

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**SEÇİCİ KLORPRİFOS TAYİNİ İÇİN PLATİN
NANOPARTİKÜL İÇEREN POLİOKSOMETALAT TEMELLİ
MOLEKÜLER BASKILI ELEKTROKİMYASAL
SENSÖRLERİN GELİŞTİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DENİZLİ, AĞUSTOS - 2019

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**



**SEÇİCİ KLORPRİFOS TAYİNİ İÇİN PLATİN
NANOPARTİKÜL İÇEREN POLİOKSOMETALAT TEMELLİ
MOLEKÜLER BASKILI ELEKTROKİMYASAL
SENSÖRLERİN GELİŞTİRİLMESİ**

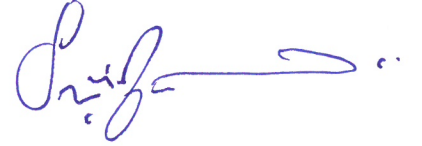
YÜKSEK LİSANS TEZİ

SEVAL ÇÖPÜR

DENİZLİ, AĞUSTOS - 2019

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğine beyan ederim.

SEVAL ÇÖPÜR



ÖZET

SEÇİCİ KLORPRİFOS TAYİNİ İÇİN PLATİN NANOPARTİKÜL İÇEREN POLİOKSOMETALAT TEMELLİ MOLEKÜLER BASKILI ELEKTROKİMYASAL SENSÖRLERİN GELİŞTİRİLMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SEVAL ÇÖPÜR

PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. NECİP ATAR)

DENİZLİ, AĞUSTOS - 2019

Bu çalışmada, yüzeyi moleküler baskılı polimerik (MIP) film ile kaplı, platin nanoparçacık içeren polioksometalat hibriti (PtNPs/POM) temelli bir elektrokimyasal sensör geliştirilerek klorprifos tayininde kullanılması amaçlanmıştır. Klorprifos pestisitler grubundan kristal şeklinde organofosfat türü bir böcek ilacıdır. Polimerik membran yapısı ve kararlılığı tespit edilmiştir. Klorprifos baskılanmış elektrotlar, klorprifos (hedef molekül) içeren pirol (monomer) çözeltileri varlığında dönüşümlü voltametri tekniği kullanılarak hazırlanmıştır. Aynı işlem hedef molekülü kullanılmadan da gerçekleştirilerek, klorprifos baskılanmamış polimerler (NIP) PtNPs/POM yüzeyine kaplanmıştır. Modifiye elektrotlar kullanılarak geliştirilen yöntem için optimizasyon çalışmaları gerçekleştirildikten sonra moleküler baskılanmış elektrokimyasal sensörüne dayalı yöntemin, validasyon çalışmaları yapılmıştır. Daha sonra da, validasyonu yapılan yöntem, klorprifos'un hassas tayin edilmesinde uygulanmıştır.

ANAHTAR KELİMELELER: Polimer içerikli membran, atrazin, taşınım, geri kazanım

ABSTRACT

DEVELOPING OF PLATINUM NANOPARTICLE INCLUDING POLYOXOMETALATE BASED MOLECULARLY IMPRINTED ELECTROCHEMICAL SENSOR FOR SELECTIVE CHLORPYRIFOS

MSC THESIS

SEVAL ÇÖPÜR

PAMUKKALE UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE

CHEMISTRY ENGINEERING

(SUPERVISOR: PROF. DR. NECIP ATAR

DENİZLİ, AUGUST 2019

The aim of this study is to develop an electrochemical sensor composed of the combination of platinum nanoparticles including polyoxometalate hybrid (PtNPs/POM) based molecularly imprinted polymers (MIP) and apply to the determination of chlorpyrifos in waters. Chlorpyrifos is crystalline organophosphate insecticide in the group of pesticides. The chlorpyrifos imprinted electrodes (MIP) were prepared by using cyclic voltammetry in the presence of pyrrole (monomer) solutions containing chlorpyrifos (template). Same procedures were applied for the synthesis of non-imprinted PtNPs/POM without template molecule (NIP). Firstly, the optimization studies for the proposed method were performed. After that, validation studies were also be performed. After the validation study, the developed sensor was used for the sensitive determination of chlorpyrifos.

