

TEKNOFEST

HAVACILIK, UZAY VE TEKNOLOJİ FESTİVALİ

ÇEVRE VE ENERJİ TEKNOLOJİLERİ YARIŞMASI

PROJE DETAY RAPORU

PROJE ADI: Makrotehlike Mikroplastiklerin Tespiti için
Nanopartikül Tabanlı (Esaslı) Yeni Nesil Sensör

TAKIM ADI: Ege Çevrecileri

TAKIM ID: T3-19749-161

TAKIM SEVİYESİ: Lise

DANIŞMAN ADI: Dr. Barış Demirdağ

İçindekiler

1. Proje Özeti (Proje Tanımı).....	3
2. Problem/Sorun.....	3
3. Çözüm.....	3
4. Yöntem.....	4
4.1. Solüsyonların Hazırlanması.....	4
4.1.1. Asetat Buffer Hazırlanması.....	4
4.1.2. Grafen Oksit Hazırlanması.....	4
4.1.3. 10 mM PBS + 100 mM NaCl Hazırlanması.....	4
4.1.4. Borate Klorürün Hazırlanması.....	4
4.2. Kalem Ucu Elektrotların Hazırlanması ve Şartlandırılması.....	4
4.3. Kalem Ucu Elektrotların Kimyasal ve Fiziksel Olarak Grafen Oksit Modifikasyonu...5	5
4.4. Ebonit, Doğal Kauçuk ve PMMA'nın Gümüş Nanopartiküllerle Bağlanması.....5	5
4.5. AgNP ile Muamele Edilmiş Ebonit, Doğal Kauçuk ve PMMA'nın Elektrokimyasal Ölçümünün Alınması.....	6
5. Yenilikçi (İnovatif Yönü).....	6
6. Uygulanabilirlik.....	6
7. Tahmini Maliyet ve Proje Zaman Planlaması.....	7
8. Proje Fikrinin Hedef Kitle (Kullanıcılar).....	7
9. Riskler.....	8
10. Proje Ekibi.....	8
11. Kaynaklar.....	8

1. Proje Özeti (Proje Tanımı)

Bu çalışmada, denizlerdeki mikroplastiklerin, deniz suyundaki miktarını ve varlığını belirlemek amacıyla özgün bir potansiyometrik analiz yöntemi geliştirilmiştir. Bu amaçla denizde bulunan mikroorganizmaların etkisi ile yapılarına sülfür bağlandığı ispatlanan mikroplastiklerin, yapısından faydalanılarak nanopartiküller ile modifikasyonuna ve böylece elektrokimyasal tespitinin yapılmasına imkan veren bir yöntem, potansiyometrik ölçümleri için grafen tabanlı bir sensör geliştirilmiştir. Deney, ilk olarak yapılarında sülfür grupları bulunduran mikro boyuttaki ebonit ve doğal kauçuk plastik polimerlerin sülfür gruplarına AgNP (gümüş nanopartikül) bağlanması ile gerçekleştirilmiştir. Bu işlem ayrıca sentez esnasında yapısına sülfür grubu eklenen PMMA (polimetilmetakrilat) için de uygulanmıştır. Potansiyometrik ölçümler için, grafen oksit modifikasyonu işlemi yapılan grafit kalem ucu elektrotlar kullanılmıştır. AgNP (20nm) ile modifiye edilmiş farklı miktarlarda (5-400 tane) PMMA, ebonit ve doğal kauçuk bazlı mikroplastiklerin potansiyometrik ölçümleri alınmıştır. Ebonit, doğal kauçuk ve PMMA'nın 15 uL (0.02 mg/mL) AgNP ile bağlandığı SEM cihazı kullanılarak gözlemlenmiştir. PMMA ve ebonit miktarı değiştirilerek alınan ölçümlerde yüksek duyarlılıkta mikroplastik tespiti gerçekleştirilmiştir. Tayin sınırı (LOD) seviyeleri PMMA ve ebonit için ayrı ayrı hesaplanmıştır. Önerilen özgün yöntem ile çevre için önemli bir sorun haline gelen mikroplastiklerin deniz suyunda tespiti için kullanışlı, sistemli ve günümüzde kullanılan ve yapılması planlanan filtre yöntemlerine entegre edilebilecek fonksiyonel bir elektrokimyasal yöntem geliştirilmiştir.

