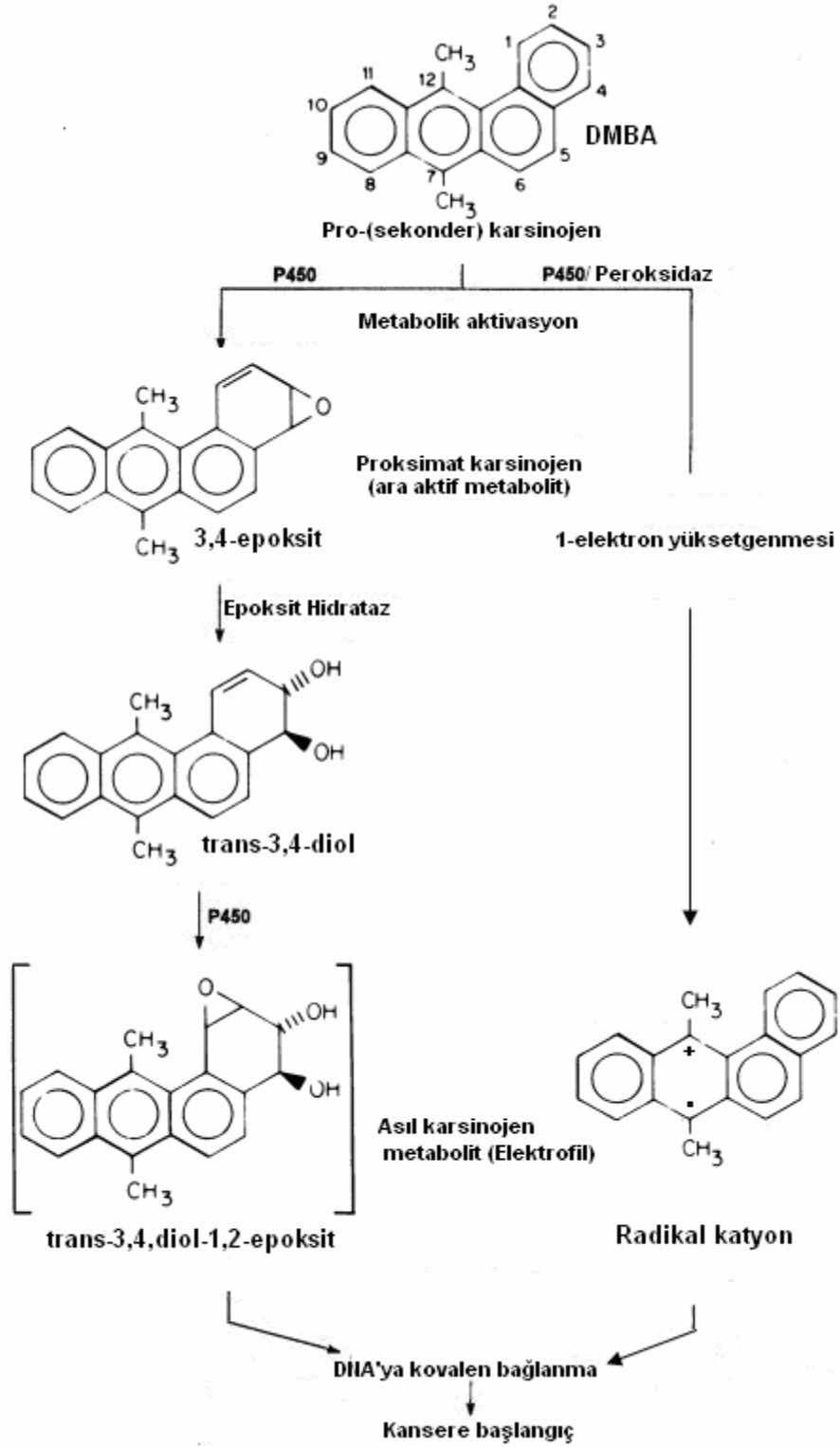
Bazı PAH bileşikleri bu iki mekanizmadan yalnızca biri ile diğerleri ise ikisiyle birlikte aktive olurlar. PAH bileşiklerinden bu tez kapsamında çalışma konusu olarak seçilen BaP ve DMBA'nın her ikisi de mekanizmaların ikisinin birlikteliğiyle aktivasyona uğrarlar. BaP, %80 oranında katyon radikali ile 6. konumdaki karbon atomu üzerinden, %20 oranında ise diol epoksitler ile 10. konumdaki karbon atomu

üzerinden DNA addüktlerini oluşturur (Davenasen ve ark., 1992, Rogan ve ark., 1993). Buna karşılık DMBA'da ise DNA addüktlerinin %99'u radikal katyonu üzerinden oluşurlar. Bileşiğin 12. konumundaki -CH₃ grubu üzerinden %82'si Adenin'in, %17'si ise Guanin'in 7. konumundaki azotuna bağlanarak addüktlerine dönüşürler. DMBA'nın 7-CH₃ grubuna bağlanan hiçbir addükt saptanmamıştır. Dayanıklı addüktlerin oranı %1.4 dolayındadır. Diol-epoksit yolağı üzerinden oluşan addüktlerin oranı ise yalnızca %0.2'dir (RamaKrishna ve ark., 1992a)

BaP ve DMBA'nın her iki mekanizmayla gerçekleşen metabolik aktivasyon yolları toplu olarak Şekil 3.11 ve 3.12'de verilmiştir.



Şekil 3.11. Benzo[a]piren'in olası metabolik aktivasyon yolları



Şekil 3.12. 7,12-Dimetilbenz[a]antrasen'in olası metabolik aktivasyon yolları

PAH'ların bir başka karşılaşılan mekanizması da dihidrodiol metabolitlerinin enzimatik dehidrojenasyonla kinonlara dönüşmesini içeren mekanizmadır (Şekil 3.9). Kinonlar DNA ile doğrudan birleşerek ya da DNA'ya saldırabilecek süperoksit anyonları ve hidroksil radikalleri gibi reaktif oksijen üreterek O_2 ile bir redoks döngüsüne girerler. Kinon metabolitlerinin az miktarlarda oluşumu reaktif oksijen türlerinin yüksek oranlarda oluşmasıyla sonuçlanabilir (Flowers-Geary ve ark., 1993).

3.9. PAH'ların Toksikliği

PAH bileşiklerinin polarize olabilen halkalı yapıları özellikle oksijen varlığında kimyasal ve biyokimyasal reaktiflerine dönüştüklerinde toksik özellikleri artar. Oksijenin elektron çekici özelliği ile karbonyum iyonları gibi reaktif ürünlerin oluşumuna neden olur (Menzei ve ark., 1992).

PAH'ların fotooksidasyonla reaktif ürünlere dönüşümü toksikliği artırır. UV ışınlarına maruz kalan balık ve *Daphnia*'da PAH'ların daha toksik olduğu gözlenmiştir (Oris ve Giesey, 1986,1987). Üç ya da dört aromatik halkalı PAH'lar UVA ışını (320-400 nm), beş ya da daha fazla aromatik halkalı PAH'larla, üç ya da dört aromatik halkalı PAH'ların hidroksi-, amino-, nitro-süstitüe türevleri görünür ışını (>400 nm) absorbe ederler. Bu durumda bileşikler daha yüksek enerji düzeyine uyarılırlar ve reaktif türleri oluşturmak üzere moleküler oksijene, çözücülere ya da hücrede bulunan biyolojik moleküllere elektron ya da enerji aktarırlar. Uyarılmış PAH'lar aynı zamanda oksijen ya da diğer moleküllerle tepkimeye girerek reaktif araürünlere dönüşürler. Bu aktivasyon yolağı, enzimatik aktivasyon yolağına çok benzerdir. PAH bileşiklerinin ışıktaki bırakıldıklarında karanlıkta kalmalarına kıyasla daha toksik oldukları saptanmıştır (Yu, 2002).

PAH'ların toksikliği üzerine yürütülen çalışmalarda insan sağlığı üzerine etkilerine özellikle de karsinogenik ve mutajenik aktivitelerine odaklanılmıştır. Bu iki özellik karsinogenik PAH metabolitlerince oluşturulmuş; bazı DNA addüktlerinin artması ile kimyasal olarak kanser ürettiği bulunmuş; tümör supresör genleri ya da kanser mutasyon genlerine bağlanmıştır (Purchase, 1994; Nesnow ve ark., 1995).

Çevresel kimyasallarının toksiklik verilerinin çoğu tek bir bileşik içindir. Böylece risk faktörü tekli bileşikler için hesaplanabilir. PAH'lar çevrede karışım halinde bulunduklarından PAH bileşiklerinin her biri için toksiklik derecesi için güvenilir tahminler geliştirilmelidir. Bu şekilde geliştirilecek tahminler ilgili PAH karışımındaki toksiklik verileri için kullanılabilir. Karışıma özgü toksikliğin eksikliği PAH'lar için sorun oluşturur; bu yüzden toksikliği tahmin etmek için uygun yaklaşımlar yapılmalıdır (Reeves ve ark.,2001). Bu zorluğun aşmak için toksik eşitlik faktörü (TEF) geliştirilmiştir (Nisbet ve LaGoy,1992). PAH'lar içerisinde toksikliği en iyi tanımlanan BaP olduğundan diğer PAH bileşiklerinin toksikliği BaP'ın toksikliğiyle karşılaştırılır.

4. KAYNAK BİLDİRİŞİ

4.1. PAH Analizleri İçin Kullanılan Yöntemler

Son on yılda yapılan çalışmalar, genetik bozuklukların pek çoğunun çevresel karsinojenler tarafından oluşturulduğunu ayrıca kanser vakalarındaki artıştan da bu karsinojenlerin sorumlu olduğunu ortaya çıkarmıştır. Polisiklik aromatik hidrokarbonlar da en önemli çevresel karsinojenler arasında yer almaktadır. Bu yüzden biyolojik örneklerden, çevre sularından, sedimentlerden, besinlerden, atmosferden belirlenmeleri, ölçülmeleri ve izlenmeleri son derece önem kazanmıştır. Önceden kullanılan yöntemlerin modifiye edilmesi sonucu düşük gözlenebilirlik sınırı, yüksek doğruluk ve kesinlikte analizlerin yapılabilmesi olasılık kazanmıştır (Anonim,1995). PAH bileşiklerinin öneminden dolayı geliştirilen yeni yöntemlerin PAH analizlerinde kullanılması araştırmacıların ilgi odağı haline gelmiştir.

Çevrede bulunan PAH bileşikleri karışım halinde bulunduğundan bunları ayırmak ve analiz etmek için en çok başvurulan yöntemler, kromatografik teknikler olmuştur. Kapiler kolonlu gaz kromatografisi (GC) ve kütle spektrofotometrik dedektörlü gaz kromatografisi (GC-MS) karışım halindeki PAH bileşiklerinin analizinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Yanma işleminin doğası, organik maddelerin ve fosil yakıtlarının çeşitliliği karışım halinde bulunan PAH bileşenlerinin kontrollü olarak analiz edilmesini gerektirir. Bu açıdan GC ve GC-MS tekniğinin kullanımı şüphesiz önemlidir. Çözme gücü, analiz hızı ve düşük belirleme sınırı GC tekniğinin sağladığı avantajlardır (Lee, 2001).

4.2. Biyolojik Örneklerde PAH

Biyolojik dokularda, adipoz dokusu içeren sıvılarda, akciğerde, karaciğerde, deri, saç, kan, idrar ve dışkı örneklerinde iz düzeydeki PAH'ların tayininde çeşitli analitik yöntemler kullanılmıştır (Vives ve Grimalt, 2002). Gaz kromatografisi (Olivella, 2005), alev iyon dedektörlü gaz kromatografisi (GC-FID), kütle spektrometrik dedektörlü gaz kromatografisi (GC-MS), fotodiyot dizimi (photodiode

array) dedektörlü yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC-PDA) (Nemcik, 2005), ultraviyole ya da floresans dedektörlü ince tabaka kromatografisi (TLC-UV ya da TLC-FD) (Filipkowska ve ark., 2005) bu yöntemlere örnek olarak verilebilir.

Obana ve ark. (1981), EPA'nın öncelikli çevre kirleticileri listesindeki altı PAH bileşiğinin (benzo[b]floranten, benzo[k]floranten, benzo[a]piren, benzo[g,h,i]pirilen, antrasen, piren) floresans dedektörlü HPLC yöntemiyle belirlenmesi ve miktar tayinlerini gerçekleştirmişlerdir. İnsan dokusunda ölçülen düzey, 0.006 ile 0.460 ng g⁻¹ aralığında bulunmuştur. Örnekler, KOH ile sabunlaştırılıp tüketilmiş, miktar tayini öncesinde de özütler alüminyum ve silika jel kolonunda temizlenmiştir. Bilinen karsinojenlerden benz[a]antrasen ve dibenz[a,h]antrasen bulunamamıştır (gözlenebilirlik sınırı < 0.005 ng g⁻¹).

Lipniak ve ark. (1990), fosfat pH 7.4 tamponunda benz[a]antrasen, floranten ve pireni bovin serum albumine bağlayarak kan hücrelerinde ve plazmada *in vivo* ve *in vitro* deneyler gerçekleştirmişlerdir. Farelerde *in vivo* deneyler sonrasında kan ve plazmadaki benz[a]antrasen, floranten ve pireni, gaz kromatografisi ile 20 mg/kg düzeyinde bulmuşlardır. Sonrasında gerçekleştirdikleri *in vitro* çalışmalarda kan örneklerine PAH'ların 20 mikrogramını eklemişler, 37°C'de inkübasyon işlemini tamamladıktan bir saat sonra kan hücrelerinde PAH miktarlarını saptamışlardır. Veriler piren ve florantenin kan hücrelerinin tamamına dağıldığını benz[a]antrasenin ise plazmada %56.9, kan hücrelerinde %39 oranında dağıldığını göstermiştir. PAH'ların plazma proteinlerine bağlanması PAH-protein çözeltisinin 0.4 cm³'ünün Sephadex kolonuna aktarılması ve jel filtrasyonu ile sağlanmıştır. PAH'a bağlı parametreler doğrusal regresyon ve "Scatchard plot analiz" yöntemiyle sağlanmıştır. Albumin çözeltisinde (%0.4) bağ sayıları benz[a]antrasen için 2, piren için 3, floranten için 11 olarak bulunmuştur. Bu PAH'lar için bağ sabitleri ise sırayla 0.17, 1.11, 0.71x10⁴ olarak saptanmıştır.

Çok sayıda balık karaciğeri örneğinde PAH analizleri için "tekli temizleme adımı" kullanılarak analitiksel bir yöntem geliştirilmiştir (Vives ve Grimalt, 2002). Dokular susuz sodyum sülfatla homojenleştirildikten sonra n-hegzan-diklormetan (4:1, h/h) ile 24 saat tüketilmiştir. Özütler temizlendikten sonra iki fraksiyonlu özütlerin ayrılmasına olanak veren kromatografik alüminyum kolonunda fraksiyonları gerçekleştirilmiştir. Birinci fraksiyon, hegzaklorobenzen, DDT (diklor-difenil-

dikloreten), poliklorbifenil ve hegzaklorosiklohegzan izomerleri gibi klorlu organik bileşikleri ve PAH'ları tüketirken ikinci fraksiyon GC-MS yöntemiyle bu maddeleri ardışık olarak analiz etmiştir. Yöntemin tekrarlanabilirlik çalışmasında bağıl standart sapma değeri %20'nin altında bulunmuştur.

Becher ve Bjorseth (1983), mesleki olarak PAH'lara maruz kalan insan idrarındaki PAH ve PAH metabolitlerini biyolojik olarak izlemek için HPLC yöntemi geliştirmişlerdir. Floresans dedektörlü HPLC (HPLC-FD) kullanarak ayrı ayrı PAH bileşiklerinin geri kazanımını %10 ile %85 arasında saptamışlar, üç halkalı PAH'lar içinse daha düşük geri kazanım elde etmişlerdir. Keratinde mmol başına 1µg'dan daha az bir gözlenebilirlik sınırı bulunmuştur.

(HPLC-FD) ile kömür katranı ziftine maruz kalan işçi idrarlarında 1-pirenol'ü (1-hidroksipiren olarak da bilinen bir piren metaboliti) tayin etmişler ve gözlenebilirlik sınırını 0.45 nmol L⁻¹ olarak bulmuşlardır (Anonim,1995).

İşçilerde ve çevresel PAH'lardaki üriner 1-hidroksipiren'in derişimleri ile kömür katranı ziftine maruz kalan işçilerdeki PAH derişiminin saptanmasında "biyomarker" olarak kullanılan piren derişimleri arasında güçlü bir ilişki gözlenmiştir. 1-hidroksipiren glukoronid'in, 1-hidroksipiren'den beş kat daha floreans etkili olması nedeniyle PAH maruziyeti için daha duyarlı bir biyomarker olarak kullanılabileceği ileri sürülmüştür (Strickland ve Kang, 1999).

Izgaralanmış sığır eti tüketen farelerde ve insan dışısındaki BaP metabolitlerinin derişimlerinin hesaplanmasında HPLC-FD yöntemi kullanılarak 1-hidroksipiren glukoronid'in tayini gerçekleştirilmiştir (Strickland ve ark, 1994). HPLC-UV dedektörün kullanıldığı örneklerde BaP için gözlenebilirlik sınırı gram başına 0.05 µg düzeyinde bulunmuştur (Strickland ve ark., 1996).

Waidyanatha ve ark. (2003), kömür fırını işçilerinin idrarından PAH'ların mikrotüketme yöntemiyle analizine dair bir çalışma yayınlamışlardır. Çalışma, idrarda bulunan 2-,3-,4- ve 5 halkalı PAH'ları temsilen naftalen (NAP), fenantren (PHE), piren (PYR) ve BaP analizleri üzerinden yapılmıştır. Yöntemi 28 işçinin idrarına uygulamışlar ve ortalama PAH bileşiklerinin düzeyini (mg L⁻¹ olarak) NAP için 3.65, PHE için 1.51, PYR için 0.003 düzeyinde bulmuşlar, BaP'ı ise ilgili teknikte saptayamamışlardır. 22 kişilik kontrol grubundaki PAH düzeyleri ise NAP için 0.859, PHE için 0.062, PYR için 0.001 düzeyinde bulunmuş, BaP'a ise rastlanmamıştır.

Kömür fırını işçilerinin idrarındaki NAP, PHE, PYR düzeyleri ile çalışma koşulları arasında güçlü bir ilişki gözlemlenmiştir. Bu sonuçlara dayanarak idrardan 2-,3- ve 4-halkalı PAH'ların katı faz mikrotüketme yöntemiyle ölçülebileceğini göstermişlerdir. Deney koşullarında sinyal-gürültü oranından hesaplanan tahmini gözlenebilirlik sınırları ise NAP ve PHE için $0.0005 \mu\text{g L}^{-1}$, PYR için $0.0003 \mu\text{g L}^{-1}$ ve BaP için $0.05 \mu\text{g L}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Yöntemin tekrarlanabilirliği; $0.5 \mu\text{g L}^{-1}$ derişimi için sırasıyla 8.1, 8.3, 7.4 ve 7.7% olarak $12.5 \mu\text{g L}^{-1}$ derişimi için ise 6.1, 5.1, 4.8 ve 6.4% olarak hesaplanmıştır.

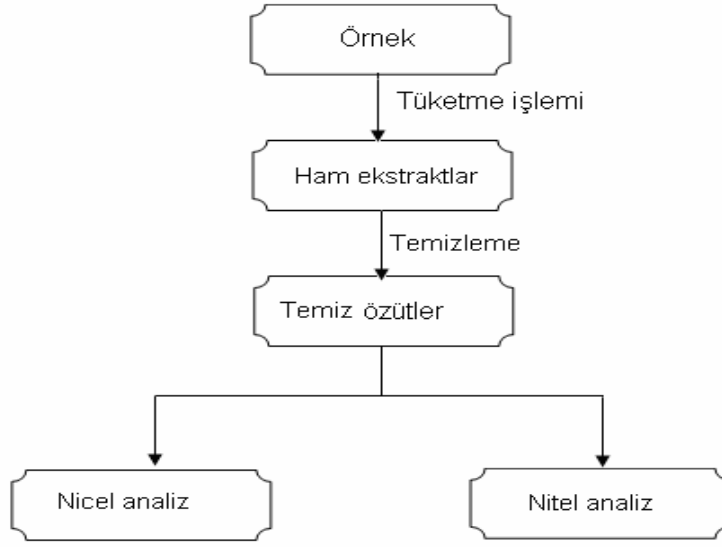
PAH'ların enzimatik olarak yüksek reaktif metabolitlerine dönüşüp DNA gibi makromoleküllerle kovalent olarak bağlandığı ve dolayısıyla deney hayvanlarında kanser ve mutasyona neden olduğu gerçeğini kanıtlayan çok sayıda araştırma bulunmaktadır. BaP, mikrozomal enzimlerce aktive edilip $7\beta,8\alpha$ -dihidroksi ($9\alpha,10\alpha$) epoksi 7,8,9,10 tetrahidrobenzo[a]pirene dönüştürüldükten sonra da BPDE-DNA addüktü biçiminde ürünler veren üzerinde çok çalışılmış karsinojen ve mutajen PAH'ların ilk örneğidir (Haugen ve ark., 1986). İnsan ve hayvanların doku ve kanlarında PAH-DNA addüktlerinin belirlendiği duyarlı yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemler; enzim bağlı immunosorbent analizler (ELISA) anlamına da gelen "immunoassay" (Fillmann ve ark., 2002), "radioimmunoassay" (RIA) (Pacheco ve ark., 2005), ayırma işleminin artırıldığı lantanit "fluoroimmunoassay" (DELFI) (Divi ve ark., 2002), ultra-duyarlı enzim radioimmunoassay (USERIA) (Ovrebo ve ark., 1994), radyoaktif sayaçlı ^{32}P - ve ^{35}P -postlabelling (Ovrebo ve ark., 1992), yüzey artışlı Raman spektroskopisi (Tognalli ve ark., 2004) ve senkronize luminesans spektroskopi (SLS) (Ko ve ark., 2003) yöntemleridir.

PAH-DNA addüktlerinin etkileşimi üzerinden PAH miktarlarının belirlenmesine dönük geliştirilen diferansiyel puls voltametrik yöntemde, PAH bileşiklerinden DMBA'nın adenin sinyali üzerinden fosfat tamponundaki (pH 7.4) yükseltgenme sinyalleri hem çözelti ortamında hem de elektrot yüzeyinde araştırılmıştır. Çözelti ortamında DMBA ile adenin etkileşme sonuçlarına göre $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ derişimdeki DMBA ve $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ derişimdeki dsDNA arasında fosfat tampon çözeltisinde etkileşim öncesi üç tekrar deneyi ile adenin yükseltgenme sinyali 347 nA düzeyinde (bağıl standart sapma, % 12.8) bulunmuştur. Etkileşim sonrasında ise pik akımının 148 nA düzeyine (bağıl standart sapma, % 13.46) indiği gözlenmiştir. Bu koşullarda gözlenebilirlik sınırı

11.9 ng mL⁻¹ olarak hesaplanmıştır. Elektrot yüzeyinde DMBA ile adenin etkileşme sonuçlarına göre aktive edilmiş kalem grafit elektrot yüzeyine 10 µg mL⁻¹ dsDNA biriktirildikten sonra üç tekrar deneyi ile adenin yükseltgenme sinyali 374 nA düzeyinde (bağıl standart sapma, %3.74) bulunmuş; elektrot yüzeyinde gerçekleşen etkileşim sonunda pik akımının 166 nA değerine düştüğü (bağıl standart sapma, % 4.86) gözlenmiştir. Bu koşullarda ise gözlenebilme sınırı 11.8 ng mL⁻¹ olarak hesaplanmıştır (Yardım, 2009).

4.3. Çevresel Örneklerde PAH

Çevresel örneklerden PAH'ların saptanması ile ilgili zorluklardan biri çevresel örneklerdeki PAH karışımlarının karmaşıklığıdır. Geniş ve özenli bir ayırma işleminden sonra bile ilgili karışım yüzlerce bileşik içerebilir. Bu tür karmaşık karışımlardaki seçilen bileşiği ölçmek için kullanılacak analitiksel yöntem iyi bir kromatografik çözme gücü ve dedektör seçiciliğine sahip olmalıdır. Çevresel örneklerdeki PAH'ların saptanması ve analizinde temel olarak üç aşamalı işlem uygulanır. Birinci adım örnek matrislerinden PAH'ların tüketilmesi ve ayrılması, ikinci adım PAH alt gruplarının fraksiyonlaşması ve saflaştırılması, son adım ise her bir alt gruptaki ayrı ayrı bileşiklerin nitel ve nicel analizlerinin yapılması adımıdır (Anonim,1995). Şekil 4.1'de tipik bir karmaşık analizde genel ayırma yöntemleri şematize edilmiştir



Şekil 4.1. Tipik bir karmaşık analizde genel ayırma yöntemleri (Lancas,2003'ten uyarlanmıştır).

Son yıllarda karmaşık karışımların analizi için kullanılan çeşitli ayırma teknikleri arasında kapiler elektroforezin de yer aldığı kromatografik tekniklere özel ilgi gösterilmektedir. Analitler, ayrı ayrı izole edildikten sonra kromatogram/elektroferogram yardımıyla analitin miktarı belirlenir (Lancas, 2003). Ayırma işlemine başlamadan önce seçilen fraksiyonun tüm örneği temsil edip etmediğini anlamak için örnekleme adımı düzenlenmelidir (Lancas, 2003). Eğer su örnekleri ile çalışılacaksa buna ek olarak uygun bir kap seçimi, örnek hacmi ve alanın coğrafik tanımını da içeren nehir/deniz/göl suyu olup olmadığı, örneğin alındığı derinlik gibi diğer koşullara da dikkat edilmelidir. Genellikle sıcaklık, pH ve renk gibi fiziksel özellikler örnekleme anında saptanmalıdır. Toprak örnekleri ise toprak bileşiminin belirlenmesi, örneklerin alındığı derinlik, örneğin boyutu, ağırlığı gibi birtakım ölçütleri de içeren ek özen gerektirir. Bu işlem basamaklarından sonra örnek hazırlama adımı olarak da bilinen gerçek analitiksel işlem adımı başlar. Bu aşamada örneğin organik ya da inorganik olmasına bağlı olarak işlem adımları önemli oranda farklılaşır. Örneklerimiz organik bileşikler olduğundan daha çok bir örnekteki küçük miktarlarda bulunan organik bileşiklerin analizleri üzerinde odaklanılacaktır. Örnek hazırlama adımı temel amaç; matrinden hedef bileşikleri izole etmektir. Böylece sonraki

adımında analitin belirlenmesi kolaylaşacaktır. Çoğu durumda ilgili bileşik matristen izole edilse de matriste bulunan çeşitli kirlilikleri de barındırabilir. Bu yüzden, analitin belirlenmesinden önce özütün saflaştırılması gerekir. Bu adım temizleme adımı olarak bilinir ve hedef analitin miktar ve karakterizasyonu için analiti uygun bir kimyasal biçim haline getirirken tüketme işlemi sırasında kullanılan çözücüler gibi olası kirlilikleri ortamdan uzaklaştırmak amacını da taşır (Lancas, 2003).

Miktar analizleri için havadan PAH'ların toplanması özel önem gerektirir. Düşük molekül ağırlıklı bazı PAH'lar gaz fazında bulunurken, yüksek molekül ağırlıklı PAH'lar partikül fazındadır. Bu nedenle PAH'ların toplanmasında partikül süzgeci (genellikle cam-fiber süzgeçler) ve adsorbans kartuşu (genellikle XAD-2 ya da poliüretan köpük) kullanılır. (Mantis, 2005). Hem buhar fazındaki hem de partikül fazındaki PAH'lar beraber toplanamadığından toplama sırasında ya süzme sistemi ya da absorban sistemi kullanılır. Ayrıca bazı PAH'ların toplama işlemi boyunca havadaki ozon ve diğer yükseltgenlerle çok kolay bir şekilde etkileştiği de bilinmektedir (Menzie ve ark., 1992).

Matris örneklerinden PAH'ların tüketilmesi için kullanılan yaygın yöntemler; "soxhlet" tüketmesi, sonikasyon, uygun bir çözücü ya da çözücü karışımlarıyla ayırma yöntemleridir. Karbondioksitli heterojen çevresel örneklerin süperkritik sıvı tüketilmesinde diklormetan, siklohegzan, benzen ve metanol yaygın olarak kullanılan çözücülerdir. Süperkritik sıvı tüketme tekniği geleneksel ayırma yöntemlerine göre daha az zaman gerektirmesi, daha iyi tüketme yapılabilmesi ve daha iyi geri kazanım yönüyle üstündür (Obana ve ark., 1981; Ko ve ark., 2003).

Çevresel örneklerden PAH'ları tayin etmede çok yaygın olarak kullanılan yöntemlerden biri HPLC'dir. GC kolonu ile ayırmakta zorlanılan PAH izomerlerinin ayrılmasında HPLC'de kullanılan polar olmayan sabit fazın gelişimi yönteme benzersiz bir seçicilik sağlamıştır. Örneğin krisen, benz[a]antrasen ve trifenilen ters fazlı sıkıştırılmış C-18 kolonu ile ayrıldıktan sonra floresans dedektörlü HPLC ile örneklerdeki PAH düzeyi pikogram altı derişimden pikogram derişime kadar gözlenebilirlik sınırıyla tayin edilebilmiştir (Vives ve Grimalt, 2002).

Düşük hacimli pompa ile toplanmış partiküler madde örnekleri içerisindeki PAH'ların tayini GC/MS yöntemiyle yüksek duyarlılıkta gerçekleştirilmiştir. Yöntem için seçilen PAH'lar benzo[a]antrasen, benzo[b]floranten, benzo[k]floranten, BaP,

indeno[1,2,3-*cd*]piren ve dibenzo[*a,h*]antrasen'dir. Yöntemim geri kazanımı (%1–3 arası bağıl standart sapma ile) %95 ve %100 olarak hesaplanmıştır. Geliştirilen yöntem Güney İtalya'da bulunan Bari ve Toronto şehirlerindeki gerçek örneklerle uygulanmıştır (Bruno ve ark., 2007).

BaP analizi için geliştirilen başka bir yöntem de şırınga ile naylon membran üzerine uygulanan analitin katı faz tüketmesine ve katı faz üzerinden floresans ve fosforesans analizine dayanmaktadır. Naylon yüzeyde tutunan BaP'ın doğal floresansı doğrudan ölçülürken, yüzey üzerindeki talyum(I) nitrat çözeltisinin birkaç mililitresince seçilerek (ağır-atom etkisi) oda sıcaklığında fosforesansa neden olur. Ölçümler azotlu ortamda yürütüldüğünde fosforesans sinyalindeki artış desteklenir. En iyi deney koşullarında elde edilen analitiksel değerler BaP'ın ng L^{-1} düzeyinin altında tanınmasına olanak sağlar. Bu çalışmada diğer yaygın PAH bileşiklerinin ve farklı metal iyonlarının girişim etkisi de araştırılmıştır. Yöntem; farklı merkezlerden sağlanan mineral su örneklerine, yeraltı su örneklerine ve musluk suyuna uygulanmıştır (Bortolato ve ark., 2008).

4.4. Besin Örneklerinde PAH

BaP'ın değişik restoranlardan sağlanan 40 döner ve kebab örneğinden analizi gerçekleştirilmiştir. 20 analiz için ızgaralanmış et ürünleri, diğer 20'si için gaz ateşinde pişirilmiş örnekler kullanılmıştır. Analizler floresans dedektörlü sıvı kromatografik yöntemle yapıldı. BaP'ın ızgaralanmış et örneklerindeki ortalama değeri 24.2 g kg^{-1} bulunurken, gaz ateşindeki BaP düzeyi 5.7 g kg^{-1} olarak saptanmıştır. 16 örnekte BaP miktarı, FAO/WHO tarafından önerilen (10 g kg^{-1}) maksimum düzeyin üzerinde bulunmuştur. Bu düzey aynı zamanda Türk Gıda Kodeksi'nin önerdiği tolerans düzeyinin de (1 g kg^{-1}) çok üzerinde bir değeri ifade etmektedir. BaP için et örneklerindeki ortalama geri kazanım % 1.5 standart sapmayla % 81 civarında bulunmuştur (Terzi ve ark., 2008).

Zeytinyağı, ayçiçeği yağı ve hindistancevizi yağı gibi bitkisel yağlarda 27 PAH'ın GC/MS yöntemiyle analizi gerçekleştirilmiştir. 24 PAH $<2 \text{ mg kg}^{-1}$ derişiminde güvenilir bir şekilde analiz edilmesine karşın dibenzo[*a,h*]piren, antantren ve

siklopenta[*c,d*]pirenin analizi gerçekleştirilememiştir. Bunun nedeni, sonuçlardaki varyasyonun büyüklüğüne ya da yağlar için kullanılan iç standartlardaki ¹³C izotopunun eksikliğine bağlanmıştır (Rose ve ark., 2007).

Besin destekleyicilerinde ve yemeklik yağlarda BaP'ın miktar tayini için kullanılan yöntem, daha önce tekniği Van Stijn ve ark. (1996) tarafından geliştirilen donör-akseptör karmaşık kromatografi yöntemine dayanmaktadır. Yöntem, temizleyici çevrimiçi sıvı kromatografisini takip eden floresans dedektörlü HPLC sisteminden oluşmaktadır. Yöntemin iyi performans karakteristikleri ve iyi sonuçlar verebilme gibi olumlu yönleri vardır. 2002'den 2004'e yaklaşık 1350 yağ ve besin destekleyici ürünlerde BaP düzeyinin araştırılmasında kullanılmıştır. Yemeklik yağların yaklaşık %20'sinde 1.2 mg kg⁻¹'dan daha fazla BaP saptanmıştır. Besin destekleyicilerinin %30'unda ise BaP düzeyi, 1.2 ile 135 mg kg⁻¹ aralığında bulunmuştur. Yöntem 0.14 ile 8.0 µg kg⁻¹ uygulama aralığında BaP'ı tayin edebilmeyi öngörmektedir. Yağlarda geri kazanım % 2.8 bağlı standart sapma değeri ile %99.9, besin desteklerinde ise %4.1 bağlı standart sapma ile %100.1 olarak bulunmuştur (Van Der Wielen ve ark., 2006)

5. MATERYAL ve YÖNTEM

5.1. Materyal

5.1.1. Deneylerde kullanılan araç ve gereçler

Elektrokimyasal analiz cihazı	: μ AUTOLAB TYPE III (GPES 4.9 yazılımı ile birlikte) II. Bioanalytical System (BAS) 100B/W
Elektrokimyasal hücre düzeneği	Çalışma elektrodu : I. Kalem grafit (aktif elektrot alanı: 15.9 mm ²) II. Camsı karbon disk (MF 2012, çapı: 3mm) Karşılaştırma elektrodu: Ag/AgCl (3 M NaCl) (MF 1063, BAS)
a) Elektrotlar	Yardımcı elektrot : Platin tel (MF 1032, BAS)
b) Elektrokimyasal deney hücresi	: I. 5-mL el yapımı pyrex® cam hücre II. 10-mL tek bölmeli kapaklı standart cam hücre (MR1208)
c) Karıştırma sistemi	: Manyetik karıştırıcı (ARE heating magnetic stirrer) : Magnet (Spinbar VMR micro)
pH metre	: WTW, inolab pH 720
Duyarlı terazi	: Vibra
Vorteks	: Heidolph REAX top
Otomatik mikro pipet (çeşitli ölçülerde)	: Eppendorf
Santrifüj	: Soğutmalı Hermle Z320K

Çeşitli ölçülerde tampon çözelti kapları (pyrex®), değişik boylarda balonjoje, pipet, mezür, deney tüpü, beher, erlen ve cam tüpler.