KEYWORDS: Polymer inclusion membrane , atrazine, transport, recovery

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİL LİSTESİ	iv
TABLO LİSTESİ	v
SEMBOL LİSTESİ	vi
ÖNSÖZ	viii
1. GİRİŞ	1
1.1 Tezin Amacı	3
1.2 Literatür Çalışmaları.....	3
2. KLORPRİFOS	5
2.1 Klorprifos'un Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	5
2.2 Klorprifos'un Kullanım Alanları	6
2.3 Poliokzometalatlar (POMs)	7
2.4 Moleküler Baskılama.....	8
2.5 Pestisit Tanımı ve Çeşitleri.....	9
2.6 Pestisit Kalıntıları	11
2.7 Pestisitlerin Canlılara ve Çevreye Etkisi	13
3. YÖNTEM	15
3.1 Kullanılan cihazlar.....	15
3.2 Çözeltilerin Hazırlanması	16
3.3 Elektrokimyasal sensör çalışmaları	16
4. BULGULAR	20
4.1 Hazırlanan PtNPs/POM ve Elektrotların Karakterizasyonu.....	20
4.2 Aşama Aşama Hazırlanan Modifiye Elektrotların Elektrokimyasal Karakterizasyon Çalışmaları	21
4.3 Hazırlanan Baskılanmış ve Baskılanmamış Elektrotların SEM Analizleri	23
4.4 Modifiye Edilmemiş ve CPF Baskılanmış Modifiye Camsı Karbon Yüzeylerinin AFM ve Elipsometre Analizleri	24
4.5 Hazırlanan Malzemenin XPS Analizleri	25
4.6 Destek Elektrolit pH Değişiminin Geliştirilen CPF Baskılı Elektrokimyasal Sensör Üzerine Etkisi	25
4.7 PtNPs/POM Hibrit Malzeme Yüzeyinde CPF Baskılanmış (MIP) ve Baskılanmamış (NIP) Elektrokimyasal Yüzeylerin Hazırlanması	26
4.8 Kalibrasyon Eğrisi ve Doğrusallık Aralığı	28
4.9 Özgüllük (Seçicilik).....	30
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	34
6. KAYNAKLAR	35
7. ÖZGEÇMİŞ	40

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : Klorprifos'un kimyasal yapısı	5
Şekil 2.2 : Klorprifos'un metabolitlerine dönüşümü (Costa vd.,2003)	7
Şekil 2.3 : Pestisitlerin doğadaki hareketleri	10
Şekil 2.4 : Pestisitlerin besin döngüsüne girmesi	12
Şekil 4.1 : PtNPs/POM nanokompozitinin TEM görüntüsü.....	21
Şekil 4.2 : (A) 0,1 M KCl çözeltisinde hazırlanan 1,0 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ çözeltisinin impedans (Nyquist) eğrileri, (B) 0.1 M KCl çözeltisinde hazırlanan 1.0 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ çözeltisinin dönüşümlü voltammogramları.	23
Şekil 4.3 : SEM görüntüleri (A) MIP/PtNPs/POM/GCE ve (B) NIP/PtNPs/POM/GCE	24
Şekil 4.4 : PtNPs/POM nanokompozitinin Pt_{4f} ve W_{4f} XPS analizleri.....	25
Şekil 4.5 : CPF baskılanmış elektrokimyasal sensör üzerine destek elektrolit pH etkisi (5,0 nM CPF varlığında) (n=6).....	26
Şekil 4.6 : 0,1 M, pH 6.0 fosfat tamponu sisteminde PtNPs/POM ile modifiye edilmiş camısı karbon elektrotu üzerinde 20 mM CPF varlığında 80 mM pirol monomerinin elektropolimerizasyonu	27
Şekil 4.7 : CPF'nin CPF baskılanmış PtNPs/POM ile modifiye edilmiş camısı karbon elektrotu kullanılarak alınan kare dalga voltamogramları.	28
Şekil 4.8 : CPF'nin SWV yöntemi ile elde edilen kalibrasyon eğrisi (n = 6) ..	29
Şekil 4.9 : 1,00 nM suluCPF, CPF-Me, CPF-Ox ve TCL-Pr çözeltileri ile CFB baskılanmış elektrokimyasal sensör arasındaki etkileşimlere ait kare dalga voltamogramları	32
Şekil 4.10 : 1.00 nM suluCPF, CPF-Me, CPF-Ox ve TCL-Pr çözeltileri ile CFB baskılanmamış elektrokimyasal sensör arasındaki etkileşimlere ait kare dalga voltamogramları.	32

