ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BALIK ÖRNEKLERİNDE CIVA TÜRLERİNİN HİBRİT YÖNTEMLE TAYİNİ

Medeni YILDIRIM

KİMYA ANABİLİM DALI

ÇANKIRI
2015

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Medeni YILDIRIM tarafından hazırlanan **"Balık Örneklerinde Cıva Türlerinin Hibrit Yöntemle Tayini"** adlı tez çalışması **25.05.2015** tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü KimyaAnabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman :Doç. Dr. Serhat DÖKER

Jüri Üyeleri :

Başkan : Yrd. Doç. Dr. İffet İpek BOŞGELMEZ

Üye :Yrd. Doç. Dr. Şevki ADEM

Üye :Doç. Dr. Serhat DÖKER

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Sezgin ÖZDEN
Enstitü Müdürü

.../.../201.

Kontrol edilmiştir.

Yunus Tuğberk SANALP

Bilgisayar İşletmeni

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BALIK ÖRNEKLERİNDE CIVA TÜRLERİNİN HİBRİT YÖNTEMLE TAYİNİ

Medeni YILDIRIM
Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Serhat DÖKER

Sunulan tezde balık örneklerinde cıva türlemesine yönelik özgün bir analitik yöntem geliştirilmiştir. Cıva türlerinin özütlenmesi yumuşak şartlar altında (60 °C ve pH 2,0) ve 2 dakika içerisinde başarılmıştır. Türlerin ayrılması ise yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC) sisteminin indüktif eşleşmiş plazma kütle spektrometresi (ICP-MS) ile hibritleştirilmesiyle gerçekleştirilmiştir. Organik bileşence zengin mobil faz kullanımı ve plazmaya oksijen ilavesi türlerin 4 dakika içerisinde ayrılabilmesine olanak tanımıştır. Metodun gözlenebilme sınırı inorganik cıva ve metilcıva için sırasıyla 0,2 and 0,1 ng/g olarak hesaplanmıştır. Metot, sertifikalı referans örnekler ve Karadeniz kaynaklı bazı balık örneklerine başarı ile uygulanmıştır.

2015, 39 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: Cıva türlemesi, balık, hibrit teknik, HPLC-ICP-MS

ABSTRACT

Master's Thesis

DETERMINATION OF MERCURY SPECIES IN FISH SAMPLES BY HYPHENATED TECHNIQUE

Medeni YILDIRIM

Cankiri Karatekin University

Graduate School of Natural andAppliedSciences

Department of Chemistry

Supervisor: Assoc.Prof.Dr. Serhat DÖKER

In the proposed study a novel analytical procedure was developed for extraction and speciation of mercury in fish samples. The method consists of the recovery of mercury species by microwave assisted extraction at mild conditions (60 °C and pH 2.0) in 2 min. Species separation was accomplished by hyphenation of high performance liquid chromatography (HPLC) to inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). The use of organic-rich mobile phase and the oxygen addition into plasma allowed species separation in 4 min. Limit of detection for the method was calculated as 0.2 and 0.1 ng/g for inorganic mercury and methylmercury, respectively. The method was successfully applied to certified reference materials and some commercialized fish samples from Black Sea.

2015, 39 pages

Key Words: Mercury speciation, fish samples, hyphenated technique, HPLC-ICP-MS

TEŞEKKÜR

Bu tezin başından sonuna kadar bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, bilimsel yönden yetişmemde büyük katkıları olan, maddi ve manevi desteğini esirgemeyen değerli danışman hocam Doç. Dr. Serhat DÖKER'e teşekkürlerimi sunarım.

Çankırı Karatekin Üniversitesi Analitik Araştırmalar Laboratuvarı'nda tez ve proje çalışmalarımın yürütülmesinde ve lisansüstü eğitimim boyunca birçok konuda desteğini esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. İbrahim DEMİRTAŞ, Doç. Dr. Tunay AŞKAR KONTAŞ, Yrd. Doç. Dr. İffet İpek BOŞGELMEZ, Yrd. Doç. Dr.Şevki ADEM ve Yrd. Doç. Dr.Volkan EYÜPOĞLU'na ve lisansüstü öğrencileri Musa USLU, Merve YILMAZ'a ve eğitim hayatım boyunca beni yalnız bırakmayan, maddi ve manevi her türlü desteği esirgemeyen aileme en derin teşekkürlerimi sunarım.

Medeni YILDIRIM
Çankırı, Mayıs 2015

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **i**
ABSTRACT ..... **ii**
TEŞEKKÜR ..... **ii**
SİMGELER DİZİNİ ..... **v**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **vi**
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **vii**
1. GİRİŞ **1**
1.1 Cıvanın Doğada Bulunuşu **3**
1.2 Cıva Bileşiklerinin Toksik Etkileri **4**
1.3 Toplam Cıva Tayin Metotları **7**
1.4 Elementel Türleme **8**
1.5 Türleme Yöntemleri **8**
1.6 Balıklarda Cıva Türlemesi **9**
2. KAYNAK ÖZETLERİ **11**
3. MATERYAL VE YÖNTEM **14**
3.1 Cihazlar **14**
3.2 Kimyasallar **15**
3.3 Örnek Hazırlama **16**
3.4 Toplam Cıva Tayini **17**
3.5 Kromatografik Metodun Optimize Edilmesi **17**
3.6 Cıva Türlerinin Ekstraksiyonu **18**
4. BULGULAR **19**
4.1 Toplam Cıva Tayini **19**
4.2 Kromatografik Şartların Belirlenmesi. **19**
4.3 Ekstraksiyon Şartlarının Belirlenmesi **25**
4.4Metoda İlişkin Analitik Ölçütler **27**
4.5Metodun Balık Örneklerine Uygulanması **31**
5. TARTIŞMA VE SONUÇ **34**
KAYNAKLAR **35**
ÖZGEÇMİŞ **39**

SİMGELER DİZİNİ

AAS	Atomik absorpsiyon spektrometri
AES	Atomik emisyon spektrometri
AFS	Atomik floresans spektrometri
AC	Alternatif akım
a/h	Ağırlık/hacim
amu	Atomik kütle birimi
BEC	Gürültüye karşılık gelen derişim
cps	Saniyedeki sayım
CRC-ICP-MS	Çarpışma reaksiyon hücre-İndüktif eşleşmiş plazma kütle spektrometresi
CRM	Sertifikalı referans malzeme
CV-AAS	Soğuk buhar oluşumlu atomik absorpsiyon spektrometri
DC	Doğru akım
dH2O	Deiyonize su
ETAAS	Elektro termal atomik absorpsiyon spektroskopi
eV	Elektronvolt
FAAS	Alevli atomik absorpsiyon spektroskopi
g	Gram
ICP-MS	İndüktif eşleşmiş plazma kütle spektrometresi
ICP-OES	İndüktif eşleşmiş plazma optik emisyon spektroskopi
k	Ölçüm tekrar sayısı
kg	Kilogram
L	Litre
LOD	Gözlenebilme sınırı
LOQ	Tayin sınırı
µg	Mikrogram
mg	Miligram
MHz	Megahertz
min	Dakika
mL	Mililitre
mm	Milimetre
MS	Kütle spektrometre
MW	Mikrodalga
m/z	Kütle/yük
n	Ölçüm sayısı
ng	Nanogram
RE	Bağıl hata
RF	Radyo frekansı
RSD	Bağıl standart sapma
s	Standart sapma
SPE	Katı faz ekstraksiyon
V	Volt
W	Watt

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4. 1 Mobil faz metanol bileşiminin inorganik cıva ve metilcıva türlerinin alıkonma süreleri üzerine etkisi 20
Şekil 4. 2 Mobil faz metanol bileşiminin %10 olduğu durumda cıva türleri için elde edilen HPLC-ICP-MS kromatogramı 21
Şekil 4. 3 Mobil faz metanol bileşiminin %15 olduğu durumda cıva türleri için elde edilen HPLC-ICP-MS kromatogramı 21
Şekil 4. 4 Mobil faz metanol bileşiminin %25 olduğu durumda cıva türleri için elde edilen HPLC-ICP-MS kromatogramı 22
Şekil 4. 5 Mobil faz metanol bileşiminin %35 olduğu durumda cıva türleri için elde edilen HPLC-ICP-MS kromatogramı 22
Şekil 4. 6 Mobil faz metanol bileşiminin %45 olduğu durumda cıva türleri için elde edilen HPLC-ICP-MS kromatogramı 23
Şekil 4. 7 Mobil faz metanol bileşiminin %55 olduğu durumda cıva türleri için elde edilen HPLC-ICP-MS kromatogramı 24
Şekil 4. 8 TORT-2 referans örneğine uygulanan Hg geri kazanımı üzerine çözelti merkaptoetanol derişiminin etkisi 25
Şekil 4. 9 TORT-2 referans örneğine uygulanan Hg geri kazanımı üzerine ekstraksiyon çözeltisinin sıcaklığının etkisi 26
Şekil 4. 10 TORT-2 referans örneğine uygulanan Hg geri kazanımı üzerine mikrodalga uygulama süresinin etkisi 27
Şekil 4.11 Artan derişimlerde inorganik cıva ve metil cıva standart karışımlarına ilişkin HPLC-ICP-MS kromatogramları 29
Şekil 4.12 Balık örneklerinde cıva türleri ve toplam cıva derişimleri 32
Şekil 4.13 Çeşitli balık örneklerinde inorganik cıva ve metilcıva miktarlarının dağılım yüzdeleri 33

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3. 1 ICP-MS çalışma şartları 14
Çizelge 3. 2 HPLC-ICP-MS çalışma şartları ..... 1**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**
Çizelge 3. 3 Analiz edilen balık örneklerine ait bilgiler ..... 1**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**
Çizelge 3. 4 Toplam Hg tayininiçin mikrodalga sıcaklık programı..... 1**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**
Çizelge 3. 5 Cıva türlerinin ekstraksiyonu için uygulanan mikrodalga sıcaklık programı ..... 1**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**
Çizelge 4. 1 Sertifikalı referans örneklerde (TORT-2 and DORM-2) toplam cıva tayini 19
Çizelge 4. 2 Sertifikalı referans örneklerde (TORT-2 and DORM-2) cıva türleme 28
Çizelge 4. 3 Çupra (*Sparus aurata*) için cıva türleme analizi ve standart ekleme-geri kazanım deneyleri 30

1. GİRİŞ

Balıketi insan beslenmesinde önemli yeri olan bir gıdadır. Düşük yağ oranları, zengin vitamin ve mineral maddeler ve protein içeriğinden dolayı tercih edilen besinler arasındadır (Yücel 1993).

Düzenli olarak balık tüketen toplumlarda kalp hastalıklarının düşük düzeylerde olduğu bilinmektedir. Balık tüketimi, pıhtılaşma ve yağ birikiminden oluşan damar problemlerini azalttığı, balıktaki omega-3 yağ asitinin ise kolesterol ve yüksek tansiyon değerlerini olumlu etkilediği gösterilmiştir (Köylüoğlu ve Yurteri 1999).

İnsanın sağlıklı gelişimi için özellikle protein ve enzim yapılarında bulunan bazı elementlerin yeterli miktarlarda alınması gerekmektedir. Bu elementler gereğinden fazla miktarlarda alındıklarında insana zarar vermektedirler. Bu nedenle gıdalar ve içme sularında bulunan element derişimlerinin bilinmesi oldukça önemlidir.

Vücudumuz için gerekli elementler içme suları, hava ve temel besin kaynaklarından sağlanmaktadır. Artan dünya nüfusu ve endüstrileşme doğal kaynakların hızlı bir şekilde kirlenmesine neden olmaktadır. Toprak, hava ve doğal sular yanında bu tabiattaki canlılar da farklı yapıdaki kirleticilere maruz kalmaktadır. Bu durum gerek çevredeki dengeleri gerekse canlıların sağlığını olumsuz yönde etkilemektedir. Organik ve inorganik yapıdaki farklı çevresel kirleticiler arasında ağır metaller önemli bir yer tutmaktadır.

Cıva (Hg) insan sağlığı için en zararlı çevresel kirleticiler arasındadır. Doğal sulardaki cıva miktarı özellikle endüstriyel aktiviteler sonucunda artmaktadır. Cıva düzeyleri suda yaşayan mikroorganizmalar, böcekler ve balıklar olmak üzere insan besin zinciri boyunca artmaktadır. Balıktaki cıva sudaki seviyenin 6-7 ondalık kat fazlası düzeylere kadar yükselebilmektedir.

Global sağlık otoriteleri ve farklı ülkelerdeki yasal düzenlemeler gereği yenebilir deniz ürünlerinde bulunabilecek en yüksek cıva seviyesi sınırlandırılmıştır. Bu limit günümüzde genellikle 0,5 veya 1,0 µg/g olarak kabul edilmektedir (FAO/WHO 2010). Ülkemizdeki yasal düzenleme de yenebilen balık örneklerinde bulunabilir en yüksek Hg derişimini balık türüne bağlı olarak 0,5 veya 1,0 µg/g olarak belirlemiştir (Türk Gıda Kodeksi 2008). Bu nedenle balıktaki cıva derişimleri insanlar için büyük bir risk oluşturmaktadır ve balıklardaki cıva derişimlerinin güvenilir analitik metotlarla tayini büyük önem taşır.