2. Problem/Sorun:

Denizlerde bulunan mikroplastikler, ayrıştırılmalarının zor olması ve deniz canlıları tarafından besin olarak görülerek ekosisteme taşınmaları nedeniyle 21. yüzyılın en önemli çevre problemlerinden biri haline gelmişlerdir (Görsel 1).



Görsel 1. Plastiklerin ekolojik denge ve çevreye etkisi

Buna bağlı olarak mikroplastiklerin deniz suyundaki tespitleri için günümüzde kullanılan yöntemler; maliyeti yüksek ekipmanlar içermeleri, hata oranlarının yüksek olması (%70'e varan) ve teknik açıdan kusurlu olmaları nedeniyle mikroplastik tespitini doğru ve kolay bir şekilde gerçekleştirememiş ve yetersiz kalmışlardır. Bu sebeple günümüzün teknolojisine uygun, maliyeti ve hata oranı düşük, uygulanabilirliği yüksek yeni nesil tespit yöntemlerinin tasarlanması ve geliştirilmesi, bu sorunun çözümü için zorunlu ve gerekli hale gelmiştir.

3. Çözüm

Yapılan literatür araştırmaları sonucu elde edilen bilgilere göre mikroplastiklerin deniz suyu içerisinde zooplankton, fitoplankton ve mavi-yeşil alg gibi mikroorganizmalar aracılığıyla; çeşitli biyolojik süreçler sonucunda sülfür grupları ile bağlandıkları ispatına ulaşılmıştır (Collignon, 2012; Savoca, 2016). Bu noktadan hareketle yaptığımız çalışmada, sülfür bağlı mikroplastiklerin gümüş nanopartiküllerle (AgNP) bağlanabileceği, bu sayede mikroplastiklerin deniz suyundaki varlığı ve miktarının kantitatif ve kalitatif analizinin

alınabileceği kanıtlanmıştır. Böylece 21. yüzyılın en önemli sorunlarından biri haline gelen denizlerdeki mikroplastikleri tespit etmede yetersiz kalan yöntemlere alternatif olarak grafen ve nanopartikül tabanlı fonksiyonel bir elektrokimyasal tespit yöntemi ortaya konmuştur.



Görsel 2: Çalışma hücresi



Görsel 3: Deney ortamı

4. Yöntem

4.1. Solüsyonların Hazırlanması

4.1.1. Asetat Buffer Hazırlanması

0,2 M, 50 mL çalışma solüsyonu hazırlamak için laboratuvarında bulunan 17,47 M ticari asetik asitten, 1 M, 10 mL asetik asit hazırlamak için 0,57 mL alınıp 10 mL hacme tamamlandı.

$$M_1 * V_1 = M_2 * V_2$$

$$17,47 * x = 1 * 10 = 0,57 \text{ mL stok asetik asit}$$

0,2 M 50 mL asetik asit hazırlamak için 1 M çözeltiden 10 mL alındı ve deiyonize su ile 50 mL tamamlandı. 1M 10 ml sodyum asetat hazırlamak için 0,82 gr toz sodyum asetat deiyonize su ile 10 ml tamamlandı (Mw=82,03g/mol). 0,2 M Asetat buffer hazırlamak için 4 1 mL 0,2 M asetik asit ve 9 mL 1 M sodyum asetat karıştırıldı. pH 4.4 'e ayarlandı.

4.1.2. Grafen Oksit Hazırlanması

1 mg/mL olacak şekilde çalışılacak hacme göre grafen oksit tartıldı. Toplamda %50 grafen oksit %50 asetat buffer olacak şekilde 30 mL solüsyon hazırlandı. 15 mg grafen oksit hassas terazide tartıldı. 15 mL deiyonize su ile süspansiyon hale getirilerek ve 10 dk ultrasonik cihazında dispers edildi. Tamamen çözünen grafen oksitler 15 mL asetat buffer ile seyreltildi ve çalışmaya hazır hale getirildi.