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 3.1: Klorprifoz'un bazı fiziksel özellikleri.....	6
Tablo 4.1: CPF'nin farklı derişimlerdeki pH 6.0 fosfat tamponları ile elde edilen pik akımları	30
Tablo 4.2: CPF'nin SWV yönetmi ile analizinden elde edilen kalibrasyon eğrisinin korelasyon katsayısı ile doğrusallıktan ayrılış önem kontrolü için yapılan istatistiksel hesaplamaları	33

SEMBOL LİSTESİ

POM	:	Polioksometalat
PtNPs	:	Platin nanoparçacık
HMDE	:	Damlayan civa elektrodu
MIP	:	Moleküler baskılı polimer
NIP	:	Moleküler baskılı polimer
µl	:	Mikrolitre
µm	:	Mikrometre
ACAC	:	Asetilaseton
AFM	:	Atomik Kuvvet Mikroskobu
CPF	:	Klorprifos
EDTA	:	Etilendiamintetraasetikasit
ETU	:	Etilentiyoüre
OR	:	Tahmini risk oranları
AFM	:	Atomik kuvvet spektroskopisi
GC	:	Gaz kromatografisi
HA	:	Hümik Asit
HCl	:	Hidroklorik asit
Hg-EDL	:	Elektrotsuz deşarj lambası
IR	:	Infrared
L	:	Litre
LLE	:	Sıvı-sıvı ekstraksiyonu
M	:	Molar
MW_c	:	Kritik molekül ağırlığı
mL	:	Mililitre
mm	:	Milimetre
MS	:	Kütle spektrometresi
MW	:	Mikro dalga
MWC	:	Moleküler ağırlık engelleme
NaOH	:	Sodyum hidroksit
nm	:	Nanometre
η	:	Çözücü viskozitesi
P	:	Geçirgenlik katsayısı
PCR	:	Polimeraz zincir reaksiyon
pH	:	Çözeltideki hidronyum iyonu molar konsantrasyonunun eksi logaritması (- log[H ⁺])
HPLC	:	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
r	:	Molekül yarıçapı
Ra	:	Pürüzlülük
rpm	:	Revolutions per Minute (Devir sayı birimi)
LC-MS	:	Sıvı kromatografi-kütle spektroskopisi
SEM	:	Taramalı Elektron Mikroskop
SPE	:	Katı faz ekstraksiyonu
XPS	:	X-Işınları fotoelektron spektroskopisi
XRD	:	X-ışınları difraksiyonu
T	:	Sıcaklık
TEM	:	Geçirgen Karbon Mikroskobu

UV	:	Ultraviyole
EIS	:	Elektrokimyasal impedans spektroskopisi
SWV	:	Kare dalga voltametri
CV	:	Dönüşümlü voltametri
GCE	:	Camsı karbon elektrot
CPF-Me	:	Klorprifos-metil
CPF-Ox	:	Klorprifos-okson
TCL-Pr	:	3,5,6-trikloro-2-ridinol

ÖNSÖZ

Yüksek lisans öğrenimim ve tez çalışmalarım boyunca, danışmanlığımı üstlenen, bana bu konu üzerinde çalışma fırsatı sağlayan, çalışmamın her aşamasında yol gösterici ve destekleyici olan, emeğini hiçbir şekilde esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Necip ATAR ve Doç. Dr. Mehmet Lütfi YOLA'ya teşekkürlerimi sunarım.

Beni yetiştiren, günümüze kadar beni hayata hazırlayan ve maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme ve her konuda bana destek olan değerli arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

Seval ÇÖPÜR

Ağustos 2019

1. GİRİŞ

Günümüzde dünyadaki tüm ülkeler için en önemli besin kaynağını tarım ürünleri oluşturmaktadır. Gün geçtikçe artan nüfusun beslenme ihtiyacının karşılanması amacıyla ürün verimini arttırmak için iyi derecede tarım uygulamaları takip edilmiştir. Bu uygulamalar kapsamında, ürüne zarar verecek ve verimliliği etkileyecek nitelikteki her tür zararlı ot, bitki ve böceklerin, ürüne zarar vermesini engellemek için zirai mücadele çalışmaları yapılmaktadır. Mantarlardan kemirgenlere, zararlı böceklere ve nematadlar gibi canlılara kadar değişen canlı grupları, tarımda yüksek verim elde edilmesini etkilemekte bir anlamda da insanların yiyeceklerine ortak olmaktadır. İşte bu durumun önlenmesi ve insanlarla hayvanlara zararlı olan çeşitli hastalıkların önlenmesi amacıyla tarımda pestisit adı verilen kimyasal maddeler kullanılmaktadır.