Bununla birlikte cıvaya ilişkin toksik potansiyelinin, cıva içeren türlerin moleküler yapısı ve özellikleri ile değiştiği bilinmektedir. Organometalik cıva türleri genellikle inorganik cıva türlerinden daha zehirleyicidir. Suda genellikle inorganik formda ve yükseltgenmiş olarak bulunan cıva iyonları (Hg^{2+}) mikroorganizmaların aktiviteleri sonucunda kolayca organometalik forma dönüşebilmektedir. Bu nedenle metilcıva (MeHg) balık örneklerinde tayin edilen başlıca cıva türüdür ve inorganik cıvaya göre oldukça toksiktir. Dolayısıyla balık örneklerinde toplam cıva tayini toksik potansiyelin yeterince doğru değerlendirilebilmesi için yetersizdir. Daha değerli bilgi ise inorganik cıva ve metilcıva türlerinin ayrıca tayinini gerektirmektedir.

Elementel türleme bir elementin farklı formlarının tayini olarak tanımlanabilmektedir ve başta gıda olmak üzere çeşitli alanlarda büyük ilgi görmektedir (Templeton *et al.*2000). Cıvanın çevresel ve toksik açıdan öneminin anlaşılması cıva türlerinin tayinine yönelik kolay, hızlı, ekonomik, duyarlı ve güvenilir analitik metotlara olan ihtiyacı ön plana çıkarmıştır. Cıva türleme çalışmalarında hibrit enstrümantal tekniklerin kullanımı önemli bir yer tutmaktadır. Hibrit teknikler bir ayırma tekniği ile bir element tayin tekniğinin doğrudan birleştirilmesi ile oluşturulan enstrümental düzeneklerdir (Szpunar 2003).

Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ve İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometrisi (ICP-MS) kombinasyonu türleme çalışmalarında kullanılan önemli bir hibrit tekniktir. Türleme çalışmalarında analit türlerin örnek hazırlama veya analiz

sürecinde bozulmaması, başka türlere veya türlerin birbirine dönüşmemesi önemli bir gerekliliktir. Bu nedenle deneylerdeki tüm aşamaların türlerin orijinal formunun korunacağı yumuşak şartlar altında gerçekleştirilmesi de önemli bir unsurdur (Reyes *et al.*2008).

Bu tez balık örneklerindeki cıva türlerinin ekstraksiyonu ve HPLC-ICP-MS hibrit tekniği ile güvenilir tayinine yönelik, hızlı ve duyarlı bir metot geliştirilmeye yönelik çalışmaları içermektedir. Geliştirilen metot, balık örneklerinde cıva türleme amaçlı uygulanmış ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir.

1.1 Cıvanın Doğada Bulunuşu

Tabiatta farklı fiziksel veya kimyasal yapılarda bulunan cıva, çok eski zamanlardan beri bilinen ve oda sıcaklığında sıvı olarak bulunan bir elementtir. Cıva periyodik tabloda 2B grubunda olup yoğunluğu 14,6 g/cm^{3}olan ağır bir metaldir. Cıva inorganik formlarda (Hg^{2+}, Hg^{2+}) veya metilcıva (MeHg, CH_3Hg^+) veya dimetilcıva (DMHg, CH_3HgCH_3) gibi organometalik formlarda bulunmaktadır.

Cıva derişimleri yerkabuğunda ortalama 0,08 μg/g, deniz suyunda $3x10^{-5}$ μg/g, havada 0,005–0,06 ng/m^3 ve bitkilerde 0,001–0,3 μg/g (genellikle < 0.01 μg/g) seviyelerindedir (ATSDR 1999).

Cıva, yerkürede doğal olarak bulunan bir maddedir. Endüstriyel alanda da cıva birçok amaçla kullanılmaktadır. Cıva bileşikleri termometrelerde, bazı metallerin üretim proseslerinde, ilaç sanayisinde, dolgu malzemesi olarak diş tedavilerinde, laboratuvar uygulamalarında, kâğıt sanayinde ve boya sanayisinde organik ve inorganik olarak kullanılmaktadır. Maden çıkarma, kömür yakma ya da cıva içeren malzemelerin atık haline gelmesi gibi çok sayıda endüstriyel faaliyet sırasında cıva toz ve buhar olarak çevreye salınır. Volkanik patlamalar esnasında cıva buharı şeklinde dışarıya verilir. Kömür veya katı yakıt yakarak elektrik üreten fabrikalardan atmosfere cıva buharı salınır, rüzgar yolu ile atmosfere yayılan cıva, yağmur yolu ile tekrar yerküreye ve

denizlere döner. 1997'de EPA'nın (Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Dairesi) yaptığı bir açıklamada, atmosferdeki cıva için en büyük kaynağın katı yakıt kullanan fabrikalar olduğu belirtilmiştir. Diğer taraftan cıvanın toksik olması kullanımının azaltılmasına, bazı endüstrilerde ise tamamen yasaklanmasına sebep olmuştur.

1.2 Cıva Bileşiklerinin Toksik Etkileri

Cıvanın suda çözünen bazı tuzları ve özellikle buharı yüksek toksik etkisiyle canlı organizmaya zarar vermektedir (Boszke *et al.* 2003). Cıva genellikle gıdalarla birlikte oral olarak, solunum yoluyla akciğerler üzerinden ve deri yoluyla bünyeye alınmaktadır. Bebeklere anne karnında plesanta üzerinden, yeni doğanlarda ise anne sütü yoluyla ulaşmaktadır. Cıva merkezi sinir sistemine, beyne, karaciğere, böbreklere ve ana rahmindeki cenine zarar veren bir maddedir. Cıva plesantadan da kolaylıkla geçebilir ve fetusun gelişmekte olan beyin dokusu üzerine nörotoksik etki oluşturabilir. Anne sütüne doğrudan geçebilir. Bu sütle beslenen yeni doğanlar da doğar doğmaz civaya maruz kalmaktadırlar. Gebelikte ve emzirme döneminde etkilenme bebek üzerince önemli zararlara yol açabilmektedir. Maruziyet sonucu bebeğin zeka gelişimi olumsuz etkilenmekte, koordinasyon bozukluğu, görme kaybı, kas gücü azalması, konuşma bozukluğu gibi bulgular görülmektedir.

Tüm cıva bileşikleri zararlı olduğu için farklı kaynaklardan salınan cıva düzeyleri insan ve diğer canlıların sağlığı açısındantehlike oluşturmaktadır. İnsanların cıvaya maruz kalması en çok gıdalar yoluyla özellikle de balıketi ve deniz ürünlerinin tüketilmesi yoluyla olmaktadır (Clemens *et al.*2012). Cıva düzeyleri suda yaşayan mikroorganizmalar, böcekler, küçük balıklar ve büyük balıklar olmak üzere besin zinciri boyunca artmakta ve insana ulaşmaktadır. Balıktaki cıva düzeyleri sudaki derişimin 6-7 ondalık kat daha fazlası düzeylere kadar yükselebilmektedir. Gıdalarda bulunabilecek en yüksek cıva derişimleri sınırlandırılmıştır. Global sağlık otoritelerine ait raporlarda ve farklı ülkelerdeki yasal düzenlemelerde yenebilir deniz ürünlerinde bulunabilecek en yüksek cıva seviyesi genellikle 0,5 µg/g olarak kabul edilmektedir (FAO/WHO 2010). Ülkemizdeki yasal düzenleme de yenebilen balık örneklerinde bulunabilecek en yüksek Hg derişimini balık türüne bağlı olarak 0,5 veya 1,0 µg/g olarak belirlemiştir (Türk Gıda

Kodeksi 2008). Bu nedenle balıktaki cıva derişimleri insanlar için büyük bir risk oluşturmaktadır ve balıklardaki cıva derişimlerinin güvenilir analitik metotlarla tayini büyük önem taşımaktadır. Bununla birlikte cıvaya ilişkin toksik veya biyoyararlılık potansiyelinin, cıva içeren türlerin moleküler yapısı ve özellikleri ile değiştiği bilinmektedir.

Elementel cıva (Hg), inorganik cıva (Hg^{2+}), metilcıva (CH_3Hg^+) ve dimetilcıva (CH_3HgCH_3) cıvaya ilişkin en önemli kimyasal yapılarıdır. Toksik özelliği en fazla olan metilcıvadır. Suda genellikle inorganik formda bulunan cıva iyonları mikroorganizmaların aktiviteleri sonucunda organometalik forma dönüşebilmektedir. Yani cıva bakteriler ve mikroorganizmalar tarafından metilcıvaya çevrilebilmektedir. İnorganik cıvayı elementel cıvaya indirgeyebilir ve cıva ile kompleks bileşikler yapabilir. Metilcıva bileşikleri de farklı çevresel etkiler sonucu inorganik cıvaya dönüşebilmektedir (Leermakers *et al.* 2005).

Organik cıva türleri genellikle inorganik cıva türlerinden daha zehirleyicidir. Ağızdan alınan cıvanın gastro intestinal süreçte en hızlı absorbe olan formu metilcıvadır. Metalik civaya benzer şekilde kan-beyin bariyerini ve plasentayı kolaylıkla geçer. Metalik civada olduğu gibi organik cıva buharı da deriden ve akciğerlerden absorbe edilebilir. Metilcıva gastro intestinal sistem yoluyla kanaldan absorbe edildikten sonra hızla kana geçer ve beyinde merkurik civaya (inorganik form) çevrilir. Bu nedenle metilcıva (MeHg) balık örneklerinde yer alan başlıca cıva türüdür ve inorganik cıvaya göre oldukça toksiktir. Balık örneklerinde toplam cıva tayini toksisite potansiyelinin doğru değerlendirilebilmesi için yetersizdir. Daha da önemlisi ise, inorganik cıva ve metilcıva türlerinin ayrıca tayinidir.

İnorganik Hg tuzları, metilcıvaya göre daha az toksiktir. Metilcıva çok hızlı bir şekilde sindirim sisteminde emilir, önce kana sonra beyine ulaşır ve sinir sisteminde geri dönüşü olmayan büyük hasarlar oluşturur. Cıva bileşikleri, proteinlere bağlanarak yapısında değişiklikler oluşturabilir. Hücre içinde biyolojik reaksiyonları katalizlemede ve hücre zarının oluşumunda önemli rol oynayan enzim ve proteinlerin aktivetesini

durdurur. Hücre zarındaki madde geçişi engelleyerek hücre zarının vazifesini yapamaz hale gelmesine sebep olur (Leermakers *et al*. 2005).

Cıva bileşiklerinin vücut içerisindeki etkileşimleri ve biriktiği dokular da farklıdır. Metalik Hg ve metilcıva kana karışarak beyinde birikmesine karşılık, inorganik cıva bileşikleri böbreklerde birikerek böbreklerin çalışmasını engellerler. Yüksek dozlarda kısa süre de olsa maruz kalınması durumunda cıva ağız, ciğer ve solunum yollarında hasar oluşturmaktadır; bunun yanında yüksek dozda cıva maruziyeti kalp krizi, tansiyon yükselmesi, deride kızarıklık, vücutta yara oluşması ve gözlerin zarar görmesine sebep olmaktadır.

Japonya'da 1950'li yıllarda bir suni gübre fabrikasına ait atıklarının Minamata Körfezi'ne bırakılması sonucu o bölgede yaşayan insanlarda çeşitli organlarında uyuşukluk, konuşma zorluğu, işitme ve görme bozuklukları gibi hastalıklar sıklıkla görülmeye başlanmıştır. Bu safhadan sonra tedavisi mümkün olmayan bu hastalıkların körfeze bırakılan cıvalı bileşiklerinden kaynaklandığı ve burada yaşayan balıklardaki cıva oranlarının olması gereken (0,5-1,0 µg/g) oranın yaklaşık yirmi katı (5-15 µg/g) olduğu tespit edilip ve körfezde balık tutulması yasaklanmıştır. Bu hastalığa da körfezin adına ithafen, "Minamata hastalığı" adı verilmiştir. Bu bileşiklerle kontamine olmuş balıklardan yiyen 2.000'den fazla kişi zehirlenmiş ve yaklaşık 900 kişi de hayatını kaybetmiştir. Organik cıva ile kontamine olmuş balıklardan yiyen gebe kadınlardan doğan çoçukların %7'sinde nörolojik problemler ortaya çıkmıştır. Benzer hadiselerden biride Irak'ta 1972 yılında cıva bileşikleri karışan buğdaylardan dolayı yaklaşık 6500 kişinin zehirlendiği ve yaklaşık 500 kişi hayatını kaybettiği olaydır(Leopold *et al.*2010).