4.1.3. 10 mM PBS + 100 mM NaCl Hazırlanması

Laboratuvarında 50 mM PBS ve 5 M NaCl stok solüsyonları bulunmaktadır. Stok solüsyonlardan dilüsyon ile hedef solüsyon hazırlandı. 10 mL, 10 mM PBS+100 mM NaCl hazırlamak için; 50 mM PBS stok solüsyonundan 2000 µL, 5 M NaCl stok solüsyonundan 200 µL alınarak temiz 15 mL santrifüj tüpüne alındı ve distile su ile 10 mL'ye tamamlandı.

4.1.4. Borate Klorürün Hazırlanması

0,1 M 50 mL borate buffer hazırlamak için 0,31 gr borik asit deiyonize su ile 50 ml tamamlandı (Mw=61,83g/mol). NaOH ile pH=7,4 ayarlandı (Yaklaşık 25 µl). 0,1 M 50 ml NaCl hazırlamak için 0,29 g NaCl deiyonize su ile 50 ml tamamlandı (Mw=58,44g/mol). NaOH ile pH=7,4 ayarlandı (Yaklaşık 1 µL).

4.2. Kalem Ucu Elektrotların Hazırlanması ve Şartlandırılması

Tombow marka 0.7 mm 2B kalem uçları alınıp bir uçlarına iletken bakır bant yapıştırıldı. 5 mL'lik mikrosantrifüj tüplere 5mL kadar pH10 buffer (mavi renkli) ilave edildi. Kalem uçları 15 dk pH10 buffer'da bekletildi. 15 dk sonra uçlar yere değmeyecek şekilde mikrosantrifüj standında kurumaya bırakıldı. Kuruduktan sonra elektrokimyasal olarak şartlandırma yapıldı. Elektrokimyasal olarak şartlandırma yapıldı (CHI 660E cihazı ile).

Ön biriktirme parametreleri; -1.4V'da 30 sn; -0.5V'da 60 sn

Potansiyel aralığı değerleri : -0,5 ile -0,6 V aralığı Tarama Hızı: -0,1V/s
3 elektrota da hazırlanmış kalem ucu takıldı. Çalışma elektrodunda şartlandırılan kalem uçları referans ve karşıt elektrot ile değiştirildi (İlk sefere mahsus). Daha sonra sırasıyla çalışma elektrotundaki (yeşil olan) kalem uçları değiştirilerek şartlandırıldı.

4.3. Kalem Ucu Elektrotların Kimyasal ve Fiziksel Olarak Grafen Oksit Modifikasyonu

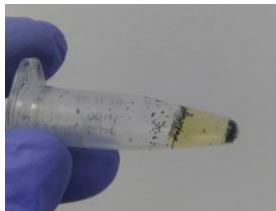
1 mg/mL yoğunluktaki 30 mL grafen oksit (GO) solüsyonu kullanıldı. Asetat buffer ile seyreltilen GO bir beher içine alındı ve içine balık atıldı. Manyetik karıştırıcılı ısıtıcı blok üzerine beher yerleştirildi. Karıştırma hızı 60 rpm'e ayarlandı. Potansiyostat cihazında (CHI 660E) önceden şartlandırılmış olan kalem ucu yeşil (çalışma) ve kırmızı (karşıt) elektrotlara yerleştirildi. Beyaz (referans) elektrota Ag/AgCl yerleştirildi. Setup Parametreleri aşağıdaki gibi cihaza tanımlanır;

Başlangıç: 0 V; En Yüksek: -1.5V; En düşük: 0V; Son: 0 V; Tarama Hızı: 0.025 V Döngü sayısı: 20;

Parametreler ayarlandıktan sonra elektrokimyasal modifikasyon işlemi başlatıldı. (Bir kalem ucunun modifikasyonu yaklaşık 20 dk sürmektedir.) Modifikasyon işlemi sonucunda kalem uçları, uç kısımları bir yere değmeyecek şekilde 10 dakika 25°C'de etüvde kurumaya bırakıldı. Daha önceden hazırlanan %50 grafen oksit, %50 asetat bufferlı grafen oksit solüsyonu kullanıldı. Solüsyondan 300 µL kadar mikro santrifüj tüplerine aktarıldı (5 adet tüp kullanıldı). Her bir tüpe 3 adet kalem ucu daldırıldı ve birbirlerine temas etmediğinden emin olundu. Daldırılmış kalem uçları 30 dakika içinde bekletildi ve 10 dakika uçları bir yere değmeyecek şekilde kurumaya bırakıldı.