Organofosfat pestisitlerinin tayini için gaz kromatografisi (GC), sıvı kromatografi-kütle spektroskopisi (LC-MS) ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) gibi geleneksel analitik yöntemler geliştirilmiştir. Ancak, bu yöntemlerde kullanılan cihazlar pahalı olmasının yanında ayrıntılı numune hazırlanmasını içeren ve uzman bir personel tarafından uygulanması gereken tekniklerdir. Böylece bu tür pestisitlerin analizi için daha hassas, hızlı ve düşük maliyetli yöntemlerin geliştirilmesine ihtiyaç vardır. Özellikle nanokompozit temelli elektroanalitik teknikler, seçici, hassas ve kararlı sinyallerin elde edilmesi için son yıllarda sıklıkla kullanılmaktadır.

Klorprifos tayini için gaz kromatografisi (GC), yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) (Mauldin vd., 2006; García de Llasera vd., 2009) ve sıvı kromatografi-kütle spektroskopisi (LC-MS ve LC-MS/MS) (Sinha, 2011; Gibbs vd., 2014) gibi klasik kromatografik yöntemler geliştirilmiştir. Ancak, bu yöntemler pahalı olmasının yanında, zaman alıcı, uzmanlık gerektiren ve her laboratuvar ortamında sıklıkla bulunabilen cihazlar değildirler. Ayrıca, kompleks numune matrislerinden eser analizler yapılırken uzun süreli ekstraksiyon ve ön-işlem prosedürleri analiz süresinin çok uzamasına neden olmaktadır (Xiong vd., 2012;

Rigueira vd., 2013). Özellikle, bir sensör uygulaması için ölçüm süresinin uzun zaman gerektirmesi önemli bir dezavantaj olarak kabul edilmektedir. Ayrıca enzim (AChE gibi) inhibisyonu veya immuno temelli tayin yöntemleri de geliştirilmiştir (Ion vd., 2010; Viswanathan vd., 2009). Fakat, kullanılan antibadi veya enzimlerin; asit, baz, organik çözücü veya yüksek sıcaklık gibi ortamlardaki düşük kimyasal/fiziksel kararlılıkları geliştirilen yöntemlerin en önemli dezavantajları olarak görülmektedir. Sunulan projenin yukarıda ifade edilen bu zorluklardan bağımsız basit, hızlı, duyarlı ve seçici bir tayin yöntemi sunduğu rahatlıkla ifade edilebilir. Modern elektrokimyasal tekniklerde, modifiye elektrotlar gibi farklı tip elektrotlar çevresel/biyolojik numunelerden önemli analitlerin hassas tayininin yapılabilmesi için hazırlanmaktadır. Bundan dolayı, modifiye elektrotlar elektrokimya da son yıllarda artan bir ilgiye sahiptir. Bu elektrotlar genellikle yüzeyde spesifik reaksiyonların gerçekleşmesi için karbon yada metal substratların modifikasyonu ile yapılmaktadır (Yola vd., 2012; Yola vd., 2013; Gupta vd., 2013). Bundan dolayı iletken substratların modifikasyonu, sensör uygulamaları gibi malzeme biliminde önemli bir amaca sahiptir (Ranganathan vd., 2001). Günümüzde su kaynakları üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda bu tarım ilacına olan ilginin her geçen gün artmakta olduğu ve su kaynaklarında yaygın bir biçimde rastlandığı görülmektedir. Ayrıca, Avrupa Birliği Su Çerçeve Direktifinin (2008/105/EC) “öncelikli kirletici” listesi içerisinde klorprifos da yer almakta (Estévez vd., 2008) ve bu tarım ilacıyla ilgili çalışmaların son yıllarda daha da artmakta olduğu görülmektedir (Kumaravel ve Chandrasekaran, 2015; Moschet vd., 2014; Gupta vd., 2015). Bazı çalışmalara göre, su örneklerindeki maksimum klorprifos derişimi 0.03 µg/L (8.6×10^{-11} M) ile 290 µg/L (8.3×10^{-7} M) arasında değişmektedir. Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı (EPA), Ulusal Su Kalitesi Değerlendirme programı (NAWQA) ve EPA Pestisit Yeraltı Suyu veri tabanlarından elde ettiği analizler ışığında, klorprifos derişiminin 0.01-0.65 µg/L (2.9×10^{-11} – 1.9×10^{-9} M) aralığında değiştiğini tespit etmiştir. EPA ayrıca 1530 tarımsal ve 604 kentsel akarsuları dikkate aldığında, tarımsal akarsuların %15’ inde ve kentsel akarsuların ise %26’sında klorprifos derişiminin 0.03-0.40 µg/L (8.6×10^{-11} – 9.5×10^{-8} M) aralığında olduğunu ortaya koymuştur (Ismail vd., 2013). Bundan dolayı eser miktarlardaki klorprifos tayini için güvenilir, hızlı, seçici ve yüksek duyarlılığa sahip analitik bir yöntem ihtiyacı duyulmaktadır.