5.1.2. Deneylerde kullanılan kimyasallar

Kimyasal maddenin ismi	Üretici firma ismi
Benzo[<i>a</i>]piren	Sigma
7,12-Dimetilbenz[<i>a</i>]antrasen	Merck
Asetik asit (%100)	Merck
Hidroklorik asit (%37)	Merck
Fosforik asit (%85)	Merck
Borik asit	Merck
Nitrik asit (%63)	Merck
Sodyum hidroksit	Merck
Sodyum klorür	Merck
Sodyumdihidrojen fosfat	Merck
Disodyumhidrojen fosfat	Merck
Trizma hidroklorür	Sigma
Lityum perklorat	Merck
Dimetilsülfoksit	Merck
Asetonitril	Merck
Dimetilformamid	Merck

Tüm çalışmalarda Milli-Q su (Millipore) kullanılmıştır. Deneysel çalışmalar oda sıcaklığında (25 ± 0.5 °C) gerçekleştirilmiştir.

5.1.3. Camsı karbon elektrot ve ön işlemi

Önerilen tez çalışmasında çalışma elektrotlarından biri olarak BAS firmasının orijinal camsı karbon elektrodu (glassy carbon electrode, GCE, MF 2012) kullanılmıştır. Bu elektrotta her tür çözücüye dayanıklı gövdeye (7.5 cm x 6 mm) 3 mm çapında camsı karbon disk yerleştirilmiştir.

Tersinir elektrot yüzeyi oluşturabilmek için her voltamogram kaydından önce GCE yüzeyine mekanik ve elektrokimyasal ön işlem uygulanmıştır. Mekanik ön işlem için BAS firması tarafından özel üretilen parlatma kiti (MF 2060) kullanılmıştır. Bu kit içerisinde bulunan yumuşak parlatma malzemesi (MF 1040) suyla ıslatılıp üzerine kitle beraber verilen parlatma süspansiyonundan (MF1050) az miktarda dökülmüştür. Elektrot yüzeyi bu süspansiyon üzerinde dairesel hareketler yapılarak birkaç dakika parlatıldıktan sonra suyla yıkanmış, temiz ve yumuşak bir kurutma kağıdı ile kurulanmıştır. Mekanik ön işlem, parlatma çözeltisi yerine suyla bulamaç haline getirilmiş alüminyum oksit (alümina, Al_2O_3 , çapı: 0.01 μ m) ile de yapılmıştır. Alümina kullanımı sonrası elektrot yüzeyinden bu maddenin uzaklaştırılması amacıyla su ile ultrasonik temizleme işlemi uygulanmıştır (Bott,1997). Mekanik parlatma işlemi tamamlandıktan sonra elektrot dimetilsülfoksit/0.1 M lityum perklorat karışımı bulunan elektrokimyasal hücreye alınarak +1.6 V gerilim değerinde 60 s süreyle elektrokimyasal ön işleme bırakılmıştır. Elektrokimyasal ön işlem de tamamlandıktan sonra GCE yeniden suyla yıkayıp, kurulanıp analiz için deney hücresine alınmıştır.

5.1.4. Kalem grafit elektrodun hazırlanışı ve ön işlemi

Önerilen tez çalışmasında ikinci çalışma elektrodu olarak kullanılan kalem grafit elektrot (pencil graphite electrode, PGE) için gerekli olan mekanik kurşunkalem (Model T 0.5, Rotring, Almanya) kırtasiyelerden alındı. PGE, Wang ve ark., 2000 tarafından önerilen yol izlenerek hazırlandı. Bu amaçla kalem gövdesinin uç kısmının metalik bölümü ile dış metalik tutacağıının elektriksel iletkenliğini sağlamak için bakır tel ile tutturuldu (bakınız, Şekil 2.18). Kalem uçlarının (Tombo 0.5, Japon) uzunluğu 60 mm ve çapı 0.5 mm olup 3 cm boyutunda kesilip hazırlanan pürüzsüz kısımları kullanıldı.

Elektrokimyasal hücredeki 4 mL’lik analiz çözeltisine bu uçların 10 mm’lik kısmı (aktif elektrot alanı, 15.9 mm²) daldırıldı.

PGE’nin ön işlemi için her analiz öncesi seçilen destek elektroliti çözeltisi içerisinde (karıştırmadan) elektrot yüzeyine 60 s süreyle +1.4 V’luk gerilim uygulandı. Dönüşümlü voltametrik çalışmalarda ise ön işlem +1.6 V gerilimde 90 s süreyle gerçekleştirildi.

5.1.5. Elektrokimyasal deney hücresi

GCE ile yapılan dönüşümlü voltametrik deneylerde Bioanalytical System (BAS) 100B/W cihazı kullanılmıştır. Ölçümlerde bu cihaz için özel üretilmiş tek bölmeli, kapaklı 10-mL’lik elektrokimyasal deney hücresi (MR 1208) kullanılmıştır. Kapağında dört girişi bulunan bu hücrenin üç girişine elektrotlar, dördüncü girişe ise azot gazı göndermek amacıyla teflon bir boru daldırılmıştır. Azot gazının deney hücresine gönderilmesiyle çözeltide çözünmüş halde bulunan oksijenin uzaklaştırılması sağlanmış olur. Çünkü çözünmüş oksijen, H₂O₂ ve OH⁻ iyonlarına indirgenerek 0.0 V ile -1.0 V arasındaki pek çok indirgenme tepkimesinin gözlemlendiği alanı kapatır. Oksijenin uzaklaştırılmasıyla bu yolla oluşabilecek indirgenme ürünlerinin çözelti pH’sini etkilemesinin de önüne geçilmiş olur (Wang, 2000).

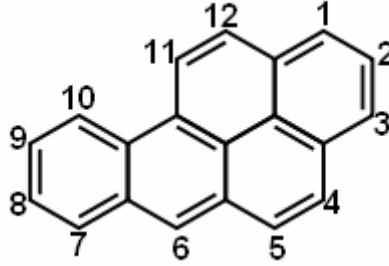
Araştırmanın büyük bölümü PGE üzerinde μ AUTOLAB TYPE III cihazıyla gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalarda kullanılan deney hücresi el yapımı olarak tasarlanmıştır. deney hücreleri (5-mL) pyrex® camlardan yapılmış olup üç elektrot girişli deney hücresi kapağı ile elektrotların çözelti ile teması sağlanmıştır (bakınız, Şekil 2.2).

Kullanmadan önce deney hücreleri 3 M HNO₃ içerisinde bir süre bırakıldıktan sonra su ve kullanılan destek elektroliti çözeltisiyle yıkanmıştır.

Aksi söylenmedikçe konveksiyon hareketi, 400 rpm hızda manyetik karıştırma ile sağlanmıştır.

5.1.6. Benzo[a]piren (BaP) hakkında genel bilgi

Araştırmamıza konu olarak seçilen Benzo[a]piren (BaP), deney hayvanlarında özellikle farelerde karsinojenik, insan ve diğer hayvanlarda mutajenik, aynı zamanda olası insan karsinojeni olan PAH bileşiğidir. Kentsel kirliliğin yoğun olduğu yerlerde derişiminin yüksek bulunması nedeniyle üzerinde en fazla çalışılan PAH'dır (Anonim, 1995). BaP'ın kimyasal formülü Şekil 5.1'de verilmiştir.



Şekil 5.1. Benzo[a]piren'in açık kimyasal formülü.

Kapalı Kimyasal Formülü: $C_{20}H_{12}$

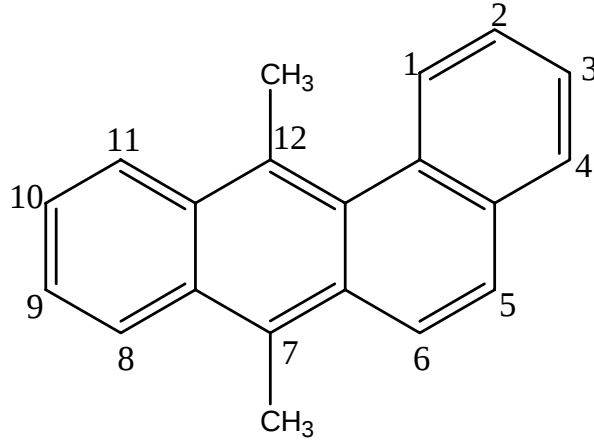
Molekül Ağırlığı: 252.32

Diğer İsimleri: 1,2 benzopiren, 1,2 benzpiren, 3,4 benzopiren, 3,4 benzpiren

Kimyasal Özellikleri: Benzende, kloroformda ve tetrahidrofuranda iyi, asetonda orta derecede, alkolde çok az, suda ise litrede 0.012 mg çözünür. Soluk sarı renkte olup erime noktası 179–179.3 °C, kaynama noktası 475°C'dir. Oda sıcaklığında ve karanlıkta kararlı bir yapı göstermesine karşın atmosferde ve ışık altında foto yükseltgenmeye uğrar. Özellikle cilt kanserine neden olduğundan deri ile temasından, buharının ya da tozlarının solunmasından kaçınılmalıdır. Laboratuar çalışmalarında eldiven ve maske kullanılmalıdır.

5.1.7. 7,12-Dimetilbenz[a]antrasen (DMBA) hakkında genel bilgi

7,12-dimetilbenz[a]antrasen (DMBA), karsinojenik ve mutajenik etkili polisiklik aromatik hidrokarbonların (PAH) en tehlikelilerinden biridir (Yusuf ve ark., 2007). DMBA'nın açık kimyasal formülü Şekil 5.2'de verilmiştir.



Şekil 5.2. 7,12-Dimetilbenz[a]antrasen'in açık kimyasal formülü.

Kapalı Kimyasal Formülü: $C_{20}H_{16}$

Molekül Ağırlığı: 256.36

Diğer İsimleri: 9,10-dimetil-1,2-benzantrasen, 1,4-dimetil-2,3-benzfenantren

Kimyasal Özellikleri: Birçok organik çözücünde çözünür, alkollerde az, suda çok az çözünür. Hafif renkte yeşilimsi sarı olup renksiz pelletler halindedir. Erime noktası $122-123^{\circ}C$ 'dir. Karanlık ve oda sıcaklığında kararlı olup, çözeltileri hava ve ışıpta foto yükseltgenmeye uğrar. Kanser yapıcı bir madde olduğundan deri ile temasından, buharının ya da tozlarının solunmasından kaçınılmalıdır. Laboratuar çalışmalarında eldiven ve maske kullanılmalıdır.

5.1.8. Çözeltilerin hazırlanması

5.1.8.1. BaP ve DMBA stok çözeltilerinin hazırlanması

BaP ve DMBA stok çözeltileri, susuz ve sulu ortamın her ikisinde de yapılan deneylerde 1 mg mL^{-1} (BaP için $4 \times 10^{-3} \text{ M}$ ve DMBA için $3.9 \times 10^{-3} \text{ M}$ derişime karşılık) olacak şekilde dimetilsülfoksit (DMSO) içerisinde hazırlanmıştır. Stok çözeltiler kullanılmadığı zaman koyu renkli cam şişelerde ve buzdolabında saklanmıştır. Kıyas çözücü olarak dimetilformamid (DMF) içerisinde gerçekleştirilen susuz ortam çalışmalarında stok çözeltiler benzer şekilde hazırlanmıştır. Gerekli olduğu zaman çalışma çözeltilerinin seyreltilmesi ilgili çözücüler kullanılarak yapılmıştır.

5.1.8.2. Destek elektroliti çözeltilerinin hazırlanması

DMSO ve DMF içerisinde gerçekleştirilen susuz ortam çalışmalarında destek elektroliti olarak lityum perklorat (LiClO_4) tuzunun 0.1 M çözeltileri kullanılmıştır. Sulu ortam çalışmalarında ise geniş bir pH aralığında (2-9) tampon çözeltilerinden yararlanılmıştır.

5.1.8.2.1. Tampon çözeltilerin hazırlanması

Tüm tampon çözeltilerin hazırlanışında Milli-Q su (Millipore) kullanılmıştır. Tampon çözeltiler hazırlandıktan sonra pyrex® cam şişelerde ve buzdolabında saklanmıştır. İyonik kuvveti sağlamak için tüm tampon çözeltilerinin litresine derişimi 0.02 M olacak şekilde 1.168 g NaCl eklenmiştir.

0.1 M asetat tamponu çözeltisinin hazırlanışı (pH 4.8):

Deneylerde kullanılan 0.1 M asetat tamponu çözeltisini 1 litre hazırlamak için buzlu (%100) CH_3COOH çözeltisinden 5.7 mL alınıp yaklaşık 900 mL su ile karıştırılmıştır. 0.1 M NaOH ile pH 4.8'e ayarlandıktan sonra 1 litreye su ilavesi ile tamamlanmıştır.

0.1 M Britton-Robinson (BR) tamponu çözeltisinin hazırlanışı (pH 2.0 ve 6.0):

Deneylerde kullanılan 0.1 M BR tamponu çözeltisi, litresinde 6.175 g H_3BO_3 , 8.1 mL H_3PO_4 (%85) ve 5.75 mL CH_3COOH (%100) içermektedir. Çözeltilerin uygun pH değerine ayarlanması 0.1 M NaOH ve/ya da 0.1 M HCl ile gerçekleştirilmiştir.

0.1 M fosfat tamponu çözeltisinin hazırlanışı (pH 3.0, 4.0 7.4 ve 9.0):

Deneylerde kullanılan 0.1 M fosfat tampon çözeltisi için 1 litrede 26.80 g (0.1 mol) $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ çözünmüştür. Çözeltilerin uygun pH değerine ayarlanması 0.1 M NaOH ve/ya da 0.1 M HCl ile gerçekleştirilmiştir.

0.1 M Tris HCl tamponu çözeltisinin hazırlanışı (pH 7.0):

Deneylerde kullanılan 0.1 M Tris HCl tamponu çözeltisi için 1 litrede 15.76 g Trizma hidroklorür çözünmüştür. Çözeltilerin uygun pH değerine ayarlanması 0.1 M NaOH ve/ya da 0.1 M HCl ile gerçekleştirilmiştir.

5.2. Yöntem

BaP ve DMBA'nın analizi için kullanılan voltametrik yöntem ile yapılan çalışmanın ilk bölümünde bileşiklerin susuz çözücüler (DMSO ve DMF) içerisinde karbon temelli iki elektrot olan GCE ve PGE kullanılarak dönüşümlü voltametri tekniği ile elektrokimyasal davranışları incelenmiştir. Çalışmanın ikinci bölümünde PGE elektrotla ilgili bileşiklerin sulu çözeltilerindeki adsorptif voltametrik özellikleri çalışılmıştır. Bu amaçla; destek elektrolitinin, pH'nin, gerilim tarama hızının, biriktirme ve kare-dalga değişkenlerinin elektrot yanıtı üzerine etkisi araştırılmıştır. Son olarak geliştirilen tekniğin (kare-dalga adsorptif sıyırma voltametrisi, SW-AdSV) performans özelliklerinin (çalışma aralığı, kesinlik, gözlenebilirlik sınırı) saptanmasının ardından bu teknik insan idrar örneklerine uygulanmıştır.

5.2.1. Susuz çözeltilerde GCE ve PGE üzerinde dönüşümlü voltametri

Voltamogramları kaydedilecek BaP ya da DMBA çalışma çözeltileri elektrokimyasal hücreye (10-mL ya da 5-mL) konulduktan sonra içerisine ön işlem görmüş çalışma elektrodu (GCE ya da PGE), yardımcı elektrot ve karşılaştırma elektrodu daldırılmıştır. Bileşiklerin elektrokimyasal incelenmesinde dönüşümlü voltametri tekniği kullanılmıştır. Negatif gerilim değerlerinde yapılan çalışmalarda, voltamogram kayıtları alınmadan önce analiz çözeltisinden 5 dakika süreyle azot gazı geçirilmiştir.

5.2.2. Sulu çözeltilerde PGE üzerinde sıyırma voltametrisi

Sıyırma analizlerine elektrokimyasal biriktirme/ortam değişimi/voltametri protokolü (aktarım voltametrisi) uygulanmıştır. Bu amaçla iki farklı deney hücresi (5-mL) kullanılmıştır. Bunlardan biri analit (BaP ya da DMBA) çözeltisini içeren ve analitin biriktirme işleminin yapıldığı hücre, diğeri ise destek elektroliti içeren ölçüm hücresidir. Analit çalışma çözeltisinin gerekli miktarı tampon çözeltisini içeren

biriktirme hücresine eklendikten sonra içerisine ön işlem görmüş çalışma elektrodu (PGE), yardımcı elektrot ve karşılaştırma elektrodu daldırılmıştır. Çözelti karıştırılırken analit, çalışma elektrodu yüzeyinde seçilen gerilimde ve seçilen süre içerisinde birikmeye bırakılmıştır. Daha sonra karıştırma kesilmiş, elektrotlar hücreden çıkarılıp önce su ile ardından ilgili tampon çözeltisi ile yıkanmış ve ölçüm hücresine alınmıştır. Dönüşümlü ve doğrusal taramalı voltametrik ya da pulslu voltametrik (DPV ve SWV) ölçümlerle daha pozitif gerilim değerlerine doğru anodik yönde tarama yapılarak birikmiş maddeler tayin edilmiştir.

DPV ve SWV teknikleri ile kaydedilen voltamogramlarda aletin yazılım programında (GPES) yer alan 2. dereceden Savitzky Golay filtresi (düzey 2) ile süzme işlemi yapılmış, ardından cihazın düzeltme fonksiyonları kullanılarak 0.01 V'luk pik genişlikli taban çizgisi düzeltilmesi uygulanmıştır.

Bileşiklerin elektrokimyasal incelenmesinde dönüşümlü voltametri, diferansiyel puls voltametrisi (DPV) ve kare-dalga voltametrisi (SWV) teknikleri, yöntemin analitik uygulamasında ise SWV tekniği kullanılmıştır.

Kalibrasyon çalışması yapılırken seçilen destek elektroliti elektrokimyasal hücreye alındıktan sonra BaP ya da DMBA'nın değişik derişimdeki çalışma çözeltilerinden mikropipet kullanılarak μL düzeyinde hücreye eklemeler yapılmıştır. Yukarıda anlatılan yol izlenerek elde edilen sıyırma voltamogramlarının pik akımları artan derişime karşı grafiğe geçirilmiş, kalibrasyon eğrisi oluşturulmuş ve istatistiksel değerlendirmeler yapılmıştır.

5.2.3. Voltametrik yöntemin idrar örneklerine uygulanması

İdrar örnekleri 30 yaş dolayında sağlıklı bir erkek gönüllüden alınmıştır. İdrar örneğine son derişimi 4×10^{-5} M olacak şekilde DMSO içerisinde çözülmüş stok BaP ya da DMBA çözeltisinden uygun miktarda katılmıştır. Bu karışıma daha sonra 4.95 mL asetonitril eklenmiş ve karışım aynı idrar örneğiyle 10 mL'ye tamamlanmıştır. Örnek tüpleri karıştırıldıktan sonra 5000 rpm hızda 10 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Aynı işlem analit katılmamış idrar örneğiyle de (kör) tekrar edilmiştir. Elde edilen süpernatantın belirli miktarı içerisinde asetat tamponu (0.1 M, pH 4.8)/0.02 M NaCl

içeren elektrokimyasal hücreye alınmış ve içerisine ön işlem görmüş çalışma elektrodu (PGE), yardımcı elektrot ve karşılaştırma elektrodu daldırılmıştır. Çözelti 400 rpm hızla karıştırılırken BaP için +0.7 V'da 180 s süreyle, DMBA için +0.6 V'da 360 s süreyle elektrokimyasal birikme işlemi uygulanmıştır. Daha sonra karıştırma kesilmiş, elektrotlar hücreden çıkarılıp önce su ile ardından ilgili tampon çözeltisi ile yıkanmış ve içerisinde asetat tamponu (0.1 M, pH 4.8)/0.02 M NaCl içeren ölçüm hücresine alınmıştır. Hemen ardından +0.4 V ile +1.40 V aralığında kare-dalga voltamogramları kaydedilmiştir. Analizlerde SWV için aşağıdaki değişkenleri kullanılmıştır: Frekans, 25 Hz (BaP) ve 50 Hz (DMBA); puls amplitüdü, 15 mV (BaP) ve 25 mV; adım gerilimi, 14 mV (BaP) ve 16 mV (DMBA). Ardışık ölçümler, yeni bir biriktirme çözeltisi kullanarak ve yeni bir PGE yüzeyinde yukarıda açıklanan deney protokolü kullanılarak alınmıştır. Miktar tayini kalibrasyon eğrisi yöntemiyle gerçekleştirilmiştir.

6. BULGULAR

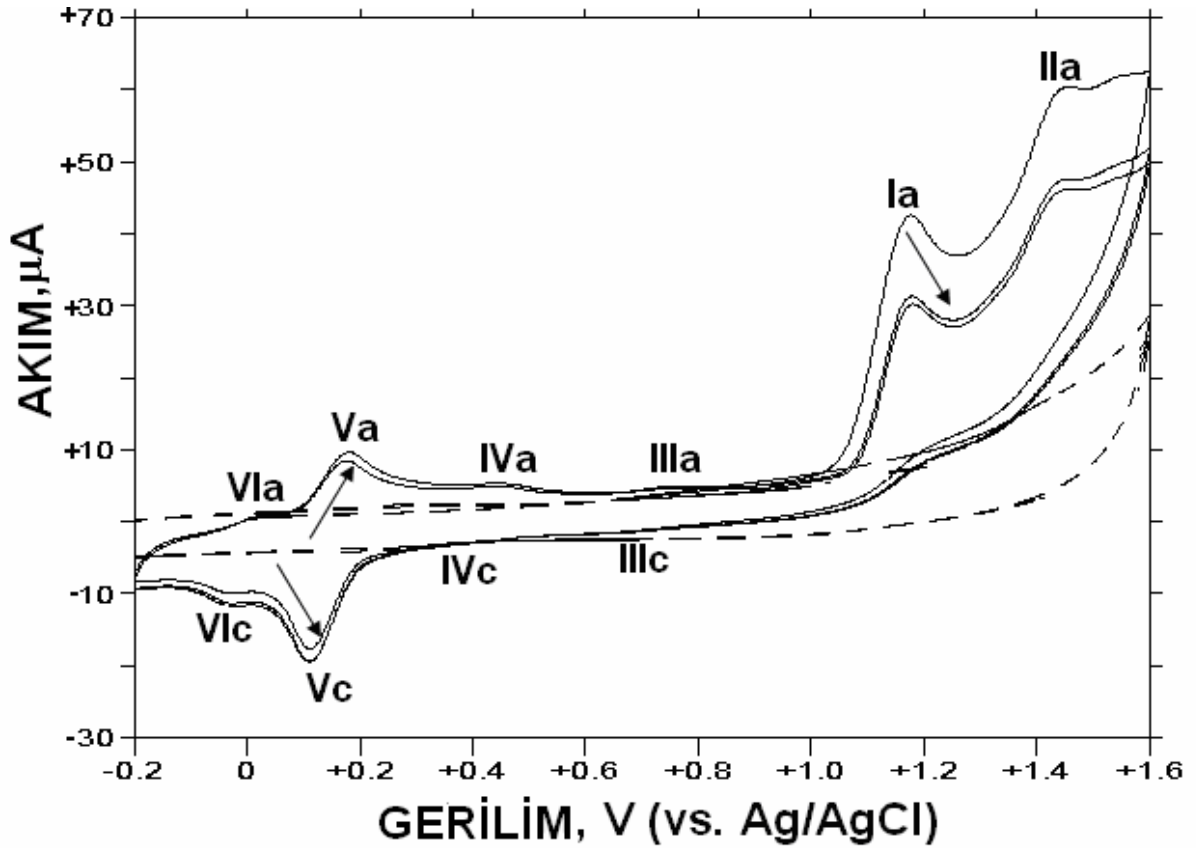
6.1. BaP'ın Elektrokimyasal İncelenmesi

Çalışma materyali olarak seçilen PAH bileşiklerinden biri olan BaP'ın susuz ve sulu çözeltilerdeki elektrokimyasal davranışı karbon temelli elektrotlar üzerinde farklı voltametrik teknikler kullanılarak incelenmiştir.

6.1.1. Susuz çözeltilerde GCE ve PGE üzerinde dönüşümlü voltametri

GCE üzerinde oluşan elektrokimyasal işlemi anlayabilmek amacıyla 0.1 M LiClO₄ içeren DMF içerisinde hazırlanan BaP çözeltisinin (0.0 V)-(+1.6 V)-(-0.2 V) gerilim tarama aralığında, 0.0 V başlangıç gerilimi ve 100 mV s⁻¹ gerilim tarama hızı ile dönüşümlü voltamogramları kaydedilmiştir. Şekil 6.1'de 8x10⁻⁴ M BaP çözeltisinin üç döngülü voltamogramı görülmektedir.

Destek elektroliti ve bileşik içerisindeki eğriler karşılaştırıldığında BaP'ın +1.18 V'da keskin (Ia), +1.45 V dolayında ise daha az belirgin (IIa) iki yükseltgenme piki verdiği gözlenmektedir. Molekülün yükseltgenmesinden sonra gerilim taramasına katodik bölgede devam edildiğinde dört indirgenme basamağı (IIIc, IVc, Vc, VIc) belirmiştir. İlk döngü tamamlandıktan sonra ikinci kez gerilim taramasına anodik bölgede devam edildiğinde bu basamaklara karşılık gelen dört yeni yükseltgenme basamağı (IIIa, IVa, Va, VIa) daha oluşmuştur. III, IV ve V redoks çiftlerinin varlığı, ilk anodik taramada pik Ia'nın oluşmasına bağlı olmakla birlikte pik IIa'nın bu çiftler üzerine katkısı yoktur. Buna karşılık redoks çifti VI'nın gözlenebilmesi için ilk anodik taramanın mutlaka pik IIa'dan daha pozitif gerilimlere kaydırılması gerekmektedir. Bu gözlem, pik IIa aralığında oluşan yükseltgenme ürününün bu redoks çiftinden sorumlu olduğunu göstermektedir. İkinci döngüde pik Ia ve IIa'nın küçüldüğü, buna karşılık redoks çiftlerinin şiddetinin küçük de olsa arttığı ancak sonraki döngülerde tüm basamakların hemen hiç değişmediği görülmektedir.



Şekil 6.1. 8×10^{-4} M BaP'ın DMF/0.1 M LiClO₄ içerisinde GCE üzerinde üç döngülü voltamogramı. Gerilim tarama hızı, 100 mV s^{-1} . Kesik çizgi, destek elektroliti.

Gerilim tarama hızının pik Ia'nın gerilimi ve akım şiddeti üzerine etkisini incelemek amacıyla; 0.1 M LiClO₄ içeren DMF içerisinde hazırlanan 8×10^{-4} M BaP çözeltisinin 10 mV s^{-1} ile 1000 mV s^{-1} aralığında dönüşümlü voltamogramları kaydedilmiştir. Gerilim tarama hızı ile karşılık gelen pik gerilim ve akım değerleri Çizelge 6.1'de görülmektedir.

Bulgular incelendiğinde gerilimin (E_p) $10\text{-}100 \text{ mV s}^{-1}$ aralığında değişmediği, 100 mV s^{-1} hızından sonraki değerlerde daha pozitif gerilim değerlerine kaymanın başladığı ve 1000 mV s^{-1} değerine ulaşıldığında 100 mV dolayında pozitif bir kayma olduğu görülmektedir.

Çizelge 6.1. BaP'ın pik gerilimi ve pik akımı üzerine gerilim tarama hızının etkisi. Çözücü; DMF/0.1 M LiClO₄; yöntem, dönüşümlü voltametri; BaP derişimi, 8x10⁻⁴ M

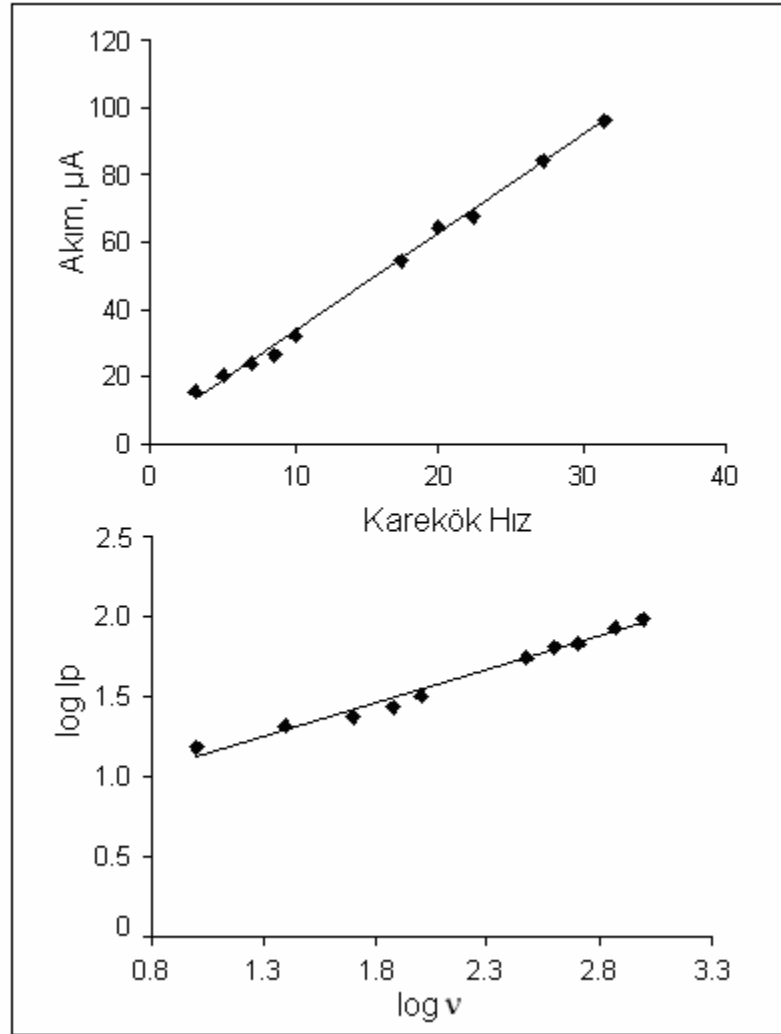
v (mV s ⁻¹)	E_p (V)	i_p (μA)	$\sqrt{v}$	$\log i_p$	$\log v$
10	1.17	15.43	3.162	1.188	1.000
25	1.17	20.47	5.000	1.311	1.398
50	1.17	23.88	7.071	1.378	1.699
75	1.18	26.72	8.660	1.427	1.875
100	1.18	31.86	10.000	1.503	2.000
300	1.21	54.48	17.321	1.736	2.477
400	1.23	64.26	20.000	1.808	2.602
500	1.24	67.45	22.361	1.829	2.699
750	1.25	84.57	27.386	1.927	2.875
1000	1.28	96.37	31.623	1.984	3.000

Pik akımı (i_p) ise 10-1000 mV s⁻¹ aralığında hızın (v) karekökü ($\sqrt{v}$) ile doğrusal olarak artmaktadır (Şekil 6.2). Aynı hız aralığında $\log v$ - $\log i_p$ ilişkisinin de doğrusal olduğu saptanmıştır (Şekil 6.2).

Gerilim tarama hızı ile pik akımı ilişkisinde elde edilen her iki doğrusallığa ilişkin doğru denklemleri aşağıda verilmiştir:

$$i_p (\mu A) = 2.91\sqrt{v} \text{ (mV s}^{-1}\text{)} + 4.20 \quad (r = 0.998)$$

$$\log i_p = 0.42 \log v + 0.71 \quad (r = 0.991)$$

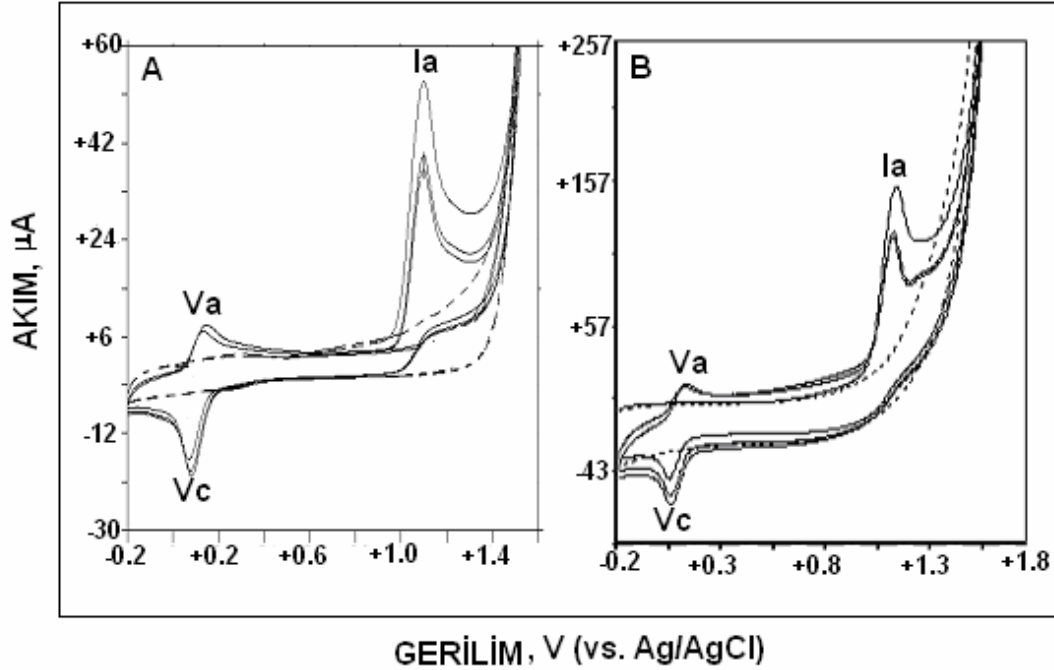


Şekil 6.2. BaP'ın DMF/0.1 M LiClO₄ içerisinde gerilim tarama hızı-pik akımı ilişkisi.