İnorganik cıvaya göre metilcıvanın toksisitesi çok daha yüksektir. Bundan dolayı cıva türlerinin tayini büyük önem arz etmektedir. Sudaki genellikle inorganik formda bulunan cıva çeşitli mikroorganizmalar tarafından metilcıvaya (MeHg) çevrilmekte ve besin zincirine bu şekilde karışmaktadır.

Deniz besinlerini çok tüketenler, cıva artıklarının çok olduğu bölgelerde yaşayanlar, termik santraller gibi fabrikalarda çalışanlar ve buralara yakın ikamet eden bireylerin bünyelerindeki cıva düzeyleri titizlikle izlenmelidir. Saçlarda cıva analizleri de maruziyete ilişkin önemli bilgi sağlamaktadır. Cıvanın çok düşük derişimlerde dahi toksik etkilere yol açmasından dolayı, endüstriyel ürünler, gıda ve su kirliliği kontrolünde toplam cıva analizinin eser ve ultra-eser düzeylerde yapılabilmesi gerekmektedir.

1.3 Toplam Cıva Tayin Metotları

Örnek hazırlama Toplam cıva tayininde güvenilir sonuçlar elde edilebilmesi için en önemli basamak olarak kabul edilebilir. Örnek matriksindeki organik bileşenlerin parçalanması ve cıva iyonlarının çözelti fazına alınması için farklı çözünürleştirme metotları uygulanmıştır. Bu metotlar arasında asidik çözeltilerle ve sıcaklık etkisiyle çözünürleştirme (Voegborlo and Adimato 2010), TMAH yardımıyla bazik çözünürleştirme (Batista *et al.* 2009), mikrodalga yardımlı çözünürleştirme (Dos Santos *et al.*2008, Döker and Boşgelmez 2015) başlıca uygulamalar arasındadır. Mikrodalga yardımlı çözünürleştirme yüksek geri kazanım oranı, çabukluk ve kolaylığı yönüyle günümüzde tercih edilen tenkil haline gelmiştir.

Cıva tayininde önemli bir uygulama soğuk buhar yöntemidir ki bu metot karmaşık örnek matriksi içerisinden cıvanın elementel halde buharlaştırılmasına ve genellikle bir atomik spektrometri cihazının örnek giriş ünitesine verilmesine dayanmaktadır. Cıvanın soğuk buhar haline dönüştürülmesindeindirgen olarakgenellikle tetrahidroborat (THB) veya kalay klorür ($SnCl_2$) kullanılmaktadır. Cıva buharının eldesinden sonra tayin için yaygın olarak AES, AAS (Voegborlo and Adimato 2010) veya AFS (Jose da Silva 2010) kullanıldığı gibi, ICP-MS (Rodriguez *et al.* 2008, Batista *et al.* 2009) kullanımı da yaygındır.

Duyarlı ve güvenilir cıva tayinleri için hidrür oluşturma metodundan başka farklı önderiştirme veya zenginleştirme metotları da uygulanmaktadır (Pourreza and Ghanemi 2009, Zhang *et al.* 2010, Romero *et al.* 2011).

1.4 Elementel Türleme

Elementel türleme analizi; örnek içerisindeki bir elemente ait birden fazla türün nitel ve nicel olarak tayin edilmesidir (Templeton *et al.* 2000). Bir elemente ait toplam miktarı oluşturan farklı türlerin derişimi pH, çevresel etkenler ve kompleks yapıcı maddelere bağlı olarak değişmektedir. Türlerin termodinamik ve kinetik kararlılıkları da türlemeye etki eden faktörlerdendir. Kararsız halde bulunan türlerin bazı analitik önlemlerle kararlı hale dönüştürülmeleri sağlanır. Eser elementlerin etkisini saptayabilmek için çevre örnekleri, biyolojik sistemler ve endüstriyel proseslerde toplam element derişiminin tayin edilmesi yeterli bilgi sağlayamamaktadır. Bir elementi içeren farklı moleküler formlar biyoyararlanım (bioavailability) ve toksisite (toxicity) açısından farklı potansiyellere sahiptirler. Bu nedenle her bir türün ayrı ayrı tayin edilmesi büyük önem taşımaktadır.

Elementel türleme analizi günümüzde kimya, fizik, biyoloji, gıda, ilaç ve tıp gibi birçok farklı alanda ilgi duyulan bir konudur (Donard and Martin 1992, Ure and Davidson 1995, Medel 1998,Caruso and Montes-Bayon 2003, Clough *et al.* 2003, Szpunar *et al.* 2003, Leopold *et al.* 2010).

1.5 Türleme Yöntemleri

Türleme analizlerinde türlerin birbirinden ayrılabileceği şartlar genellikle tayin öncesi belirlenir. Bu amaçla uygulanan metotları kromatografik olmayan metotlar ve kromatografik metotlar olarak sınıflandırmak mümkündür.

Kromatografik olmayan metotlara dayalı yaklaşımlarda türleme, her bir hedef türün kimyasal davranış farklılıkları ile gerçekleştirilir. Bu metotlar arasında seçici

adsorpsiyon (Dakova *et al.* 2009, Türker *et al.* 2013), seçici kompleks oluşumu ve ekstraksiyon (Martinis and Wuilloud 2010), seçici buhar oluşumu (Zhang *et al*. 2011) önemli yer tutmaktadır.

Kromatografik metotlarla türleme, hedef türlerin bir kromatografik ünite boyunca yeterli seviyede birbirinden ayrıldıkmasına ve bir elemente özgül sinyal veren dedektör yardımıyla tayinine dayanmaktadır (Szpunar *et al.*2003). Atomik spektrometrik dedektörler yüksek duyarlıklarından ötürü tercih edilmektedirler. Kromatografide kullanılan mobil fazın elemente özgü dedektörle uyum göstermesi hibrit kombinasyonun seçiminde en önemli kriterlerden birisidir. Türleme çalışmalarında hedef türlerin örnek hazırlama veya analiz sürecinde bozulmaması, türlerin birbirine veya başka türlere dönüşmemesi önemli bir gerekliliktir. Bu nedenle deneylerdeki tüm aşamaların türlerin orijinal formunun korunacağı uygun şartlarda gerçekleştirilmesi önemli bir unsurdur. Gaz kromatografi ile uçucu özelliğe sahip türler ayrılabilirken (Yan *et al.* 2008, Dzurko *et al.* 2009), sıvı kromatografi de böyle bir sınırlama söz konusu değildir (Maldonado *et al.* 2009,Liu 2010,Döker and Boşgelmez 2015). Kapiler elektroforez ise kromatografik bir metot olmamasına karşın genellikle kromatografik metotlar altında sınıflandırılmaktadır. Kapiler elektroforez tekniği gaz ve sıvı kromatografik yöntemlere nazaran daha az kullanım bulmasına karşın cıva türleme çalışmalarında başarıyla uygulanmıştır (Deng *et al.* 2009, Li 2011).

1.6 Balıklarda Cıva Türlemesi

Sunulan tezde cıva türleme çalışmalarının balık örneklerinde yapılması hedeflenmiştir. Bunun başlıca nedeni inorganik formdaki cıva türlerinin sucul ortamda bakteriyel faaliyetler sonucu metillenmesi ve cıvanın en toksik formu olan metilcıvaya dönüşmesidir. Buna ilaveten cıva türlerinin planktonlar ve küçük böceklerden başlamak üzere sucul ortamdaki besin zinciri boyunca zenginleşmesi ve balıklarda önemli cıva derişimlerine ulaşmasıdır. Cıva türlerinin farklı Toksik potansiyellere sahip olması ise balıkta cıva türleme çalışmalarını hayati bir noktaya taşımaktadır.

Balıkta cıva türlemesine ilişkin iki önemli basamak, cıva türlerinin orijinal formunu korumak suretiyle etkin ekstraksiyonu ve hedef türlerin duyarlı tayinidir. Bu nedenle, sunulan tezde balık örneklerindeki cıva türlerinin yumuşak deneysel koşullarda mikrodalga yardımlı ekstraksiyonu ve HPLC-ICP-MS hibrit tekniği ile güvenilir tayinine yönelik, hızlı ve duyarlı bir metot geliştirilmesi hedeflenmiştir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Krishna ve Karunasagar (2015), balık ve bitki örneklerinde inorganik cıva ve metilcıva tayini için TMAH çözeltisi ile sonik ekstraksiyon tekniği kullanmıştır. Tayin basamağında CVAAS kullanan araştırmacılar seçici olarak inorganik cıvayı indirgeyerek buhar oluşturmuş, toplam cıva miktarı ise metilcıvanın KMnO4 ile yükseltgenmesi sonrası ölçülmüştür. Bu metotta metilcıva aradaki farktan hesaplanmıştır. Her iki türün gözlenebilme sınırı 0,014 µg/g olarak belirlenmiştir.

Döker ve Boşgelmez (2015), balık örneklerinde örneklerinde inorganik cıva ve metilcıva tayinine yönelik mikrodalga yardımlı ekstraksiyon metodunu takiben uygulanan bir HPLC-ICP-MS hibrit tekniği geliştirmişlerdir. Ters-faz kromatografiye dayalı ayırmada yüksek oranda metanol kullanarak, plazmaya oksijen eklemişlerdir. Merkürik iyon ve meticıva için gözlenebilme sınırları sırasıyla 0,2 ve 0,1 ng/g olarak rapor edilmiştir.

Zhang ve arkadaşları (2014), çevresel ve biyolojik örneklerde cıva türleme çalışmasında polimer içerisinde iyon baskılama tekniğini uygulamış ve seçici adsorpsiyon için ditizon-Hg^{2+}kompleksini kalıp olarak kullanmışlardır.

Chen ve arkadaşları (2013), inorganik ve organik cıva türlerinin tayininde katyon değişim kromatografiye bağlı bir ICP-MS sistem kullanmıştır. Yöntem sertifikalı referans örneklere (denizsuyu ve balık dokusu) ve gerçek örneklere başarıyla uygulanmıştır. Yazarlar analiz edilen balık örneklerinde yasal sınırı aşan düzeyde cıvaya rastlamamışlardır.

Schmidt ve arkadaşları (2013), balık örneklerinde cıva türleme öncesi kurutma işlemlerinin karşılaştırılması için liyofilizasyon ve etüvde kurutma tekniklerinin karşılaştırmıştır. Toplam cıva CV-ICP-MS ile tayin edilirken türleme için sıvı kromatografiye bağlı sistemden (LC-CV-ICP-MS) faydalanmışlardır. Etüv

kullanıldığında 100 °C sıcaklık aşılmadığı sürece her iki kurutma tekniğinin de uygun olduğu belirtilmiştir.

Türker ve arkadaşları (2013), inorganik ve organik cıva türlerinin tayinini, her iki türün katı faz üzerine pH:4,0 te adsorplanmasından sonra seçici desorpsiyon ve CV-AAS ile tayine dayandırmışlardır. Metilcıva 0,1 M HCl çözeltisi ile desorbe olurken, inorganik cıva desorpsiyonunda 3 M HCl içerisinde 0,2 M tiyoüre çözeltisi uygulanmıştır. Yöntem balık ve su örneklerine uygulanmış ve merkürik iyon ve meticıva için gözlenebilme sınırları sırasıyla 0,56 ve 0,44 µg/L olarak rapor edilmiştir.

Balık örneklerindeki inorganik cıva, metilcıva ve etilcıva türlerinintayininde kapiler elektroforez sonrası ICP-MS ile tayine dayalı bir analitik yöntem geliştirilmştir. Gözlenebilme sınırları 0,021 ve 0,032 ng Hg/mL olarak hesaplanmıştır (Zhao *et al.*2012).

Tüzen ve arkadaşları (2009), Dowex Optipore SD-2 reçinesine *Streptococcus pyogens* yüklenmiş bir katı faz hazırlamışlar ve inorganik ve organik cıva türlerini zenginleştirme sonrası tayin etmişlerdir. MeHg iyonları 0,1 mol/L HCl ile Hg(II) iyonlarını ise 2 mol/L HCl çözeltisiyle seçici olarak desorbe edilmişt ve cıva miktarının belirlenmesi için CV-AAS yöntemi kullanılmıştır. Potansiyel olarak girişime neden olabilecek metal iyonlarının etkileri de incelenmiştir. Gözlenebilme sınırları Hg(II) ve MeHg için sırasıyla 2,1 ng/L ve 1,5 ng/L olarak rapor edilmiştir. Yöntemde her iki analit için zenginleştirme faktörü 25 olarak bulunmuştur. Araştırmacılar yöntemi sertifikalı referans madde (NRRCCC-DORM 2 Dogfish Muscle), doğal su ve çevre örneklerine uygulamışlardır.

Lopez ve arkadaşları (2010), balık örneklerinde Hg türlerinin ekstraksiyonu için mikrouç ile sonik ekstraksiyon metodunu önermiş ve başarılı sonuçlar elde etmişlerdir. Metodun avantajı çok düşük miktardaki örneklerin ekstralksiyonuna imkan sağlamasıdır. Türleme metodu olarak ters-faz kolona bağlı ICP-MS kullanılmıştır.