4.4. Ebonit, Doğal Kauçuk ve PMMA'nın Gümüş Nanopartiküllerle Bağlanması

Denizlerde daha yaygın olarak bulunan plastik polimerlerinin (polietilen, polipropilen vs.) deniz ortamının dışında sülfür ile bağlanmasının pek mümkün olmaması nedeniyle yöntem kısmında ebonit ve doğal kauçuk kullanılmıştır. Bu işlem, ayrıca polimerizasyon işlemi esnasında yapısına sülfür grubu eklenmiş bir mikroplastik olan PMMA (polimetilmetakrilat) için de uygulanmıştır. 1 mm ve daha küçük parçalara ayrılmış olan polimerlere AgNP (gümüş nanopartikül) bağlanması için 24 saat boyunca 25 ° C'de 250 rpm'de inkübasyon gerçekleştirilmiştir. İnkübasyon sonrasında filtre kağıdı kullanılarak örneklerin süzme işlemi gerçekleştirilmiştir. Ortamdan bağlanmamış AgNP'lerin uzaklaştırılması için 3 kez 100 µL PBS-Cl ile yıkama işlemi yapılmış ve örnekler 15 dakika kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan örnekler temiz mikrosantrifüj tüplere aktarılıp üzerlerine 200 µL PBS-Cl solüsyonundan eklenmiştir.



Görsel 4. Ebonitin inkübasyon sonrası



Görsel 5. Ebonitin filtre kağıdında süzme işlemi

4.5. AgNP ile Muamele Edilmiş Ebonit, Doğal Kauçuk ve PMMA'nın Elektrokimyasal Ölçümünün Alınması

Elektrokimyasal ölçümlerin alınmasında potansiyometre cihazı (CHI 660E) kullanılmıştır. Ölçümün alınması için gerekli olan parametre değerleri Grafit Kalem Ucu Şartlandırılması

(4.3.2) kısmında verilmiştir (Bu parametre değerleri daha önce yapılan optimizasyon çalışmalarıyla belirlenmiştir.). Ölçüm alınmadan önce çalışma hücresine 62,5 μL (0,1 M) borik asit, 62,5 μL (0,1 M) NaCl (sodyum klorür) ve 47 μL deiyonize su pipet yardımıyla eklenip homojen bir şekilde karıştırılmıştır. Ardından gümüş tayini yapılacağından sistemde yabancı başka bir iyonun bulunup bulunmadığından emin olmak için deneme ölçümü alınmıştır. Daha sonra çözeltiye 50 μL KMnO_4 (potasyum permanganat) yükseltgeyici olarak eklenmiş ve 200 saniye boyunca biriktirme potansiyeli (-0.7 V) uygulanmıştır. Biriktirme yapıldıktan sonra çalışma hücresine 25 tane kauçuk; 25, 50, 75, 100 tane ebonit; 150 ve 200 tane PMMA bulunan 200 μL 'lik örnekler ayrı ayrı eklenip biriktirmesiz ve biriktirmeli olarak ölçüm alınmıştır. Ebonit, doğal kauçuk ve PMMA'nın 15 μL (0.02 mg/mL) AgNP ile bağlandığı SEM cihazı kullanılarak gözlemlenmiştir. PMMA ve ebonit miktarı değiştirilerek alınan ölçümler sonucunda yüksek duyarlılıkta mikroplastik tespiti gerçekleştirilmiştir. Tayin sınırı (LOD) seviyeleri sırasıyla; PMMA için 0,53 tane/ μL ve ebonit içinse 0,06 tane/ μL olarak hesaplanmıştır.