BaP'ın susuz ortamda göstermiş olduğu voltametrik davranışları aynı dönüşümlü voltametrik koşullarda bir başka çözücü ortamında (DMSO içerisinde) da incelenmiştir (Şekil 6.3 A).

Bu çözücü ortamında pik IIa ve sorumlu olduğu redoks çifti VI yok olurken redoks çiftleri III ve IV'ün şiddetleri çok azalmıştır. Pik Ia ve redoks çifti V ise DMF içerisinde gözlenen basamaklara karşı 50 mV daha negatif gerilim değerlerine kaymıştır. Ayrıca çözücü olarak DMSO'nun kullanımı, bu basamakların şiddetini artırmış ve pik şekillerini de daha belirgin hale dönüştürmüştür. Aynı deneysel

koşullarda PGE elektrot denendiği zaman GCE ile elde edilen voltametrik profile benzer bulgular gözlenmiştir (Şekil 6.3 B)



Şekil 6.3. 8×10^{-4} M BaP'ın DMSO/0.1 M LiClO₄ içerisinde (A) GCE ve (B) PGE üzerinde üç döngülü voltamogramı. Gerilim tarama hızı, 100 mV s^{-1} . Kesik çizgi, destek elektroliti.

GCE üzerinde gerilim tarama hızı $5\text{-}1000 \text{ mV s}^{-1}$ aralığında değiştirildiği zaman pik Ia'nın gerilim değerinde 150-mV dolayında pozitif kaymayla birlikte pik akımı değerlerinde de artış gözlenmiştir. Gerilim tarama hızı ile karşılık gelen pik gerilim ve akım değerleri Çizelge 6.2'de verilmiştir.

Çizelge 6.2. BaP'ın pik gerilimi ve pik akımı üzerine gerilim tarama hızının etkisi. Çözücü; DMSO/0.1 M LiClO₄; yöntem, dönüşümlü voltametri; BaP derişimi, 8x10⁻⁴ M

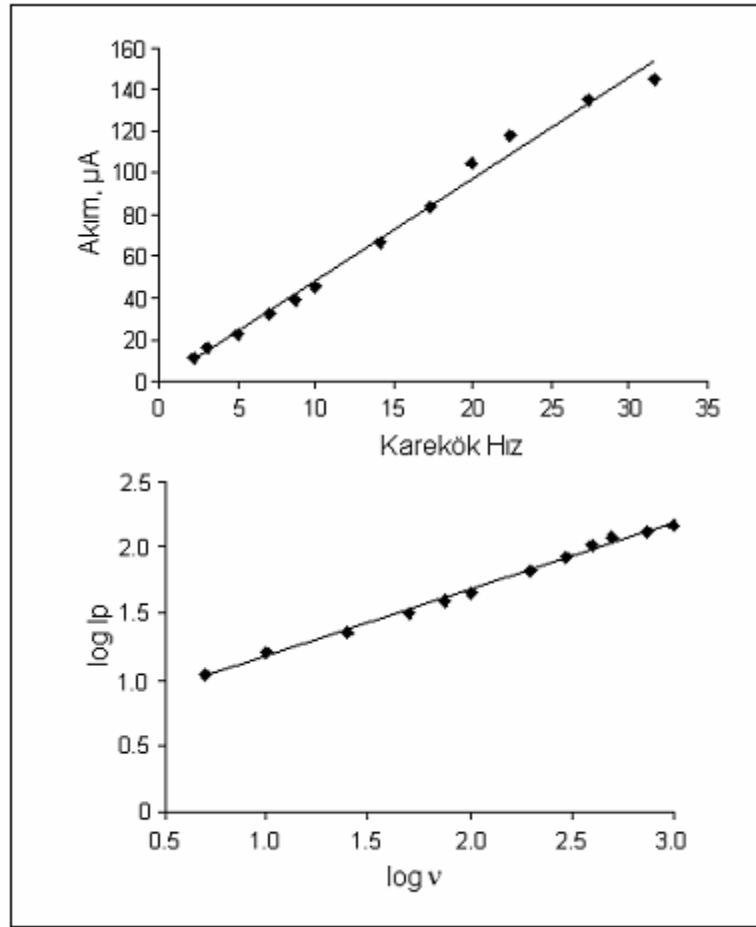
v (mV s⁻¹)	E_p (V)	i_p (μA)	√v	log i_p	log v
5	1.07	11.03	2.236	1.043	0.699
10	1.07	16.19	3.162	1.209	1.000
25	1.08	22.79	5.000	1.358	1.398
50	1.09	32.42	7.071	1.511	1.699
75	1.09	39.04	8.660	1.592	1.875
100	1.10	45.32	10.000	1.656	2.000
200	1.13	66.20	14.142	1.821	2.301
300	1.15	83.82	17.321	1.923	2.477
400	1.17	105.2	20.000	2.022	2.602
500	1.19	118.0	22.361	2.072	2.699
750	1.21	134.9	27.386	2.130	2.875
1000	1.22	145.0	31.623	2.161	3.000

Pik akımı (*i_p*) ise 5-1000 mV s⁻¹ aralığında hızın (*v*) karekökü ($\sqrt{v}$) ile doğrusal olarak artmaktadır (Şekil 6.4). Aynı hız aralığında *log v* - *log i_p* ilişkisinin de doğrusal olduğu saptanmıştır (Şekil 6.4).

Gerilim tarama hızı ile pik akımı ilişkisinde elde edilen her iki doğrusallığa ilişkin doğru denklemleri aşağıda verilmiştir:

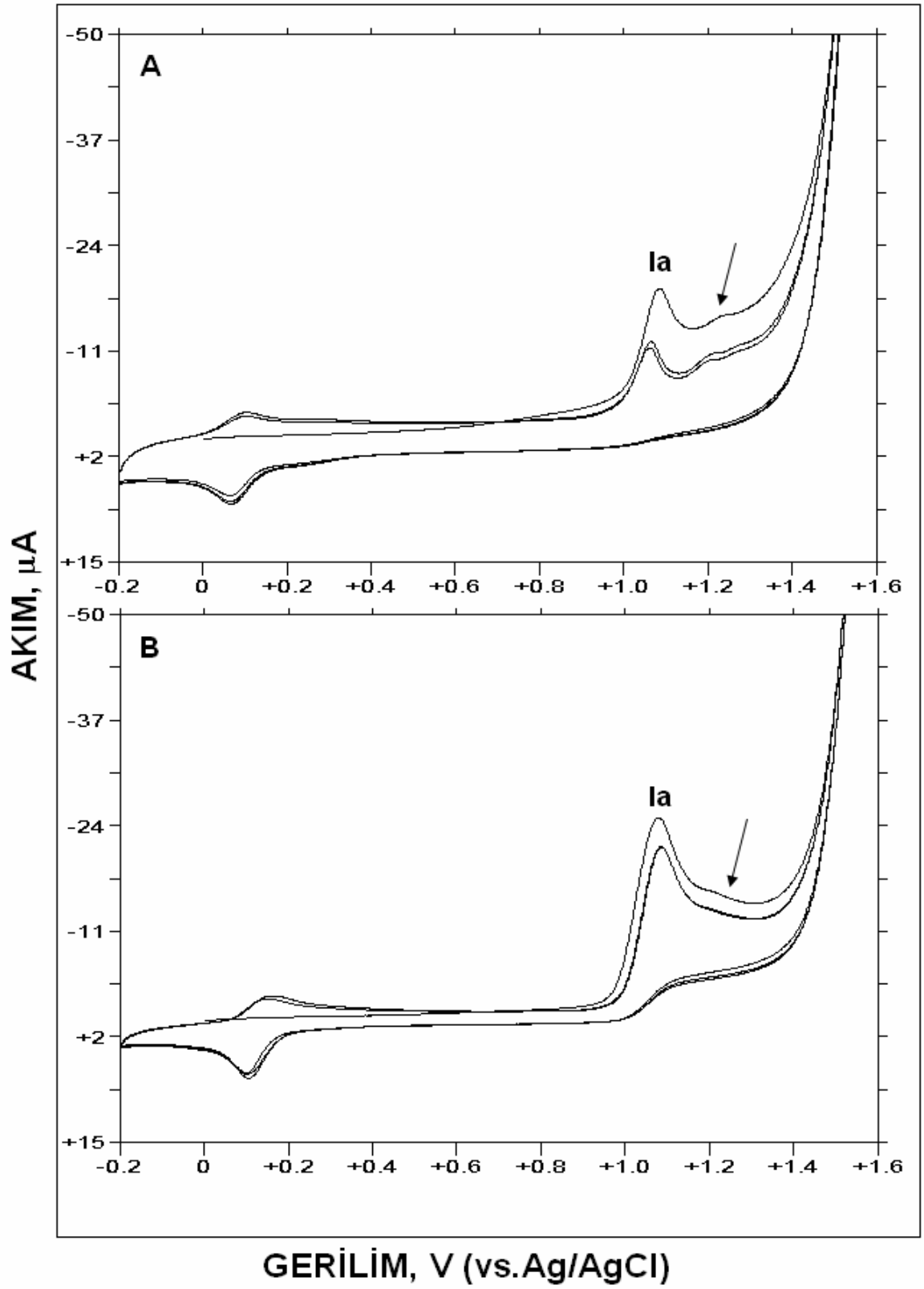
$$i_p (\mu A) = 4.90 \sqrt{v} \text{ (mV s}^{-1}\text{)} - 0.66 \quad (r = 0.995)$$

$$\log i_p = 0.50 \log v + 0.68 \quad (r = 0.998)$$



Şekil 6.4. BaP'ın DMSO/0.1 M LiClO₄ içerisinde gerilim tarama hızı-pik akımı ilişkisi.

DMSO içerisinde BaP derişiminin etkisi araştırıldığında; 10^{-4} M derişim değerinden daha seyreltik çözeltilerde pik Ia'nın gerilim değeri yaklaşık 40 mV daha negatif gerilim değerlerine (8×10^{-4} M derişiminde +1.13 V'dan 4×10^{-5} M derişiminde +1.09 V'a) kaydığı gözlenmiştir (Şekil 6.5 A). Bunun yanı sıra seyreltik çözeltilerde ($<10^{-4}$ M) ve/ya da düşük gerilim tarama hızlarında (<50 mV s⁻¹) +1.23 V dolayında yeni bir yükseltgenme basamağı gözlenmiştir (Şekil 6.5 A ve B).



Şekil 6.5. BaP'ın DMSO/0.1 M LiClO₄ içerisinde GCE üzerinde üç döngülü voltamogramı. (A) Derişim, 4×10^{-5} M; gerilim tarama hızı, 100 mV s^{-1} . (B) Derişim, 8×10^{-4} M; gerilim tarama hızı, 25 mV s^{-1} .

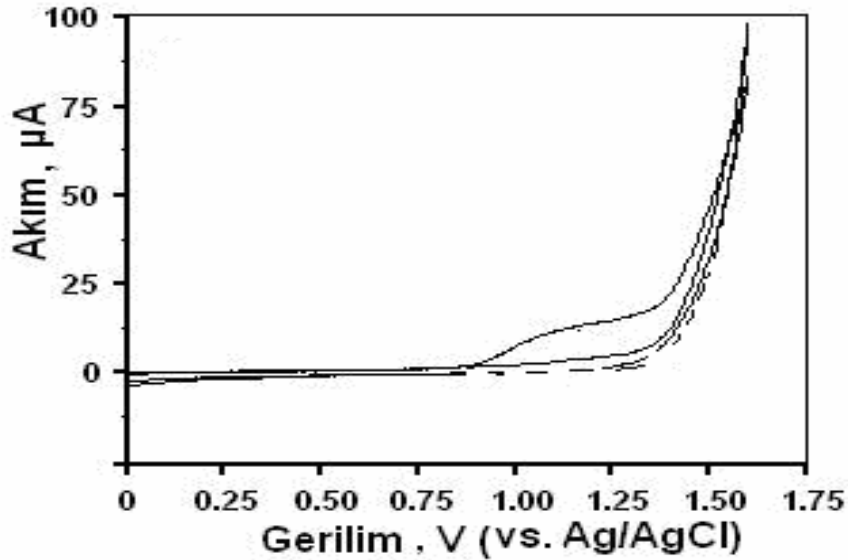
6.1.2. Sulu çözeltilerde PGE üzerinde sıyırma voltametrisi

BaP'ın sudaki çözünürlüğünün düşük olması nedeniyle sulu ortamda gerçekleştirilen sıyırma voltametrisi deneylerinde bileşiğin seyreltik çözeltileri ($\leq 4 \times 10^{-5}$ M) kullanılmıştır.

6.1.2.1. Dönüşümlü voltametri

Şekil 6.6, açık devre koşullarında 300 s süreyle biriktirilme sürecinden sonra 4×10^{-5} M BaP çözeltisinin asetat tamponu (pH 4.8)/0.02 M NaCl içerisinde 100 mV s^{-1} gerilim tarama hızında kaydedilmiş dönüşümlü voltamogramını göstermektedir.

Sulu çözeltilerde BaP'ın düşük derişimlerinden dolayı DMSO içerisinde gözlenen yükseltgenme basamağının belirginliği azalmış ve pik görüntüsünden sigmoidal şekle dönüşmüştür. Aynı koşullar altında redoks çiftleri de saptanamamıştır. Katodik yöndeki taramada çalışılan gerilim aralığında [(0 V)-(+1.6 V)-(0 V)] hiçbir indirgenme basamağına rastlanmamaktadır.



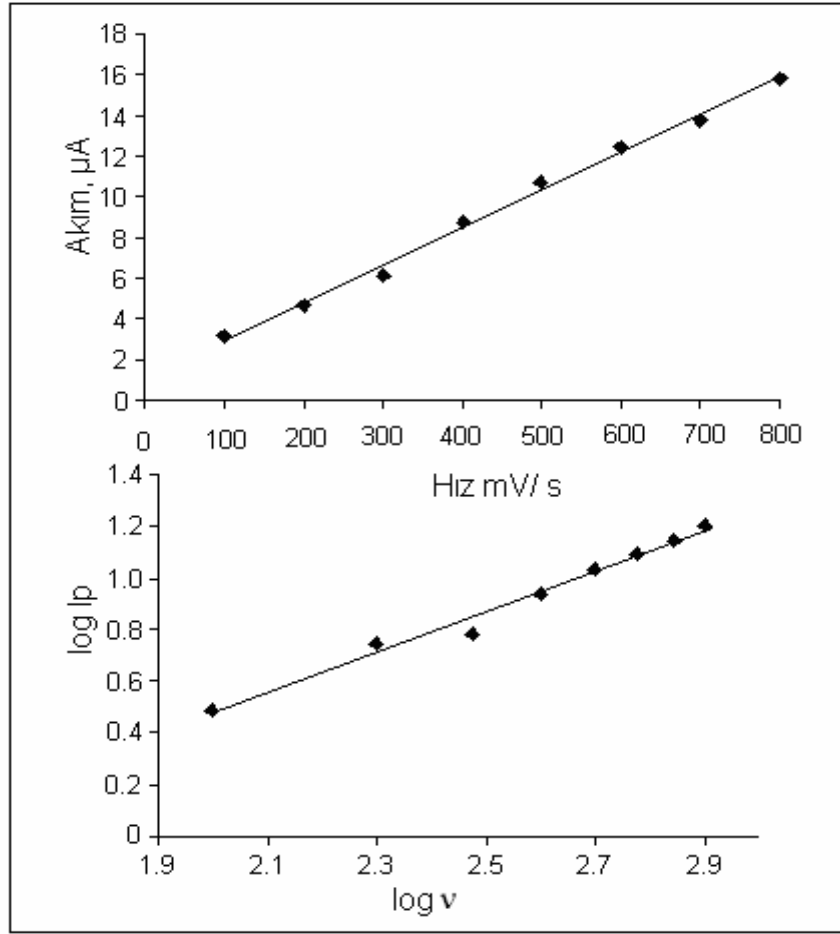
Şekil 6.6. 4×10^{-5} M BaP'ın asetat tamponu (pH 4.8)/0.02 M NaCl içerisinde PGE üzerinde dönüşümlü voltamogramı. Gerilim tarama hızı, 100 mV s^{-1} . Kesik çizgi, destek elektroliti.

BaP'ın PGE yüzeyindeki adsorptif karakteristikleri gerilim tarama hızı 100-1000 mV s⁻¹ aralığında değiştirilerek araştırılmıştır. Gerilim tarama hızı ile karşılık gelen pik gerilim ve akım değerleri Çizelge 6.3'de verilmiştir.

Çizelge 6.3. BaP'ın pik gerilimi ve pik akımı üzerine gerilim tarama hızının etkisi. Destek elektroliti; asetat tamponu (pH 4.8)/0.02 M NaCl; yöntem, dönüşümlü voltametri; BaP derişimi, 4x10⁻⁵ M

v (mV s⁻¹)	E_p (V)	i_p (μA)	√v	log i_p	log v
100	1.01	3.117	10.000	0.494	2.000
200	1.05	5.605	14.142	0.749	2.301
300	1.03	6.099	17.321	0.785	2.477
400	1.10	8.698	20.000	0.939	2.602
500	1.09	10.64	22.361	1.027	2.699
600	1.10	12.39	24.495	1.093	2.778
700	1.10	13.78	26.458	1.139	2.845
800	1.10	15.86	28.284	1.200	2.903

Bulgular incelendiğinde gerilimin (E_p) yüksek gerilim tarama hızlarında (400-800 mV s⁻¹) değişmediği görülmektedir. Pik akımı (i_p), 100-800 mV s⁻¹ aralığında hız ile doğrusal olarak artmaktadır (Şekil 6.7). Aynı hız aralığında log v - log i_p ilişkisinin de doğrusal olduğu saptanmıştır (Şekil 6.7).



Şekil 6.7. BaP'ın asetat tamponu (pH 4.8)/0.02 M NaCl içerisinde gerilim tarama hızı-pik akımı ilişkisi.

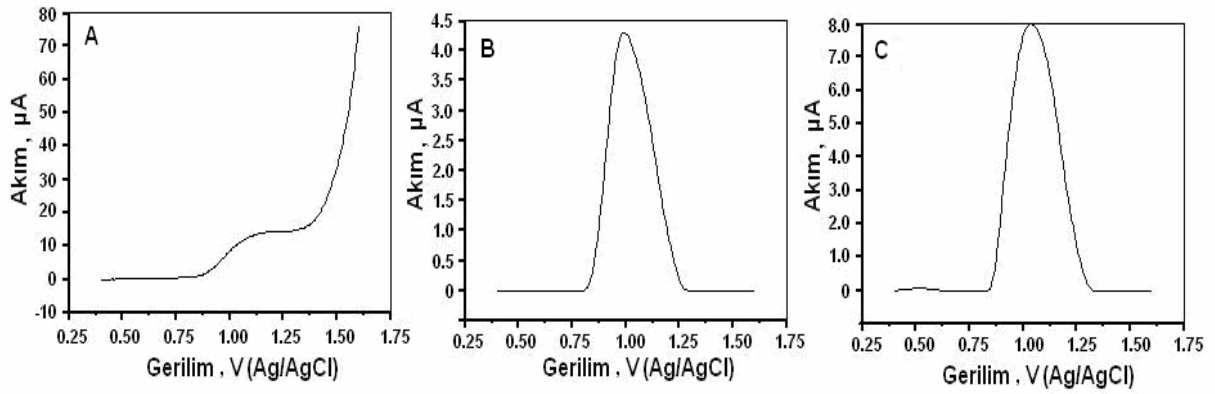
Gerilim tarama hızı ile pik akımı ilişkisinde elde edilen her iki doğrusallığa ilişkin doğru denklemleri aşağıda verilmiştir:

$$i_p (\mu A) = 0.02 v (mV s^{-1}) + 1.07 \quad (r = 0.998)$$

$$\log i_p = 0.77 \log v - 1.06 \quad (r = 0.992)$$

6.1.2.2. Voltametrik teknik seçimi

Sıyırma pik şiddetinin farklı voltametrik tekniklerdeki değeri doğrusal taramalı, diferansiyel puls ve kare-dalga gerilim uyarma sinyalleri kullanılarak araştırılmıştır (Şekil 6.8).

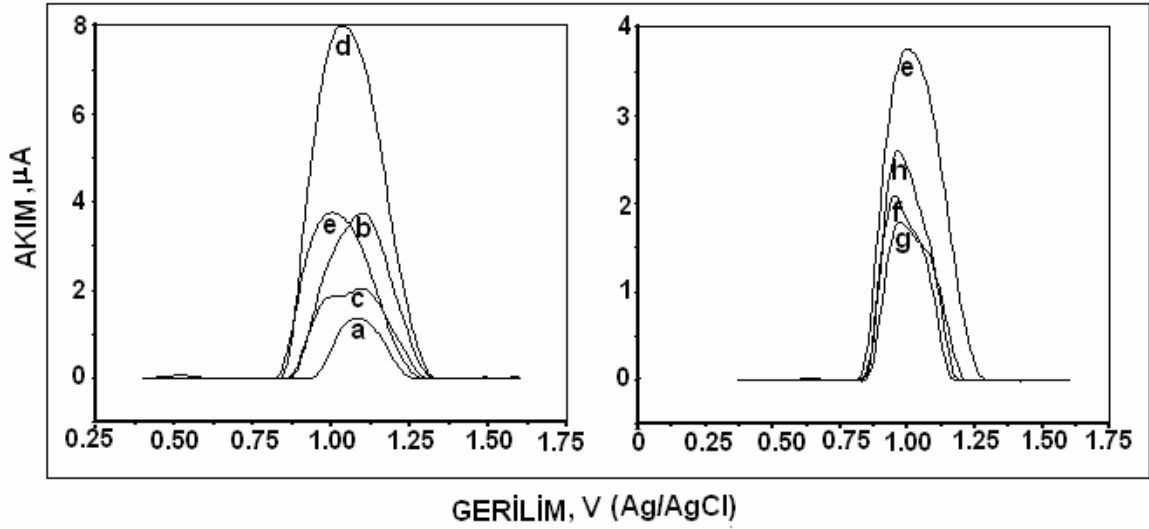


Şekil 6.8. 4×10^{-5} M BaP'nin asetat tamponu (pH 4.8)/0.02 M NaCl içerisinde değişik uyarma gerilim sinyalinde sıyrma voltamogramları. (A) doğrusal taramalı (gerilim tarama hızı, 100 mV s^{-1}), (B) diferansiyel puls (puls amplitüd 50 mV, gerilim adımı, 8 mV, gerilim tarama hızı 16 mV s^{-1}), (C) kare-dalga (puls amplitüd, 20 mV, frekans, 25 Hz, gerilim adımı, 8 mV). Elektrokimyasal biriktirme süresi, 300s (açık devrede).

4×10^{-5} M BaP çözeltisi için yükseltgenme basamağının sinyalleri, doğrusal taramalı gerilim uyarmasında +1.093 V'da, $5.253 \mu\text{A}$ düzeyinde, diferansiyel puls gerilim uyarmasında +0.995 V'da $4.302 \mu\text{A}$ düzeyinde, kare-dalga gerilim uyarmasında ise +1.035 V'da, $7.997 \mu\text{A}$ düzeyinde gözlenmiştir. Bu bulgulara göre en büyük yükseltgenme sinyali kare-dalga gerilim uyarmasıyla elde edildiği için çalışmanın sonraki bölümlerinde kare-dalga voltametrik tekniğin kullanılmasına karar verilmiştir.

6.1.2.3. Destek elektroliti ve pH etkisi

Destek elektroliti ve pH'nin BaP'nin adsorptif voltametrik davranışı üzerine etkisini incelemek amacıyla uygun destek elektroliti içerisinde hazırlanan BaP çözeltilerinin (+0.4 V)-(+1.4 V) gerilim tarama aralığında kare-dalga voltamogramları kaydedilmiştir. Destek elektroliti (derişimleri 0.1 M) olarak 0.02 M NaCl içeren asetat tamponu (pH 4.8), fosfat tamponu (pH 3, 4, 7.4 ve 9), Tris tamponu (pH 7) ve Britton-Robinson tamponu (pH 2 ve 6) çözeltileri kullanılmıştır. Şekil 6.9, açık devrede 300 s biriktirilmeye bırakılmış 4×10^{-5} M BaP çözeltisinde kaydedilen kare-dalga voltamogramları üstünde pH'nin etkisini göstermektedir.



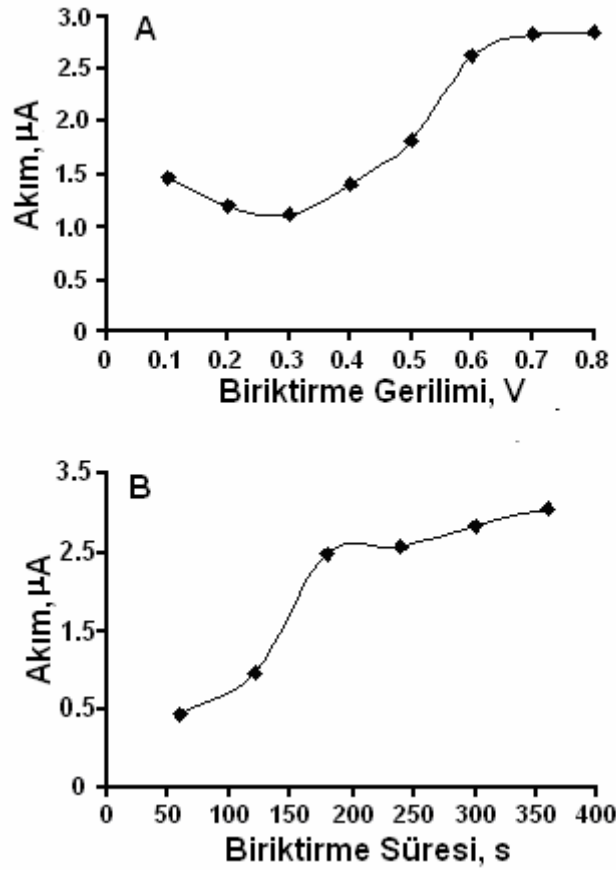
Şekil 6.9. Farklı pH değerlerinde 4×10^{-5} M BaP çözeltilerinin sıyırma voltamogramları. (a) BR tamponu pH 2, (b) fosfat tamponu pH 3.0, (c) fosfat tamponu pH 4, (d) asetat tamponu pH 4.8, (e) BR tamponu pH 6, (f) Tris tamponu pH 7, (g) fosfat tamponu pH 7.4, (h) fosfat tamponu pH 9. Şekil 6.8'deki elektrokimyasal biriktirme ve SWV değişkenleri kullanılmıştır.

Voltamogramlar incelendiğinde pH 2-4.8 aralığında pik geriliminde önemli bir değişikliğin olmadığı görülmektedir. pH 4 değerinin dışında pH arttıkça pik yüksekliği de artmaktadır. pH 4 ortamında pik yüksekliğinin düşmesi yanı sıra yükseltgenme piki ikiye yarılmaktadır. Çözeltilerin pH'si 4.8 değerinden daha yüksek olduğu zaman pik gerilimleri hafifçe daha negatif gerilimlere (pH 4.8'de + 1.04 V değerinden pH 6'da +1.00 V değerine) kaymaktadır. pH 7-9 aralığında pH değerinin artmasıyla birlikte pik yüksekliği düşerken pik şekilleri de bozulmaktadır. PGE kullanılarak BaP'ın voltametrik yükseltgenmesi üzerinde pH'nin etkisi araştırması; asetat tamponu (pH 4.8) çözeltilerinin, yüksek sinyal, tek ve iyi belirmiş pikler vermesi açısından en uygun ortam olduğunu göstermektedir.

6.1.2.4. Elektrokimyasal biriktirme değişkenlerinin etkisi

Araştırmanın bu aşamasında elektrot yanıtı üzerinde biriktirme gerilimi ve süresinin etkisi incelenmiştir.

Biriktirme geriliminin etkisi, karıştırılan 4×10^{-6} M BaP çözeltilerinde 300 s biriktirme süresi uygulanarak ya açık devre koşulunda ya da +0.1 V'dan +0.8 V'a değişen gerilim aralığında çalışılmıştır (Şekil 6.10 A). +0.5 V gerilim değerinde elde edilen sıyırma sinyali açık devrede elde edilen değere (bulgu şekil üzerinde gösterilmemiştir) çok yakındır. En yüksek pik akımı (+0.6) – (+0.8 V) aralığında elde edilmiştir. Bu nedenle, çalışmanın devamında biriktirme gerilimi olarak +0.7 V değeri kullanılarak biriktirme süresi 60 s ile 360 s arasında değiştirilmiştir (Şekil 6.10 B). Beklenildiği gibi biriktirme süresi artırıldığı zaman pik akımı da artmıştır. Sıyırma sinyali özel olarak 180 s değerine kadar hızla artmış, daha sonra 360 s değerine kadar daha yavaş hızla artışa devam etmiştir. Sıyırma öncesi biriktirme işlemi için 180 s değeri seçilmiştir.

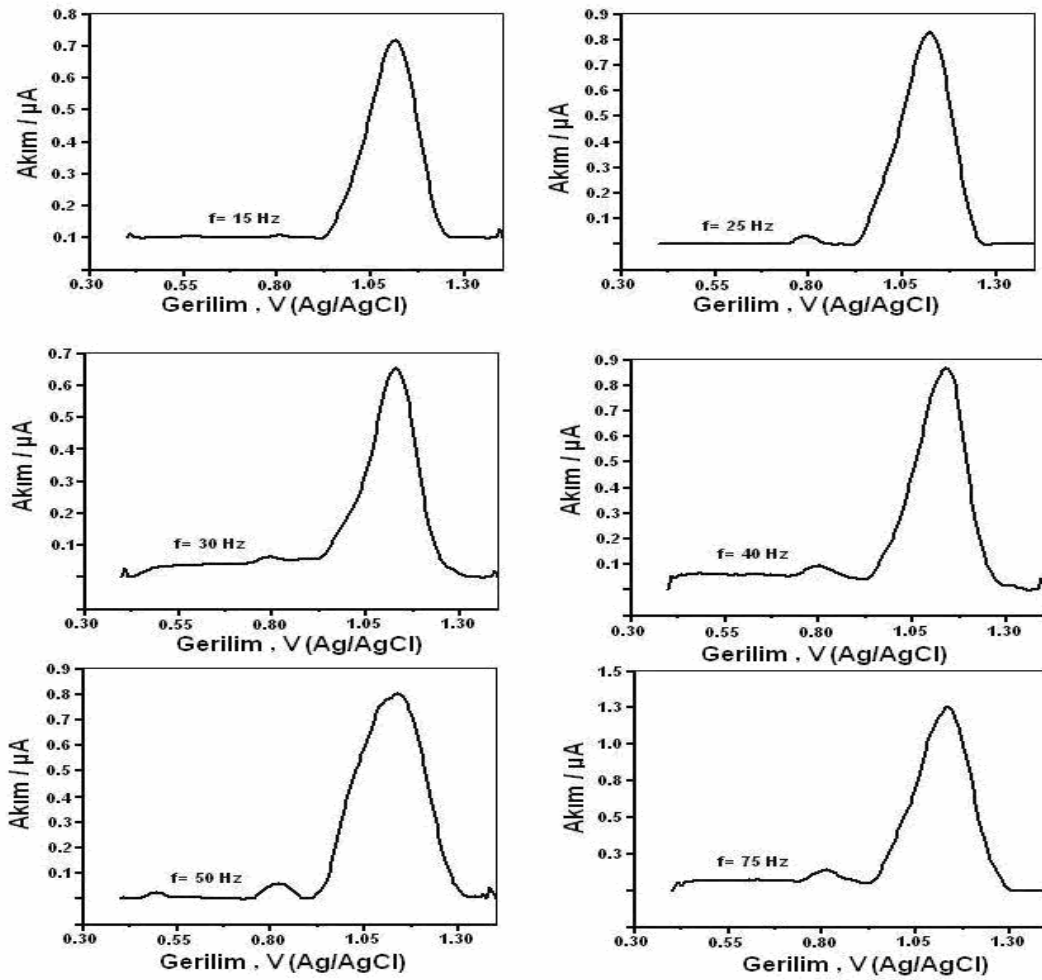


Şekil 6.10. 4×10^{-6} M BaP'ın asetat tamponu (pH 4.8)/0.02 M NaCl içerisindeki sıyırma sinyali üzerine elektrokimyasal biriktirme değişkenlerinin etkisi. Şekil 6.8'deki SWV değişkenleri kullanılmıştır.

6.1.2.5. Kare-dalga değışkenlerinin etkisi

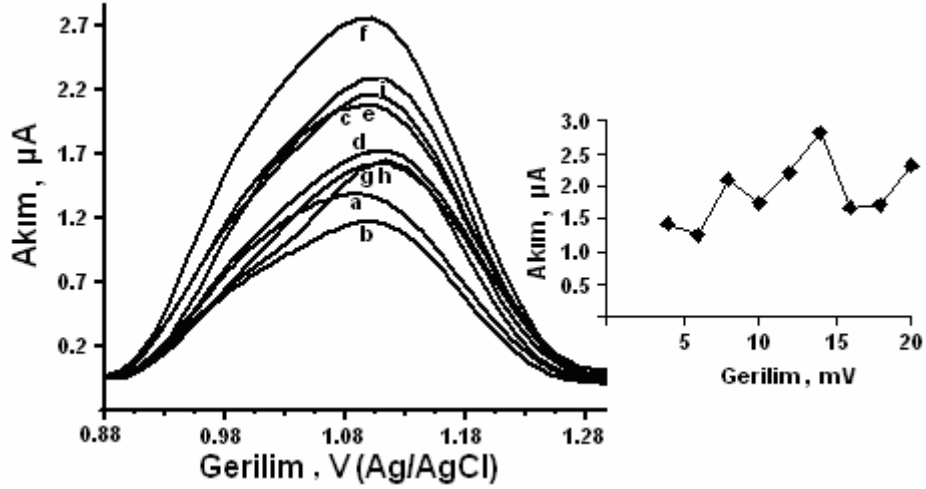
4×10^{-6} M BaP'ın asetat tamponu (pH 4.8) çözeltisindeki voltamogramları, +0.7 V'da 180 s süreyle biriktirme işlemi uygulandıktan sonra çeşitli aletsel koşullar kullanılarak kaydedilmiştir (frekans $f = 15-75$ Hz, gerilim adımı $\Delta E = 4-20$ mV, puls amplitüd $E_{SW} = 5-25$ mV).

Frekans değeri artırılması sonucunda pik akımlarında önemli bir artış gözlenmemiştir. Ayrıca 25 Hertz'den daha büyük frekans değeri zemin çizgisi ve pik şekilleri bozulmuştur (Şekil 6.11). Bu nedenle çalışmanın bundan sonraki kısımlarında en uygun $f = 25$ Hz kullanılmasına karar verilmiştir.