Bulutlanma noktası ekstraksiyon metodu ile balık cıva türlerinin zenginleştirme sonrası tayin edildiği bir metotta türler APDC kompleksi halinde HPLC-CV-AFS ile tayin edilmişlerdir (Yu 2005).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Cihazlar

Çöktürme işlemlerinde NF800 model santrifüj kullanılmıştır (Nuve, Ankara, Turkey). Örnek çözünürleştirme işlemleri için bir Start D model mikrodalga örnek çözünürleştirici kullanılmıştır (Milestone, Sorisole, Italy). Örnekler bir Mettler Toledo XP6 yüksek hassaslıkta terazi ile yapılmıştır. Toplam element derişimi tayinleri 7700-X model ICP-MS (Agilent, Tokyo, Japan) ile gerçekleştirilmiş olup, sistem bir oktopol çarpışma/reaksiyon hücresi ve bir CETAC ASX-520 model oto örnekleyici üniteye (Omaha, Nebraska, USA) sahiptir. ICP-MS çalışma şartları Çizelge 3.1'de görülmektedir.

Çizelge 3. 1 ICP-MS çalışma şartları

Plazma gücü, W	1550
Plazma gazı, L min^{-1}	15
Sisleştirme gazı akış hızı, mL min^{-1}	0,78
Sisleştirici	Micromist sisleştirici
Örnekleme derinliği, mm	8
Konlar	Nikel
Oktopol potansiyeli, V	-18
Kuadrupol potansiyeli, V	-15
İzotoplar	^{200}Hg, ^{201}Hg, ^{202}Hg
Veri toplama	Spektrum analizi
İntegrasyon süresi, s	0,1
Pik örnekleme (pik başına veri alma)	Full quant (3)
Tekrarlama	3

HPLC-ICP-MS hibrit sisteminin kurulmasında kromatografik ünite olarak bir 1260 serisi HPLC cihazından faydalanılmıştır. Kromatografik ayırmalar bir 1260 serisi HPLC cihazı ile yürütülmüştür (Agilent, Germany). Sistem dört pompalı, kolon fırını ve UV-Viz dedektöre sahiptir. Hibrit sistem oluşturulurken kromatografi kolonu çıkışı bir PEEK (polieter eterketon) kılcal ile ICP-MS cihazının sisleştirme ünitesine doğrudan bağlanmıştır. Kromatogramların oluşturulmasında Microsoft Excel programından yararlanılmıştır. HPLC-ICP-MS deneylerine ilişkin çalışma şartları Çizelge 3.2'de görülmektedir. Balık örneklerinde cıva türleri ve toplam cıva derişimleri ile türlerin dağılım grafikleri ise GraphPad Prism 6.01 ile oluşturulmuştur.

Çizelge 3. 2 HPLC-ICP-MS çalışma şartları

Column	Zorbax C-18 (100 x 4.6 mm, 3.5 µm)
Mobil faz	%55.0 metanol, %0.1 merkaptoetanol, 60 mmol L^{-1} amonyum asetat, pH 4,0
Akış hızı, mL min^{-1}	0,45
Sıcaklık, °C	25
Enjeksiyon hacmi, µL	50
Plazma gücü, W	1550
Plazma gazı, L min^{-1}	15
Sisleştirme gazı akış hızı, mL min^{-1}	0,78
Sisleştirici	Mikrokonsentrik sisleştirici
Örnekleme derinliği, mm	10
İzotoplar	^{200}Hg, ^{201}Hg, ^{202}Hg
Veri toplama	Zamana bağlı

3.2 Kimyasallar

İnorganik cıva ve metilcıva standartları, cıva (II) klorür ve metilcıva klorür tuzlarından hazırlanmıştır (Sigma-Aldrich, USA). Merkaptoetanol, amonyum asetat, asetik asit ve hidrojen peroksit Sigma marka kullanılmıştır (Sigma-Aldrich, USA). Nitrik asit,

hidroklorik asit ve metanol Merck marka temin edilmiştir (Darmstadt, Germany). Ultra saf düzeyde su, Milli-Q sistem (Billerica, MA, USA) üzerinden üretilmiştir. Kullanılan gazlar yüksek saflıkta (99,999%) temin edilmiştir (Ankara Gas, Ankara, Turkey). Tüm cam ve plastik malzemeler, gün aşırı 10%'luk HNO_3 çözeltisine yatırılmış ve ultra saf su ile çok sayıda durulama sonrası kullanılmıştır.

3.3 Örnek Hazırlama

Çankırı şehir merkezinde farklı marketlerden altı balık çeşidi toplandı ve analiz için uygun şekilde hazırlandı. Balık örneklerine ilişkin bazı bilgiler Çizelge 3.3'te görülmektedir.

Çizelge 3.3 Analiz edilen balık örneklerine ait bilgiler

Latince İsmi	**Türkçe İsmi**	**İngilizce İsmi**	**Örnek Adedi**
Mullus barbatus	Barbun	Red mullet	4
Sparus aurata	Çupra	Gilt-head seabream	2
Trachurus mediterraneus	Istavrit	Horse mackerel	6
Mugil soiuy	Rus Kefali	Mullet	4
Dicentrarchus labrax	Levrek	European sea bass	3
Pomatomus saltatrix	Sarıkanat	medium-sized bluefish	3

Balık örneklerinin dış yüzeyi deiyonize su ile kabaca temizlendikten sonra kılçık, yüzgeçler, deri ve iç organlar ayrıldı ve yenilebilir kısımlar bir araya getirilerek homojenize edildi. Örnekler 40 °C sıcaklıkta 48 saat boyunca etüv içerisinde tutularak kurutuldu. Yaş ve kuru ağırlıkları tartılarak nem oranları hesaplandı (Ortiz *et al.* 2002). Kuru örnekler agat havanda daha küçük parçalara ayrılarak analize kadar -20 °C sıcaklıkta saklandı. Örnekler homojenize edildiği için tüm sonuçlar "gram yenebilir doku" için ifade edildi.

Sertifikalı doku örnekleri olan TORT-2 (Lobster hepatopancreas) and DORM-2 (Dogfish muscle) (National Research Council Canada) ise kuru ve liyofilize halde olduğu için herhangi bir ön işleme tabi tutulmadı.

3.4 Toplam Cıva Tayini

Kurutulmuş balık örnekleri veya liyofilize balık dokusundan alınan ve hassas tartılan yaklaşık 200 mg örnek mikrodalga kaplara alınarak üzerine 7,0 mL derişik HNO_3 and 1,0 mL H_2O_2eklendi. Mikrodalga sıcaklık programı aşağıdaki şekilde uygulandı (Çizelge 3.4). Mikrodalga kapları yeterince soğutulduktan sonra açılarak toplam örnek hacmi 50,00 mL olacak şekilde seyreltildi ve cıva derişimleri Çizelge 3.1'de verilen koşullarda ICP-MS ile analiz edildi. Aynı şartlarda elde edilen bir çözelti ise kör olarak hazırlandı.

Çizelge 3. 4 Toplam Hg tayininiçin mikrodalga sıcaklık programı

Süre, min	**Sıcaklık, °C**
0	Oda sıcaklığı
15	200
30	200
30-40	Vantilasyon

3.5 Kromatografik Metodun Optimize Edilmesi

İnorganik cıva ve metilcıva içeren standartların karıştırılmasıyla elde edilen çözelti, model örnek çözelti olarak hazırlandı ve uygun kromatografik şartların belirlenmesinde kullanıldı. Optimizasyon çalışmalarında toplam ayırma süresi, piklerin çözünürlüğü ve ICP-MS sinyal şiddetine ilişkin değerler göz önüne alındı.

3.6 Cıva Türlerinin Ekstraksiyonu

Balık örneklerindeki cıva türlerinin orijinal formunu koruyarak kantitatif olarak ekstrakte edilebilmesi için deneyler farklı şartlarda gerçekleştirildi. Böylece ekstraksiyon üzerine merkaptoetanol derişimi, sıcaklık ve mikrodalga etkileşim süresi gibi değişkenlerin etkileri değerlendirildi. Toplam cıva derişimleri ve ekstraksiyon sonrası cıva derişimleri karşılaştırılarak ekstraksiyon verimleri hesaplandı.

Ekstraksiyon için uygun şartlar özetlenecek olursa; Kurutulmuş balık örnekleri veya liyofilize balık dokusundan alınan ve hassas tartılan yaklaşık 200 mg örnek mikrodalga kaplara alınarak üzerine %0,15 merkaptoetanol ve 0,01 M HCl içeren 10,00 mL ekstraksiyon çözeltisi eklendi. Mikrodalga sıcaklık programı aşağıdaki şekilde uygulandı (Çizelge 3.5). Mikrodalga yardımlı ekstraksiyon sonrası örnekler 3000 x g gravitasyon kuvvetinde 3 dakika santrifüjlendi ve 0,22 µm gözenek çaplı PVDF (poliviniliden florür) filtreden süzüldü. Elde edilen çözeltiden 50 µm'lik bir kısım HPLC-ICP-MS sisteme enjekte edilerek cıva türleri tayin edildi. Aynı şartlarda elde edilen bir çözelti ise kör olarak hazırlandı.

Çizelge 3. 5 Cıva türlerinin ekstraksiyonu için uygulanan mikrodalga sıcaklık programı

Süre, min	**Sıcaklık, °C**
0	Oda sıcaklığı
1	60
3	60
3-13	Vantilasyon

4. BULGULAR

4.1 Toplam Cıva Tayini

Toplam cıva tayinlerinde, örnekler nitrik asit ve hidrojen peroksit varlığında mikrodalga uygulanması ile çözünür hale getirilmiştir.

Çizelge 4.1 Sertifikalı referans örneklerde (TORT-2 and DORM-2) toplam cıva tayini

	Sertifikalı değer ($\mu g\ g^{-1}$)	[a] Bulunan değer ($\mu g\ g^{-1}$)
TORT-2	0,27±0,06	0,277±0,012
DORM-2	4,64±0,26	4,651±0,074

[a] değerler mikrodalga çözünürleştirme sonrası ICP-MS ile tayin ile elde edilmiştir ve ortalama ± standart sapma (n=3) olarak ifade edilmiştir.

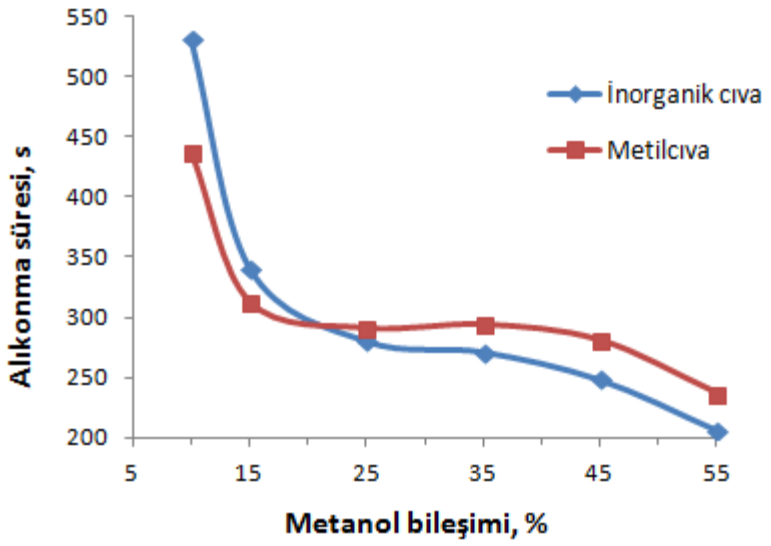
Çizelge4.1 iki farklı sertifikalı referans örnekte bulunan toplam cıva derişimlerini ve mikrodalga çözünürleştirme sonrası ICP-MS ile elde edilen cıva derişimlerini göstermektedir. Elde edilen veriler referans örnekler için elde edilen değerlerin sertifikalı değerlerle uyum içerisinde olduğunu göstermektedir.

Mikrodalga işleminden sonra elde edilen numune berrak ve beyaz renkli olması organik matriksin tam olarak parçalandığını göstermektedir. Mikrodalga çözünürleştirme işleminin kapalı kaplarda gerçekleştirilmesi analit kaybı veya kirlenme riskini azalttığı için sonuçların doğruluğunu iyileştirmektedir.