Görsel 6. Elektrokimyasal düzenek



Görsel 7. Potansiyostat (CHI 660E)

5. Yenilikçi (İnovatif) Yönü

Günümüzde, mikroplastiklerin tespiti için yaygın olarak fiziksel yöntemler (filtrasyon, yoğunluk farkına göre ayırma) kullanılmaktadır. Bu yöntemler, ileri ekipman gerektirdiği için maliyet ve hata oranı açısından dezavantajlıdır. Bu durum, mikroplastiklerin deniz suyundaki tespitini gerçekleştirecek, fonksiyonel açıdan iyileştirilmiş, yeni yöntemlerin geliştirilmesini zorunlu kılmıştır. Projemizde ise farklı olarak elektrokimyasal bir yöntem geliştirilerek bu olumsuzlukların önüne geçilmesi hedeflenmiştir. Yapılan literatür araştırması sonucunda, daha önce mikroplastiklerin deniz suyundaki tespitleri için ortaya konulan potansiyometrik bir tespit yöntemine ve sensör uygulamasına rastlanılmamıştır. Bu sebeple geliştirilen sistem, yenilikçi ve özgün bir sensör uygulaması olmakla birlikte yukarıda belirtilen sorunlara çözüm niteliğindedir.

6. Uygulanabilirlik

Projemizde ortaya konulan sensör uygulaması sayesinde denizlerde (ve kanallarda) bulunan az miktardaki mikroplastik tespit edilebilecektir. Filtre sistemlerine entegre edilerek filtrasyonu da gerçekleştirilebileceğini düşündüğümüz uygulamamız; daha yüksek doğruluk oranı, daha fazla veri ve uygulanabilirlik açısından günümüzde kullanılan yöntemlere kıyasla çok daha avantajlı bir uygulamadır. Ortaya koyduğumuz sensör uygulaması, deniz suyundaki mikroplastiklerin kalitatif ve kantitatif analizini gerçekleştirerek elde edilen veriler sonucunda entegre edildiği membran veya filtre sistemini devreye sokabilir. Bu sayede iki yöntemden de alınan verim artırılabilir. Aynı zamanda mevcut şartlar altında projemizde ortaya koyduğumuz sensör uygulaması çip veya nanosensör haline getirilerek ve buna uygun olarak kullanılan malzemelerde bazı değişikliklere gidilerek ticari bir ürüne dönüştürülebilme potansiyeline sahiptir.

7. Tahmini Maliyet ve Proje Zaman Planlaması

Tablo 1. Proje deneyinde kullanılan malzemeler ve maliyetleri

Maddenin Adı	Formülü	Birim Fiyatı	Projede Kullanılan Miktarı	Maddenin Adı	Formülü	Birim Fiyatı	Projede Kullanılan Miktarı
Ebonit Çubuk	%70 Kauçuk + %30 Kükürt	4,85 TL	5 mg	Deiyoniz Su	H ₂ O	9,50 TL	175 mL
Doğal Kauçuk	(C ₅ H ₈) _n	20 TL	2 mg	Borik Asit	H ₃ BO ₃	14,93 TL	0,4385 mL
PMMA	(C ₅ O ₂ H ₈) _n	57,70 €	3,5 mg	Sodyum Klorür	NaCl	6,79 TL	0,9275 mL
Gümüş Nanopartikül	AgNP	135 €	1,46 mL	Potasyum Permanganat	KMnO ₄	33,93 TL	0,35 mL
pH 10 Buffer	---	122,36 TL	5 mL	Fosfat Buffer Solüsyon-Klorür	PBS-Cl	156,82 TL	2,5 mL
Asetat Buffer	CH ₃ CO OH	118 €	10 mL	Mikrosantrifüj Tüp	---	55,71 TL	7 adet
Grafen Oksit	C	75,60 TL	15 mg	Filtre Kağıdı	---	58,86 TL	7 adet

NOT: Projede kullanılan malzemelerin kullanılan miktarları ve birim fiyatları yukarıdaki tabloda belirtilmiştir. Malzemelerin toplam bütçesi 2.942,86 TL'dir. Malzemelerin kullanılan miktarları baz alındığında projenin toplam bütçesi 125,7 TL'dir.

Tablo 2. Proje zaman çizelgesi

Aylar	İşin Tanımı				
	Literatür Taraması	Malzemelerin Temini	Deney ve Test Aşaması	Verilerin Toplanması ve Analizi	Proje Raporu Yazımı
Aralık	X	X			
Ocak		X	X	X	
Şubat			X	X	
Mart			X	X	X
Nisan				X	X
Mayıs					X

Günümüzde denizlerdeki mikroplastik kirliliğini gidermek için kullanılan membran sistemlerinin farklı değişkenlere sahip olmaları nedeniyle hem kullanım esnasında hem de üretim esnasındaki maliyet değerleri çok geniş bir aralığa sahiptir. Membran sistemlerinin sadece kullanım sırasında (üretim hariç) mal oldukları fiyat 875\$ 'dan başlamaktadır.