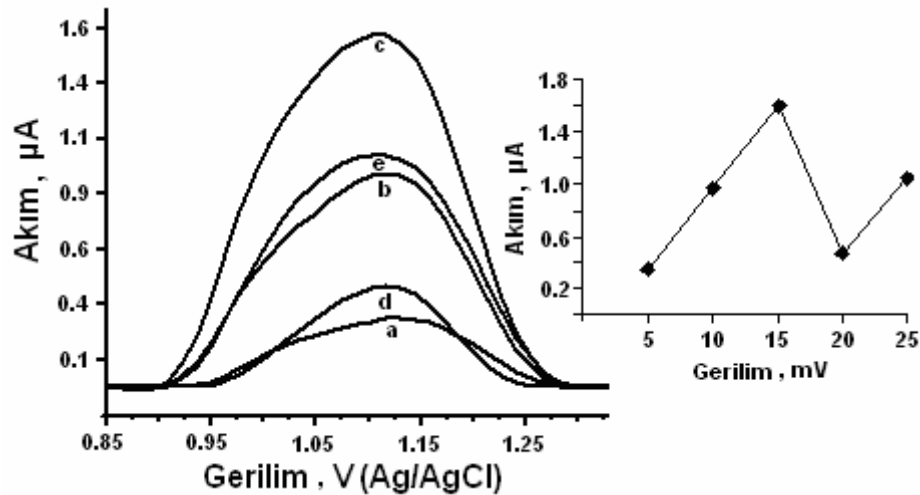
Şekil 6.11. 4×10^{-6} M BaP'ın asetat tamponu (pH 4.8)/0.02 M NaCl içerisinde farklı frekanslardaki kare-dalga voltamogramları. Amplitüd, 15 mV; gerilim adımı, 14 mV.

Gerilim adımındaki artışının incelendiği 4–20 mV gerilim aralığında pik şekli ve şiddeti açısından en başarılı sonuç, $\Delta E = 14$ mV değerinde elde edilmiştir (Şekil 6.12). Bu nedenle çalışmanın devamında gerilim adımı olarak 14 mV değeri kabul edilmiştir.



Şekil 6.12. 4×10^{-6} M BaP'ın asetat tamponu (pH 4.8)/0.02 M NaCl içerisinde farklı gerilim adımındaki kare dalga voltamogramları ve dağılım grafiği. Frekans, 25 Hz; amplitüd, 20 mV.

5–15 mV aralığında puls amplitüd değeri arttıkça pik akımında bir artış gözlenmiştir. $E_{SW} > 15$ mV'dan sonra amplitüd değerinde ani bir düşme olmuştur. Daha sonraki gerilim adımıda artış olsa da 15 mV değerindeki zirveye ulaşılammıştır (Şekil 6.13). Bu nedenle en uygun $E_{SW} = 15$ mV olarak belirlenmiştir.



Şekil 6.13. 4×10^{-6} M BaP'ın asetat tamponu (pH 4.8)/0.02 M NaCl içerisinde farklı puls amplitüd değerlerindeki kare dalga voltamogramları ve dağılım grafiği. Frekans, 25 Hz; gerilim adımı, 14 mV.

6.2. BaP Tayininde Elektroanalitik Uygulama

BaP'ın elektrokimyasal davranışının araştırılması sonucunda miktar tayinine yönelik en iyi voltametrik ve analitik koşullar Çizelge 6.4'te gösterilmiştir.

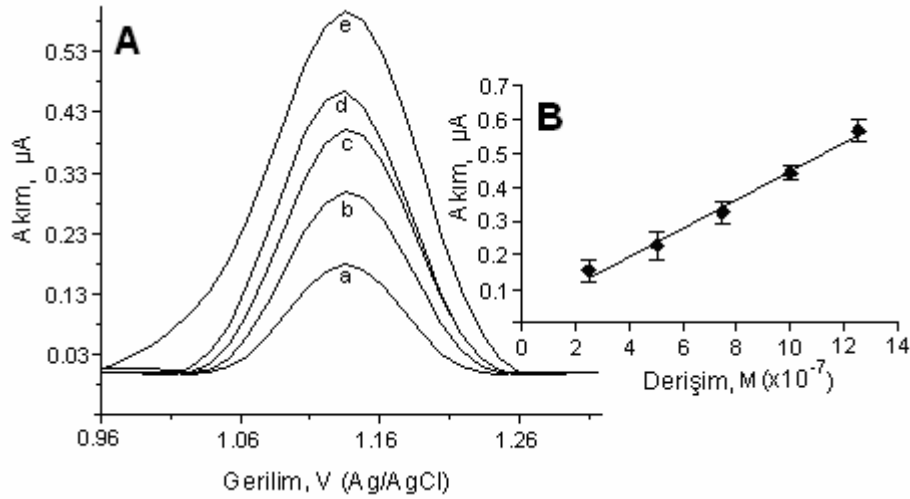
Çizelge 6.4. BaP analizi için voltametrik yöntem ile elde edilen en iyi deneysel koşullar

Değişken	Bulgu
Voltametrik teknik	Kare-dalga adsorptif sıyırma voltametrisi
Tampon sistemi	Asetat tamponu, pH 4.80
Biriktirme gerilimi	+0.7 V
Biriktirme süresi	180 s
Kare-dalga değişkenleri	
a) Gerilim adımı	14 mV
b) Puls amplitüd	15 mV
c) Frekans	25 Hz

Saptanan deneysel parametreler kullanılarak voltametrik yöntemin aletsel performansını saptamak amacıyla yöntemin çalışma aralığı, duyarlılık, tekrarlanabilirlik koşulları araştırılmıştır.

6.2.1. Voltametrik yöntemin analitik performans özellikleri

En iyi deney koşullarında BaP derişiminin pik akımı üzerine etkisini incelemek üzere yürütülen çalışmada, farklı derişimlerdeki BaP çözeltilerinin üç tekrar deney yapılarak kare dalga voltamogramları kaydedilmiştir. Asetat tamponu (pH 4.8)/0.02 M NaCl çözeltisi içerisinde kaydedilen voltamogramlar ve karşılık gelen kalibrasyon eğrisi grafiği Şekil 6.14'de verilmiştir.



Şekil 6.14. (a) 2.5×10^{-7} , (b) 5×10^{-7} , (c) 7.5×10^{-7} M, (d) 1.00×10^{-6} , (e) 1.25×10^{-6} M BaP'ın asetat tamponu (pH 4.8)/0.02 M NaCl içerisinde kare dalga adsorptif sıyırma voltamogramları (A) ve pik akımı-derişim kalibrasyon eğrisi (B) Elektrot, PGE, biriktirme süresi 180 s; biriktirme gerilimi, +0.7 V; SWV değişkenleri; amplitüd: 15 mV, gerilim adımı: 14 mV, frekans 25 Hz.

BaP derişimi (2.5×10^{-7} M - 1.25×10^{-6} M aralığında) artıka pik akımlarının düzenli bir şekilde arttığı gözlenmiştir. Pik akımlarının üç ardışık ölçüm sonucu bulunan ortalama değerleri sırasıyla 0.153, 0.229, 0.325, 0.442 ve 0.568 μ A düzeyindedir. Derişime karşılık akım değerleri kalibrasyon grafiğine yerleştirildikten sonra aşağıdaki eşitliğe ulaşılmıştır.

$$i_p (\mu A) = 417200 D(M) + 0.0305$$

Kalibrasyon eğrisinin doğrusallık korelasyon katsayısı (r) 0.995 olarak hesaplanmıştır.

Yöntemin analitik duyarlılığının saptanması amacıyla gözlenebilirlik sınırı (LOD), 3 s/m oranına göre, tayin alt sınırı (LOQ) ise 10 s/m eşitliğine göre hesaplanmıştır. Eşitlikteki “ s ”, destek elektroliti çözeltisinin zemin çizgisinde okunabilen en küçük yedi sinyal gürültüsünün standart sapması (0.00374 μ A), “ m ” ise kalibrasyon eğrisinin eğimidir. Kalibrasyon eğrisi denklemi değerlendirilerek yapılan hesaplamalar sonucunda LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 2.69×10^{-8} M ve 8.97×10^{-8} M olarak bulunmuştur.

BaP için geliştirilen voltametrik yöntemin tekrarlanabilirlik düzeyini saptamak için 7.5×10^{-7} M derişimindeki çözelti en iyi deney koşullarında hazırlanmış ve bu çözelti aynı gün içerisinde on kez sıyırma voltamogramları kaydedilmiştir. Bu

voltamogramlar üzerinde pik akımı değerleri okunmuş ve bulunan değerler gün-içi kesinlik olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgulara göre bağıl standart sapma (BSS,%) değeri % 6.98 olarak saptanmıştır.

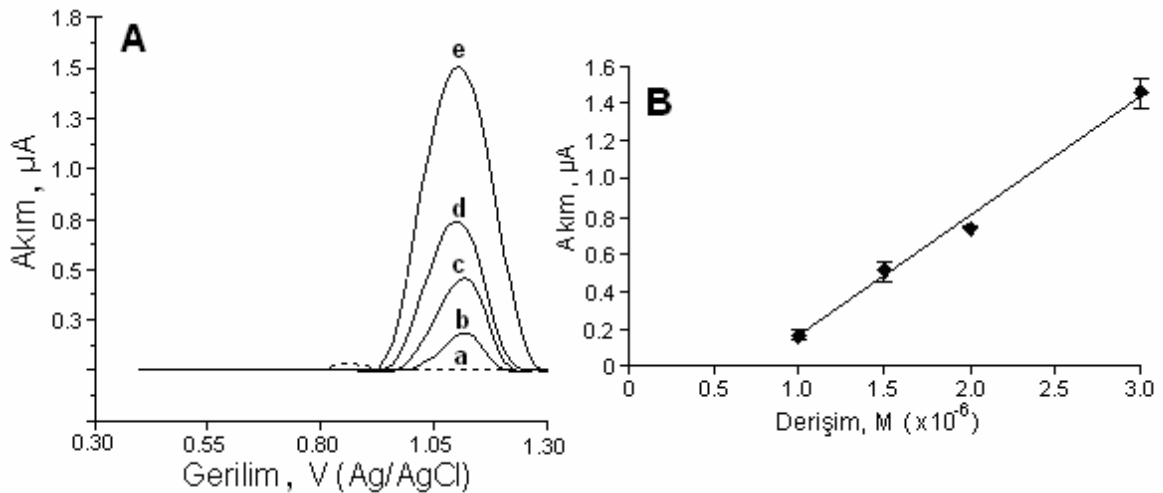
6.2.2. Voltametrik yöntemin idrar örneklerine uygulaması

Doğrusallık aralığını kontrol amacıyla idrar örneklerinde Bölüm 5.2.3’de anlatılan yol izlenerek yeni bir kalibrasyon işlemi yapılmıştır. BaP’ın farklı derişimlerini içeren idrar örneklerinin asetat tamponu (pH 4.8)/0.02 M NaCl çözeltisi içerisinde kaydedilen voltamogramları ve karşılık gelen kalibrasyon eğrisi grafiği Şekil 6.15’de verilmiştir.

İdrar içerisindeki BaP derişimi (1×10^{-6} - 3×10^{-6} M aralığında) arttıkça pik akımlarının düzenli bir şekilde arttığı gözlenmiştir. Pik akımlarının üç ardışık ölçüm sonucu bulunan ortalama değerleri sırasıyla 0.166, 0.504, 0.737 ve 1.46 μA düzeyindedir. Derişime karşılık akım değerleri kalibrasyon grafiğine yerleştirildikten sonra aşağıdaki eşitliğe ulaşılmıştır.

$$i_p(\mu\text{A}) = 640171 D (\text{M}) - 0.4836$$

Kalibrasyon eğrisinin doğrusallık korelasyon katsayısı (r) 0.997 olarak hesaplanmıştır. Gözlenebilirlik sınırı ise 1.31×10^{-7} M olarak bulunmuştur ($33.05 \mu\text{g L}^{-1}$).



Şekil 6.15. (A) İdrar örneğine katılmış BaP’ın tayini için elde edilen sıyırma voltamogramları. (a) kör idrar örneği, (b) 1.0×10^{-6} M BaP, (c) 1.5×10^{-6} M BaP, (d) 2.0×10^{-6} M BaP, (e) 3.0×10^{-6} M BaP. (B) Pik akımı-derişim kalibrasyon eğrisi. Diğer deneysel koşullar Şekil 6.14’deki gibidir.

Yukarıda verilen derişim aralığında BaP içeren idrar örneklerinin her biri için üç voltamogram kaydedilerek pik akımı değerleri ölçülmüştür. Geri kazanım sonuçları Çizelge 6.5'te verilmiştir. Çizelgeden de görüldüğü gibi ortalama geri kazanım %100.21 ve bağıl standart sapma %3.33 olarak saptanmıştır.

Deneyler sırasında BaP çözeltilerinde hiçbir bozunma gözlenmemiştir.

Çizelge 6.5. İdrar örneklerine eklenen BaP'ın geri kazanımına ait bulgular

Eklenen (M)	Bulunan (M)	Geri kazanım (%)
1×10^{-6}	1.02×10^{-6}	101.47
1.5×10^{-6}	1.54×10^{-6}	102.84
2×10^{-6}	1.91×10^{-6}	95.33
3×10^{-6}	3.04×10^{-6}	101.19
Ortalama $\pm$ BSS		100.21 ± 3.33

6.3. DMBA'nın Elektrokimyasal İncelenmesi

Çalışma materyali olarak seçilen PAH bileşiklerinden ikincisi olan DMBA'nın susuz ve sulu çözeltilerdeki elektrokimyasal davranışı karbon temelli elektrotlar üzerinde farklı voltametrik teknikler kullanılarak incelenmiştir.

6.3.1. Susuz çözeltilerde GCE ve PGE üzerinde dönüşümlü voltametri

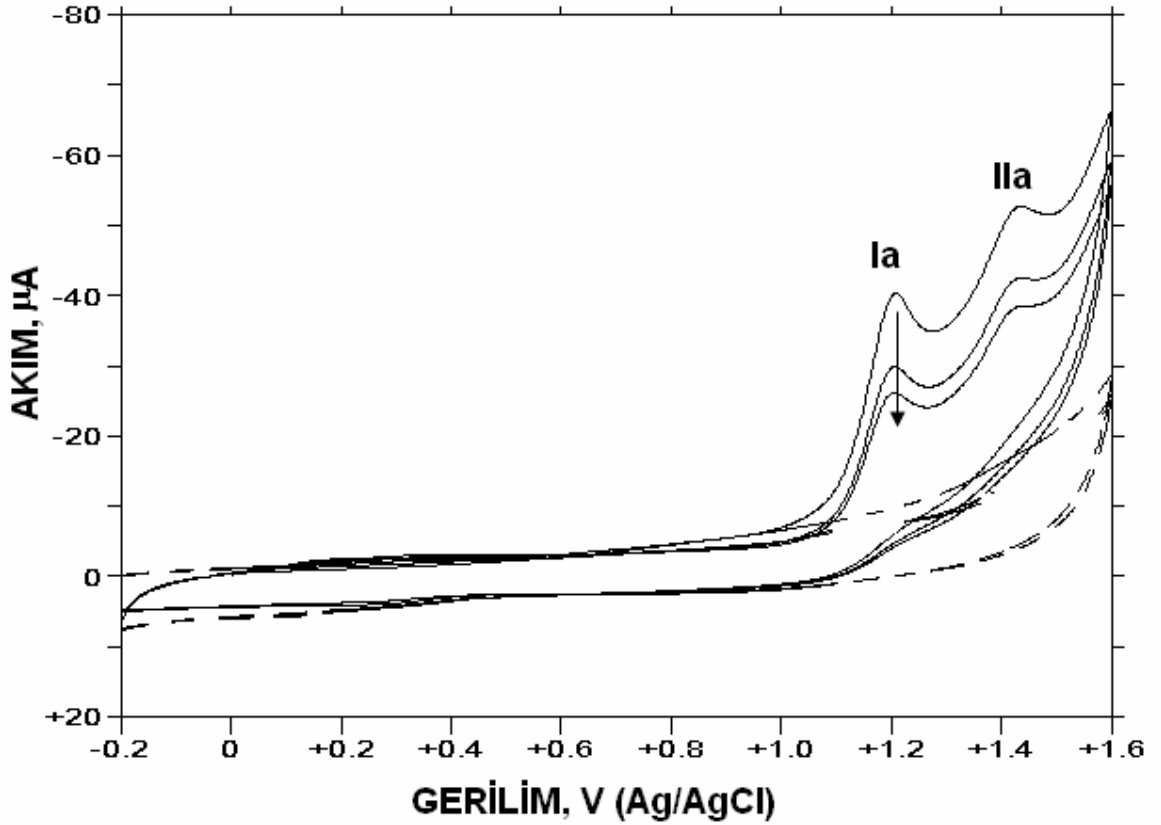
GCE üzerinde oluşan elektrokimyasal işlemi anlayabilmek amacıyla 0.1 M LiClO_4 içeren DMF içerisinde hazırlanan DMBA çözeltisinin (0.0 V)-(+1.6 V)-(-0.2 V) gerilim tarama aralığında, 0.0 V başlangıç gerilimi ve 100 mV s^{-1} gerilim tarama hızı ile dönüşümlü voltamogramları kaydedilmiştir. Şekil 6.16'da 8×10^{-4} M DMBA çözeltisinin üç döngülü voltamogramı görülmektedir.

Destek elektroliti ve bileşik içerisindeki eğriler karşılaştırıldığında DMBA'nın +1.21 V'da keskin (Ia), +1.43 V dolayında ise daha yayvan (IIa) iki yükseltgenme piki

verdiği gözlenmektedir. Molekülün yükseltgenmesinden sonra gerilim taramasına katodik bölgede devam edildiğinde BaP'a ilişkin redoks çiftleri yok denecek kadar belirginliklerini kaybetmişlerdir. İkinci döngüde pik Ia ve IIa'nın şiddetleri de küçülmektedir.

Gerilim tarama hızının pik Ia'nın gerilimi ve akım şiddeti üzerine etkisini incelemek amacıyla; 0.1 M LiClO₄ içeren DMF içerisinde hazırlanan 8x10⁻⁴ M DMBA çözeltisinin 25 mV s⁻¹ ile 1000 mV s⁻¹ aralığında dönüşümlü voltamogramları kaydedilmiştir. Gerilim tarama hızı ile karşılık gelen pik gerilim ve akım değerleri Çizelge 6.6'da görülmektedir.

Bulgular incelendiğinde gerilimin (Ep) 25-100 mV s⁻¹ aralığında değişmediği, 100 mV s⁻¹ hızından sonraki değerlerde daha pozitif gerilim değerlerine kaymanın başladığı ve 1000 mV s⁻¹ değerine ulaşıldığında 80 mV dolayında pozitif bir kayma olduğu görülmektedir.



Şekil 6.16. 8x10⁻⁴ M DMBA'nın DMF/0.1 M LiClO₄ içerisinde GCE üzerinde üç döngülü voltamogramı. Gerilim tarama hızı, 100 mV s⁻¹. Kesik çizgi, destek elektroliti.

Çizelge 6.6. DMBA'nın pik gerilimi ve pik akımı üzerine gerilim tarama hızının etkisi.
Çözücü; DMF/0.1 M LiClO₄; yöntem, dönüşümlü voltametri; DMBA derişimi, 8x10⁻⁴ M

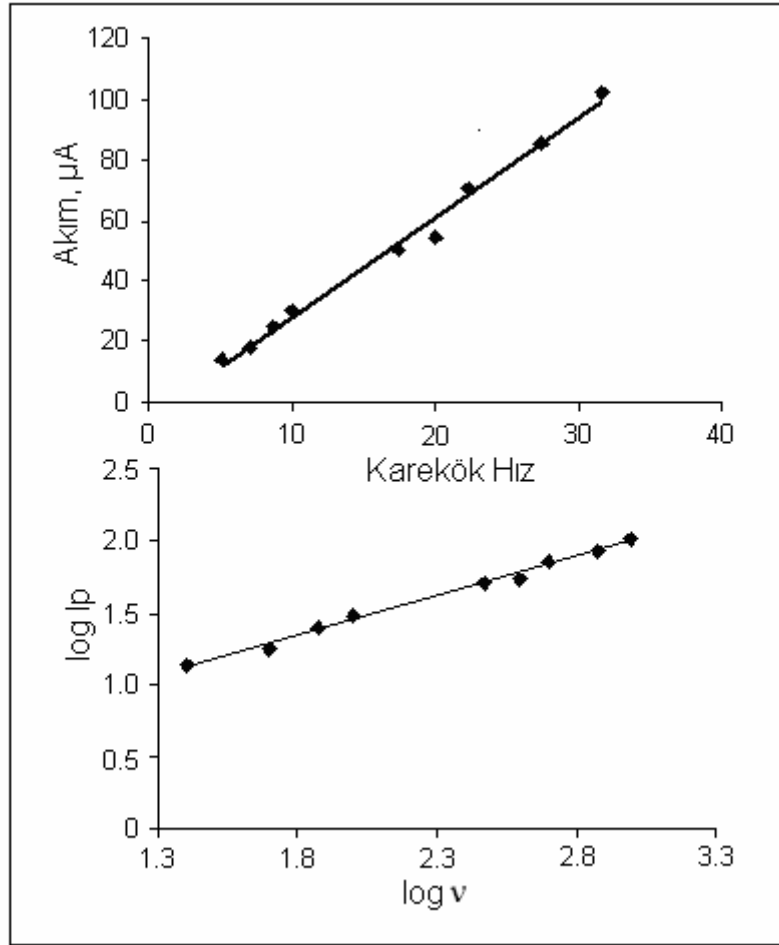
v (mV s ⁻¹)	E_p (V)	i_p (μA)	$\sqrt{v}$	$\log i_p$	$\log v$
25	1,18	13,76	5,000	1,139	1,398
50	1,19	17,77	7,071	1,250	1,699
75	1,19	24,85	8,660	1,395	1,875
100	1,19	30,13	10,000	1,479	2,000
300	1,22	50,16	17,321	1,700	2,477
400	1,23	53,87	20,000	1,731	2,602
500	1,24	70,28	22,361	1,847	2,699
750	1,26	84,92	27,386	1,929	2,875
1000	1,27	102,2	31,623	2,009	3,000

Pik akımı (i_p) ise 25-1000 mV s⁻¹ aralığında hızın (v) karekökü ($\sqrt{v}$) ile doğrusal olarak artmaktadır (Şekil 6.17). Aynı hız aralığında $\log v$ - $\log i_p$ ilişkisinin de doğrusal olduğu saptanmıştır (Şekil 6.17).

Gerilim tarama hızı ile pik akımı ilişkisinde elde edilen her iki doğrusallığa ilişkin doğru denklemleri aşağıda verilmiştir:

$$i_p (\mu A) = 3.27\sqrt{v} (mV s^{-1}) + 4.46 \quad (r = 0.998)$$

$$\log i_p = 0.54 \log v + 0.37 \quad (r = 0.995)$$

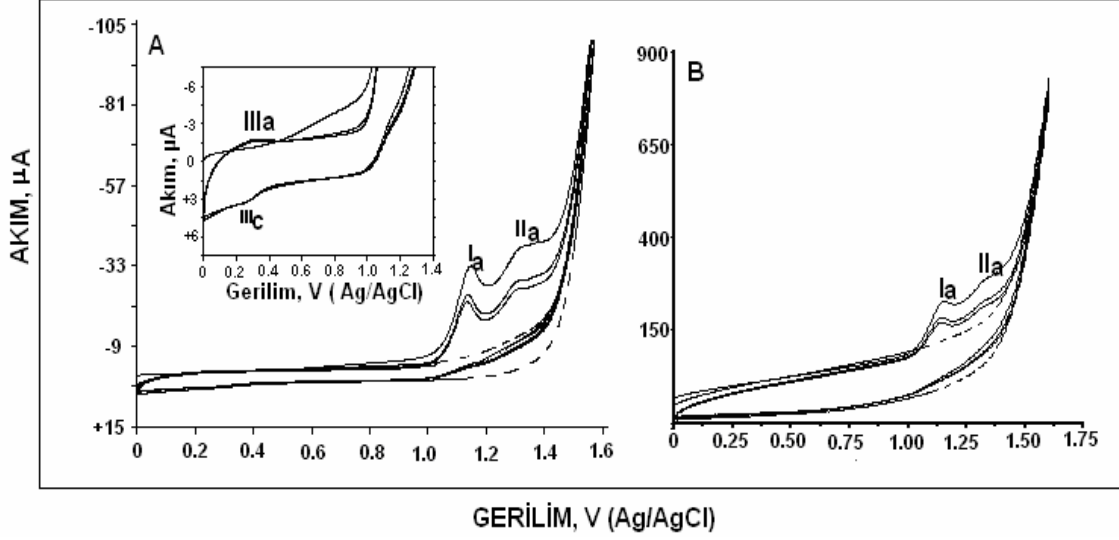


Şekil 6.17. DMBA'nın DMF/0.1 M LiClO₄ içerisinde gerilim tarama hızı-pik akımı ilişkisi.

DMBA'nın susuz ortamda göstermiş olduğu voltametrik davranışları aynı dönüşümlü voltametrik koşullarda DMSO içerisinde de incelenmiştir (Şekil 6.18 A).

DMF içerisindeki voltamogramlarla kıyaslandığında morfolojik olarak büyük benzerlik gözlenmektedir. DMSO ortamında yalnızca pik Ia geriliminde 60-mV, pik IIa geriliminde 100-mV negatif kayma olmuştur. Bu çözücü ortamında da redoks çiftleri belirginliklerini büyük ölçüde kaybetmişlerdir (Şekil 6.18 A, bakınız redoks çifti büyütülmüş bölgesi). Aynı deneysel koşullarda PGE elektrot denendiği zaman GCE ile elde edilen voltametrik profile benzer bulgular gözlenmiştir (Şekil 6.18 B). PGE kullanıldığı zaman artık akımın daha büyük olduğu görünmektedir. Bunun nedeni kurşun grafit yapısındaki kil ve polimerlerden kaynaklı olabilir. Ancak GCE ile elde

edilen sonuçlara kıyasla yaklaşık iki kez daha yüksek akım yoğunlukları (kaydedilen akım değerinden artık akımın çıkarılması ile elde edilen) saptanmıştır.



Şekil 6.18. 8×10^{-4} M DMBA'nın DMSO/0.1 M LiClO₄ içerisinde (A) GCE ve (B) PGE üzerinde üç döngülü voltamogramı. Gerilim tarama hızı, 100 mV s⁻¹. Kesik çizgi, destek elektroliti.

GCE üzerinde gerilim tarama hızı 5-750 mV s⁻¹ aralığında değiştirildiği zaman pik Ia'nın gerilim değerinde 130-mV dolayında pozitif kaymayla birlikte pik akımı değerlerinde de artış gözlenmiştir. Gerilim tarama hızı ile karşılık gelen pik gerilim ve akım değerleri Çizelge 6.7'de verilmiştir.

Çizelge 6.7. DMBA'nın pik gerilimi ve pik akımı üzerine gerilim tarama hızının etkisi. Çözücü; DMSO/0.1 M LiClO₄; yöntem, dönüşümlü voltametri; DMBA derişimi, 8x10⁻⁴ M

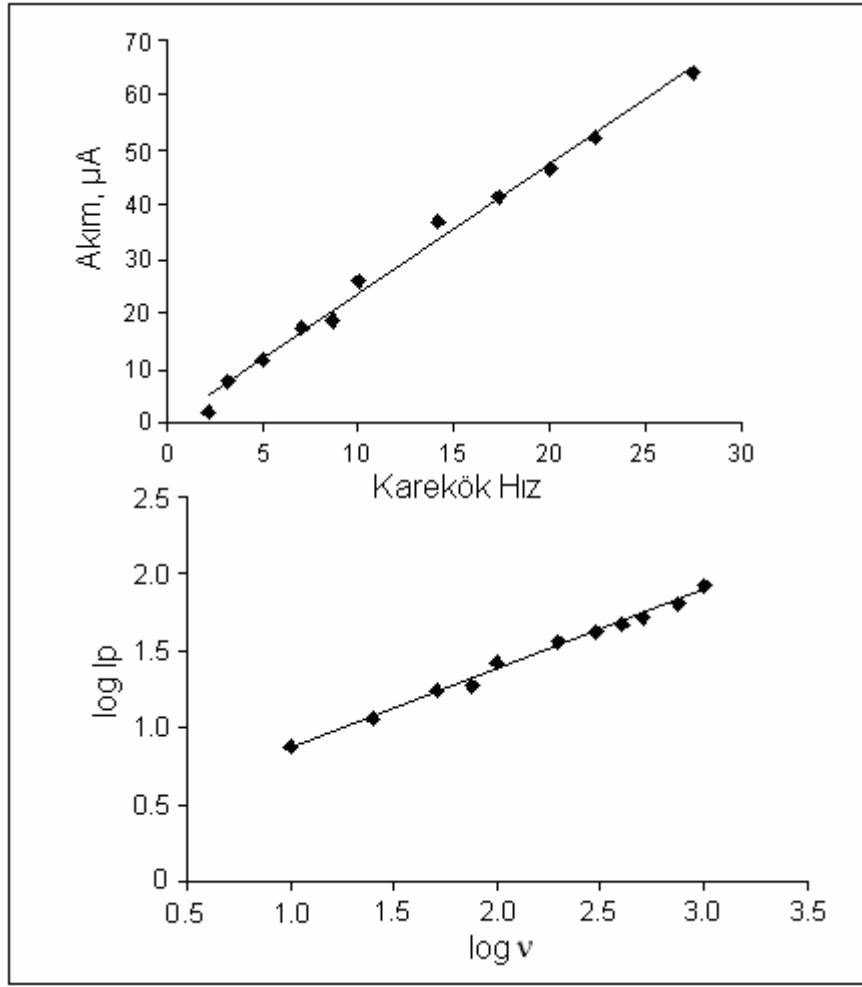
ν (mV s ⁻¹)	E_p (V)	i_p (μA)	$\sqrt{\nu}$	$\log i_p$	$\log \nu$
5	1.10	2.15	2.236	0.332	0.699
10	1.11	7.65	3.162	0.884	1.000
25	1.12	11.44	5.000	1.058	1.398
50	1.13	17.3	7.071	1.238	1.699
75	1.14	18.9	8.660	1.276	1.875
100	1.15	26.13	10.000	1.417	2.000
200	1.17	36.85	14.142	1.566	2.301
300	1.19	41.45	17.321	1.618	2.477
400	1.20	46.54	20.000	1.668	2.602
500	1.22	52.12	22.361	1.717	2.699
750	1.23	64.16	27.386	1.807	2.875

Pik akımı (i_p) ise 5-750 mV s⁻¹ aralığında hızın (ν) karekökü ($\sqrt{\nu}$) ile doğrusal olarak artmaktadır (Şekil 6.19). Aynı hız aralığında $\log \nu$ - $\log i_p$ ilişkisinin de doğrusal olduğu saptanmıştır (Şekil 6.19).

Gerilim tarama hızı ile pik akımı ilişkisinde elde edilen her iki doğrusallığa ilişkin doğru denklemleri aşağıda verilmiştir:

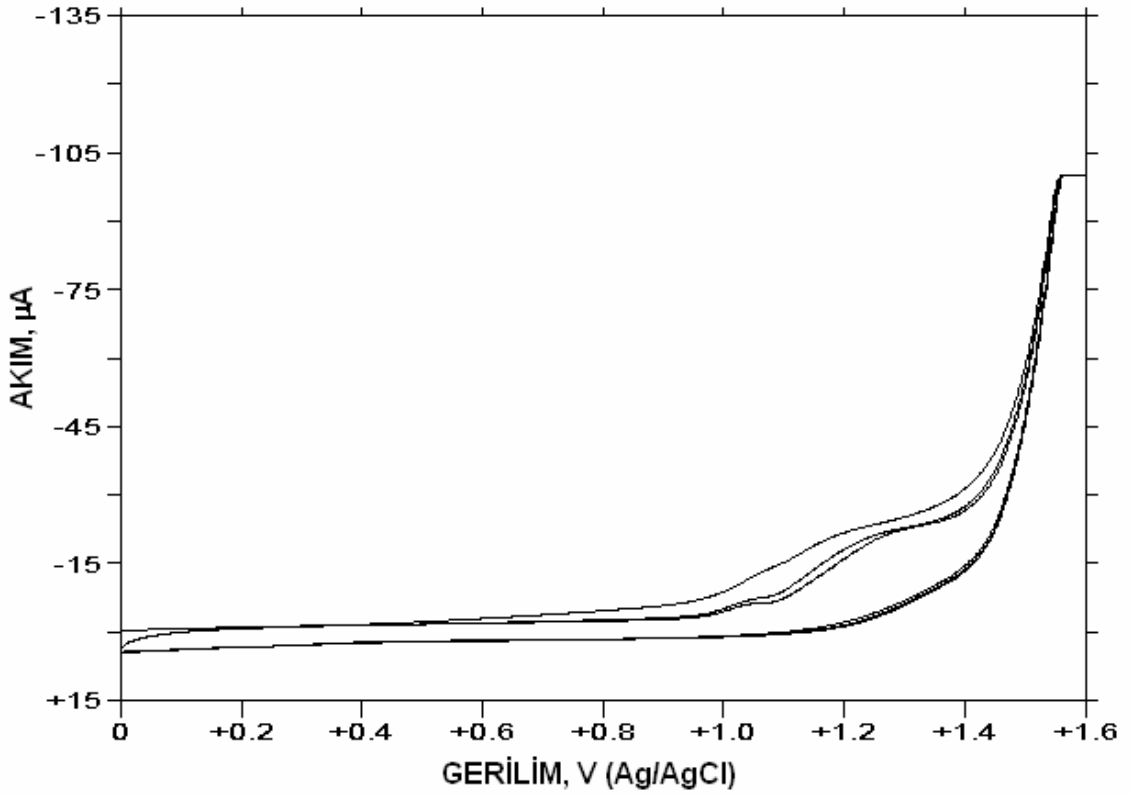
$$i_p (\mu A) = 2.39 \sqrt{\nu} \text{ (mV s}^{-1}\text{)} - 0.29 \quad (r = 0.996)$$

$$\log i_p = 0.51 \log \nu + 0.37 \quad (r = 0.997)$$



Şekil 6.19. DMBA'nın DMSO/0.1 M LiClO₄ içerisinde gerilim tarama hızı-pik akımı ilişkisi.

DMSO içerisinde DMBA derişiminin etkisi araştırıldığında; 10^{-4} M derişim değerinden daha seyreltik çözeltilerde özellikle ilk döngüde yükseltgenme basamaklarının birbirinden iyi ayrılmayan ve pik şekilleri bozulan (sigmoidal) basamaklara dönüştüğü gözlenmektedir. Ayrıca her iki basamağın da daha negatif değerlere kaydığı gözlenmiştir (Şekil 6.20). Örneğin Ia'nın gerilim değeri 8×10^{-4} M derişiminde +1.13 V dolayında iken 4×10^{-5} M derişiminde +1.05 V değerine kaymıştır.