4.2 Kromatografik Şartların Belirlenmesi

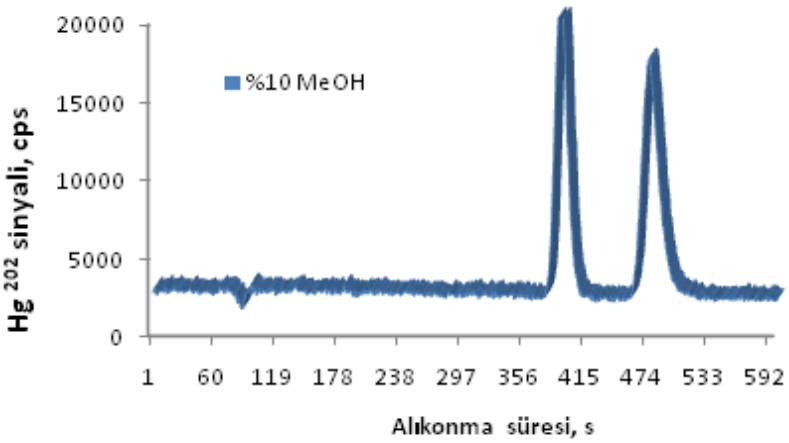
İnorganik cıva ve metilcıva içeren model çözelti ile yapılan optimizasyon çalışmalarında başlangıç şartları olarak %0,1 merkaptoetanol, %3 MeOH ve 60 mM amonyum asetat içeren ve pH değri 3,0'e ayarlanmış bir mobil faz çözeltisi hazırlandı.

Mobil faz C-18 kolon içerisinden 0,75 mL/min akış hızı ile geçirildi. Bu şartlar altında once metilcıva sonra da inorganik cıvanın kolondan elue olduğu gözlemlendi fakat her iki türün kolondan çıkması 20 dakikadan daha fazla bir zaman almakta idi. Bu nedenle mobil faz içerisindeki metanol bileşiminin artırımına gidilerek türlerin kolondan daha az sürede çıkmasını için deney şartlarında değişikliğe gidildi. Metanol içeriğinin artırılması ile türlerin alkonma sürelerinde önemli ölçüde azalma görüldü. Toplam analiz süresinin %10 MeOH için başlangıç (20 min) değerinin yarısından daha az bir süreye indiği (yaklaşık 10 min) Şekil 4.1'de görülmektedir. Metanol oranı %15'e çıkarıldığında, kromatografik çözünürlüğün korunduğu ve elusyon sürelerinin daha da azaldığı görüldü. Bununla birlikte MeOH oranı %25'e çıkarıldığında inorganik cıva ve metilcıva piklerinin iç içe geçtiği ve yeterli ayrılma için alıkonma sürelerinin birbirinden yeterince farklı olmadığı görülmektedir (Şekil 4.1 ve Şekil 4.4).

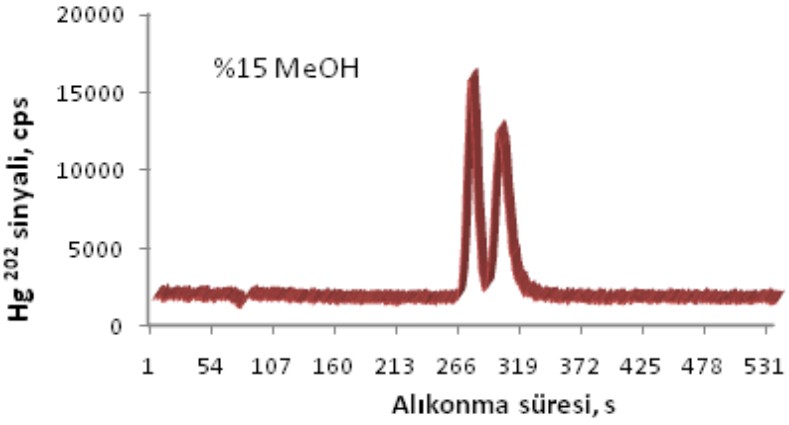


Şekil 4.1 Mobil faz metanol bileşiminin inorganik cıva ve metilcıva türlerinin alıkonma süreleri üzerine etkisi

Şekil 1'deki verilerin elde edildiği deneylere ait kromatogramlar sırasıyla Şekil 4.2-7'de görülmektedir.

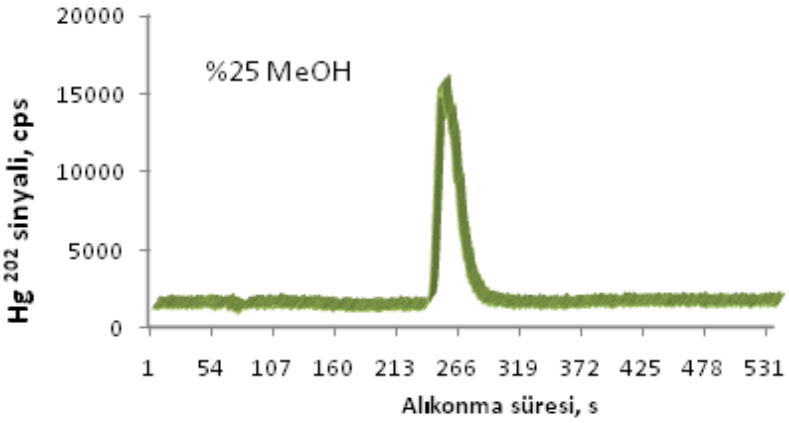


Şekil 4.2 Mobil faz metanol bileşiminin %10 olduğu durumda cıva türleri için elde edilen HPLC-ICP-MS kromatogramı



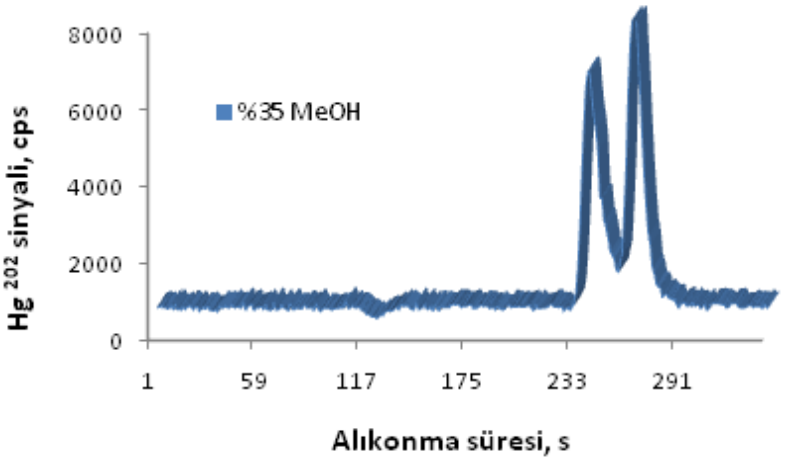
Şekil 4.3 Mobil faz metanol bileşiminin %15 olduğu durumda cıva türleri için elde edilen HPLC-ICP-MS kromatogramı

Metanol oranını %10'dan %15'e çıkarılmasıyla toplam elusion süresinde yaklaşık iki dakikalık bir kısalma olmakta, kromatografik çözünürlük ise nispeten azalmasına rağmen yeterli ayırım sağlanmış durumdadır.



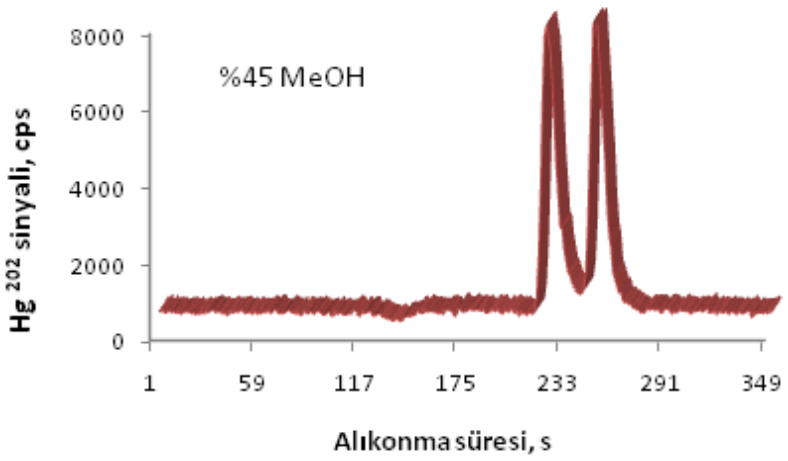
Şekil 4.4 Mobil faz metanol bileşiminin %25 olduğu durumda cıva türleri için elde edilen HPLC-ICP-MS kromatogramı

Mobilfaz metanol içeriği %35 olduğu durumda inorganik cıva ve metilcıvaya ait pikler tamamen örtüşmekte ve ayırım mümkün olamamaktadır. Bu durumda metanol oranının %15'i aşmaması gerektiği açıktır. Diğer taraftan daha yüksek metanol oranlarında inorganik cıva ve metilcıvaya ilişkin alıkonma sürelerinin farklı büyüklüklerde değişme gösterdiği gözlemlenmiştir.



Şekil 4.5 Mobil faz metanol bileşiminin %35 olduğu durumda cıva türleri için elde edilen HPLC-ICP-MS kromatogramı

Metanol oranının %45'lere artırılmasıyla cıva türlerinin elusyon sırasında değişme olması dikkate değerdir. Metanol oranını %35'i aştığında ilk once inorganik cıva pikinin görülmesi ve yeterli sure sonra metilcıvanın elüe olması toplam analiz süresini kısaltma imkanını sağlamıştır (Şekil 4.6).



Şekil 4.6 Mobil faz metanol bileşiminin %45 olduğu durumda cıva türleri için elde edilen HPLC-ICP-MS kromatogramı

Metanol oranındaki artış %55'e çıkarıldığında ise her iki cıva türünün alıkonma sürelerinin bir miktar daha kısaldığı ve kromatografik çözünürlüğün korunduğu görülmektedir (Şekil 4.7).

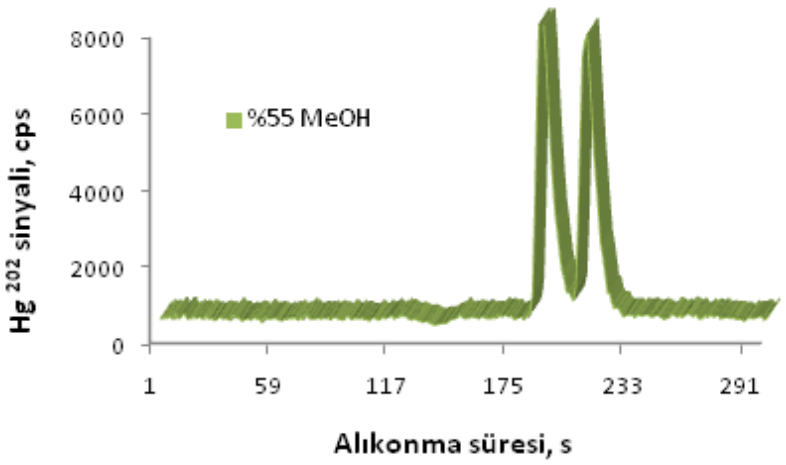
%55'ten daha yüksek metanol oranı uygulandığında ise kromatografik çözünürlük korunmak şartıyla toplam analiz süresinde daha fazla azalma sağlanamamıştır. Bu nedenle mobil faz metanol içeriği %55 değerinde sabit tutulmuştur.

Metanol oranı artırılırken iki parametre olumsuz etkilenmektedir. Bunlardan birisi kolon basıncıdır ki, bu etkiyi dengeleyebilmek için akış hızı kademeli olarak azaltılmış ve 0,45 mL/min'lik mobil faz akış hızı ideal kolon basıncını sağlamak için yeterli

olmuştur. Bir diğer parametre ise plazmanın artan metanol oranından olumsuz etkilenmesi ve plazmanın iyonlaştırıcı gücünün azalmasıdır. Bu etkiyi bertaraf edebilmek için plazmaya uygun oranlarda oksijen gazı ilavesi yapılarak organik çözeltinin tam olarak parçalanamamasından kaynaklanan plazmada oluşan yeşil renk giderilmiştir.

Cıva türlerinin kromatografik ayrılmasına mobil faz asitliğinin etkisini belirleyebilmek üzere, çözelti pH değeri 2,0-5,0 aralığında değiştirilmiştir. Deneyler türlerin kromatografik davranışına pH nın önemli ölçüde etki etmediğini göstermiştir. Bu yüzden kolon ömrü de göz önüne alınarak, takip eden deneylerde mobil faz, pH'sı 4,0 olacak şekilde hazırlanmıştır.

Cıva türlerinin kromatografik ayrılmasında, kolon basıncı, Hg izotoplarının sinyal şiddeti, pikler arası çözünürlük ve toplam analiz süresi göz önünde bulundurulmuş ve nihai deneysel şartlar; mobilfaz içeriği %0,1 merkaptoetanol, %55 metanol, 60 mM amonyum asetat (pH:4,0) olarak, mobil faz akış hızı ise 0,45 mL/min olacak şekilde belirlenmiştir.