8. Proje Fikrinin Hedef Kitle (Kullanıcılar):

Ele aldığımız sorunun evrensel ve toplumun her kesimini ilgilendiren bir problem olması nedeniyle projemiz kapsamında geliştirilen tespit yöntemi oldukça geniş bir hedef kitesine

sahiptir. Ancak geliştirdiğimiz sensörün teknik bir ürün olması nedeniyle hakkında bilgi sahibi olan, projemizde bahsettiğimiz problemle özel olarak ilgilenen ve çalışmalar yapmış olan yetkili kişilerin kullanması gerekmektedir. Ayrıca filtre ve membran sistemlerine hakim olan çalışma gruplarının da projemizden yararlanması uygulamadan alınan verimi artırma konusunda büyük bir öneme sahiptir.

9. Riskler

Potansiyometrik ölçümler alınırken elektrot olarak 0.7 mm kalem uçları kullanıldığı için elektrotların kırılması durumunda yedek olarak kalem uçları bulundurulmalıdır. Kırılan kalem uçlarına yapıştırılan bakır bantlar tekrar kullanılabilir. Potansiyometrik ölçüm esnasında elektrotlar birbirlerine değmemelidir. Aksi takdirde sistem kısa devre yapmakta ve doğru ölçüm alınamamaktadır. Bu nedenle elektrotlar arasında yeterli aralığın bulunmasına dikkat edilmelidir. Yöntemde belirtildiği gibi esas kimyasal analiz alınmadan önce çözeltide istenmeyen iyon bulunmadığından emin olunması için deneme ölçümü alınmalıdır. Deneme ölçümü alınmadığında veya ölçümün yabancı iyon varlığına dair sonuç vermesine rağmen ortam deneye uygun hale getirilmediğinde doğru analiz sonuçları elde edilememektedir.

10. Proje Ekibi

Takım Lideri: Beril Efe

Adı Soyadı	Projedeki Görevi	Okul	Projeyle veya problemle ilgili tecrübesi
Beril Efe	Şartnameyi okuma ve rapor taslaklarını inceleme, görev dağılımını gerçekleştirme	İzmir Fen Lisesi	Problemle ilgili makaleleri (literatür) araştırma, deney çalışması ve rapor yazımı
Rana Şener	Şartnameyi okuma, gerektiği zaman takım toplantılarını planlama	İzmir Fen Lisesi	Problemle ilgili makaleleri (literatür) araştırma, deney çalışması ve rapor yazımı

11. Kaynaklar

Collignon, A., Hecq, J. H., Glagani, F., Voisin, P., Collard, F., & Goffart, A. (2012). Neustonic microplastic and zooplankton in the North Western Mediterranean Sea. *Marine pollution bulletin*, 64 (4), 861-864. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.01.011>

Lares, M., Ncibi, M. C., Sillanpää, M., & Sillanpää, M. (2018). Occurrence, identification and removal of microplastic particles and fibers in conventional activated sludge process and advanced MBR technology. *Water research*, 133, 236-246.

Procter, J., Hopkins, F. E., Fileman, E. S., & Lindeque, P. K. (2019). Smells good enough to eat: Dimethyl sulfide (DMS) enhances copepod ingestion of microplastics. *Marine pollution bulletin*, 138, 1-6.

Savoca, M. S., Wohlfeil, M. E., Ebeler, S. E., & Nevitt, G. A. (2016). Marine plastic debris emits a keystone infochemical for olfactory foraging seabirds. *Science advances*, 2(11), e1600395. DOI: 10.1126/sciadv.1600395

Viršek, M. K., Palatinus, A., Koren, Š., Peterlin, M., Horvat, P., & Kržan, A. (2016). Protocol for microplastics sampling on the sea surface and sample analysis. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (118), e55161.

Zink, L., & Pyle, G. G. (2019). Contrary to Marine Environments, Common Microplastics in Freshwater Systems May Not Emit Dimethyl Sulfide: An Important Infochemical. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 103(6), 766-769.