Şekil 6.20. 4×10^{-5} M DMBA'nın DMSO/0.1 M LiClO₄ içerisinde GCE üzerinde üç döngülü voltamogramı. Gerilim tarama hızı, 100 mV s^{-1} .

6.3.2. Sulu çözeltilerde PGE üzerinde sıyırma voltametrisi

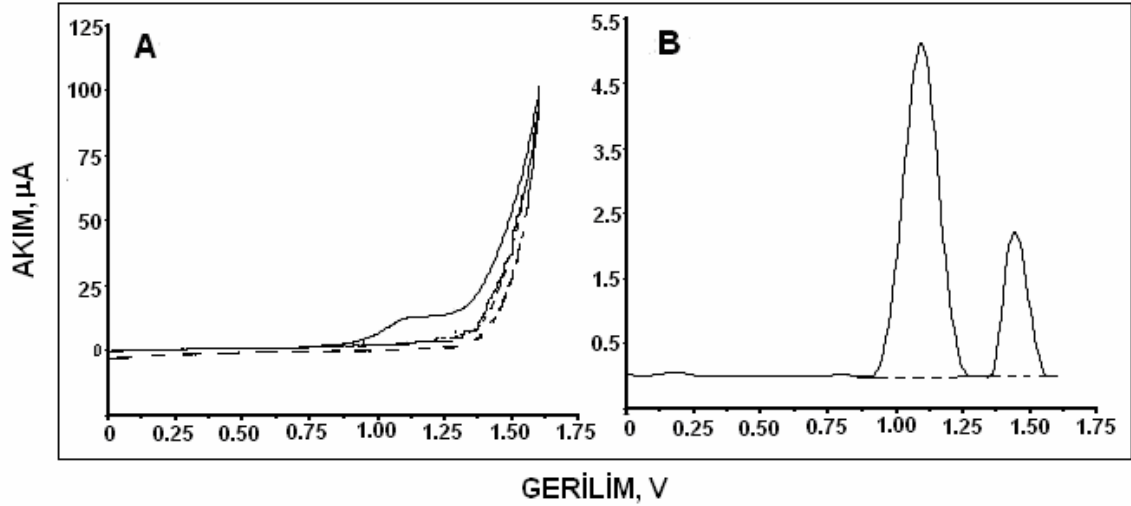
DMBA'nın da sudaki çözünürlüğünün düşük olması nedeniyle sulu ortamda gerçekleştirilen sıyırma voltametrisi deneylerinde bileşiğin seyreltik çözeltileri ($\leq 4 \times 10^{-5}$ M) kullanılmıştır.

6.3.2.1. Dönüşümlü voltametri

Şekil 6.21 A, açık devre koşullarında 300 s süreyle biriktirilme sürecinden sonra 4×10^{-5} M DMBA çözeltisinin asetat tamponu (pH 4.8)/0.02 M NaCl içerisinde 100 mV s^{-1} gerilim tarama hızında kaydedilmiş dönüşümlü voltamogramını göstermektedir.

Sulu çözeltilerde DMBA'nın düşük derişimlerinden dolayı DMSO içerisinde gözlenen yükseltgenme basamağının belirginliği azalmış (DMSO içerisindeki düşük

derişimlerde olduğu gibi) ve pik görüntüsünden sigmoidal şekle dönüşmüştür. Katodik yöndeki taramada çalışılan gerilim aralığında [(0 V)-(+1.6 V)-(0 V)] hiçbir indirgenme basamağına rastlanmamaktadır.



Şekil 6.21. 4×10^{-5} M DMBA'nın asetat tamponu (pH 4.8)/0.02 M NaCl içerisinde PGE üzerinde dönüşümlü (A) ve kare-dalga (B) voltamogramı. CV koşulları: gerilim tarama hızı; SWV koşulları: frekans, 25 Hz, amplitüd, 20 mV, gerilim adımı, 8 mV. Kesik çizgi, destek elektroliti.

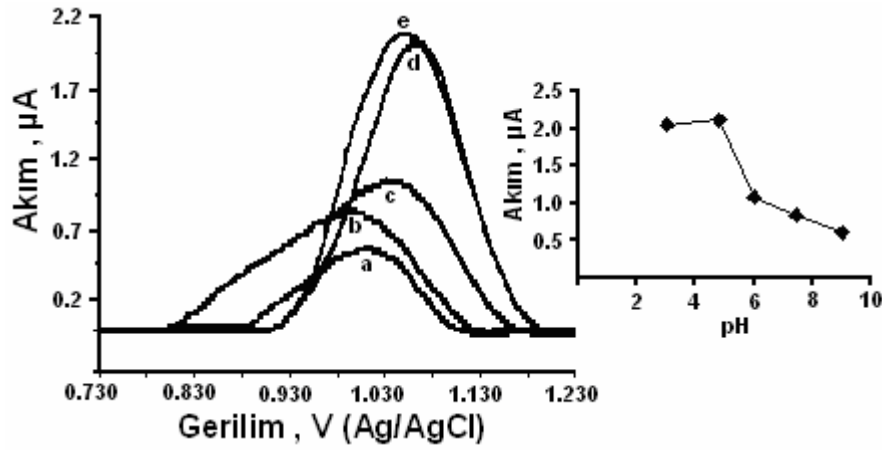
6.3.2.2. Destek elektroliti ve pH etkisi

Dönüşümlü voltametri ile elde edilen sıyırma sinyallerinin şiddeti doğru ölçülemediği için çözelti pH'sinin DMBA yükseltgenmesi üzerine etkisi DPV ve SWV teknikleri kullanılarak araştırılmıştır. Bu amaçla uygun destek elektroliti içerisinde hazırlanan 4×10^{-5} M DMBA çözeltilerinin açık devrede 300 s biriktirilme işleminden sonra (+0.4 V)-(+1.4 V) gerilim tarama aralığında diferansiyel puls ve kare-dalga voltamogramları kaydedilmiştir. Destek elektroliti (derişimleri 0.1 M) olarak 0.02 M NaCl içeren asetat tamponu (pH 4.8), fosfat tamponu (pH 3, 7.4 ve 9) ve Britton-Robinson tamponu (pH 6) çözeltileri kullanılmıştır.

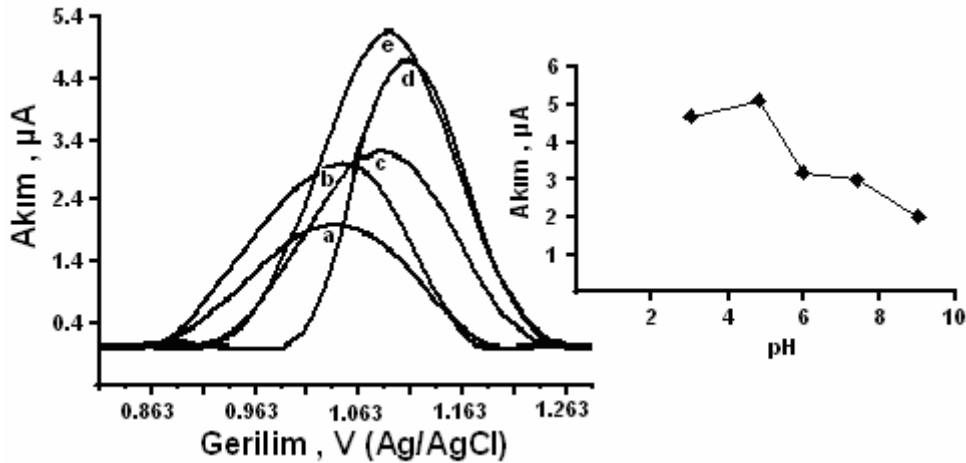
pH 3-7.4 arasında her iki yöntemle de birbirinden iyi ayrılmış iki pik gözlenmiştir. Örnek olarak Şekil 6.21 B'de, DMBA'nın asetat tamponu (pH 4.8) içerisinde kare-dalga voltamogramı verilmiştir. Çözelti pH değeri 9 olduğu zaman PGE elektrodunun gerilim aralığı daha negatif değerlere kaydığı için ikinci basamak gözlenememiştir.

Şekil 6.22 ve 23’de DMBA çözeltilerinde ilk pik kaydedilen diferansiyel puls ve kare-dalga voltamogramları ve pH-akım şiddeti grafikleri görülmektedir (voltamogramlar daha negatif gerilimde beliren ilk pik için verilmiştir).

Çalışılan pH aralığında pik gerilimlerinde önemli bir değişiklik oluşmamıştır. Çözelti pH’si 3 değerinden 9 değerine yükseldiğinde ilk pik için DPV ve SWV teknikleriyle sırasıyla 55 ve 70 mV negatif kayma gözlenmiştir.



Şekil 6.22. Farklı pH değerlerinde 4×10^{-5} M DMBA çözeltilerinin diferansiyel puls voltamogramları. (a) fosfat tamponu pH 9, (b) fosfat tamponu pH 7.4, (c) BR tamponu pH 6, (d) fosfat tamponu pH 3, (e) asetat tamponu pH 4.8. DPV koşulları; amplitüd, 50 mV, gerilim adımı, 8 mV, gerilim tarama hızı, 16 mV s^{-1} .



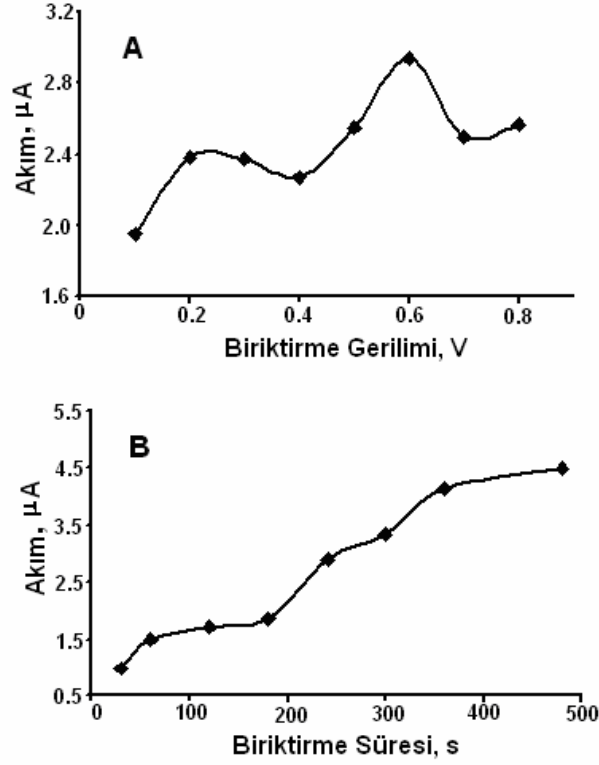
Şekil 6.23. Farklı pH değerlerinde 4×10^{-5} M DMBA çözeltilerinin kare-dalga voltamogramları. (a) fosfat tamponu pH 9, (b) fosfat tamponu pH 7.4, (c) BR tamponu pH 6, (d) fosfat tamponu pH 3, (e) asetat tamponu pH 4.8. SWV koşulları; amplitüd, 20 mV, gerilim adımı, 8 mV, frekans, 25 Hz.

Hem diferansiyel puls hem de kare-dalga voltamogramlarından elde edilen bulgular DMBA için de en yüksek pik akımına asetat tampon sisteminde (pH 4.8) ulaşıldığını göstermektedir. Ayrıca uyarma gerilim sinyali kare-dalga olduğu zaman diferansiyel puls sinyaline kıyasla yaklaşık 2.5 kez daha yüksek pik şiddeti elde edilmiştir. İkinci yükseltgenme basamağı da benzer davranış göstermesine karşılık sinyalleri daha küçüktür. Bu nedenle çalışmanın bundan sonraki bölümlerinde ilk yükseltgenme basamağının ölçümleri asetat tamponu (pH 4.8) ortamında SWV tekniği ile alınmıştır.

6.3.2.3. Elektrokimyasal biriktirme değişkenlerinin etkisi

Araştırmanın bu aşamasında elektrot yanıtı üzerinde biriktirme gerilimi ve süresinin etkisi incelenmiştir.

Biriktirme geriliminin etkisi, karıştırılan 4×10^{-5} M DMBA çözeltilerinde 300 s biriktirme süresi uygulanarak ya açık devre koşulunda ya da +0.1 V'dan +0.8 V'a değişen gerilim aralığında çalışılmıştır (Şekil 6.24 A). +0.1 V gerilim değerinde elde edilen sıyırma sinyali açık devrede elde edilen değere (bulgu şekil üzerinde gösterilmemiştir) çok yakındır. En yüksek pik akımı +0.6 V değerinde elde edilmiştir. Bu nedenle, çalışmanın devamında biriktirme gerilimi olarak +0.6 V değeri kullanılarak biriktirme süresi 30 s ile 480 s arasında değiştirilmiştir (Şekil 6.24 B). V Sıyırma sinyali 360 s değerine kadar hızla artmış, daha sonra önemli ölçüde değişmemiştir. Sıyırma öncesi biriktirme işlemi için 360 s değeri seçilmiştir.

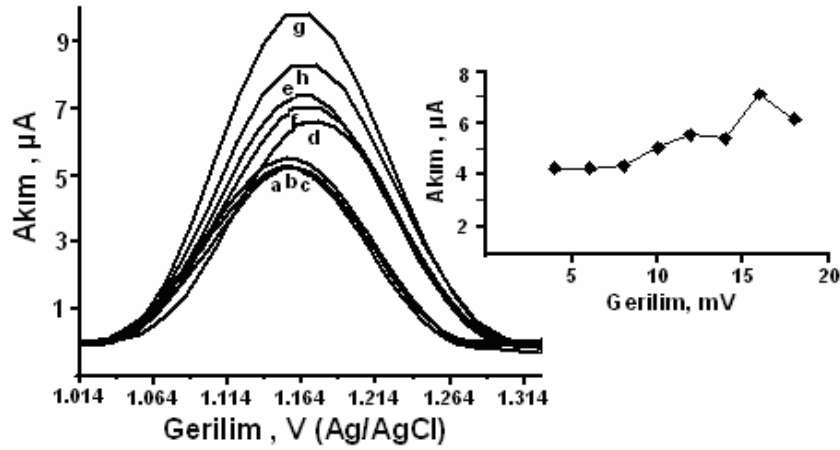


Şekil 6.24. 4×10^{-5} M DMBA'nın asetat tamponu (pH 4.8)/0.02 M NaCl içerisindeki sıyrma sinyali üzerine elektrokimyasal biriktirme değişkenlerinin etkisi. Şekil 6.23'deki SWV değişkenleri kullanılmıştır.

6.3.2.4. Kare-dalga değişkenlerinin etkisi

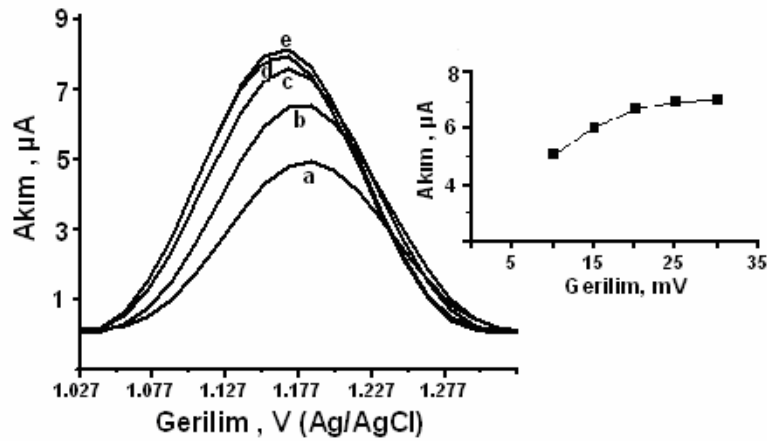
4×10^{-5} DMBA'nın asetat tamponu (pH 4.8) çözeltisindeki voltamogramları, +0.6 V'da 360 s süreyle biriktirme işlemi uygulandıktan sonra çeşitli aletsel koşullar kullanılarak kaydedilmiştir (frekans $f = 15-100$ Hz, gerilim adımı $\Delta E = 4-18$ mV, puls amplitüd $E_{sw} = 10-30$ mV).

Gerilim adımındaki artışının incelendiği 4–18 mV gerilim aralığında pik şekli ve şiddeti açısından en başarılı sonuç, $\Delta E = 16$ mV değerinde elde edilmiştir (Şekil 6.25). Bu nedenle çalışmanın devamında gerilim adımı olarak 16 mV değeri kabul edilmiştir.



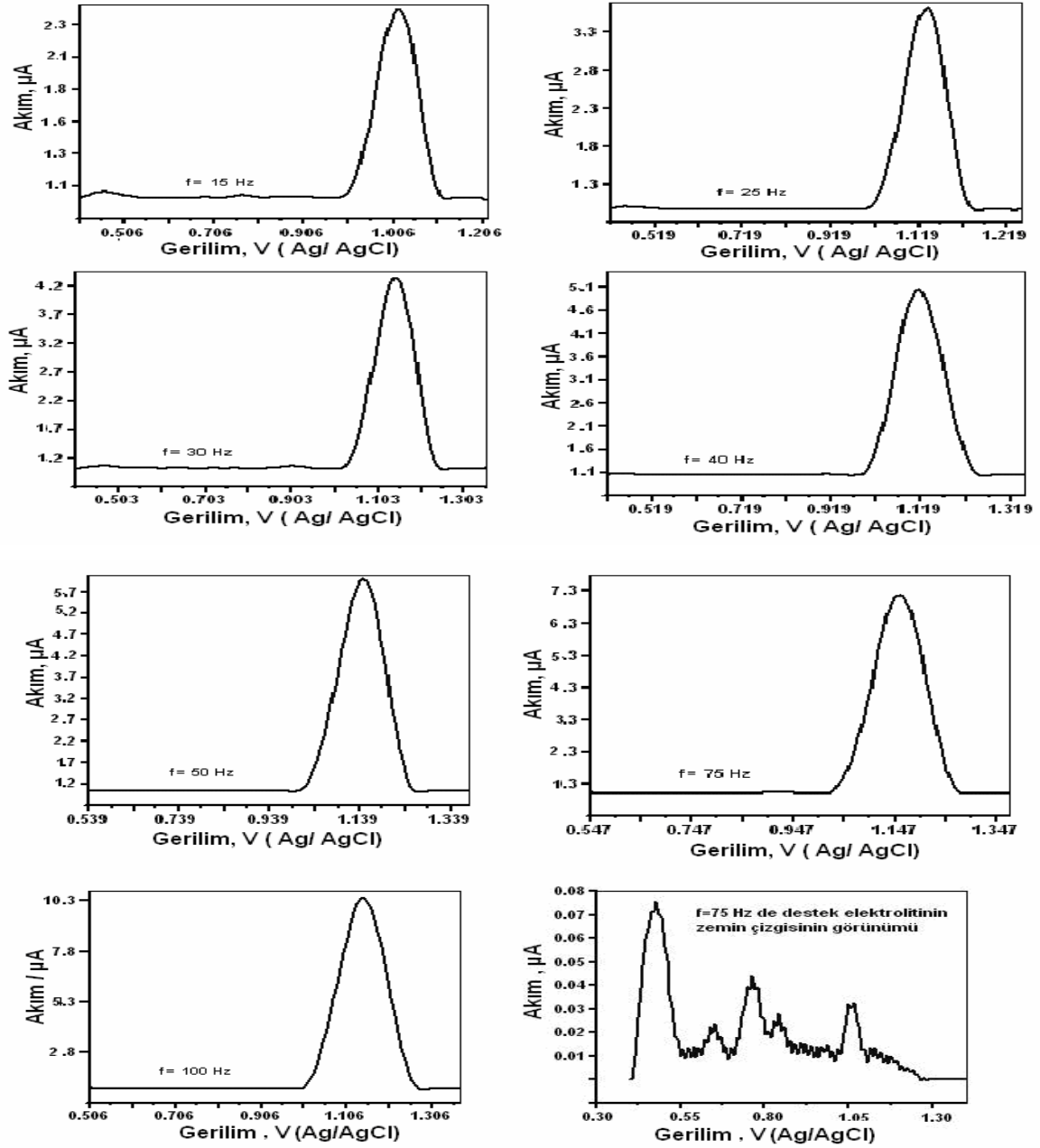
Şekil 6.25. 4×10^{-5} M DMBA'nın asetat tamponu (pH 4.8)/0.02 M NaCl içerisinde farklı gerilim adımındaki kare dalga voltamogramları ve dağılım grafiği. Frekans, 25 Hz; amplitüd, 20 mV.

10–30 mV aralığında puls amplitüd değeri arttıkça pik akımında bir artış gözlenmiştir. $E_{SW} > 15$ mV'dan sonra amplitüd değerinde ani bir düşme olmuştur. Daha sonraki gerilim adımında artış olsa da 25 mV değerindeki zirveye ulaşamamıştır (Şekil 6.26). Bu nedenle en uygun $E_{SW} = 25$ mV olarak belirlenmiştir.



Şekil 6.26. 4×10^{-5} M DMBA'nın asetat tamponu (pH 4.8)/0.02 M NaCl içerisinde farklı puls amplitüdündeki kare dalga voltamogramları ve dağılım grafiği. Frekans, 25 Hz; gerilim adımı, 16 mV.

Frekans değerinin artırılması sonucunda pik akımlarında önemli bir artış gözlenmemiştir. Ayrıca 50 Hertz'den daha büyük frekans değerlerinde zemin çizgisi ve pik şekilleri bozulmuştur (Şekil 6.27). Bu nedenle çalışmanın bundan sonraki kısımlarında en uygun $f = 50$ Hz kullanılmasına karar verilmiştir.



Şekil 6.27. 4×10^{-5} M DMBA'nın asetat tamponu (pH 4.8)/0.02 M NaCl içerisinde farklı frekanslardaki kare-dalga voltamogramları. Amplitüd, 25 mV; gerilim adımı, 16 mV.

6.4. DMBA Tayininde Elektroanalitik Uygulama

DMBA'nın elektrokimyasal davranışının araştırılması sonucunda miktar tayinine yönelik en iyi voltametrik ve analitik koşullar Çizelge 6.8'de gösterilmiştir.

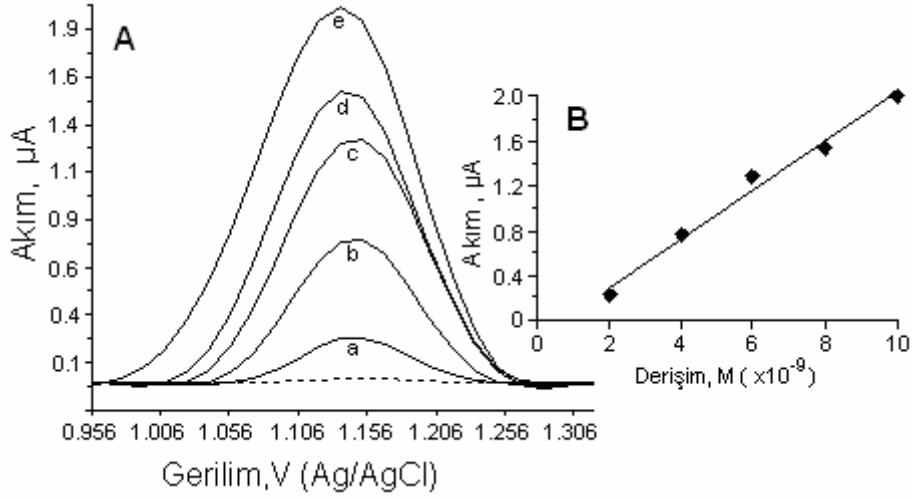
Çizelge 6.8. DMBA analizi için voltametrik yöntem ile elde edilen en iyi deneysel koşullar

Değişken	Bulgu
Voltametrik teknik	Kare-dalga adsorptif sıyırma voltametrisi
Tampon sistemi ve pH	Asetat tamponu, pH 4.80
Biriktirme gerilimi	0.6 V
Biriktirme süresi	360 s
Kare dalga değişkenleri	
a) Gerilim adımı	16 mV
b) Puls amplitüd	25 mV
c) Frekans	50 Hz

Saptanan deneysel parametreler kullanılarak voltametrik yöntemin aletsel performansını saptamak amacıyla yöntemin çalışma aralığı, duyarlılık, tekrarlanabilirlik koşulları araştırılmıştır.

6.4.1. Voltametrik yöntemin analitik performans özellikleri

En iyi deney koşullarında DMBA derişiminin pik akımı üzerine etkisini incelemek üzere yürütülen çalışmada, farklı derişimlerdeki DMBA çözeltilerinin üç tekrar deney yapılarak kare dalga voltamogramları kaydedilmiştir. Asetat tamponu (pH 4.8)/0.02 M NaCl çözeltisi içerisinde kaydedilen voltamogramlar ve karşılık gelen kalibrasyon eğrisi grafiği Şekil 6.28'de verilmiştir.



Şekil 6.28. (a) 2×10^{-9} M, (b) 4×10^{-9} M, (c) 6×10^{-9} M, (d) 8×10^{-9} M, (e) 1×10^{-8} M DMBA'nın asetat tamponu (pH 4.8)/0.02 M NaCl içerisinde kare dalga adsorptif sıyırma voltamogramları (A) ve pik akımı-derişim kalibrasyon eğrisi (B). Elektrot, PGE, biriktirme süresi 360 s; biriktirme gerilimi, +0.6 V; SWV değişkenleri; amplitüd: 25 mV, gerilim adımı: 16 mV, frekans 50 Hz.

DMBA derişimi (2×10^{-9} M- 1×10^{-8} M aralığında) artıkça pik akımlarının düzenli bir şekilde arttığı gözlenmiştir. Pik akımlarının üç ardışık ölçüm sonucu bulunan ortalama değerleri sırasıyla 0.221μ A, 0.767μ A, 1.302μ A, 1.545μ A ve 2.000μ A düzeyindedir. Derişime karşılık akım değerleri kalibrasyon grafiğine yerleştirildikten sonra aşağıdaki eşitliğe ulaşılmıştır.

$$i_p (\mu\text{A}) = 2 \times 10^8 D (M) - 0.1338$$

Kalibrasyon eğrisinin doğrusallık korelasyon katsayısı (r) 0.992 olarak hesaplanmıştır.

Yöntemin analitik duyarlılığının saptanması amacıyla gözlenebilirlik sınırı (LOD), $S/N=3$ (sinyal/gürültü=3) oranına göre hesaplanmış ve 1.94×10^{-10} M olarak bulunmuştur.

DMBA için geliştirilen voltametrik yöntemin tekrarlanabilirlik düzeyini saptamak için 6×10^{-9} M derişimindeki çözeltiler en iyi deney koşullarında hazırlanmış ve bu çözeltilerin aynı gün içerisinde on kez sıyırma voltamogramları kaydedilmiştir. Bu voltamogramlar üzerinde pik akımı değerleri okunmuş ve bulunan değerler gün-içi kesinlik olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgulara göre bağıl standart sapma (BSS,%) değeri % 5.1 olarak saptanmıştır.

6.4.2. Voltametrik yöntemin idrar örneklerine uygulaması

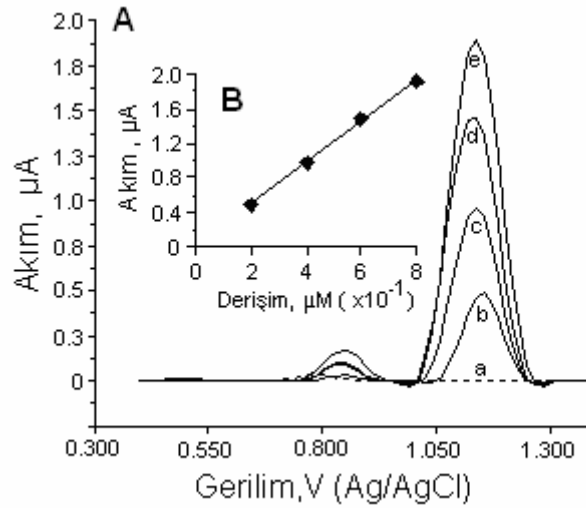
Kalibrasyon eğrisinin çok düşük derişimlerde miktar tayinine olanak tanınması, duyarlılığın (gözlenebilirlik sınırı açısından) çok iyi olması ve katı elektrotlarla yapılan elektrokimyasal yöntemler için iyi denilebilecek bir tekrar edilebilirliğin elde edilmesi bulgularından hareketle DMBA'nın elektrokimyasal tayinine yönelik geliştirilen yöntemin oldukça karmaşık matris olan idrar örneklerinde denenmesine karar verilmiştir.

Doğrusallık aralığını kontrol amacıyla idrar örneklerinde Bölüm 5.2.3'de anlatılan yol izlenerek yeni bir kalibrasyon işlemi yapılmıştır. DMBA'nın farklı derişimlerini içeren idrar örneklerinin asetat tamponu (pH 4.8)/0.02 M NaCl çözeltisi içerisinde kaydedilen voltamogramları ve karşılık gelen kalibrasyon eğrisi grafiği Şekil 6.29'da verilmiştir.

İdrar içerisindeki DMBA derişimi (2×10^{-7} M- 8×10^{-7} M aralığında) artıkça pik akımlarının düzenli bir şekilde arttığı gözlenmiştir. Pik akımlarının üç ardışık ölçüm sonucu bulunan ortalama değerleri sırasıyla 0.499 μ A, 0.974 μ A, 1.485 μ A ve 1.923 μ A düzeyindedir. Derişime karşılık akım değerleri kalibrasyon grafiğine yerleştirildikten sonra aşağıdaki eşitliğe ulaşılmıştır.

$$i_p (\mu\text{A}) = 2.3915 D (\mu\text{M}) + 0.0245$$

Kalibrasyon eğrisinin doğrusallık korelasyon katsayısı (r) 0.999 olarak hesaplanmıştır. Gözlenebilirlik sınırı ise 4×10^{-8} M olarak bulunmuştur.



Şekil 6.29. (A) İdrar örneğine katılmış DMBA'nın tayini için elde edilen sıyırma voltamogramları. (a) kör idrar örneği, (b) 2×10^{-7} M, DMBA, (c) 4×10^{-7} M DMBA, (d) 6×10^{-7} M, DMBA, (e) 8×10^{-7} M DMBA. (B) Pik akımı-derişim kalibrasyon eğrisi. Kesik çizgi, kör idrar örneği; diğer deneysel koşullar Şekil 6.30'daki gibidir.

Yukarıda verilen derişim aralığında DMBA içeren idrar örneklerinin her biri için üç voltamogram kaydedilerek pik akımı değerleri ölçülmüştür. Geri kazanım sonuçları Çizelge 6.9'da verilmiştir. Çizelgeden de görüldüğü gibi ortalama geri kazanım %99.87 ve bağıl standart sapma %1.28 olarak saptanmıştır.

Deneyler sırasında DMBA çözeltilerinde hiçbir bozunma gözlenmemiştir.

Çizelge 6.9. İdrar örneklerine eklenen DMBA'nın geri kazanımına ait bulgular.

Eklenen (M)	Bulunan (M)	Geri kazanım(%)
2×10^{-7}	1.98×10^{-7}	99.2
4×10^{-7}	3.97×10^{-7}	99.25
6×10^{-7}	6.11×10^{-7}	101.78
8×10^{-7}	7.94×10^{-7}	99.24
Ortalama $\pm$ BSS		99.87 $\pm$ 1.28

7. TARTIŞMA ve SONUÇ

Doğal olaylar ya da insan aktiviteleri sırasında organik maddelerin pirolizi ya da tam yanmaması ile oluşarak çevreye bulaşan PAH'lar, karsinogenik ve mutajenik etkili çevresel kirleticilerin önemli sınıfını oluşturan kimyasal bileşiklerdir. Endüstriyel etkinliklerin artması, yoğun kent yaşamı ve araçlardan yayılan kirlilik sonucunda PAH'ların yalnızca atmosfere değil sucul ortamlara, toprağa, gıda ürünlerine ve nihayet canlı dokularına kadar pek çok alana yayılması sonucu canlılar ciddi sorunlarla karşı karşıya kalmaktadır. Her ne kadar çevre sorunu ivedi çözüm bekleyen öncelikli sorunlardan biri olsa da daha öncesinde çevre sorunsalının ortaya çıkardığı kanser başta olmak üzere ciddi sağlık sorunları çok hızlı çözüm bekleyen sorunların başında gelmektedir. Dünya sağlık örgütü ve çevre koruma örgütleri maruz kalınan karsinogen maddelerin listelerini her yıl yeniden düzenlemekte, maruziyet durumunda yapılması gerekenleri gerek internet siteleri yoluyla, gerek uluslararası seminerlerle ilgililere duyurmaktadır. PAH ailesi oldukça fazla sayıda bileşikten oluşmasına karşın çevre koruma örgütü (EPA) bunlardan 16 tanesinin çevre ve insan açısından ciddi sorunlar oluşturduğunu bildirmektedir. Bu nedenle bu bileşiklerin değişik matrislerden izlenmesinin önemi giderek artmaktadır.