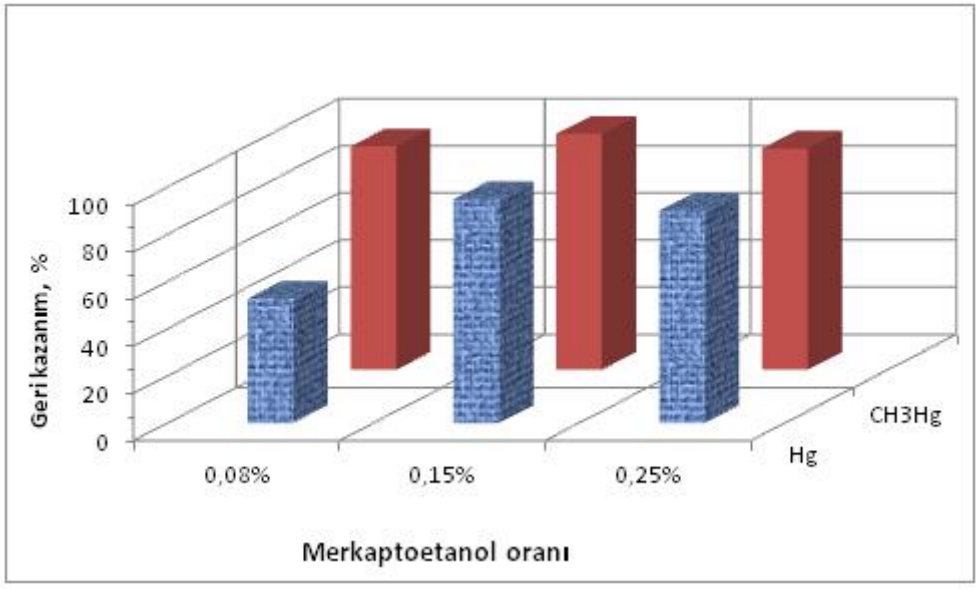


Şekil 4.7 Mobil faz metanol bileşiminin %55 olduğu durumda cıva türleri için elde edilen HPLC-ICP-MS kromatogramı

4.3 Ekstraksiyon Şartlarının Belirlenmesi

Cıva türlerinin etkin bir ekstraksiyonla balık dokusundan ayrılabilmesi ve çözelti fazına alınması için gerekli deneysel koşullar araştırılmıştır. Bu amaçla ekstraksiyon çözeltisi faklı merkaptoetanol derişimleri içerecek şekilde hazırlanmış ve TORT-2 referans örneği için geri kazanım oranları hesaplanmıştır (Şekil 4.8). Bunun için sertifikalı dokudaki ve ekstraksiyon çözeltisindeki toplam Hg derişimleri yanında cıva türlerinin tayini de yapılmıştır.

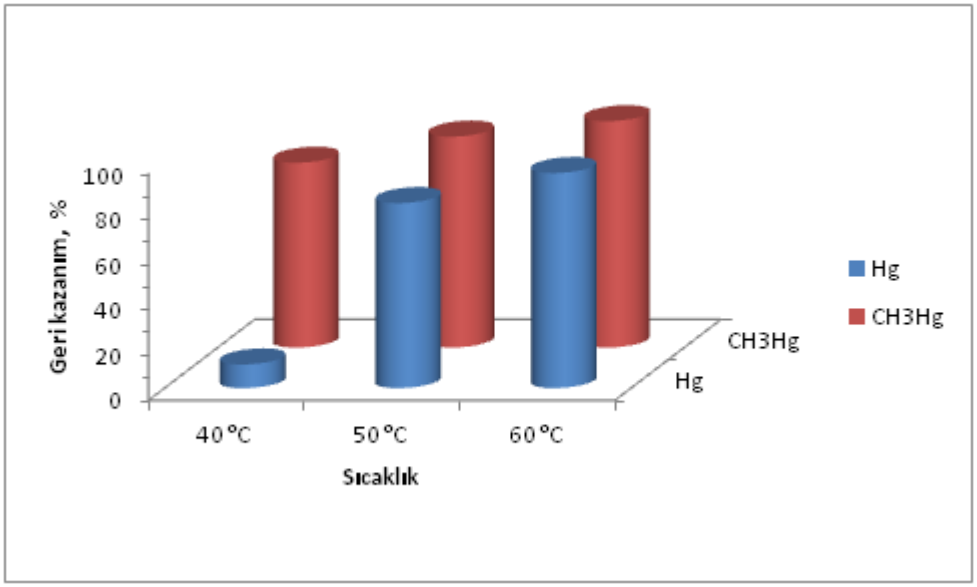
Ekstraksiyon deneyleri en yüksek geri kazanım değerlerinin %0,15 merkaptoetanol çözeltisi kullanıldığında ulaşıldığını göstermiştir.



Şekil 4.8 TORT-2 referans örneğine uygulanan Hg geri kazanımı üzerine çözelti merkaptoetanol derişiminin etkisi

Ekstraksiyon verimine etki eden önemli bir faktör ise sıcaklıktır. Şekil 4.9'da sıcaklığın üç farklı değere ayarlandığı şartlarda cıva türlerinin ekstraksiyon verimleri görülmektedir. 40''°C de verim nispeten düşük iken 60 °C'de her iki tür için kantitatifgeri kazanın değerlerinin elde edildiği görülmektedir. Aşırı yüksek sıcaklıklar

türler arası dönüşümlerin ortaya çıkmasına neden olabileceği ve türlememe analizlerinde hatalı sonuçlara yol açtığı bilinmektedir. Bu nedenle ekstraksiyonlarda daha yüksek sıcaklıklara ilişkin deneyler yapılmadan ekstraksiyon için 60 °C uygun değer olarak kabul edilmiştir.

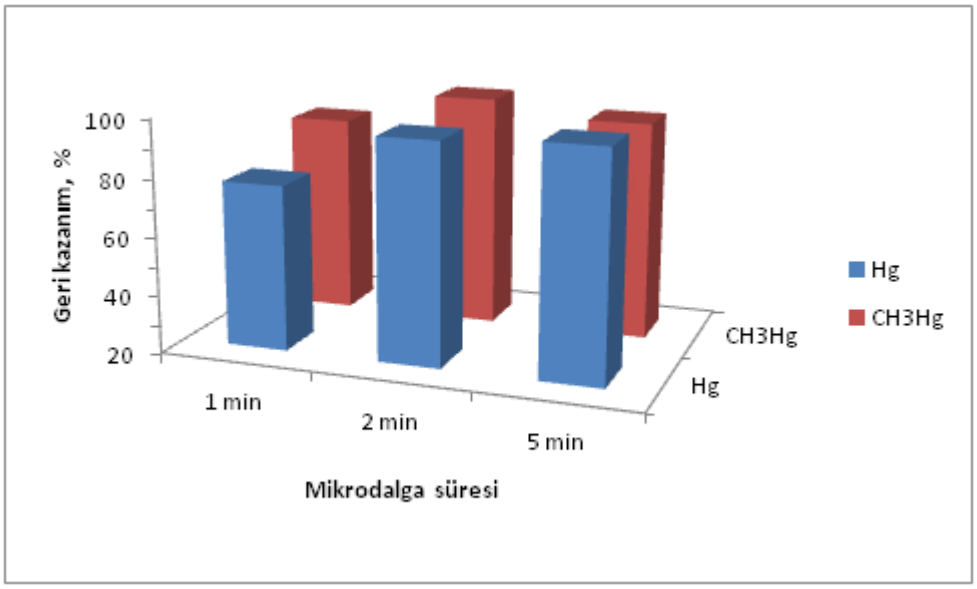


Şekil 4.9 TORT-2 referans örneğine uygulanan Hg geri kazanımı üzerine ekstraksiyon çözeltisinin sıcaklığının etkisi

Belirlenen uygun koşullar sabit tutularak mikrodalga süresinin cıva türlerinin geri kazanımına olan etkisi araştırılmış ve mikrodalga süresi 1, 2 ve 5 min boyunca uygulanarak geri kazanım değerleri hesaplanmıştır. Sonuçlar 2 min lık mikrodalga muamelesinin kantitatif verim elde edebilmek için yeterli olduğunu göstermiş ve bu değer uygun değer olarak kabul edilmiştir. Bunun haricinde, ekstraksiyon deneylerinde çözelti asitliğinin pH: 2,5'in altında olmasınında ekstraksiyonun etkinliği için gerekli olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.10).

Geri kazanım değerlerinin optimizasyon çalışmalarında parametrelerden birinin uygun değeri sınanırken diğer parametrelerin daha önce belirlenen değerlerinde sabit tutulduğunu belitmek gerekir.

Ekstraksiyon deneyleri sonucunda uygun ekstraksiyon şartları %0,15 merkaptoetanol içeren 10 mL çözelti (pH<2,5) ile 60 °C sıcaklıkta 2 min mikrodalga uygulanması olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.10 TORT-2 referans örneğine uygulanan Hg geri kazanımı üzerine mikrodalga uygulama süresinin etkisi

4.4 Metoda İlişkin Analitik Ölçütler

Kromatografik şartların ve ekstraksiyon koşullarının optimize edilmesinden sonra metoda ilişkin analitik ölçütler araştırıldı. Öncelikle toplam cıva tayin metodu ile elde edilen sonuçların doğruluğu için denyler yapıdı. Bu deneyler iki kısımda ele alınabilir ki, ilk olarak iki farklı sertifikalı doku örneği mikrodalga çözünürleştirme sonrasında ICP-MS ile analiz edildi ve toplam Hg derişimleri tayin edildi. Elde edilen sonuçların sertifikalı örneklere ait değerler ile uyum içerisinde olduğu Çizelge 4.1'de görülmektedir.

Buna ilaveten sertifikalı örneklere cıva türleme analizi de uygulanarak türleme analizinde cıva türlerinin ekleme-geri kazanım değerleri hesaplanmıştır. Yumuşak şartlarda mikrodalga ekstraksiyon sonucu elde edilen ekstrakt HPLC-ICP-MS ile analiz edilerek TORT-2 ve DORM-2 örneklerindeki inorganik cıva ve metilcıva derişimleri

tayin edilmiştir (Çizelge 4.2). Türleme analizi sonucunda bulunan metilcıva ve toplam cıva derişimleri referans örneklerin sertifikalı değerleri ile uyum halinde olduğu görülmüştür. Diğer taraftan hibrit HPLC-ICP-MS metodu ile tayin edilen inorganik cıva ve metilcıva değerlerinin matematiksel toplamı, gerek doğrudan toplam Hg tayininde elde edilen sonuçla gerekse sertifikalı toplam Hg içeriği ile çok yakın değerlerde olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4. 2 Sertifikalı referans örneklerde (TORT-2 and DORM-2) cıva türleme

	Sertifikalı değerler ($\mu g\ g^{-1}$)		[a] HPLC-ICP-MS metodu ile bulunan değerler ($\mu g\ g^{-1}$)		
CRM	Metilcıva	Toplam cıva	İnorganik cıva	Metilcıva	[b] Toplam tür
TORT-2	0,152±0,013	0,27±0,06	0,140±0,014	0,149±0,004	0,288±0,018
DORM-2	4,47±0,32	4,64±0,26	0,159±0,007	4,499±0,106	4,659±0,102

[a] değerler mikrodalga ekstraksiyon sonrası HPLC-ICP-MS tayini ile elde edilmiştir ve ortalama ± standart sapma (n=3) olarak ifade edilmiştir.

[b] inorganik cıva ve metilcıva toplamı.

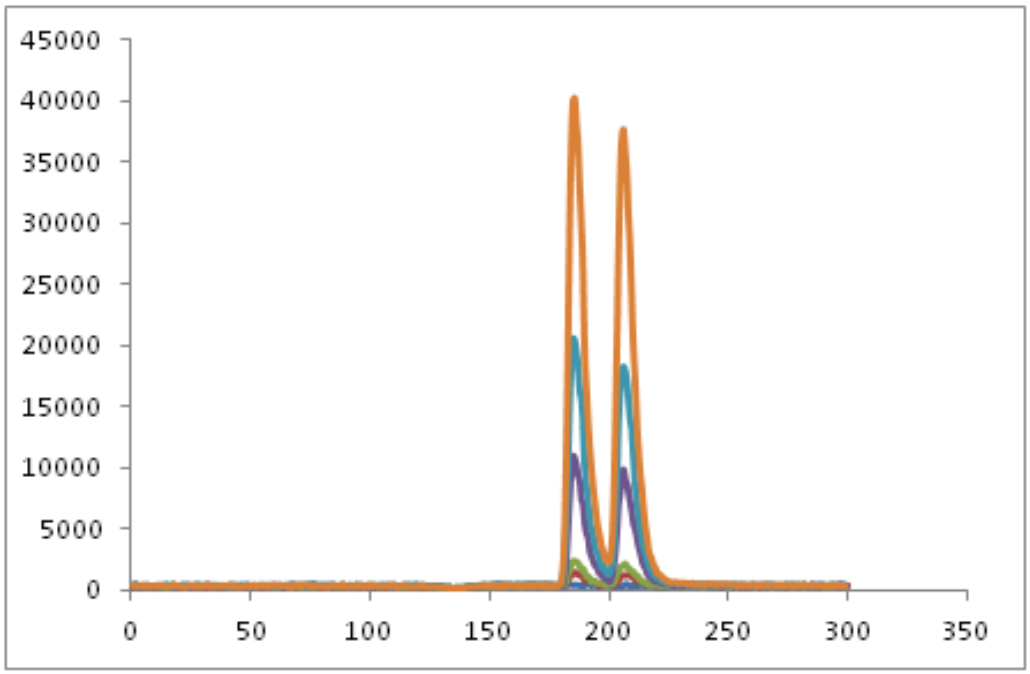
Metoda ilişkin doğruluk çalışmaları, piyasadan temin edilen balık örneklerinin analizi ile ayrıca teyit edilmiştir. Çupra (*Sparus aurata*) örneğiiçin standart ekleme-geri kazanım deneyleri yapılmış olup, sonuçlar Çizelge 4.3'te görülmektedir.