Çalışmamıza konu olarak seçilen ve bu 16 bileşik içerisinde yer alan BaP ve DMBA, deney hayvanlarında tümör oluşturdıkları bilinen, en tehlikeli ve olası insan karsinogeni bileşiklerdir. BaP, sübstitüe olmamış PAH bileşiklerinden biri olmasına karşın DMBA ise PAH'ların metil-sübstitüe üyesidir. DMBA gibi *meso*-metil PAH bileşiklerinin canlı organizmadaki biyoaktivasyonlarının diğer PAH'lardan şaşırtıcı ölçüde çok farklı olduğu bilinmektedir (Cremonesi ve ark., 1992). Her iki bileşiğin de elektrokimyasal yükseltgenmesi ile metabolik yolları arasında paralellik bulunmakla birlikte deneysel zorluklar, fizyolojik etkilerinin ve yükseltgenme mekanizmalarının çok karmaşık olması nedeniyle açıklığa kavuşmayı bekleyen pek çok nokta bulunmaktadır. BaP, kentsel çevredeki derişiminin yüksek olması ve toplam PAH maruziyetinde sıklıkla marker olarak kullanılması nedeniyle PAH bileşikleri içerisinde üzerinde en fazla çalışılmıştır. BaP'ın diğer PAH bileşikleriyle birlikte değişik ortamlardan (atmosfer, gıda, su kaynakları, toprak, sediment, tütün zifiri-dumanı, insan hücre ve

doku örnekleri, vb) analizinde sıklıkla kullanılan yöntemler; alev iyonizasyon (Zeng ve Hong, 2002; Pineiro-Iglesias ve ark., 2004; Kurnaz ve Büyükgüngör, 2007; Duke ve Albert, 2007) ya da kütle dedektörlü (Viras ve ark., 1987; Bogusz ve ark., 2004; Fang ve ark., 2004; Gaga, 2004; Pineiro-Iglesias ve ark., 2004; Culea ve ark., 2005; Barco-Bonilla ve ark., 2009; Orrechio ve ark., 2009; Campo ve ark., 2009) gaz kromatografisi, ultraviyole (Gümrükçüoğlu, 1985; Aygün ve ark., 1996; Pineiro-Iglesias ve ark., 2004) ya da floresans (Kayali ve ark., 1995; Garcia Falcon ve ark., 1999; Bogusz ve ark., 2004; Pineiro-Iglesias ve ark., 2004; Aygün ve Kabadayı, 2005; Akyüz ve Çabuk, 2008; Suchanova ve ark., 2008; Danyi ve ark., 2009) dedektörlü yüksek performanslı sıvı kromatografisidir. Fotodiyot dizimi (Danyi ve ark., 2009), kütle spektrometrik (Zeng ve Hong, 2002; Jiang ve ark., 2007; Rentz ve ark., 2008), kemilüminesans (Song ve ark., 2006) ya da amperometrik (Nirmaier ve ark., 1998; Van Leeuwen ve ark., 2004) dedektörlü yüksek performanslı sıvı kromatografisi, ultraviyole (Nemergut ve ark., 2000) ya da florimetrik (Morlock ve Kopacz, 2008) dedektörlü ince tabaka kromatografisi gibi kromatografik teknikler de BaP analizlerinde kullanılmaktadır. Ancak PAH'ların çevresel ve biyolojik örneklerden tüketilme ve biriktirilme işlemlerinin çok karmaşık ve can sıkıcı olması kromatografik tekniklerin uygulamasındaki en önemli sorundur. UV spektroskopisi (Hackett ve ark., 1995; Vu-Duc ve ark., 2002) de kullanılırsa sahip olmakla birlikte ilişkili bileşiklerle benzer spektra sergilediği için seçiciliği düşüktür. Floresans spektroskopisi (Garcia-Gomez ve ark., 2004; Nahorniak ve Booksh, 2006; Ariese ve ark., 2008) ile elde edilen analiz sonuçları, UV spektroskopisinden en az 100 kez daha duyarlı olup BaP tayininde yaygın olarak kullanılmaktadır. Kullanılan diğer yöntemler; IR (Chiang ve ark., 2001; Garcia-Gomez ve ark., 2004), fosforesans (Li ve ark., 1999) ve NMR (Lal ve Vernwal, 2007) spektroskopisidir. BaP'ın çevre analizlerinde kullanılmak üzere geliştirilen immunosensörler (Fahnrich ve ark., 2003) ve DNA biyosensörleri (Del Carlo ve ark., 2008) son yılların umut vaat eden yaklaşımlarını oluşturmaktadır.

DMBA sentetik olarak laboratuvar deneylerinde üzerinde en çok çalışılan ve kanser araştırmalarında model karsinojen olarak kullanılan PAH bileşiğidir. Bu nedenle diğer PAH bileşiklerinden farklı olarak daha çok biyolojik aktivite ve biyotransformasyon açısından incelenmektedir. Bu nedenle DMBA ile ilgili analitik yöntemlerin hemen tamamı DMBA-DNA addüktlerini karakterize ve tayin etmek

dolayısıyla canlı organizmalardaki PAH'ların metabolik aktivasyon mekanizmalarını anlamak için kullanılmaktadır. Bugüne kadar gaz ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi (Ha ve ark., 1987; RamaKrishna ve ark., 1992a; Todorovic ve ark., 1997; Cai ve ark., 1997; Miyata ve ark., 2001; Kleiner ve ark., 2002; Moody ve ark., 2003; Gao ve ark., 2007; Kim ve ark., 2008), floresans, NMR ve kütle spektroskopik çalışmalar (Moschel ve ark., 1983; Ramakrishna ve ark., 1992a; Mulder ve ark., 1996; Todorovic ve ark., 1997), ³²P-işaretli yöntemler (Randerath ve ark., 1998; Vadhanam ve ark., 2003; Malejka-Giganti ve ark., 2005; Yu ve ark., 2005), immunoassay ve immunohistokimyasal teknikler (Teodori ve ark., 2000; Sivaraman ve ark., 2002; Chen ve ark., 2002; Chen ve ark., 2003) bu amaçla kullanılmıştır. Bu araştırmalar da pahalı tekniklere gereksinim duydukları ve deneysel zorluklar gösterdiği için pek çok araştırma laboratuvarı için uygun değildir.

PAH bileşiklerinin analizinde elektrokimyasal yöntemlerin (voltametri/polarografi) kullanılması, bileşiklerin elektroaktif özellikleri iyi bilinen nitro- ve amino- türevlerinin incelenmesi ile sınırlıdır (Barek ve ark., 2001a,b).

BaP'in voltametrik davranışlarını açıklamaya yönelik çok az sayıda araştırma bulunmaktadır. Bu konudaki makalelerin hepsi oldukça eski tarihlidir. Bileşiğin elektrokimyasal yükseltgenmesiyle ilgili ilk ve bugüne dek yapılmış en ayrıntılı çalışma Jetic ve Adams (1970) tarafından yayınlanmıştır. Araştırmacılar, derişik organik çözücüler içerisinde platin elektrot üzerinde BaP'in dönüşümlü voltametrisini incelemişlerdir. Coetzee ve ark. (1976)'nın çalışmasında BaP'in da içlerinde bulunduğu 11 PAH bileşiğinin anodik voltametrik özellikleri sülfolan ve asetonitril içerisinde GCE kullanarak DPV yöntemiyle kıyaslanmıştır. Bir başka araştırmada BaP ve ilişkili PAH bileşiklerinin asetonitril ve DMF çözücülerini kullanılarak platin elektrot ve GCE üzerinde yükseltgenme gerilimleri tayin edilmiştir. Bu çalışmada anodik pik gerilimleri ile iyonlaşma gerilimleri arasındaki ilişkinin ve düşük iyonlaşma geriliminin karsinogenik aktivite için önemli bir ölçüt olduğu ileri sürülmüştür (Cremonesi ve ark., 1992). Ancak çok yeni olarak Lehner ve ark. (2004), gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi ile yaptıkları bir çalışmada bu hipoteze zıt gözlemler sunmuşlardır. İddialarına göre oldukça düşük iyonlaşma gerilimine sahip olan BaP ve bazı PAH bileşiklerinin karsinogenik karakterleri radikal katyon mekanizmasından bağımsızdır.

Buna karşılık araştırmacılar, düşük iyonlaşma gerilimli olup da karsinogenik etkisiz pek çok bileşiğin varlığını ileri sürmüşlerdir.

DMBA'nın redoks özellikleri ile ilgili araştırmalar da çok az sayıdadır. Podany ve ark (1978) tarafından yapılan çok eski tarihli bir çalışmada, içinde DMBA'nın da bulunduğu PAH bileşiklerinin asetonitril içerisinde döner platin elektrotla yarı-dalga gerilimleri hesaplanmış ve karsinogenik aktivite ile ilişkilendirilmiştir. Cremonesi ve ark. (1992) tarafından iyonlaşma gerilimi-pik gerilimi ilişkisi çalışmasında DMBA da incelenmiştir.

Bilgimize göre BaP'ın sulu çözeltilerde ve gerçek örneklerde elektrokimyasal davranışını ve miktar tayinini inceleyen hiçbir çalışma kaynaklarda kayıtlı değildir. Bu tez kapsamında bu bileşik için önerilen voltametrik yöntem bu açıdan bir ilk olduğu gibi ayrıca susuz çözeltilerde gerçekleştirilen çalışmalar da daha önce yapılan araştırmalara ek olarak biyolojik davranışlarını açıklamaya yardımcı olacak yeni bulgular sunmuştur.

DMBA için önerdiğimiz bu araştırma ise, bileşiğin ayrıntılı anodik yükseltgenmesinin çalışılması ve voltametrik tayini açısından ilk teşebbüs olarak değerlendirilebilir.

Tüm bu bilgilerden yola çıkarak bu tez kapsamında yürütülen çalışmada üç aşamalı yol izlenmiştir. İlk olarak bileşiklerin susuz çözeltilerde daha sonra sulu çözeltilerde redoks özellikleri ayrıntılı olarak incelenmiş ve geliştirilen voltametrik tekniğin idrardan analize uygunluğu araştırılmıştır.

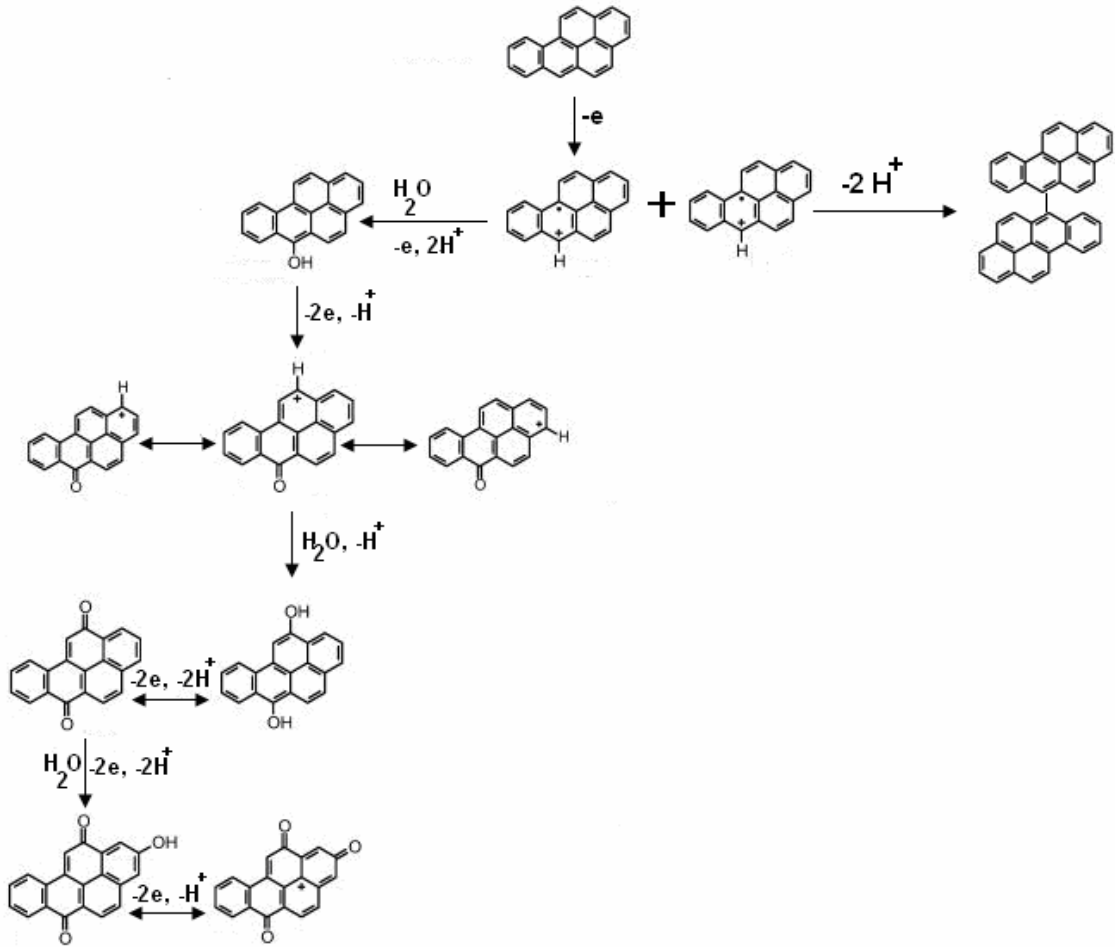
Tez çalışmasının ilk bölümünde her iki bileşiğin susuz çözeltilerde GCE ve PGE üzerinde dönüşümlü voltamogramları kaydedilmiştir.

Jeftic ve Adams (1970) tarafından asetonitril, propilen karbonat, nitrobenzen ve DMF çözücülerinde ve platin elektrot kullanılarak yapılan araştırmada BaP'ın voltametrik davranışlarının organik çözücüye duyarlı olmadığı gösterilmiştir. Buna karşın DMBA'nın redoks özelliklerini ayrıntılı inceleyen bir araştırma bulunmamaktadır. Metal elektrot yerine karbon temelli bir elektrot kullanılarak (GCE), BaP'ın DMF içerisinde oluşan elektrokimyasal işlemi araştırıldığında dönüşümlü voltamogramların platin elektrot üzerinde elde edilenlere benzer morfoloji gösterdiği saptanmıştır. Dolayısıyla bizim sonuçlarımız BaP'ın DMF kullanıldığı zaman GCE üzerindeki yükseltgenmesinin platin elektrot için Jeftic ve Adams (1970) tarafından önerilen mekanizma ile benzer olduğunu göstermektedir. Başlangıç yükseltgenme

basamağı (Ia), BaP radikal katyonunun oluşumuna karşılık gelen 1-elektron yükseltgenmesidir. Katodik taramada bu basamağın karşılığı hiçbir indirgenme pikinin gözlenmemesinin (1000 mV s^{-1} gibi yüksek hızda bile) nedeni; yükseltgenme işleminin tersinmez olmasından ya da katyon radikallerinin çok reaktif olması ve hızla daha dayanıklı türlere dönüşmesindendir ("follow-up" kimyasal tepkime). Daha negatif gerilimlerde beliren redoks çiftleri, 1-elektron yükseltgenmesini bir seri kimyasal ve elektrokimyasal adımın izlediğini göstermektedir. Pik Ia'nın ardışık döngülerde azalmasına karşın redoks çiftlerinin tarama sayısı ile hafifçe büyümesi, bu basamakların BaP yükseltgenmesinin final ürünleri olduğunu göstermektedir.

Başlangıç yükseltgenmesinin ardından olası iki farklı tepkime yolağı gelişebilir (Şekil 7.1).

BaP katyon radikalının beklenen tepkimelerinden biri, 6,6'-bibenzo[a]pirenil (BaP-dimeri) bileşiğini vermek üzere dimerleşmesidir. Oluşan dimer daha sonra ek yükseltgenmeye uğrayabilir. BaP-dimeri yükseltgenmesine ait gerilim aralığı ana bileşikle (BaP) yaklaşık aynıdır. Ancak DMF içerisinde BaP-dimeri'nin yükseltgenmesine ilişkin bir bulguya rastlanmamıştır. Çalışılan koşullarda GCE'nin geniş yüzeyinde dimerlerin adsorpsiyonu ya da daha yüksek oligomerlerin oluşumu da söz konusudur (van Leeuwen ve ark., 2004).



Şekil. 7.1. BaP'ın olası yükseltgenme mekanizması

BaP katyon radikalinin önemli kısmı ikinci bir tepkime yolağı ile dönüşüme uğrar. Ardışık gelişen tepkimelerin ilki, en reaktif C-6 konumundaki nükleofilik su saldırısıdır (çözücü sistemlerinin hepsinde belirli derişimde su bulunur). Su ile nükleofilik etkileşim 6-hidroksibenzo[*a*]piren'i (6-OH-BaP) üretir. Bu yapının yükseltgenmesi ana bileşik olan BaP'tan daha kolay olup iki-basamak yükseltgenmesine uğrayarak ilkin 6-oksobenzo[*a*]piren radikalini devamında 6-oksobenzo[*a*]piren katyonunu oluşturur. Daha sonra suyun yeniden nükleofilik saldırısı sonucu dihidroksibenzo[*a*]piren ve yeniden yükseltgenme tepkimesi ile benzo[*a*]piren-kinonlar (BaP-kinonlar) üretilir. Hidroksi ve kinonlar arasındaki tersinir ilişkinin en önemli kanıtı, temel yükseltgenme basamağından daha az pozitif gerilimlerde ortaya çıkan redoks çiftinin varlığıdır. Üç farklı kinon yapısının (1,6-, 3,6- ve 6,12-BaP-kinon) varlığı olasıdır.

Pik IIa'nın aralığında oluşan ve başlangıç yükseltgenmesini takip eden basamağın ne olduğu tam olarak bilinmemekle birlikte BaP radikal katyonu ile çözücü arasındaki etkileşim ürününün yükseltgenmesi ya da BaP dikatyonunun oluşumuna karşılık geldiği söylenebilir (Jeftic ve Adams, 1970).

PAH bileşiklerinin anodik voltametrisi farklı araştırmalarda DMF dışında asetonitril, metilen klorür, propilen karbonat, nitrobenzen ve sülfolan içerisinde de çalışılmıştır. Bu çalışmada ise aromatik hidrokarbonların elektrokimyasal yükseltgenmesi için çözücü olarak ilk kez DMSO kullanılmıştır. Jeftic ve Adams (1970)'ın diğer çözücüler için gözlemlerinin aksine bu çözücü içerisinde dönüşümlü voltamogramların değiştiği dolayısıyla DMSO'nun BaP'ın yükseltgenme olayında yer aldığı saptanmıştır. Bu çözücü ortamında pik IIa ve sorumlu olduğu redoks çifti VI kaybolmuş, başlangıç yükseltgenme basamağının pik şekli düzelmiş ve şiddeti DMF içerisinde elde edilenden yaklaşık iki kat artmıştır. DMSO içerisindeki çalışmalar PGE üzerinde tekrarlandığında dönüşümlü voltamogramların GCE ile elde edilenlere çok benzer olduğu gözlenmiştir.

Bu bulguların yanı sıra PAH araştırmalarında önemli olabilecek yeni bir gözlem ise seyreltik çözeltilerde ya da düşük gerilim tarama hızlarında pik Ia aralığında (~ 1.23 V'da) belirginliği çok iyi olmayan yeni bir yükseltgenme basamağının oluşumudur. Jeftic ve Adams (1970), denedikleri çözücüler arasında yalnızca nitrobenzen içerisinde $+1.2$ V değerinde BaP-dimeri'nin yükseltgenmesine karşılık gelen benzer bir basamak gözlemişler ve olayı dimerin bu ortamda çözünürlüğünün daha iyi olmasıyla açıklamışlardır. Bu yeni bulguya ait bir başka olasılık ise DMSO içerisinde yüksek hızlarda ve derişik çözeltilerde kaybolan pik IIa'nın koşullar değiştiği zaman pik Ia'ya yaklaşarak yeniden ortaya çıkmasıdır.

BaP'a ait gerilim tarama hızı çalışması, pik Ia üzerinden GCE kullanılarak DMF ve DMSO içerisinde sırasıyla 10-1000 ve 5-1000 mV s^{-1} aralığındaki gerilim tarama hızları ile gerçekleştirilmiştir. Eğriler değerlendirildiğinde gerilim tarama hızının karekökü ile pik akımı arasında doğrusal bir ilişki saptanmıştır. Ayrıca gerilim tarama hızının logaritması ile pik akımının logaritması arasındaki doğru denklemlerinin eğiminin her iki çözücü içerisinde de 0.5 ve daha küçük olması yükseltgenme olayının bu ortamlarda difüzyon karakterli olduğunu kanıtlamaktadır. Eğim değerlerinin sırasıyla

0.5 ve 1 olması ortamda bulunan çözelti ve yüzey türlerinin ideal tepkimelerine bağlanır (Laviron ve ark., 1980).

GCE üzerinde aynı çözücüler içerisinde ve aynı koşullarda DMBA'nın redoks özellikleri dönüşümlü voltametri ile incelendiğinde her iki çözücü ortamında DMBA molekülünün elektrokimyasal davranışlarında belirgin bir farkın olmadığı görülmüştür. DMBA katyon radikalının oluştuğu başlangıç 1-elektron yükseltgenmesi (pik Ia) (bkz. Şekil 3.10) ve devamında çözücü ortamlarının her ikisinde de (BaP'tan farklı olarak) pik IIa basamağı gözlenmiştir. Ancak BaP'a ilişkin redoks çiftleri yok denecek kadar belirginliklerini kaybetmişlerdir. DMSO içerisindeki çalışmalar PGE üzerinde tekrarlandığında dönüşümlü voltamogramların GCE ile elde edilenlere çok benzer olduğu gözlenmiştir.

DMBA'ya ait gerilim tarama hızı çalışması ise, pik Ia üzerinden GCE kullanılarak DMF ve DMSO içerisinde sırasıyla 25-1000 ve 5-750 mV s⁻¹ aralığındaki gerilim tarama hızları ile gerçekleştirilmiştir. Eğriler değerlendirildiğinde gerilim tarama hızının karekökü ile pik akımı arasında doğrusal bir ilişki saptanmıştır. Ayrıca gerilim tarama hızının logaritması ile pik akımının logaritması arasındaki doğru denklemlerinin eğimi DMF içerisinde 0.54 ve DMSO içerisinde 0.51 olarak bulunmuştur. Eğim değerleri redoks işleminin genel olarak difüzyonla kontrol edildiğini fakat zayıf adsorpsiyon etkisinin de olduğunu göstermektedir.

Analitik yöntem geliştirmeye yönelik voltametrik incelemeler için sulu çözeltilerde çalışılması planlanmasının bir nedeni organik çözücü kullanımını en aza indirmek, diğer nedeni ise PAH kirliliği taşıyan sulu çevrede önerilecek olan voltametrik yöntemin uygulamasını sağlamaktır.

Bileşiklerin sudaki çözünürlüklerinin düşük olması nedeniyle sulu ortamda gerçekleştirilen sıyırma voltametrisi deneylerinde seyreltik çözeltileri ($\leq 4 \times 10^{-5}$ M) kullanılmıştır.

PAH çözeltilerinin hava ve ışık etkisiyle foto yükseltgenmeye uğradıkları bilinmektedir (Yu, 2002). Bu nedenle sulu ortam çalışmalarında genellikle taze hazırlanmış çözeltiler kullanılmış, çözeltiler kullanılmadığı zaman ağzı kapalı ve koyu renkli şişelerde saklanmıştır. Ancak dayanıklılıklarının kontrolü için karanlıkta ve buzdolabında bir hafta süreyle bekletilmiş çözeltilerin voltamogramları kaydedilmiştir. Voltamogramların morfolojisi taze hazırlanmış çözelti voltamogramları bulgularına çok

benzer bulunmuştur. Bu saptama, bir-haftalık dönem içerisinde BaP ve DMBA çözeltilerinin dayanıklı olduğunu göstermektedir. PAH içeren çözeltilerdeki önemli sorunlardan biri de polietilen kapların yüzeyine absorbe olmaları nedeniyle analizlerde duyarlık kaybıdır (Campo ve ark., 2009). Bu nedenle araştırmada kullanılan tüm çözeltiler cam kaplarda saklanmıştır. Günlük laboratuvar çalışmalarında kalibrasyon örneklerinde önemli farklılık gözlenmemiştir.

PGE yüzeyinde BaP ve DMBA'nın adsorpsiyonunu araştırmak için değişik deneyler gerçekleştirilmiştir. Başlangıç çalışması olarak "ortam değişimi" (medium exchange) bulguları değerlendirilmiştir. Destek elektroliti içerisinde yer alan belli derişimdeki BaP ya da DMBA çözeltisi karıştırılmadan çalışma elektrodu üzerinde açık devre geriliminde sabit bir süre elektrokimyasal biriktirmeye bırakılmıştır. Daha sonra elektrot içerisinde destek elektroliti bulunan ölçüm hücresine alınmış ve voltamogram kaydedilmiştir. Aynı deney koşulları karıştırılan çözeltiye uygulandığında daha yüksek pik akımları elde edilmiştir. Bu gözlem her iki bileşiginde PGE yüzeyinden adsorptif olarak biriktirildiğinin bir göstergesidir.

BaP'ın PGE yüzeyindeki adsorptif karakteristikleri gerilim tarama hızı 100-1000 mV s⁻¹ aralığında değiştirilerek de araştırılmıştır. Eğriler değerlendirildiğinde gerilim tarama hızı ile sıyırma pik şiddeti arasında doğrusal bir ilişki saptanmıştır. Ayrıca gerilim tarama hızının logaritması ile pik akımının logaritması arasındaki doğru denklemlerinin eğiminin 0.8 dolayında bulunması yükseltgenme olayının adsorptif karakterli olduğunu kanıtlamaktadır.

Sulu çözeltilerde çalışılırken elektrot olarak PGE kullanılması tercih edilmiştir. PGE, göreceli olarak karbon elektrotların yeni tipidir. Yüksek elektrokimyasal reaktifliği, mekanik dayanıklılığı, ucuzluğu, tasarımının basit oluşu ve modifikasyonunun kolaylığı gibi özellikleri nedeniyle bu elektrodun özellikle toksik bileşiklerin yerinde duyarlı ve basit izlenmesinde kullanımı önemlidir. Gerek ekonomik gerek çevre duyarlılığı açısından sorunun olduğu yerde gerçekleştirilen analizlerdeki rolüyle laboratuvarlarda genel kullanıma sahip olan GCE gibi elektrotlara üstünlük göstermektedir. Tek kullanımlık olması nedeniyle PGE, çevre analizlerinde laboratuvar basamağını ortadan kaldırarak zaman ve analit kaybını önlerken analitin kirlenme riskini de büyük ölçüde gidermektedir (Bond ve ark., 1997).

Sulu çözeltilerde BaP ve DMBA'nın düşük derişimlerinden dolayı DMSO içerisinde dönüşümlü voltamogramların kaydından sonra gözlenen yükseltgenme basamaklarının belirginliği azalmış ve pik görüntüsünden sigmoidal şekle dönüşmüştür. Dönüşümlü voltametri analitlerin elektrokimyasal karakteristiklerini incelemek için çok çarpıcı bir yöntem olmakla birlikte bileşiklerin düşük derişimlerinde duyarlı değildir. Daha keskin ve iyi ayrılmış pikler ve analiz hızı nedeniyle PGE üzerinde analitik performansı kontrol edebilmek için her iki bileşik için de kare-dalga voltametrisi tekniği seçilmiştir.

BaP'in pik morfolojisi, çözelti ortamının yapısı ve özellikle pH'si (2-9 aralığında) ile çok yakından ilişkilidir. Pik yarılmalarının, DMSO içerisinde düşük derişimlerde gözlenen ikinci yükseltgenme basamağından kaynaklandığı düşünülmektedir. DMBA için ise pH 9 değeri dışında üzerinde çalışılan tüm pH'lerde iki yükseltgenme basamağı gözlenmiştir. Bu basamakların da pik Ia ve pik IIa'ya karşılık geldiği olasıdır.

Bileşikler için en iyi deney koşullarının belirlenebilmesi amacıyla elektrokimyasal biriktirme değişkenleri (biriktirme süresi ve gerilimi) ile kare-dalga değişkenleri (frekans, gerilim adımı ve amplitüd) ayrıntılı olarak araştırılmıştır.

Saptanan koşullarda yapılan voltametrik analiz çalışması PGE'nin BaP ve DMBA'nın analizine uygun elektrot olduğunu göstermiştir.

Derişim-pik akımına ait kalibrasyon eğrilerinin korelasyon katsayılarının değerleri çalışma aralıklarının doğrusallıklarını göstermiştir. Yöntemin gözlenebilirlik sınırı BaP için 2.69×10^{-8} M ($6.82 \mu\text{g L}^{-1}$), DMBA içinse 1.94×10^{-10} M (49.7 ng L^{-1}) olarak bulunmuştur.

Özellikle DMBA bulguları, çevresel karsinojenlerin analizinde genel kullanıma sahip olan kromatografik tekniklerin sonuçlarıyla kıyaslanabilir düzeydedir (Barek ve ark., 2001 a). Böylece PGE üzerinde geliştirilen kare-dalga adsorptif sıyırma voltametrik teknik, DMBA'nın laboratuvar atık sularındaki miktarının belirlenmesi kadar PAH'larla kirlenmiş sucul çevre örneklerinden bu bileşiklerin tayinlerinde model oluşturmak üzere kullanılabilecektir (Srogi, 2007).

Voltametrik yöntemin seçiciliği, BaP ve DMBA ile yapısal benzerliği olan bileşiklerin varlığında girişim etkileri nedeniyle sınırlı olabilir. Ancak bu çalışmada kullanılan ortam değişimi tekniği sayesinde, elektrot yüzeyinde adsorbe olmayan ya da

hafifçe adsorbe olan elektroaktif bileşikler ölçüm çözeltisine geçemeyeceklerinden girişim etkileri yok edilebilecektir.

PAH maruziyetinin ardından değişik yollarla adsorbe olan bileşikler metabolize olduktan sonra idrardan genellikle suda çözünürlükleri yüksek olan fenoller halinde (Angerer ve ark., 1997a), çok küçük miktarları ise değişmeden atılmaktadır (Becher ve Björseth, 1983) Ancak metabolitlerden çok metabolize olmamış PAH bileşiklerinin ölçümü değişik nedenlerle çok daha önemli olabilir: eliminasyonları daha önceki maruziyetle doğrudan ilişkilidir; tek tek değişkenlere daha az duyarlıdırlar; çok yüksek düzeyde özgünlükle karakterize edilirler (Campo ve ark., 2006). Kalibrasyon eğrisinin düşük derişimlerde miktar tayinine olanak tanınması, duyarlılığın (gözlenebilirlik sınırı açısından) oldukça iyi olması ve katı elektrotlarla yapılan elektrokimyasal yöntemler için iyi denilebilecek bir tekrarlanabilirliğin elde edilmesi bulgularından hareketle BaP ve DMBA'nın elektrokimyasal tayinine yönelik geliştirilen yöntemin oldukça karmaşık matris olan idrar örneklerinde denenmesine karar verilmiştir.

İdrar örneği matrisinin temel bileşenlerinden olan proteinler, elektrot yüzeyinde analitle birlikte adsorbe olduğundan adsorptif voltametrik tekniklerde sorun yaratırlar. Bizim çalışmamızda 1:100 oranında seyreltilmiş kör idrar örneklerinden voltamogramlar alındığında destek elektroliti çözeltilerine kıyasla düz bir zemin sinyali alınamamıştır. Bu sorunu çözmek için asetonitrille tüketme işleminin ardından santrifüj protokolü (kolay ve hızlı), aktarım voltametrisi tekniği (ortam değişimi) ile birlikte uygulanmıştır. Ortam değişimi tekniği katı faz tüketmesine karşılık gelmekte olup idrardaki girişim gücü olan elektroaktif diğer bileşenlerin hiçbirinin BaP ve DMBA yanıtı üzerine etkileri olmamıştır. Önerilen teknik kullanıldığı zaman %50 asetonitrilin varlığında çöktürme ve seyreltme dışında kromatografik tekniklerde gerekli olan hiçbir örnek hazırlama işlemine gerek duyulmamıştır. Asetonitril eklenmesinin bir başka yararının da kullanılan kapların duvarlarındaki adsorpsiyonu azaltarak bileşiklerin çözünürlüklerini artırması olacağı düşünülmektedir.

Doğrusallık aralığını kontrol amacıyla idrar örneklerinde yeni bir kalibrasyon işlemi yapılmıştır. Önerilen yöntemin idrarda kullanımı ile tatmin edici geri kazanım sonuçlarına ulaşıldığı gözlenmiştir. İdrar örneklerindeki gözlenebilirlik sınırları, BaP için 1.31×10^{-7} M ($33.05 \mu\text{g L}^{-1}$) ve DMBA için 4×10^{-8} M ($10.3 \mu\text{g L}^{-1}$) olarak bulunmuştur.

Sonuç olarak bu tez kapsamında tamamlanan araştırmanın bilimsel ve uygulama açısından önemi aşağıdaki şekilde vurgulanabilir:

1. Çevre sorunu; dünyanın pek çok yerinde özellikle son 30 yılda gündelik yaşama giren ve ivedi çözüm bekleyen bir olgudur. Farklı kanser çeşitlerinin etik, sosyolojik ve ekonomik sonuçları, karsinojenik bileşiklerin izlenmesini genel ve iş sağlığı açısından önceliği en yüksek olan araştırmalar arasına taşır. Bu bileşiklerin tayininde kullanılan analitik yöntemlerin, güvenilir ve duyarlı olmasının yanında hızlı olması, çok deneyimli personele gerek duymaması ve geniş bir analitik derişim aralığında uygulanabilir olması da çok önemlidir. Özellikle günümüzün modern analitik tekniklerinden olan adsorptif sıyırma voltametrisinin kullanılması ile geliştirilen yöntem; bu özellikleri ile üzerinde çalışılan karsinojeniklerin analizine uygulanabilirliği açısından ilgili bileşiklere ilişkin kaynakçada kayıtlı ve geleneksel kullanımı olan optik (UV ve floresans spektroskopisi) ve kromatografik gaz ve sıvı kromatografisi yöntemlere analitik açıdan bağımsız alternatif olacaktır.

2. Tek kullanımlık özelliğine sahip kalem grafit elektrot üzerinde geliştirilen yöntemin performansına bağlı olarak bu tezin devamında hedeflenen adım; ülkemizde de pazarlanan taşınabilir voltametrik cihaz teminidir. Bu durumda voltametrisinin diğer yöntemlerde olmayan çok önemli bir özelliğinden de yararlanmak olanağı doğacaktır. Bu yolla analiz örneklerinin laboratuara taşınmasına gerek olmadan yerinde ölçümler alınabilecektir. Böylece çevre kirliliği yaratan örnekler için analitik bilgiye gerek olduğu zaman ve gerek olduğu yerde çok hızlı biçimde sonuca ulaşılabilecektir.

3. Geliştirilen yöntemin ilk uygulaması, insan idrarı örneklerine olmuştur. Ancak bu değerler, PAH bileşiklerine maruziyetten sonra idrardaki beklenen düzeylerine ulaşmak için yeterli değildir (Angerer ve ark., 1997a). Bu nedenle seçicilikle birlikte duyarlılığı artırmak için gelecek çalışma konusu olarak PGE üzerinde önerilen adsorptif voltametrik yöntemin yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile birleştirilmesi planlanmaktadır.

4. Üzerinde çalışılacak moleküllerin biyolojik değişim yollarından en önemlisinin oksidatif metabolizasyon olduğu düşünüldüğünden voltametrik yöntemin kullanıldığı bu araştırmada elektrot tepkime mekanizmalarından elde edilen bilgi; moleküllerin ekosistem ve canlı organizmalardaki değişimlerinin anlaşılmasına

yardımcı olacak ve çevreden uzaklaştırılmaları ve yok edilmeleri için kullanılabilecektir.

5. PAH bileşikleri çok hidrofobik oldukları için yağ dokularında, karaciğer ve böbrekte depolanmaktadır (Digiovanni ve Juchau, 1980). Bu bilgiyi dikkate alarak laboratuvar çalışmalarımızda *in vitro* ön incelemeler gerçekleştirilmiştir. Ratlara ağızdan zeytinyağında çözünmüş DMBA verilmiş, daha sonra tümör oluşumu sağlanmıştır. Doku özütlerinde bu tezde geliştirilen teknikle iyi ayrılmış voltametrik yanıt alınmıştır. Bu ölçümlerin gelişmesi için hayvanlar üzerindeki laboratuvar çalışmaları devam etmektedir.

KAYNAKLAR

- Abadine, H., Belam, F. 2002. Polarographic behaviour and determination of Acrivastine capsules and human urine. ***Talanta*, 56:** 97–104.
- Kayos, M., Kabuki, H., 2008. Particle-associated polycyclic aromatic hydrocarbons in the atmospheric environment of Zonguldak, Turkey. ***Sci. Total Environ.* 405:** 62-70.
- Als. Co. Ltd., 2006. http://www.als-japan.com/xdata/VC-2_cell.jpg. Erişim tarihi: 22.07.2009
- Angerer, J., Mannschreck, C., Gundel, J., 1997a. Biological monitoring and biochemical effect monitoring of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. ***Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 70:** 365-377.
- Angerer, J., Mannschreck, C., Gundel, J. 1997b. Occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in a graphite-electrode producing plant: biological monitoring of 1-hydroxypyrene and monohydroxylated metabolites of phenanthrene. ***Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 69:** 323-331.
- Anonim, 1970-94. ***IARC (1970-94). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans: Chemicals, Industrial Processes and Industries Associated with Cancer in Humans***. Vol. 1-55, IARC, Lyon.
- Anonim, 1978-94. ***IARC (1970-94). Environmental Carcinogens-Selected Methods of Analysis***. Vol. 1-13. IARC, Lyon.
- Anonim, 1987. ***WHO (1987) Polynuclear aromatic hydrocarbons (PAH). In: Air quality guidelines for Europe***. Copenhagen, World Health Organization Regional Office for Europe, s. 105–117.
- Anonim, 1988. ***WHO (1988) Guidelines for drinking-water quality***, 2nd edn. World Health Organization, Geneva, s. 123–152.
- Anonim, 1994. ***Toxicological profile for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): update***. US Department of Health and Human Services, Public Health Services, Atlanta, GA, USA.

- Anonim, 1995. ***Toxicological profile for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs):*** update. US Department of Health and Human Services, Public Health Services, Atlanta, GA, USA.
- Anonim, 1998. ***IARC (1998) Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans***, Vol. 32. Polynuclear aromatic compounds. Part 1. Chemical, environmental and experimental data. Lyon.
- Anonim, 2000. ***WHO (2000) Air Quality Guidelines*** 2nd edn. World Health Organization, Copenhagen, Denmark.
- Arancibia, V., Alarcon, L., Sefura, R., 2004. Supercritical fluid extraction of cadmium as Cd-oxime complex from human hair; determination of square-wave anodic or adsorptive stripping voltammetry. ***Anal. Chim. Acta***, **502**: 189-194.
- Ariese, F., Bader, A.N., Gooijer, C., 2008. Fluorescence line-narrowing spectroscopy for probing purposes in bioanalytical and environmental chemistry. ***Tr. Anal. Chem.*** **27**: 127-138.
- Arranz, P., Arranz, A., Moreda, J. M., Cid, A., Arranz, J.F., 2003. Stripping voltammetric and polarographic techniques for determination of anti-fungal Ketoconazole on the mercury electrode. ***J. Pharm. Biomed. Anal.***, **33**:589-596.
- Aygün, F., Demirci, A., Özcimder, M., 1996. Liquid chromatographic method for the determination of benzo[a]pyrene in filter tar of Turkish cigarettes. ***J. Agric. Food. Chem.***, **44**:1488-1490.
- Aygün, S.F., Kabadayi, F., 2005. Determination of benzo[a]pyrene in charcoal grilled meat samples by HPLC with fluorescence detection. ***Int. J. Food Sci. Nutr.***, **56**:581-585..
- Badger, G. M., 1962. Mode of formation of carcinogen s in human environment ; in: Symposium : Analysis of carcinogenic air pollutant. ***Nat. Cancer Inst. Monogr.*** **9**: 1-16.
- Baek, S. O., Field, R. A., Goldstone, M. E., Kirk, P. W., Lester, J. N., Perry, R., 1991. ***A Review Of Atmospheric Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Sources, Fate And Behavior***. Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands.
- Baird, W.M., Hooven, L.A., Mahadevan, B., 2005. Carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts and mechanism of action. ***Environ. Mol. Mutagen.*** **45**: 106-114.

- Baker, D. G., Taylor, H. W., Lee, S. P., Barker, S. A., Goad, M. E. P., Means, J. C., 2001. Hepatic toxicity and recovery of Fischer 344 rats following exposure to 2-aminoanthracene by intraperitoneal injection. *Toxicologic Pathology*, **29**(3): 328-332.
- Baker, J.M., 1978. Marine ecology and oil pollution. *J. Water Pollution Control Federation*. Vol. 50, issue 3.
- Barco-Bonilla, N., Martinez Vidal, J.N., Garrido Frenich, A., Romero-Gonzalez, R., 2009. Comparison of ultrasonic and pressurized liquid extraction for the analysis of polycyclic aromatic compounds in soil samples by gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Talanta*, **78**: 156-164.
- Bard, A.J., Faulkner, L.R., 1980. *Electrochemical Methods Fundamentals and Applications*. John Wiley & Sons. New York, USA.
- Bard, A. J., Faulkner L.R., 2001. *Electrochemical Methods Fundamentals and Applications*. Copyright John Wiley & Sons, Inc. 2nd ed.
- Barek, J., Cvacka, J., Muck, A., Quaiserova, V., 2001a. Electrochemical methods for monitoring of environmental carcinogens. *Fresenius J. Anal. Chem.*, **369**: 556-562.
- Barek, J., Fogg, A. G., Muck, A. ve Zima, J., 2001b. Polarography and voltammetry at mercury electrodes. *Crit. Rev. Anal. Chem.* **31**: 291-309.
- Barek, J., Peckova, K., Vyskocil, V., 2008. Adsorptive stripping voltammetry of environmental carcinogens. *Curr. Anal. Chem.*, **4**: 242-249.
- Bartle, K. D., Lee, M. L., Wise, S. A., 1981. Modern Analytical Methods for Environmental Polycyclic Aromatic Compounds: *Chem. Soc. Rev.* :**10** (1): 113-158.
- Bauer, H., Christian, G.D., Oreilley, J.E., 1978. *Instrumental Analysis*. Boston, USA.
- Becher, G., Bjorseth, A., 1983. Determination of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons by analysis of human urine. *Cancer Lett* **17** (3): 301-311.
- Bentsen, R. K., Noto, H., Halgard, K., Ovrebo, S., 1998. The effect of dust-protective respirator mask and the relevance of work category on urinary 1-hydroxypyrene concentration in PAH exposed electrode paste plant workers. *Ann. Occup. Hyg.*, **42** (2): 135-144.

- Berzas, J.J., Rodriguez, J., Castaneda, G. ve Villasenor, M.J., 2000. Voltammetric behavior of Sildenafil Citrate (Viagra) using square-wave and adsorptive stripping square-wave techniques. Determination in pharmaceutical products. *Anal. Chim. Acta*, **417**: 143-148.
- Binet, S., Pfohl-Leszkowicz, A., Brandt, H., Lafontaine, M., Castegnaro, M., 2002. Bitumen fumes: review of work on the potential risk to workers and the present knowledge on its origin. *Sci. Total Environ.*, **300** :37-49.
- Blanc, R., Gonzalez-Casado, A., Navabu, A., Vilchez, J.L., 2000. The estimate of blanks in differential pulse voltammetric technique: Application to detection limits evaluation as recommended by IUPAC. *Anal. Chim. Acta*, **403**: 117-123.
- Bogusz, M.J., El Hajj, S.A., Ehaideb, Z., Hassan, H., Al-Tufail, M., 2004. Rapid determination of benzo(a)pyrene in olive oil samples with solid-phase extraction and low-pressure, wide-bore gas chromatography–mass spectrometry and fast liquid chromatography with fluorescence detection. *J. Chromatogr., A*, **1026**: 1-7.
- Bond, A.M., Mahon, P.J., Schiewe, J., Vicente-Beckett, V., 1997. An inexpensive and renewable pencil electrode for use in field-based stripping voltammetry. *Anal. Chim. Acta*, **345**: 67-74.
- Bond, A.M., Oldham, K.B. ve Zoski, C.G., 1989. Steady State Voltammetry. *Anal. Chim. Acta*. **216**: 177-230.
- Bortolato, S.A., Arancibia, J.A., Escandar, G.M. 2008. A novel application of nylon membranes to the luminescent determination of benzo[a]pyrene at ultra trace levels in water samples. *Anal. Chim. Acta*, **613**: 218–227
- Bott, A.W., 1997. Practical problems in voltammetry 4: Preparation of working electrodes. *Curr. Sep.*, **16**: 79.
- Brainina, K., 1974. *Stripping Voltammetry in Chemical Analysis*. New York: Wiley and Sons., USA.
- Bruno,P., Caselli,M.,Gennaro,G., Tutino, M., 2007. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in particulate matter collected with low volume samplers. *Talanta*, **72**: 1357–1361
- Buffle, J., Tercier-Waeber, M-L., 2005. Voltammetric environmental trace-metal analysis and speciation: From laboratory to in situ measurements. *Trend Anal. Chem.* **24** (3): 172-191.

- Cai, Y., Kleiner, H., Johnston, D., Dubowski, A., Bostic, S., Ivie, W., DiGiovanni, J., 1997. Effect of naturally occurring coumarins on the formation of epidermal DNA adducts and skin tumors induced by benzo[a]pyrene and 7,12-dimethylbenz[a]anthracene in SENCAR mice. ***Carcinogenesis* 18**: 1521-1527.
- Cai, X., Rivas, G., Farias, P.A.M., Shiraishi, H., Wang, J., Palecek, E., 1996. Evaluation of different carbon electrodes for adsorptive stripping analysis of nucleic acids. ***Electroanalysis*, 8**: 753-758.
- Campo, L., Addario, L., Buratti, M., Scibetta, L. Longhi, O. Valla, C., Cirila, P.E., Martinotti, I., Foa, V., Fustinoni, S., 2006. Biological monitoring of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons by determination of unmetabolized compounds in urine. ***Toxicol.Lettr.*, 162**: 132-138.
- Campo, L., Mercadante, R., Rossella, F., Fustinoni, S., 2009. Quantification of 13 priority polycyclic aromatic hydrocarbons in human urine by headspace solid-phase microextraction gas chromatography-isotope dilution mass spectrometry. ***Anal. Chim. Acta*, 631**: 196-205.
- Canabillas, A.G., Burguillos, J.M.O., Canas, M.A.M, Caceres, M.I.R., Lopez, F.S., 2003. Square-wave adsorptive stripping voltammetric determination of Piromidic acid. Application in urine. ***J Pharm. Biomed. Anal.*, 33**: 553-562.
- Carapuca, H.M., Cabral, D.J., Rocha, L.S., 2005. Adsorptive stripping voltammetry of Trimethoprim: Mechanistic studies and application to the fast determination in pharmaceutical suspensions. ***J. Pharm. Biomed. Anal.* 38**: 364- 369.
- Caricchia, A.M, Chiavarini, S., Pezza, M., 1999. Polycyclic aromatic hydrocarbons in the urban atmospheric particulate matter in the city of Naples (Italy). ***Atmos. Environ.*, 33**: 3731–3738
- Castro, A.A., Wagener, A.L.R., Farias, P.A.M., Bastos, M. B., 2004. Adsorptive stripping voltammetry of 1-hydroxypyrene at the thin-film mercury electrode-basis for quantitative determination of PAH metabolite in biological materials. ***Anal. Chim. Acta*, 521**: 201-207.
- Cavalieri, E.L., Rogan, E.G., 1995. Central role of radical cations in metabolic activation of polycyclic aromatic hydrocarbons. ***Xenobiotica*, 25**: 677-688.

- Chen, Y.K., Hsue, S.S., Lin, L.M., 2002. Immunohistochemical demonstration of p73 protein in the early stages of DMBA-induced squamous-cell carcinogenesis in hamster buccal pouch. **Arch. Oral Biol.**, **47**: 695-699.
- Chen, Y.K., Hsue, S.S., Lin, L.M., 2003. Immunohistochemical demonstration of p63 in DMBA induced hamster buccal pouch squamous cell carcinogenesis **Oral Disease**, **9**: 2035-2040.
- Chiang, H.-P., Mou, B., Li, K.P., Chiang, P., Wang, D., Lin, S.J., Tse, W.S., 2001. FT-Raman, FT-IR and normal-mode analysis of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons. Part I- A density functional theory study of benzo(a)pyrene (BaP) and benzo(e)pyrene (BeP). **J. Raman Spectr.**, **32**: 45-51.
- Coetzee, J.F., Kazi, G.H., Spurgeon, J.C., 1976. Determination of polynuclear aromatic hydrocarbons by anodic differential pulse voltammetry at the glassy carbon electrode in sulfolane and acetonitrile as solvents. **Anal. Chem.**, **48**, 2170-2173.
- Colombo, C., Van den Berg, C.M.G., 1998. In-line deoxygenation for flow analysis with voltammetric detection. **Anal. Chim. Acta**, **377**: 229-240.
- Connell, D.W., Hawker, D.W., Warne, M.J., Vowles, P.P., 1997. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs). **Introduction into Environmental Chemistry** (Editors: McCombs, K., Starkweather, A. W.). CRC Press LLC, Boca Raton, FL. s. 205-217.
- Conney, A.H., 1982. Induction of microsomal enzymes by foreign chemicals and carcinogenesis by polycyclic aromatic hydrocarbons. **Cancer Res.**, **42**: 4875-4917.
- Cremonesi, P., Rogan, E., Cavalieri, E. 1992. Correlation studies of anodic peak potentials and ionization potentials for polycyclic aromatic hydrocarbons. **Chem. Res. Toxicol.**, **5**: 346-355.
- Culea, M., Cozar, O., Culea, E., 2005. PAHs in cigarette smoke by gas chromatography-mass spectrometry. **Indoor&Built Environ.**, **14**: 283-292.
- Dabestani, R., Ivanov, I.N., 1999. A comparison of physical, spectroscopic and photophysical properties of polycyclic aromatic hydrocarbons. **Photochem. Photobiol.**, **70**: 10-34. [
- Czae, M. Z., Wang, J., 1999. Pushing the detectibility of voltammetry: How low can go ?. **Talanta** **50**: 921-928.

- Çekirdek, P., 2005. *Voltametric metotlarla ditiyofosfonat anyonlarının elektrokimyasal davranışlarının incelenmesi* (doktora tezi, basılmamış). AÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Dabestani, R., Ivanov, I.N., 1999. A compilation of physical, spectroscopic and photophysical properties of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Photochem. Photobiol.*, **70**: 10-34.
- Dahmen, E.A.M.F., 1986. *Electroanalysis: Theory and Application in Aqueous and Non-aqueous Media and in Automated Chemical Control*. New York: Elsevier.
- Danyi, S., Brose, F., Brasseur, C., Schneider, Y.-J., Larondelle, Y., Pussemier, L.J., Robbins, L., De Saeger, S., Maghuin-Rogister, G., Scippo, M.-L., 2009. Analysis of EU priority polycyclic aromatic hydrocarbons in food supplements using high performance liquid chromatography coupled to an ultraviolet, diode array or fluorescence detector. *Anal. Chim. Acta*, **633**: 293-299.
- Davila, D.R., Mounho, B.J., Burchiel, S.W., 1997. Toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons to the human immune system: Models and mechanisms. *TEN*, **4** : 5-9.
- De Flora, S., Scarfi, S., Izzotti, A., D'agostini, F., Chang, C.C., Bagnasco, M., De Flora, A., Trosko, J.E., 2006. Induction by 7,12-dimethylbenz(a)anthracene of molecular and biochemical alterations in transformed human mammary epithelial stem cells, and protection by N-acetylcysteine. *Int. J. Oncol.*, **29**: 521-529.
- Del Carlo, M., Di Marcello, M., Perugini, M., Ponzielli, V., Sergi, M., Macsini, M., Compagnone, D., 2008. Electrochemical DNA biosensor for polycyclic aromatic hydrocarbon detection. *Microchim Acta*, **163**: 163-169.
- Demircigil, B.T., Uslu, B., Özkan, Y., Özkan, S.A., Şentürk, Z., 2003. Voltammetric determination of Ambroxol and application to its determination in pharmaceuticals and in drug dissolution studies. *Electroanalysis*, **15**: 230-234.
- De Vos, R.H., van Dokkum, W., Schouten, A., de Jong-Berkhout, P., 1990. Polycyclic aromatic hydrocarbons in Dutch total diet samples (1984-1986). *Food Chem. Toxicol.*, **28**: 263-268.
- Demetriades, D., Economou, A., Voulgaropoulos, A., 2004. A study of pencil-lead bismuth-film electrodes for the determination of trace metals by anodic stripping voltammetry. *Anal. Chim. Acta*, **519**: 167-172.

- Demir, İ., Demirbağ, Z., 1999. Polisiklik aromatik hidrokarbonların biyolojik olarak parçalanması. *Tr. J. Biol.*, **23**: 293-302.
- Devanesan, P.D., RamaKrishna, N.V.S., Todorovic, R., Rogan, E.G., Cavalieri, E.L., Jeong, H., Jankowiak, R., Small, G.J., 1992. Identification and quantitation of benzo[a]pyrene-DNA adducts formed by rat liver microsomes in vitro. *Chem. Res. Toxicol.* **5**: 302-309.
- Di Giovanni, J. Juchau, M.R. 1980. Biotransformation and bioactivation of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene, *Drug Metab.* **11**: 61–101.
- Divi, R. L., Beland, F. A., Fu, P. P., Von Tungeln, L. S., Schoket, B., Camara, J. E., Ghei, M., Rothman, N., Sinha, R., Poirier, M. C., 2002. Highly sensitive chemiluminescence immunoassay for benzo[a]pyrene-DNA adducts: validation by comparison with other methods, and use in human biomonitoring. *Carcinogenesis* **23**(12): 2043-2049.
- Doğan, B., Özkan S. A., Uslu, B., 2005. Electrochemical characterization of flupenthixol and rapid determination of the drug in human serum and pharmaceuticals by voltammetry. *Anal. Lettr.*, **38**: 641–656.
- Duke, O., Albert, I.O., 2007. Polynuclear aromatic hydrocarbons concentrations in char-broiled meat suya. *J. Appl. Sci.*, **7**: 1873-1879.
- Economou, A., Fielden, P.R. 1995. A study of Riboflavin determination by square-wave adsorptive stripping voltammetry on mercury film electrode. *Electroanalysis*, **7**: 447–453.
- Ensafi, A.A., Khayamian, T., Khaloo, S.S., 2004. Application of adsorptive cathodic differential pulse stripping method for simultaneous determination of copper and molybdenum using pyrogallol red. *Anal. Chim. Acta*, **505**: 201- 207.
- Erdem, A., Ozkan, A.D., Hakan, K., Kara, P., Sengonul, A., Sayiner, A.A., Ozsoz, M., 2005. Electrochemical genomagnetic assay for the detection of hepatitis B virus DNA in polymerase chain reaction amplicons by using disposable sensor technology. *Electrochem. Commun.*, **7**: 815-820.
- Evans, A., 1991. *Potentiometry and ISE*. ACOL, London, UK.
- Ewing, G.W., 1997. *Analytical Instrumentation Handbook*: Revised and Expanded, 2nd Ed. New York: Marcel Dekker.

- Fahnrich, K.A., Pravda, M., Guilbault, G.G., 2003. Disposable amperometric immunosensor for the detection of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) using screen-printed electrodes *Biosens. Bioelectron.*, **18**: 73-82.
- Fang, G. C., Chang, C.N., Wu, Y.S., Fu, P.P.C., Yang, I.L., Chen, M.H., 2004. Characterization, identification of ambient air and road just polycyclic aromatic hydrocarbons in central Taiwan, Taichung. *Sci. Total Environ.*, **327**:135-146.
- Farias, P.A.M., Wargener, A.L.R., Bastos, M.B.R., de Silva, A.T., Castro, A.G., 2003. Cathodic adsorptive stripping voltammetric behavior of guanine in the presence of copper at the static mercury drop electrode. *Talanta*, **61**: 829-835.
- Fifield, F.W., Kealey, D. 2000. *Principle and Practice of Analytical Chemistry* 3rd Edition. UK: Blackwell science.
- Fifield, F.W., Haines, P.J., 2000. *Environmental Analytical Chemistry*. 2nd Ed, UK: Blackwell Science.
- Filipkowska, A., Lubecki, L., Kowalewska, G., 2005. Polycyclic aromatic hydrocarbon analysis in different matrices of the marine environment. *Anal. Chim. Acta* **547** (2): 243-254.
- Fillmann, G., Watson, G. M., Francioni, E., Readman, J. W., Depledge, M. H., 2002. A non-destructive assessment of the exposure of crabs to PAH using ELISA analyses of their urine and haemolymph. *Mar. Environ. Res.* **54**(3-5), 823-828.
- Flowers-Geary, L., Harvey, R. G., Penning, T. M., 1993. Cytotoxicity of polycyclic aromatic hydrocarbon O-quinones in rat and human hepatoma cells. *Chem. Res. Toxicol.*, **6**: 252-260.
- Fogg, A.G., Wang, J., 1999. Terminology and convention for electrochemical stripping analysis. *Pure Appl. Chemistry*, **71**: 891-897.
- Fojta, M., Havran, L., Billova, S., Kostecka, P., Masarik, M., Kizek, R., 2002. Two-surface strategy in electrochemical DNA hybridization assays: detection of osmium-labeled target DNA at carbon electrodes. *Electroanalysis* **15**: 431-440.
- Fraga, J.M.G., Abizanda, A.I.J., Moreno, F.J., Leon, J.J.A., 1998. Application of principal component regression to the determination of Captopril by differential pulse polarography with no prior removal of dissolved oxygen. *Talanta*, **46**: 73-82

- Frenklach, M., Clary, D.W., Gardiner, W.C., Stein, S.E. 1985. Detailed kinetic modeling of soot formation in shock tube pyrolysis of acetylene, *Proc. Combust. Instit.* **20**: 887–901.
- Frenklach, M., Warnatz, J., 1987. Detailed modeling of PAH profiles in a sooting low-pressure acetylene flame. *Combust. Sci. Technol.*, **51**: 265–283.
- Fu, P.P, Herrero-Saenz, D., 1999. Nitro-polycyclic aromatic hydrocarbons: a class of genotoxic environmental pollutants. *Environ.Carcinog.Ecotox.Rev.*, **17**: 1-43.
- Fuentes-Rios, D., Orrego, R., Rudolph, A., Mendoza, G., Gavilan, J.F., Bara, R., 2005. EROD activity and biliary fluorescence in *Schroederichthys chilensis* (Guichenot 1848): biomarkers of PAH exposure in coastal environments of the South Pacific Ocean. *Chemosphere* **61**: 192–199
- Gaga, E.O., 2004. *Ankara’da Çok Halkalı Aromatik Bileşiklerin (PAH’lar) Çökelmesinin Araştırılması* (doktora tezi). ODTÜ, Ankara.
- Gao, L., Li, H., Cui, .Z., Wang, S., 1997. *Fenxi Huaxue*, **25**: 417-.
- Gao, W., Song, J., Wu, N. 2005. Voltammetric behavior and square-wave voltammetric determination of trepibutone at a pencil graphite electrode. *J. Electroanal. Chem.* **576**: 1-7.
- Gao, J., Lauer, F.T., Mitcell, L.A., Burchiel, S.W., 2007. Microsomal expoxide hydrolase is required for 7,12-dimethylbenz[*a*]anthracene (DMBA)–induced immunotoxicity in mice. *Toxicol. Sci.*, **98**:137-144.
- Garcia Falcon, M.S., Gonzalez Amigo, S., Lage Yusty, M.A., Simal Lozano, J., 1999. Determination of benzo[*a*]pyrene in some Spanish commercial smoked products by HPLC-FL. *Food Addit. Contam.*, **1999**, **16**: 9-14.
- Garcia Gomez, R.S., Pandiyan, T., Aguilar Iris, V.E., Luno-Pabello, V., Duran de Bazua, C., 2004. Spectroscopic determination of poly-aromatic compounds in petroleum contaminated soils. *Water Air Soil. Pollut.*, **158**: 137-151.
- Ghoneim, M.M., Tawfik, A., Khashaba, P.Y., 2003. Cathodic adsorptive stripping square-wave voltammetric determination of Nifedipine drug in bulk, Pharmaceutical formulation and human serum. *Anal. Bioanal. Chem.* **375**: 369-375.
- Ghoneim, M.M. Hassanein, A.M., Hamman, E., Beltagi, A.M. 2000. Simultanous determination of Cd, Pb, Cu, Sb, Bi, Se, Zn, Mn, Ni, Cr and Fe in water sample by

- differential pulse stripping voltammetry at a hanging mercury drop electrode. *Fres. J. Anal. Chem.*, **367**: 378-383.
- Ghoniem, M.M., Beltagi, A.M., 2003. Adsorptive stripping voltammetric determination of the anti-inflammatory drug Celecoxib in pharmaceutical formulation and human serum. *Talanta*, **60**: 911-921.
- Goldberg, E. D., 1985. *Black Carbon in the Environment*. Wiley, New York
- Goldstein, L. S., Weyand, E. H., Safe, S., Steinberg, M., Culp, S. J., Gaylor, D. W., Beland, F. A., Rodriguez, L. V., 1998. Tumors and DNA adducts in mice exposed to benzo[a]pyrene and coal tars: Implications for risk assessment. *Environ Health Perspec.* **106**: 1325-1330.
- Gooding, J.J., Compton, R.G., Brennan, C.M., Atherton, J.H., 1997. A new electrochemical method for the investigation of the aggregation of dyes in solution. *Electroanalysis*, **9**(10): 759-764.
- Gosser, D. K., 1994. *Cyclic Voltammetry*, VCH Publishers, Inc.
- Gökçe, 2004. *Trifenilformazan ve bazı türevlerinin elektrokimyasal davranışlarına kompleks oluşumunun etkisinin incelenmesi* (doktora tezi, basılmamış). AÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Gökmeşe, F., 2004. *Bazı naftaldimin ve salisilaldiminlerin çeşitli voltametrik tekniklerle elektrokimyasal davranışlarının incelenmesi* (doktora tezi, basılmamış). AÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Guillen, M. D., Sopelana, P., 2003. *Polycyclic aromatic hydrocarbons in diverse foods. In Food safety: Contaminants and toxins*, ed. J. P. F. D'Mello, 175–197. CAB International, Wallingford, Oxon, UK.
- Guillen, M. D., Sopelana, P., Partearroyo, M. A., 1997. Food as a source of polycyclic aromatic carcinogens. *Rev. Environ. Health*, **12**: 133–146.
- Gümrükçüoğlu, H., 1985. *Polisiklik Aromatik Hidrokarbonların Ters-Faz Sıvı Kromatografisi Kolonunda (HPLC) Alıkonma Mekanizmalarının İncelenmesi ve Tütün Zifirinde Benz (a) Piren Tayini* (doktora tezi). Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Gündüz, T., 2004. *İnstrumental Analiz 7*. Gazi Kitabevi Ltd. Şti., Ankara
- Ha, Y.L., Grimm, N.K., Pariza, M.W., 1987. Anticarcinogens from fried ground beef: Heat-altered derivatives of linoleic acid. *Carcinogenesis*, **8**: 1881-1887.

- Harkov, R., Greenberg, A., 1985. Benzo(a)pyrene in New Jersey results from a twenty-seven-site study. *J. Air Pollut. Control Assoc.* **35**: 238.
- Hart, J.P., 1997. Recent developments in the design and application of screen printed electrochemical sensors for biomedical, environmental and industrial analyses. *TrAC*, **16**: 89-103.
- Harvey, D., 2000. *Modern Analytical Chemistry*. USA: McGraw Hill.
- Harvey, G., 1997. *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*. Wiley-VCH, Chicago, USA.
- Harvey, R. G., 1996. Mechanisms of carcinogenesis of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Polycyclic Arom. Compds.*, **9**(1): 1-23.
- Haugen, A., Becher, G., Benestad, C., Vahakangas, K., Trivers, G. E., Newman, M. J., Harris, C. C., 1986. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in the urine, benzo(a)pyrene diol epoxide-DNA adducts in lymphocyte DNA, and antibodies to the adducts in sera from coke oven workers exposed to measured amounts of polycyclic aromatic hydrocarbons in the work atmosphere. *Cancer Res.* **46**(8): 4178-4183.
- Heyrovsky, J., Zuman, P., 1968. *Practical Polarography; An Introduction for Chemistry Students*. New York: Academic Press.
- Lee, H. K., 2001. Modern techniques for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Handbook of Analytical Separations, Vol. 3*; 39-75.
- Lehner, A.F. Horn, J. Flesher, J.W., 2004. Formation of radical cations in a model for the metabolism of aromatic hydrocarbons. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **322**, 1018-1023.
- Hackett, M., Wang, H., Miller, G.C., Bornhop, D.J., 1995. Ultraviolet-visible detection for capillary gas chromatography and combined ultraviolet-mass spectrometry using a remote flow cell. *J. Chromatogr. A*, **695**: 243-257
- Higginbotham, S., RamaKrishna, N. V. S., Johansson, S. L., Rogan, E. G., Cavalieri, E.L., 1993. Tumor-initiating activity and carcinogenicity of dibenzo[a,l]pyrene versus 7,12- dimethylbenz[a]anthracene and benzo[a]pyrene at low doses in mouse skin. *Carcinogenesis* **14**: 875-878.
- Hilali, A., Jimenez, J.C., Callejon, M., Bello, M.A., Guirem, A., 2003. Electrochemical reduction of Cefminox at the mercury electrode and its voltammetric determination in urine. *Talanta* **59**(1): 137-146.

- Honeychurch, K.C., Hart, J.P., 2003. Screen-printed electrochemical sensors for monitoring metal pollutants. *TrAC*, **22**: 456-469.
- Hourch, M.E., Dudoit, A., Amiard, J-C., 2003. Optimization of new voltammetric method for the determination of Metallothionein. *Electrochim. Acta*, **48**: 4083-4088.
- Howsam, M., Jones, K.C., Ineson, P., 2000. PAHs associated with the leaves of three deciduous tree species. I: concentrations and profiles. *Environ Pollut* **108**: 413–424.
- Howsam, M., Jones, K.C., Ineson, P., 2001. PAHs associated with the leaves of three deciduous tree species. II: uptake during a growing season. *Chemosphere* **44**: 155–164.
- Imaida, K. , Lee, M-S., Wang, C.Y., King, C.M., 1991. Carcinogenicity of dinitropyrenes in the weanling female CD rat. *Carcinogenesis*, **12**: 1187–1191
- Inam, R., Somer, G., 1998. Simultaneous Determination of selenium and lead in whole blood samples by differential pulse polarography. *Talanta*, **46**: 1347- 1355.
- Jacob, J., Seidel, A., 2002. Biomonitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons in human urine. *J. Chromatogr Part B* **778**: 31–48.
- Jeftic, L., Adams, R.N., 1970. Electrochemical oxidation pathways of benzo[a]pyrene. *J. Am. Chem. Soc.*, **92**: 1332-1337.
- Jacop, J., 2008. The signifiance of polycyclic aromatic hydrocarbons as environmental carcinogens. 35 years research on PAH-A retrospective. *Polycyclic Aromatic Compounds*, **28**(4) :242-272
- Jin, J., Hirió, T., Sato, K., Miwa, T., Takeuchi, T., 2002. Use of disposable GRC electrodes for the detection of phenol and chlorophenols in liquid chromatography. *Anal. Sci.* **18**: 549-554.
- Jiang, H., Gelhaus, S. L., Mangal, D., Harvey, R., Blair, G., Penning, T. M., 2007. Metabolism of Benzo[a]pyrene in Human Bronchoalveolar H358 Cells Using Liquid Chromatography–Mass Spectrometry. *Chem. Res. Toxicol.*, **20**: 1331-1341.
- Jong-Su Seo, Young-Soo K., Qing X. Li, 2009. Bacterial Degradation of Aromatic Compounds. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, **6**: 278- 309

- Kalcher, K., 1990. Chemically modified carbon paste electrodes in voltammetric analysis. *Electroanalysis*, **2**: 419-433.
- Karadeniz, H., Gulmez, B., Sahinci, F., Erdem, A., Kaya, G.I., Unver, N., Kivcak, B., Ozsoz, M., 2003. Disposable electrochemical biosensor for the detection of the interaction between DNA and lycorine based on guanine and adenine signals. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **33**: 295-302.
- Karadjova, I., Girousi, S., Illadou, E. and Stratis, I., 2000. Determination of Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ni and Pb in milk, cheese and chocolate. *Mikrochim. Acta*, **134**: 185-191.
- Kayali, M.N., Rybio- Barroso, S., Polo-Diez, L.M., 1995. Rapid PAH determination in urban particulate air samples by HPLC with fluorometric detection. *J. Chromatogr. Sci.*, **33**:181- 185.
- Kefala, G., Economou, A., Voulgaropoulos, A., Sofoniou, M., 2003. A study of bismuth-film electrode for the detection of trace metals by anodic stripping voltammetry and their application to the determination of Pb and Zn in tapwater and human hair. *Talanta*, **61**: 603-610.
- Kim, Y.S., Bahn, K.N., Hah, C.K., Gang, H.I., Ha, Y.L., 2008. Inhibition of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene induced mouse skin carcinogenesis by *Artemisia capillaris*. *J.Food Sci.*, **73**: T16-T20.
- Kipopoulou, A.M., Manoli, E., Samara, C., 1999. Bioconcentration of polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetables grown in an industrial area. *Environ Pollut* **106**:369–380.
- Kleiner, H.E., Vulimiri, S.V., Reed, M.J., Uberecken, A., DiGiovanni, J., 2002. Role of cytochrome P450 1a₁ and 1b₁ in the metabolic activation of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene and the effects of naturally occurring furanocoumarins on skin tumor initiation *Chem. Res. Toxicol.*, **15**: 226-235.
- Knox, R.C., Sabatini, D.A., Canter, L.W., 1993. *Subsurface Transport and Fate Processes*. Lewis Publishing, Boca Raton.
- Ko, E. J., Lee, C. K., Kim, Y. J., Kim, K. W., 2003. Monitoring PAHcontaminated soil using laser-induced fluorescence (LIF). *Environ. Technol*, **24**(9): 1157-1164.
- Kontoyannis, C. G., Antimisianis, S.G., Douromis, D., 1999. Simultaneous Quantitative Determination of Diazepan and Liposomes using Differential Pulse Polarography. *Anal. Chim. Acta*, **391**: 83-88.