Türleme analizleri sonucunda örnekler için elde edilen inorganik cıva ve metilcıva derişimlerinin toplamı, toplam Hg tayininde elde edilen değerlerle uyum içerisinde olması yöntemin doğruluğuna ilişkin önemli bir kanıttır. Buna ilaveten elde edilen ekleme-geri kazanım değerleride de cıva türlerinin kantitatif olarak geri kazanılabildiğini göstermektedir.

Çizelgeden görüleceği üzere eklenen derişim için inorganik cıva ve metilcıva türlerine ait geri kazanım değerlerinin %95 ten daha büyük olarak elde edildiği, bağıl standart sapma (RSS) ve bağıl hata (RE) değerlerinin sırasıyla %3,2 ve %3,0 ten büyük olmadığı görülmüştür. Elde edilen değerler yöntemin yüksek doğruluk ve kesinliğe sahip olduğunu göstermektedir.

Geliştirilen yöntemin gözlenebilme sınırı 200 mg lık kuru doku baz alındığında inorganik cıva ve metilcıva için sırasıyla 0,2 ve 0,1 µg/kg olarak hesaplanmıştır. Deneyler sırasında elde edilen veriler, her iki cıva türü için gün içi tekrarlanabilirlik değerlerinin %2,5, günler arası tekrarlanabilirlik için ise %3 ten daha düşük değerlerde olduğunu göstermiştir.

Gerek ICP-MS ile yapılan toplam tayin metodu için, gerekse HPLC-ICP-MS ile yapılan türleme analizlerinde kalibrasyon doğrusu için korelasyon sabiti (R^2) daima 0,99'dan daha büyük değerler elde edilmiştir. Şekil 4.11'de artan derişimlerde inorganik cıva ve metilcıva içeren standart karışımlarına ilişkin HPLC-ICP-MS kromatogramları görülmektedir.



Şekil 4.11 Artan derişimlerde inorganik cıva ve metil cıva standart karışımlarına ilişkin HPLC-ICP-MS kromatogramları

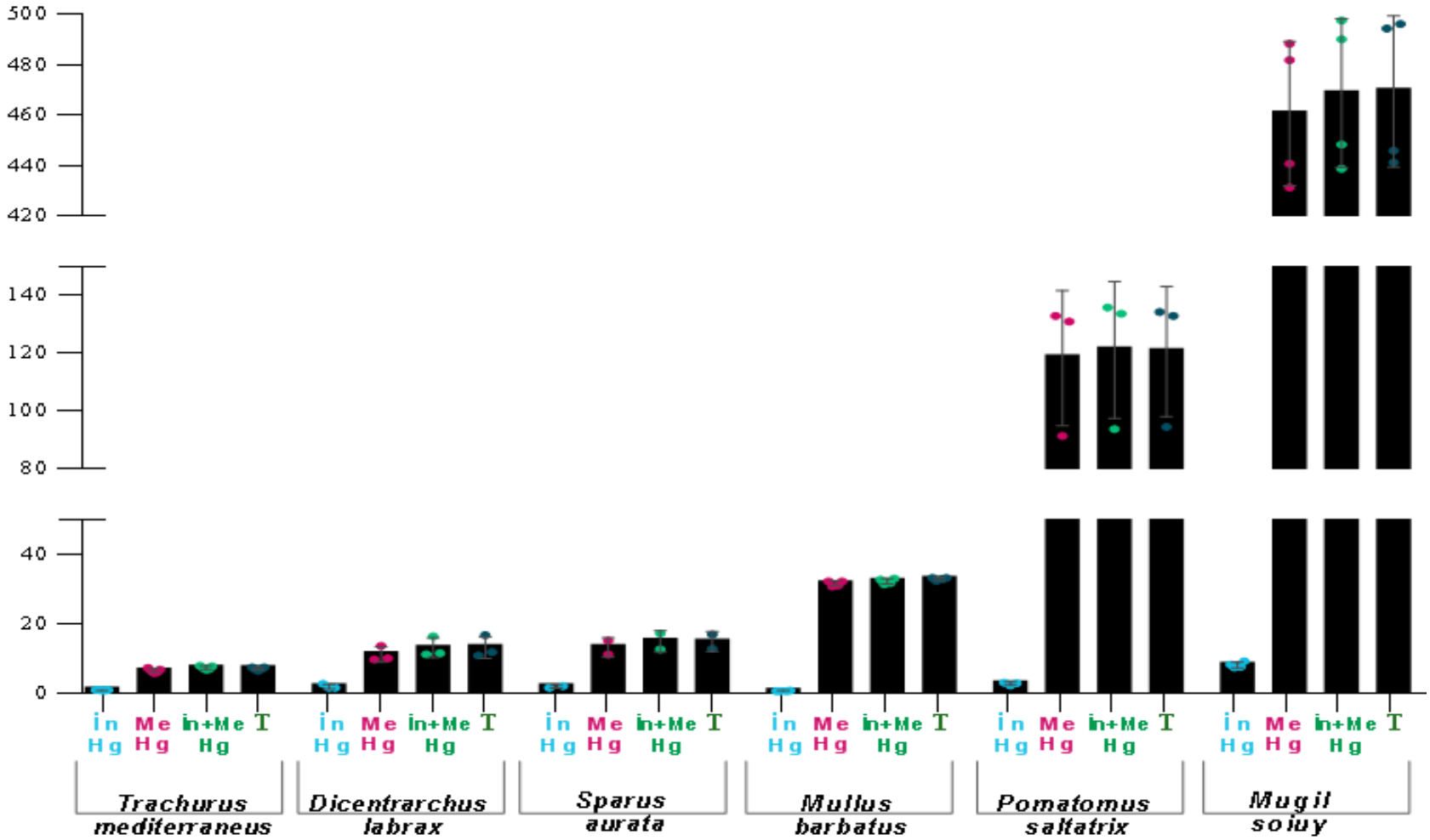
Çizelge 4. 3 Çupra (*Sparus aurata*) için cıva türleme analizi ve standart ekleme-geri kazanım deneyleri

Eklenen ($ng\ g^{-1}$)		[a]Bulunan ($ng\ g^{-1}$)			Geri kazanım (%)			[b]RSS([c]RE) (%)		
Hg(II)	MeHg	Hg(II)	MeHg	Toplam Hg	Hg(II)	MeHg	Toplam Hg	Hg(II)	MeHg	Toplam Hg
0.0	0.0	6,3±0,2	46,6±1,0	52,9±1,2				3,2	2,1	2,2
200.0	200.0	200,1±2,9	242,2±3,3	442,2±5,4	96,9±1,5	97,8±1,9	97,3±1,6	1,4 (-3.0)	1,4 (-1,8)	1,2 (-2,4)

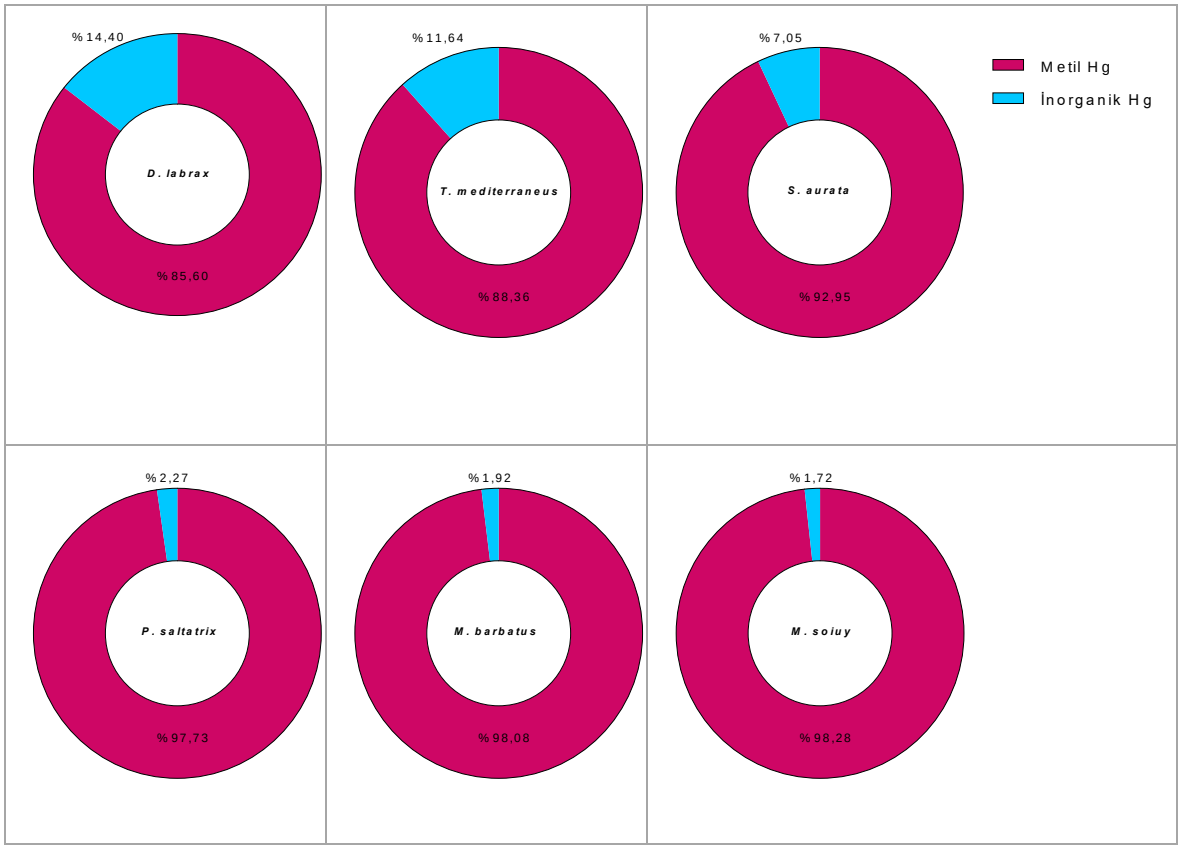
[a] derişim değerleri kuru doku bazında ifade edilmiştir, ortalama ± standart sapma (n=3); [b] bağıl standart sapma; [c] parantez içindeki değerler bağıl hata değerleridir

4.5 Metodun Balık Örneklerine Uygulanması

Balık örneklerinde cıva türlemesi için geliştirilen metot, piyasadan temin edilen balık örneklerine (Çizelge 3. 3) başarıyla uygulamıştır. Şekil 4.12'de altı balık örneğindeki inorganik cıva (İn-Hg), metilcıva (MeHg), inorganik cıva + metilcıva toplamı (İn+Me Hg) ve toplam cıva (T) derişimleri grafiksel olarak gösterilmiştir. Şekil 4.13 ise, çeşitli balık örneklerinde inorganik cıva ve metilcıvanın dağılım yüzdelerini göstermektedir. Metil cıvanın incelenen tüm örneklerde baskın cıva türü olması dikkat çekicidir.



Şekil 4.12 Balık örneklerinde cıva türleri ve toplam cıva derişimleri



Şekil 4.13 Çeşitli balık örneklerinde inorganik cıva ve metilcıvanın miktarlarının dağılım yüzdeleri

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Balık örneklerinde cıva türlemesi için geliştirilen metot hızlı, basit, ekonomik, çevreci, güvenilir, duyarlı ve yüksek kesinliğe sahip bir metottur. Balık örneklerinin mikrodalga yardımlı ekstraksiyon sonrası hibrit HPLC-ICP-MS sistemle analizi, cıva türleme amaçlı oldukça uygun bir sistemdir. Bu metot, gıda örneklerinde elementel türleme analizleri için kıymetli veriler ortaya koyma potansiyeli taşımaktadır.