- Kotani, A., Miyaguchi, Y., Harada, D., Kusu, F., 2003. A disposable voltammetric cell for determining the titratable acidity in vinegar. *Anal.Sci.*, **19**: 1473-1476.
- Kubiak, W.W., Latonen, R.M., Ivaska, A., 2001. The sequential injection system with adsorptive stripping voltammetry detection. *Talanta*, **53**: 1211- 1219.
- Kurnaz, S.Ü., Büyükgüngör, H., 2007. Kızılırmak Deltası kıyı şeridinde su ve midye örneklerinde PAH kirliliğinin araştırılması. *itü dergisi*, **17**: 15-22.
- Lai, C. H., Liou, S. H., Shih, T. S., Tsai, P. J., Chen, H. L., Buckley, T. J., Strickland, P. T., Jaakkola, J. J. K., 2003. Relationship between concentration of pyrene and aerosol size distribution in traffic exhausts in Taipei, Taiwan, *Archi. Environ. Health*, **58**(10), 624-632.
- Lal, J., Vernwal, S., 2007. Toxic effect of tobacco (Nicotine) intake on the human body and identification of nicotine in tobacco by NMR spectroscopy. *Indian J. Environ.Protec.*, **27**: 201-208.
- Lam, G.K., Kalvoda, R., Kaponica, M., 1983. Determination of uranium by adsorption stripping voltammetry. *Anal. Chim. Acta*, **154**: 79-83.
- Lancas, F. M., 2003. The role of the separation sciences in the 21th Century. *J. Braz. Chem. Soc.*, **14**(2): 183-197.
- Laviron, E., Roullier, L., Degrand, C., 1980. A multilayer model for the study of space distributed redox modified electrodes. *J.Electroanal.Chem.*, **112**: 11-23.
- Lavoie, E.J., Braley, J., Rice, J.E., 1987. Rivenson A. Tumorigenic activity of non-alternant polynuclear aromatic hydrocarbons in newborn mice. *Cancer letters*, **31**; 15-20
- Levent, A., Yardım, Y., Şentürk, Z., 2009. Voltammetric behavior of nicotine at pencil graphite electrode and its enhancement determination in the presence of anionic surfactant. *Electrochim. Acta*, **55**: 190-195.
- Li, M., Hurtibise, R.J., Weston, A., 1999. Determination of benzo[a]pyrene-DNA adducts by solid-matrix phosphorescence. *Anal.Chem.*, **71**: 4679-4683.
- Lin, L., Lawrence, N.S., Thongngamdee, S., Wang, J., Lin, Y., 2005a. Catalytic adsorptive stripping determination of trace chromium (VI) at the bismuth film electrode. *Talanta*, **65**: 144-148.

- Lin, L., Thongngamdee S., Wang, J., Lin, Y., Sadik, O.A., Ly, S-Y. 2005b. Adsorptive stripping voltammetric measurements of trace uranium at the bismuth film electrode. *Anal. Chim. Acta*, **535**: 9-13.
- Lin, T.C., Chang, F.H., Hsieh, J.H., Chao, H.R., Chao, M.R., 2002. Characteristics of polycyclic aromatic hydrocarbons and total suspended particulate in indoor and outdoor atmosphere of a Taiwanese temple. *J Hazard Mater A* **95**: 1–12.
- Lioy, P.L., Waldman, J.M., Greenberg, A, Harkov, R., Pietarinen, C., 1988. The total human environmental exposure study (THEES) to benzo(a)pyrene: comparison of the inhalation and food pathways. *Archiv. Environ. Health*, **43**: 304–312.
- Lipniak, M., Brandys, J., Moniczewski, A., 1990. Binding of various polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) by plasma albumin and blood cells. *Folia Med. Cracov.*, **31**(1-2); 73-79.
- Liu, J.H., Lin, W.F., Nicol, J.D., 1980. The application of Anodic Stripping Voltammetry to Forensic Science. II. Anodic Stripping Voltammetric Analysis of Gunshot Residues. *Forensic Sci Int.*, **16**: 53-62.
- Liu, Y.J., Zhu. L.Z., Shen. X.Y., 2001. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in indoor and outdoor air of Hangzhou, *China. Environ. Sci. Technol.* **35**:840–844.
- Lodovici, M., Akpan, V., Evangelisti, C., Dolara, P., 2004. Sidestream tobacco smoke as the main predictor of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. *J. App. Toxicol.*, **24**(4): 277-281.
- Lucarelli, F., Palchetti, I., Marazza, G., Mascini, M., 2002. Electrochemical DNA biosensor as a screening tool for the detection of toxicants in water and wastewater samples. *Talanta*, **56**: 949–957.
- Luch, A., 2005. *The Carcinogenic Effects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*. Imperial College Pres, World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd.,USA.
- Ly, S.Y., Jung, Y.S., Kim, M.H., Han, I.K., Jung, W.W., Kim, H.S., 2004. Determination of caffeine using a simple graphite pencil electrode with square-wave anodic stripping voltammetry. *Microchim Acta* **146**: 207-213.
- Malejka-Giganti, D., Bennett, K.K., Culp, S.J., Beland, F.A., Shinozuka, H., Bliss, R.L., 2005. Suppression of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced mammary carcinogenesis by pre-initiation treatment of rats with beta-naphthoflavone

coincides with decreased levels of the carcinogen-derived DNA adducts in the mammary gland. *Cancer Detect. Prevent*, **29**: 338-347.

- Manoli, E., Voutsas, D., Samara, C., 2002. Chemical characterization and source identification/apportionment of fine and coarse air particles in Thessaloniki, Greece. *Atmos. Environ.*, **36**: 949–961
- Mantis, J., Chaloulakou, A., Samara, C., 2005. PM10-bound polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the Greater Area of Athens, Greece. *Chemosphere*, **59**(5): 593-604.
- Marr L.C., Kircmstetter, T.W., Harley, R.A., Miguel, A.M., Hering, S.V., Hammon, D.,S.K., 1999. Characterization of polycyclic hydrocarbons in motor vehicle fuels and exhaust emissions. *Environ. Sci. Technol.*, **33**: 3091-3099.
- Masawat, P., Liawruangrath, S., Vaneesorn, Y., Liawruangrath, B., 2002. Design and fabrication of a low-cost flow-through cell for the determination of acetaminophen in pharmaceutical formulations by flow injection cyclic voltammetry. *Talanta*, **58**: 1221-1234.
- Masclet, E., Pistikopoulos, E., Beyne, S., Mouvier, G., 1988. Long range transport and gas/particle distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons at a remote site in the Mediterranean Sea. *Atmos. Environ.*, **22**: 639-650.
- Mastral, A. M., Callen, M. S. Lopez, J. M., Garcia, T., Navarro, M.V., 2003. Critical review on atmospheric PAH. Assesment of reported data in the Mediterranean Basin. *Fuel Process. Technol.*, **80**: 183-193.
- Menzie, C.A., Potocki, B.B., Santodonato, J., 1992. Exposure to carcinogenic PAHs in the environment. *Environ. Sci. Technol.*, **26**: 1278-1284.
- Miller, R. L., Garfinkel, R., Horton, M., Camann, D., Pereral, F. P., Whyatt, R. M., Kinney, P. L., 2004. Polycyclic aromatic hydrocarbons, environmental tobacco smoke, and respiratory symptoms in an inner-city birth cohort. *Chest* **126**(4): 1071-1078.
- Miyata, M., Furukawa, M., Takahashi, K., Gonzalez, F.J., Yamazoe, Y., 2001. Mechanism of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced immunotoxicity: role of metabolic activation at the target organ. *Jpn. J. Pharmacol.* **86**: 302–309.

- Miyazaki, K., Matsumoto, G., Yamada, M., Yasui, S., Kaneko, H., 1999. Simultaneous voltammetric measurement of nitrite ion, dopamine, serotonin with ascorbic acid on the GRC electrode. *Electrochim Acta*, **44**: 3809-3820.
- Moody, J.D., Fu, P.P., Freeman, J.P., Cerniglia, C.E., 2003. Regio- and stereoselective metabolism of 7,12-Dimethylbenz[a]anthracene by *Mycobacterium vanbaalenii* PYR-1. *Appl Environ Microbiol.*, **69**: 3924–3931.
- Morfobos, M., Economou, A., Voulgaropoulos, A. 2004. Simultaneous Determination of Nickel(II) and cobalt(II) by Square Wave Adsorptive Stripping Voltammetry on a Rotating-disc Bismuth-film Electrode. *Anal Chim Acta*, **519**: 57-64.
- Morlock, G., Kopacz, S., 2008. Fast and precise SBSE–HPTLC/FLD method for quantification of six polycyclic aromatic hydrocarbons frequently found in water, *J. Liq. Chromatogr. R. T.*, **31**: 1925-1942.
- Moschel, R.C., Piggot, M.A., Constantino, N., Dipple, A., 1983. Chromatographic and fluorescence spectroscopic studies of individual 7,12-dimethylbenz[a]anthracene deoxyribonucleoside adducts. *Carcinogenesis*, **4**: 1201-1204.
- Mulder, P.P.J. Chen, L. Sekhar, B.C. George, M. Gross, M.L. Rogan, E.G. Cavalieri, E.L., 1996. Synthesis and structure determination of the adducts formed by electrochemical oxidation 1,2,3,4-tetrahydro-7,12-dimethylbenz[a] anthracene in the presence of deoxyribonucleosides or adenine. *Chem. Res. Toxicol.* **9**: 1264-1277.
- Nahorniak, M.L., Booksh, K.S., 2006. Excitation-emission matrix fluorescence spectroscopy in conjunction with multiway analysis for PAH detection in complex matrices. *Analyst*, **131**: 1308-1315.
- Neff, J. M., 1979. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Aquatic Environment. Applied Science Publisher , London, England.
- Nemcik, M., 2005. Low-level PAH analysis using the Finnigan Surveyor HPLC system with PDA detection. *Lc Gc North America*, **50**.
- Nemergut, D. R., Johnson, R. M., Wunch, K. G., Bennett, J. W., 2000. Extraction and quantification of benzopyrene in soil by reversed-phase thin layer chromatography. *J. Liq. Chromatogr. R. T.*, **23**: 579-586.
- Nesnow, S., Ross, J.A., Stoner, G.D., Mass, M.J., 1995. Mechanistic linkage between DNA adducts, mutations in oncogenes and tumorigenesis of carcinogenic

- environmental polycyclic aromatic hydrocarbons in strain A/J mice. *Toxicology*, **105**(2-3): 403–413.
- Nikolaou, K., Masclet, P., Mouvier, G. 1984. PAH stability scale established in situ in an urban region. *Sci. Total Environ.*, **36**: 383–388.
- Nirmaier, H.-P., Fischer, E., Henze, G., 1998. A comparison of ultratrace and glassy carbon working electrode for the amperometric detection of benzo[a]pyrene and its hydroxylated metabolites after HPLC separation. *Electroanalysis*, **10**: 187-190.
- Nisbet, I. C., LaGoy, P. K., 1992. Toxic equivalency factors (TEFs) for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Regul. Toxicol. Pharmacol.* **16**: 290–300.
- Novotny, L., Vachalkova, A., Piskala, A., 1999. Polarographic properties and potential carcinogenicity of some natural nucleosides and their synthetic analogues. *Bioelectrochem. Bioenerg.*, **48**: 129-134.
- Obana, H., Hori, S., Kashimoto, T., 1981. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in marine samples by high-performance liquid chromatography. *Bull. Environ. Contam Toxicol* **26**(5): 613–620.
- Olivella, M. A., 2005. Trace analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in suspended particulate matter by accelerated solvent extraction followed by gas chromatography-mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* **383** (1): 107-114.
- Orrechio, S., Ciotti, V.P., Culotta, L., 2009. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in coffee brew samples: Analytical method by GC–MS, profile, levels and sources. *Food Chem. Toxicol.*, **47**: 819-826.
- Oris, J.T., Giesy, J.P., 1986. Photoinduced toxicity of anthracene to juvenile bluegill sunfish; photoperiod effect and predictive hazard evaluation. *Environ. Toxicol. Chem.*, **5**: 761-768.
- Oris, J.T., Giesy, J.P., 1987. The photoinduced toxicity of PAH to larvae of the fathead minnow. *Chemosphere*, **16**: 1395-1404.
- Ovrebo, S., Haugen, A., Fjeldstad, P. E., Hemminki, K., Szyfter, K., 1994. Biological monitoring of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbon in an electrode paste plant. *J Occup. Med.*, **36**(3): 303-310.
- Ovrebo, S., Haugen, A., Phillips, D. H., Hewer, A., 1992. Detection of polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts in white blood cells from coke oven workers: correlation with job categories. *Cancer Res.* **52**(6): 1510-1514.

- Özkan, S., Biryol, İ., 1993. Sıyırma voltametrisi. *Fabad, J.Pharm.Sci.* **18**: 41-49.
- Özkan, S.A., Şentürk, Z., Biryol, I., 1997. Determination of Ornidazole in Pharmaceutical Dosage Forms Based on Reduction at Activated Glassy Carbon Electrode. *Int. J. Pharm.*, **157**: 137-144.
- Özkan, S.A., Özkan, Y., Şentürk, Z., 2002. Electrooxidation of pimozone and its differential pulse voltammetric and HPLC-EC determination. *Anal.Chim.Acta*, **453**: 221-229.
- Özkan, S.A., Uslu, B., Şentürk, Z., 2004. Electroanalytical characteristics of Amisulpride and voltammetric determination of the drug in pharmaceuticals and biological media. *Electroanalysis*, **16**: 231-237.
- Pacheco, M., Santos, M. A., Teles, M., Oliveira, M., Rebelo, J. E., Pombo, L., 2005. Biotransformation and genotoxic biomarkers in mullet species (*Liza* sp.) from a contaminated coastal lagoon (Ria de Aveiro, Portugal). *Environ. Monit. Assess.*, **107**(1-3): 133-153.
- Page, D. S., Boehm, P. D., Douglas, G. S., Bence, A. E., Burns, W. A., Mankiewicz, P. J., 1997. An estimate of annual input of natural petroleum hydrocarbon to seafloor sediments in Prince William Sound, Alaska. *Mar. Pollut. Bull.*, **34**: 744-749.
- Park, S.S., Kim, Y.J., Kang, C.H., 2002. Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons in Seoul, Korea. *Atmos Environ* **36**: 2917–2924.
- Pesavanto, M., Alberti, G., Biesuz, R., 2009. Analytical methods for determination of free metal ion concentration, labile species fraction and metal complexation capacity of environmental waters: A review. *Anal. Chim. Acta*, **631**: 129-141.
- Peters, J. A., Deangelis, D. G., Hughes, T.W., 1981. *In Chemical Analysis and Biological Fate: Polynuclear Aromatic Hydrocarbons*, Cooke, M., Dennis, A. J., Battelle Press, Columbus, U.S.A., s. 571-582.
- Pietrzyk, D.J., Frank, C.W., 1979. *Analytical Chemistry*, 2.Baskı, Academic pres. New York, USA.
- Pinerio-Iglesias, M., Grueiro-Noche, G., Lopez-Mahia, P., Muniategui-Lorenzo, S., Prada-Rodriguez, D., 2004. Assessment of methodologies for airborne BaP analysis. *Sci.Total Environ.*, **334-335**: 377-384.

- Podany, V., Rezabkova, E., Bahna, L., 1978. Compounds studied by the polarographic method in anhydrous systems V. oxidation potentials of carcinogenic hydrocarbons in acetonitrile. *Neoplasma* **25**: 57-65.
- Pott, F., Heinrich, U., 1990. Relative significance of different hydrocarbons for the carcinogenic potency of emissions from various incomplete combustion processes. In: Vainio, H. et al., ed. Complex mixtures and cancer risk. Lyon, International Agency for Research on Cancer, s. 288–297 (IARC Scientific Publications, No. 104).
- Prudenziati, M., 1994. *Handbook of Sensors and Actuators 1; Volume-1: Thick film sensors*. Elsevier Science B.V., Oxford, UK.
- Purchase, I.F.H., 1994. Current knowledge of mechanisms of carcinogenicity: Genotoxins versus non-genotoxins. *Hum. Exp. Toxicol.*, **13**: 17-28.
- Raluca, O., Vasile, O., 2006. *Polycyclic aromatic hydrocarbons*. Seria de Monograph. 3.
- RamaKrishna, N.V.S., Devanesan, P.D., Rogan, E.G., Cavalieri, E.L., Jeong, H., Jankowiak, R., Small, G.J., 1992a. Mechanism of metabolic activation of the potent carcinogen 7,12-dimethylbenz[a]anthracene. *Chem. Res. Toxicol.*, **5**: 220-226.
- RamaKrishna, N.V.S., Cavalieri, E.L., Rogan, E.G., Dolnikowski, G., Cemy, R.L., Gross M.L., Jeong, H., Jankowiak, R., Small, G.J., 1992b. Synthesis and structure determination of the adducts of the potent carcinogen 7,12-dimethylbenz[a]anthracene and deoxyribonucleosides formed by electrochemical oxidation: models for metabolic activation by one-electron oxidation. *J. Am. Chem. Soc.*, **114**: 1863-1874.
- Ramdahl, T., Alfheim, I., Bjorseth, A., 1982. Nitrated polycyclic aromatic-hydrocarbons in urban air particles. *Environ Sci Technol.*, **16**: 861-865.
- Ramesh, A., Walker, S. A., Hood, D. B., Guillen, M. D., Schneider, K., Weyand, E. H., 2004. Bioavailability and Risk Assessment of Orally Ingested Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Inter. J. Toxicol.* **23**: 301-333.
- Ramesh, A., Walker, S. A., Hood, D. B., Guillen, M. D., Schneider, K., Weyand, E. H., 2006. Bioavailability and Risk Assessment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Inter. J. Toxicol.*, **25**: 101-143.

- Randerath, K., Sriram, P., Moorthy, B., Aston, J.P., Baan, R.A., Van Den Berg, P.T.M., Booth, E.D., Watson, W.P., 1998. Comparison of immunoaffinity chromatography enrichment and nuclease P1 procedures for ^{32}P -postlabelling analysis of PAH-DNA adducts. *Chem. Biol. Interact.*, **110**: 85-102.
- Reeves, W. R., Barhoumi, R., Burghardt, R. C., Lemke, S. L., Mayura, K., McDonald, T. J., Phillips, T. D., Donnelly, K. C., 2001. Evaluation of methods for predicting the toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbon mixtures. *Environ. Sci. Technol.*, **35**: 1630-1636.
- Reinke, R., Simon, J., 2002. The online removal of dissolved oxygen from aqueous solutions used in voltammetric technique by chromatomembrane method. *Anal. Bioanal. Chem.*, **374**: 1256-1260.
- Rentz, J.A., Alvarez, P.J.J., Schnoor, J.L., 2008. Benzo[a]pyrene degradation by *Sphingomonas yanoikuyae* JAR02. *Environ. Pollut.*, **151**: 669-677.
- Roekens, E., Dumollin, J., Matheeußen, C., 2000. PM₁₀ dust and chemical characterisation of aerosols in Flanders, Belgium. *Adv Air Pollut* **8**: 699–707.
- Rodriguez, J., Berzas, J.J., Castanada, G., Rodrigues, R., 2004. Determination of Sildenafil Citrate (Viagra) and its metabolite (UK-103,320) by square-wave and adsorption stripping square-wave voltammetry. Total determination in biological samples. *Talanta*, **62**: 427-432.
- Rogan, E.G., Devanesan, P.D., RamaKrishna, N.V.S., Higginbotham, S., Padmavathi, N.S., Chapman, K., Cavalieri, E.L., Jeong, H., Jankowiak, R., Small, G.J., 1993. Identification and quantitation of benzo[a]pyrene-DNA adducts formed in mouse skin. *Chem. Res. Toxicol.*, **6**: 356-363.
- Rose, M., White, S., Macarthur, R., Petch, R. G., Holland, J., Damant, A.P., 2007. Single-laboratory validation of a GC/MS method for the determination of 27 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in oils and fats. *Food Addit. Contam.*, **24**(6): 635–651.
- Safavi, A., Maleki, N., Shahbaazi, H.R., 2004. Indirect determination of cyanide ion and hydrogen cyanide by adsorptive stripping voltammetry at a mercury electrode. *Anal. Chim. Acta*, **503**: 213-221.

- Sanna, G., Pilo, M.I., Pin, P.C. Tapparo, A., Seeber, R., 2000. Determination of heavy metals in honey by anodic stripping voltammetry at microelectrode. *Anal. Chim. Acta*, **415**: 165-173.
- Shams, E., Barbei, A., Soltaninezhad, M., 2004. Simultaneous determination of copper, zinc and lead by adsorptive stripping voltammetry in the presence of Morin. *Anal. Chim. Acta*, **501**: 119-124.
- Shaw, G.R., Connell, D.W., 1994. Prediction and monitoring of the carcinogenicity of polycyclic aromatic compounds (PACs). *Rev. Environ. Contam. Toxic.* **135**: 1-62.
- Siegmann, K., Sattler, K., 2000. Formation mechanism for polycyclic aromatic hydrocarbons in methane flames. *J. Chem. Phys.* **112**(2); 698-709.
- Sivaraman, L., Gay, J., Hilsenbeck, S.G., Shine, H.D., Conneely, O.M., Medina, D., O'Malley, B.W., 2002. Effect of selective ablation of proliferating mammary epithelial cells on MNU induced rat mammary tumorigenesis. *Breast Cancer Res. Treat.*, **73**: 75-83.
- Skoog, D.A., Holler, F.J., Nieman, T.A., 1998. *Principles of Instrumental Analysis*. (Çeviri Editörleri: Kılıç, E., Köseoğlu, F., Yılmaz, H., Enstrümental Analiz İlkeleri) 1. baskı. Bilim Yayıncılık Ltd.Şti, Ankara.
- Skoog, D.A., West, D.M., James, F., 1996. *Fundamentals of Analytical Chemistry*. 7th Ed. New York; Saunders College Publishing.
- Smyth, M.R., Smyth, W.F., 1978. Voltammetric Methods for the Determination of Foreign Organic Compounds of Biological Significance. A review. *Analyst*, **103**(1227): 103-122.
- Smyth, M.R., Vos, J.G., 1992. *Analytical Voltammetry in Comprehensive Analytical Chemistry*. Amsterdam: Elsevier Science.
- Song, G.Q., Lu, C., Hayakawa, K., Lin, J.-M., 2006. Comparison of traditional cloud-point extraction and on-line flow-injection cloud-point extraction with a chemiluminescence method using benzo[a]pyrene as a marker. *Anal.Bioanal.Chem.*, **384**: 1007-1012..
- Srogi, K., 2007. Monitoring of environmental exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons: a review. *Environ. Chem. Lett.*, **5**: 169–195.
- Strickland, P. T., Kang, D., Bowman, E. D., Fitzwilliam, A., Downing, T. E., Rothman, N., Groopman, J. D., Weston, A., 1994. Identification of 1-hydroxypyrene

- glucuronide as a major pyrene metabolite in human urine by synchronous fluorescence spectroscopy and gas chromatography-mass spectrometry. *Carcinogenesis* **15**(3): 483-487.
- Strickland, P., Kang, D., 1999. Urinary 1-hydroxypyrene and other PAH metabolites as biomarkers of exposure to environmental PAH in air particulate matter. *Toxicol Lett.*, **108**(2-3): 191-199.
- Strickland, P., Kang, D., Sithisarankul, P., 1996. Polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites in urine as biomarkers of exposure and effect. *Environ. Health Perspect.*, **104** Suppl 5, 927-932.
- Suchanova, M., Hajslova, J., Tomoniová, M., Kocourek, V., Babicka, L., 2008. Polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked cheese. *J.Sci.Food&Agri.*, **88**: 1307-1317.
- Sullivan, P.D., 1985. Free radicals of benzo(a)pyrene and derivatives. *Environ. Health Perspect.*, **64**: 288-295.
- Sun, N., Mo, W-M. Shen, Z-L and Hu, B-X., 2005. Adsorptive stripping voltammetric technique for the rapid determination of Tobramycin on the hanging mercury electrode. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **38**(2): 256-262.
- Şentürk, Z., Özkan, S.A., Özkan, Y., Aboul-Enein, Y., 2000. Voltammetric investigation of oxidation of Zuclopenthixol and application to its determination in dosage forms and in drug dissolution studies, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **22**: 315-323.
- Talaska, G., Underwood, P., Maier, A., Lewtas, J., Rothman, N., Jaeger, M., 1996. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), nitro-PAHs and related environmental compounds: biological markers of exposure and effects. *Environ. Health Perspect.*, **104**: 701-908.
- Tavares, P.H.C.P., Barbeira, P.J.S., 2008. Influence of pencil lead hardness on voltammetric response of graphite reinforcement carbon electrodes. *J. Appl. Electrochem.*, **38**: 827-832.
- Teodori, L., Tagliaferri, F., Stipa, F., Valente, M.G., Coletti, D., Manganelli, A., Guglielmi, M., D'Angelo, L.S., Schafer, H., Göhde, W., 2000. Selection, establishment and characterization of cell lines derived from a chemically-induced rat mammary heterogeneous tumor, by flow cytometry, transmission electron

- microscopy, and immunohistochemistry. *In Vitro Cell. Develop. Biol.-Anim.*, **36**: 153-162.
- Terzi G., Çelik T.H., Nisbet C., 2008. Determination of benzo[a]pyrene in Turkish döner kebab samples cooked with charcoal or gas fire. *Irish J. Agricul. Food Res.* **47**: 187–193.
- Todorovic, R., Ariese, F., Devanesan, P., Jankowiak, R., Small, G. J., Rogan, E., Cavalieri, E., 1997. Determination of benzo[a]pyrene- and 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-DNA adducts formed in rat mammary glands. *Chem. Res. Toxicol.* **10**: 941-947.
- Tognalli, N., Fainstein, A., Bonazzola, C., Calvo, E., 2004. Resonant Raman spectroscopy of PAH--Os self-assembled multilayers. *J Chem Phys.* **120**(4): 1905-1911.
- Tuominen, R., Baranczewski, P., Warholm, M., Hagmar, L., Moller, L., Rannug, A., 2002. Susceptibility factors and DNA adducts in peripheral blood mononuclear cells of aluminium smelter workers exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Archiv. Toxicol.* **76**(3): 178-186.
- Urbaniczky, C., Lundstrom, K., 1984. Voltammetric studies on carbon paste electrodes- the influence of paste composition on electrode capacity and kinetics. *J. Electranal. Chem.*, **176**: 169-182.
- Uslu, B., Özkan, S., 2007. Electroanalytical application of carbon based electrodes to the pharmaceuticals. *Anal.Lettr.*, **40**: 817-853.
- Uslu, B., Özkan, S.A., Şentürk, Z., 2006. Electrooxidation of the antiviral drug valacyclovir and its square-wave and differential voltammetric determination in pharmaceuticals and human biological fluids. *Anal.Chim.Acta*, **555**: 341-347.
- Vachalkova, A., Novotny, L., 1997. Polarographic testing of carcinogenicity of some chemotherapeutics. *Neoplasma*, **44**: 389-394.
- Vadhanam, M.V. HornFlesher, J.W. Gupta, R.C., 2003. Detection of benzylic adducts in DNA and nucleotides from 7-sulfooxymethyl-12-methylbenz[a]anthracene and related compounds by ³²P-postlabeling using new TLC systems. *Chem. Biol. Interact.* **146**: 81-87.

- Van Der Wielen, J.C.A., Jansen, J.T.A., Martena, M.J., De Groot, H.N., In't Veld, P.H., 2006. Determination of the level of benzo[a]pyrene in fatty foods and food supplements. *Food Additiv. Contam.*, **23**(7): 709–714
- Van Leeuwen, S.M., Hayen, H., Karst, U., 2004. Liquid chromatography-electrochemistry-mass spectrometry of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Anal. Bioanal. Chem.* **378**: 917-925.
- Van Stijn F, Kerkhoff, M.A.T., Vandeginste, B.G., 1996. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in edible oils and fats by on-line donor-acceptor complex chromatography and high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J. Chromatogr. A* **750**: 263–273.
- Viguri, J., Verde, J., Irabien, A., 2002. Environmental assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in surface sediments of the Santander Bay, Northern Spain. *Chemosphere* **48**:157–165.
- Viras, L.G., Siskos, P.A., Stephanou, E., 1987. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in Athens atmosphere. *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, **28**: 71-85.
- Vives, I., Grimalt, J. O., 2002. Method for integrated analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine compounds in fish liver. *J. Chromatogr B* **768**(2): 247-254.
- Vu-Duc, T., Huynh, C.K., Lafontaine, M., Bonnet, P., Binet, S., 2002. A spectrophotometric method for the determination of organic soluble matter in bitumen fumes. *Appl. Occup. Environ. Hyg.*, **17**: 495-500.
- Vyskocil, A., Fiala, Z., Fialova, D., Krajak, V., Viau, C., 1997. Environmental exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in Czech Republic. *Hum Exp Toxicol* **16**: 589–597
- Waidyanatha, S., Zheng, Y., Rappaport, S.M., 2003. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in urine of coke oven workers by headspace solid phase microextraction and gas chromatography/mass spectrometry. *Chem.-Biol. Interact.* **145**: 165-174.
- Wang, J., 1988. *Electroanalytical Technique in Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. USA: VCH publisher.
- Wang, J., 2000. *Analytical Electrochemistry*. Second Edition. John Wiley & Sons., Inc., New York, USA.

- Wang, J., Kawde, A.N., 2001. Pencil-based renewable biosensor for label-free electrochemical detection of DNA hybridization. *Anal. Chim. Acta*, **431**: 219-224.
- Wang, J., Kawde, A.N., Sahlin, E., 2000. Renewable pencil electrodes for highly sensitive stripping potentiometric measurements of DNA and RNA. *Analyst*, **125**: 5-7.
- Wang, J., 1985. **Stripping analysis: Principles, Instrumentation and Application**. USA: VCH Publishers.
- Wasiak, W, Cissewska, W., Ciszewski, A. 1996. Hair Analysis Part I: Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry Determination of Lead, Cadmium, Zinc and Copper in Human Hair Samples of Persons in Permanent Contact With a Polluted Workplace Environment. *Anal. Chim. Acta*, **335**: 201-207.
- White, K. L. J. R., Lysy, H. H., Holsapple, M. P., 1985. Immunosuppression by polycyclic aromatic hydrocarbons: a structure-activity relationship in B6C3F1 and DBA/2 mice. *Immunopharmacol.*, **9**: 155–164
- Wogan, G.N., Hecht, S.S., Felton, J.S., Conney, A.H., Loeb, L.A., 2004. Environmental and chemical carcinogenesis. *Sem. Cancer Biol.*, **14**: 473-486.
- Wolfe, D.E., 1977. **Fates and Effects of Petroleum Hydrocarbons in Marine Organism and Ecosystems**. Pergamon Press, Inc., Elmsford, New York. Press, Inc., Elmsford, New York, 1977.
- Woolever, C.A., Dewald, H.D., 1999. Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry of Barium and Lead in Gunshot Residues. *Forensic Sci Int.*, **117**: 185-190.
- Wopschall, R. H., Shain, I., 1967. Effect of Adsorption of Electroactive Species in Stationary Electrode Polarography. *Anal. Chem.*, **39**: 1514.
- Ximenes, M.I.N., Rath, S., Reyes, F.G.R., 2000. Polarographic Determination of Nitrate in Vegetable. *Talanta*, **51**: 49-56.
- Yaacob, M.H.B., 2006. **Stripping voltammetric methods for the determination of aflatoxin compounds** (doktora tezi, basılmamış). Faculty of Science University Technology, Malaysia.
- Yan J., Wang L., Fu P.P., Yu, H., 2004. Photomutagenicity of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons from the US EPA priority pollutant list. *Mutation Research* **557**: 99–108

- Yardımlı, Y., 2009. *Elektrokimyasal DNA biyosensörlerin bazı kullanım alanlarının guanin ya da adenin sinyali üzerinden incelenmesi* (doktora tezi, basılmamış) YYÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Yardımlı, C., Özeltin, N., 2001. Electrochemical studies and differential pulse polarographic analysis of Lansoprazole in pharmaceuticals. *Analyst* **126**: 361-366.
- Yıldız, A., Genç, Ö., Bektaş, S., 1997. *Enstrümental Analiz Yöntemleri*. 2. baskı. Hacettepe Üniversitesi Yayınları A-64, Ankara.
- Yu, H., 2002. Environmental Carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons: photochemistry and phototoxicity. *J. Environ. Sci. Health, C20*: 149-183.
- Yu, H., Yan, J., Jiao, Y., Fu, P.P., 2005. Photochemical reaction of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) and formation of DNA covalent adducts. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, **2**: 114-122.
- Yusuf, N., Timares, L., Seibert, M. D., Xu, H., Elmets, C. A., 2007. Acquired and innate immunity to polyaromatic hydrocarbons. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **224**: 308-312.
- Zeng, Y., Hong, P.K.A., 2002. Slurry-phase ozonation for remediation of sediments contaminated by polycyclic aromatic hydrocarbons. *J. Air Waste Manag. Assoc.*, **52**: 58-68.
- Zhang, Z.Q., Zhang, H., He G. F., 2002. Preconcentration with membrane cell and adsorptive polarographic determination of formaldehyde in air. *Talanta*. **57**: 317-322.
- Zimmermann, S., Menzel A., Bernaz Z., Eckhardt, J-D., Stübgen, D., Alt, F., Messerschmidt H., Taraschewski H., Sures, B., 2001. Trace Analysis of Platinum in Biological Samples: A Comparison Between Sector field ICP-MS and Adsorptive Cathodic Stripping Voltammetry Following Different Digestion Procedures. *Anal. Chim. Acta*, **439**: 203-209.
- Zor, L., 1999. Kanserojenik, Mutajenik ve Teratojenik Kimyasallar, 19.ünite. *Laboratuar Uygulamaları ve Fen Öğretiminde Güvenlik*, Anadolu Üniversitesi Açıköğretim Fakültesi Yayınları, Eskişehir.

Zuhri, A.Z.A., Voelter, W., 1998. Applications of adsorptive stripping voltammetry for the trace analysis of metals, pharmaceuticals and biomolecules. ***Fresenius J.Anal.Chem.***, **360**: 1-9.

ÖZ GEÇMİŞ

Ertuğrul Keskin, 1977 yılında Osmaniye’de doğdu. İlk ve orta öğrenimini Osmaniye’de tamamladı. 1995 yılında Selçuk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü’ne girdi ve oradan 1999 yılında mezun oldu. Aynı yıl KSÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Bölümü’nde Yüksek Lisans eğitime başladı. 2000 yılında eğitime YYÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Bölümü’nde devam etti. Yüksek lisansını 2002 de tamamladı.2003 yılında YYÜ de doktora eğitime başladı. 2008 yılında Malatya’da askerliğini tamamladı. Halen Milli Eğitim Bakanlığı’na bağlı bir orta öğretim kurumunda çalışıyor.