Grafiklerden (Şekil 4.12, 4.13) görüldüğü üzere örneklerdeki cıva türlerinin dağılımı balık türüne göre değişmektedir. Bu dağılıma çevresel faktörlerin de etki ettiği bilinmektedir. Bu durum elementel türleme analizi ile ulaşılan bilginin değerini ve gerekliliğini net olarak ortaya koymaktadır. En yüksek cıva derişimlerinin tayin edildiği *Mugil soiuy* örneklerinde cıvanın en toksik formu olan metilcıvanın toplam cıva miktarının %98 ini teşkil etmesi, toksik potansiyeli artırıcı bir özellik olması muhtemeldir. Her iki cıva türü açısından en yüksek içerik *Mugil soiuy* örneklerinde tayin edilmiş olup, derişimler Dünya Sağlık Örgütünün (WHO) belirlediği limit olan 0,5 µg/g sınırına çok yakın bulunmuştur (FAO/WHO 2010). Bu nedenle gebeler, emziren anneler ve çocuklar gibi metilcıva toksisitesi açısından risk altında olan grupların balık tüketiminde dikkatli olmaları önemli gözükmektedir.

KAYNAKLAR

ATSDR, 1999. Toxicological Profile for Mercury. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta, GA, 1-888-42.

Batista, B.L., Grotto, D., Rodrigues, J.L., De Oliveira Souza, V.C. and Barbosa Jr, F. 2009. Determination of trace elements in biological samples by inductively coupled plasma mass spectrometry with tetramethylammonium hydroxide solubilization at room temperature. Analytica Chimica Acta, 646, 23–29.

Boszke, L., Siepak, J. and Falandysz, J. 2003. Total mercury contamination of selected organisms in the Puck Bay, Baltic Sea, Poland. Polish Journal of Environmental Studies, 12 (3), 275-278.

Caruso, J.A. and Montes-Bayon, M. 2003. Elemental speciation studies - New directions for trace metal analysis. Ecotoxicology and Environmental Safety, 56 (1), 148-163.

Chen, X. P., Han, C., Cheng, H. Y., Wang, Y. C., Liu, J. H., Xu, Z. G. and Hu, L. 2013. Rapid speciation analysis of mercury in seawater and marine fish by cation exchange chromatography hyphenated with inductively coupled plasma mass spectrometry. Journal of Chromatography, 1314, 86-93.

Clemens, S., Monperrus, M., Donard, O. F. X., Amouroux, D. and Guerin, T. 2011. Mercury speciation analysis in seafood by species-specific isotope dilution: method validation and occurrence data. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 401(9), 2699-2711.

Clough, R., Harrington, C.F., Hill, S.J., Madrid, Y. and Tyson, J.F. 2013. Atomic spectrometry update. Elemental speciation review Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 28 (8), 1153-1195.

Dakova, I., Karadjova, I., Georgieva, V. and Georgiev, G. 2009. Ion-imprinted polymethacrylic microbeads as new sorbent for preconcentration and speciation of mercury. Talanta, 78, 523–529.

Deng, B., Xiao, Y., Xu, X., Zhu, P., Liang, S.and Mo, W. 2009. Cold vapor generation interface for mercury speciation coupling capillary electrophoresis with electrothermal quartz tube furnace atomic absorption spectrometry: determination of mercury and methylmercury. Talanta, 79, 1265–1269.

Donard, O.F.X. and Martin, F.M. 1992. Hyphenated tecniques applied to environmental speciation studies. Trends in Analytical Chemistry, 11 (1), 17-25.

Dos Santos, E.J., Herrmann, A.B., Azzolin Frescura, V.L., Sturgeon, R.E. and Curtius, A.J. 2008. A novel approach to cold vapor generation for the determination of mercury in biological samples. Journal of the Brazilian Chemical Society, 19, 929–934.

Döker, S. and Boşgelmez, İ. 2015. Rapid Extraction and Reverse Phase-Liquid Chromatographic Separation of Mercury (II) and Methylmercury in Fish Samples with Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometric Detection Applying Oxygen Addition into Plasma. Food Chemistry, 184, 147-53.

Dzurko, M., Foucher, D. and Hintelmann, H. 2009. Determination of compound-specific Hg isotope ratios from transient signals using gas chromatography coupled to multicollector inductively coupled plasma mass spectrometry (MC-ICP/MS). Analytical and Bioanalytical Chemistry, 393, 345–355.

FAO/WHO. 2010. Joint FAO/WHO expert consultation on the risks and benefits of fish consumption, Rome, Italy, 25 – 29 January 2010. EC: RBFC/2010/3.

Grandjean, P. 1998. Health Significance of Metal Exposures, Mercury, Maxcy-Rosenau-Last, Public Health and Preventive Medicine, Ed: Wallace RB, Fourteenth Edition, USA. Apleton and Large, 502-503.

Jose da Silva, M., Palm, A.P.S., Fernanda Pimentel, M., Luisa Cervera, M.and De la Guardia, M. 2010. Determination of mercury in rice by cold vapor atomic fluorescence spectrometry after microwave-assisted digestion. Analytica Chimica Acta, 667, 43–48.

Köylüoğlu, C. ve Yurteri, Ö. 1999. Sağlıklı Beslenme ve Omega-3. Gıda, 2000 Eylül-Ekim, 30-32.

Krishna, M.V. B. and Karunasagar, D. 2015. Robust ultrasound assisted extraction approach using dilute TMAH solutions for the speciation of mercury in fish and plant materials by cold vapour atomic absorption spectrometry (AAS).Analytical Methods, 84 (21), 9199–9207

Leemakers, M., Baeyens, W., Quevauviller, F. and Horvat, M. 2005. Mercury in environmental samples: Speciation, artifacts and validation. Trends in AnalyticalChemistry, 24(5), 383-393

Leopold, K., Foulkes, M. and Worsfold, P. 2010. Methods for the determination and speciation of mercury in natural waters-A review. Analytica Chimica Acta, 663 (2), 127-138

Li, B.H. 2011. Rapid speciation analysis of mercury by short column capillary electrophoresis on-line coupled with inductively coupled plasma mass spectrometry. Analytical Methods, 3, 116–121.

Liu, Q. 2010. Determination of mercury and methylmercury in seafood by ion chromatography using photo-induced chemical vapor generation atomic fluorescence spectrometric detection. Microchemical Journal, 95, 255–258.

López, I., Cuello, S., Cámara, C. and Madrid, Y. 2010. Approach for rapid extraction and speciation of mercury using a microtip ultrasonic probe followed by LC-ICP-MS. Talanta, 82 (2), 594-599.

Maldonado Santoyo, M., Landero Figueroa, J.A., Wrobel, K. and Wrobel, K.2009. Analytical speciation of mercury in fish tissues by reversed phase liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry with Bi(3+) as internal standard. Talanta, 79, 706–711.

Martinis, E.M. and Wuilloud, R.G. 2010. Cold vapor ionic liquid-assisted headspace singledrop microextraction: a novel preconcentration technique for mercury species determination in complex matrix samples. Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 25, 1432–1439.

Medel, S.A. 1998. Toxic Trace Metal Speciation: Importance and Tools for Environmental and Biological Analysis. Pure and Applied Chemistry, 70 (12), 2281-2285.

Ortiz, A. I. C., Albarran, Y. M. and Rica, C. C. 2002. Evaluation of different sample pre-treatment and extraction procedures for mercury speciation in fish samples. Journal of Analytical Atomic Spectrometry,12, 1560–1563

Osterloh, JD. and Torcher, AB. 1992. Environmental and Biological Monitoring, Principles and Practise of Environmental Medicine, Ed: Torcher AB, Plenum Medical Book Company, New York, 504-506.

Pourreza, N. and Ghanemi, K. 2009. Determination of mercury in water and fish samples by cold vapor atomic absorption spectrometry after solid phase extraction on agar modified with 2-mercaptobenzimidazole. Journal of Hazardous Materials, 161, 982–987.

Reyes, L.H., Rahman, G.M.M., Fahrenholz, T. and Kingston, H.M.S. 2008. Comparison of methods with respect to efficiencies, recoveries, and quantitation of mercury species interconversions in food demonstrated using tuna fish. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 390 (8), 2123–2132.

Rodrigues, J.L., Nunes, J.A., Batista, B.L., De Souza, S.S. and Barbosa F. Jr. 2008. A fast method for the determination of 16 elements in hair samples by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) with tetramethylammonium hydroxide solubilization at room temperature. Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 23, 992–996.

Romero, V., Costas-Mora, I., Lavilla, I. and Bendicho, C. 2011. Cold vapor-solid phase microextraction using amalgamation in different Pd-based substrates combined with direct thermal desorption in a modified absorption cell for the determination of Hg by atomic absorption spectrometry. Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy, 66, 156–162.

Schmidt, L., Bizzi, C. A., Duarte, F. A., Dressler, V. L. and Flores, E. M. M. 2013. Evaluation of drying conditions of fish tissues for inorganic mercury and methylmercury speciation analysis. Microchemical Journal, 108, 53-59, Spectrometry, 17(12), 1595-1601.

Szpunar, J., Lobinski, R. and Orange, A. 2003. Hyphenated techniques for elemental speciation in biological systems. Applied Spectroscopy, 57 (3), 102A-112A.

Taylor, JR. 1992b. Disorders of the Nervous System, Principles and Practice of Environmental Medicine, Ed: Tarcher AB, Plenum Medical Book Company, New York, 233-234.

Templeton, D.M., Ariese, F.,Cornelis, R.,Danielson,L.G.,Muntau,H., Van Leeuwen, H.P. and Lobinski, R. 2000. Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements. Definitions, structural aspects, and methodological approaches (IUPAC recommendations 2000).Pure and Applied Chemistry, 72 (8), 1453-1470.

Türk Gıda Kodeksi, 2008. Gıda Maddelerindeki Bulaşanların Maksimum Limitleri Hakkında Tebliğ, Tebliğ No: 2008/26.

Türker, A.R., Çabuk, D. and Yalçinkaya, Ö. 2013. Preconcentration, Speciation, and Determination of Mercury by Solid Phase Extraction with Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry. Analytical Letters, 46 (7), 1155-1170.

Türker, D.Y. 2012. Speciation and Determination of Inorganic Mercury and Methylmercury by Headspace Single Drop Microextraction and Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry in Water and Fish. Clean – Soil Air Water, 40 (5), 523-530.

Tüzen, M., Uluozlu, Ö.D., Karaman, İ. and Soylak, M. 2009. Mercury (II) and methyl mercury speciation on Streptococcus pyogenes loaded Dowex Optipore SD-2. Journal of Hazardous Materials, 169, 345–350.

Ure, A.M. and Davidson, C.M. 1995. Chemical Speciation in the Environment. Chapman and Hall, London, 1-59.

Voegborlo, R.B. and Adimado, A.A. 2010. A simple classical wet digestion technique for the determination of total mercury in fish tissue by cold-vapour atomic

absorption spectrometry in a low technology environment. Food Chemistry, 123, 936–940.

Yan, D., Yang, L. and Wang, Q. 2008. Alternative thermodiffusion interface for simultaneous speciation of m organic and inorganic lead and mercury species by capillary GC–ICP MS using tri-n-propyl-lead chloride as an internal standard. Analytical Chemistry, 80, 6104–6109.

Yu, L.P. 2005. Cloud point extraction preconcentration prior to high-performance liquid chromatography coupled with cold vapor generation atomic fluorescence spectrometry for speciation analysis of mercury in fish samples. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53 (25), 9656-9662.

Yücel, A. 1993. Et ve Su Ürünleri Teknolojisi, Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Ders Notları, Bursa, 47, 70-76.

Zhang, L., Chang, X., Hu, Z., Zhang, L., Shi, J. and Gao, R. 2010. Selective solid phase extraction and preconcentration of mercury (II) from environmental and biological samples using nanometer silica functionalized by 2,6-pyridine dicarboxylic acid. Microchimica Acta, 168, 79–85.

Zhang, W.B., Xue, J.J., Yang, X.A. and Wang, S.B. 2011. Determination of inorganic and total mercury in seafood samples by a new ultrasound-assisted extraction system and cold vapor atomic fluorescence spectrometry. Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 26, 2023–2029.

Zhang, Z., Li, J., Song, X., Ma, J. and Chen, L. 2014. Hg2+ ion-imprinted polymers sorbents based on dithizone-Hg2+ chelation for mercury speciation analysis in environmental and biological samples. RSC Advances, 4 (87), 46444-46453.

Zhaoa, Y.Q., Zhenga, J.P., Fanga, L., Linb, Q., Wuc, Y.N., Xue, Z.M. and Fu, F.F. 2012. Speciation analysis of mercury in natural water and fish samples by using capillary electrophoresis-inductively coupled plasma mass spectrometry. Talanta, 89, 280-285.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı	: Medeni YILDIRIM
Doğum Tarihi	: 20.07.1980
Doğum Yeri	: Horasan / Erzurum
Medeni Hali	: Evli
E-Posta	: medeni44@hotmail.com
Yabancı Dili	: İngilizce
Telefon No	: 0530 884 81 90
Adres	: İğdeli Köyü Horasan / ERZURUM

Eğitim Durumu

Lise	: Erzurum Atatürk Lisesi, 1998
Lisans	: Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü, 2004
Yüksek Lisans	: Çankırı Karatekin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, 2015