1.1 Tezin Amacı

Bu çalışmanın amacı, yüzeyi moleküler baskılı polimerik (MIP) film ile kaplı, PtNPs/POM temelli bir elektrokimyasal sensör geliştirilerek klorprifos tayininde kullanılması amaçlanmıştır. Bu sensörün geliştirilmesinde öncelikli olarak, platin nanoparçacıklar hiçbir indirgeyici ajan kullanmadan poliokzometalat ($H_3PW_{12}O_{40}$, POM) ile UV ışığı altında yaklaşık 40 dakika karıştırma işlemi ile hazırlanmıştır. POM molekülü çok sayıda oksijen molekülü içeren çevre dostu bir fotokatalitik indirgeyicidir. Daha sonra hazırlanan PtNPs/POM hibriti temizlenmiş camsı karbon elektrot yüzeylerine damlatılarak modifiye elektrotlar hazırlanmıştır (PtNPs/POM/GCE). Klorprifos baskılanmış elektrotlar, klorprifos (hedef molekül) içeren pirol (monomer) çözeltileri varlığında dönüşümlü voltametri tekniği kullanılarak hazırlanmıştır. Aynı işlem hedef molekülü kullanılmadan da gerçekleştirilerek, klorprifos baskılanmamış polimerler (NIP) PtNPs/POM/GCE yüzeyine kaplanmıştır. Modifiye elektrotlar kullanılarak geliştirilen yöntem için optimizasyon çalışmaları gerçekleştirildikten sonra moleküler baskılanmış elektrokimyasal sensörüne dayalı yöntemin, validasyon çalışmaları yapılmıştır. Daha sonra da, validasyonu yapılan yöntem, klorprifos'un hassas tayin edilmesinde uygulanmıştır.

1.2 Literatür Çalışmaları

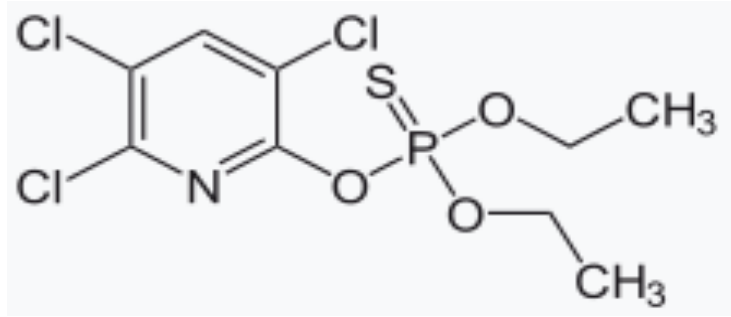
Klorprifos tayini için gaz kromatografisi (GC) (Pelit vd., 2012), yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) (Mauldin vd., 2006; García de Llasera vd., 2009) ve sıvı kromatografi-kütle spektroskopisi (LC-MS ve LC-MS/MS) (Sinha, 2011; Gibbs vd., 2014) gibi klasik kromatografik yöntemler geliştirilmiştir. Ancak, bu yöntemler pahalı olmasının yanında, zaman alıcı, uzmanlık gerektiren ve her laboratuvar ortamında sıklıkla bulunabilen cihazlar değildirler. Ayrıca, kompleks numune matrislerinden eser analizler yapılırken uzun süreli ekstraksiyon ve ön-işlem prosedürleri analiz süresinin çok uzamasına neden olmaktadır (Xiong vd., 2012; Rigueira vd., 2013). Özellikle, bir sensör uygulaması için ölçüm süresinin uzun zaman gerektirmesi önemli bir dezavantaj olarak kabul edilmektedir. Ayrıca

enzim (AChE gibi) inhibisyonu veya immuno temelli tayin yöntemleri de geliştirilmiştir (Ion vd., 2010; Viswanathan vd., 2009). Fakat, kullanılan antibadi veya enzimlerin; asit, baz, organik çözücü veya yüksek sıcaklık gibi ortamlardaki düşük kimyasal/fiziksel kararlılıkları geliştirilen yöntemlerin en önemli dezavantajları olarak görülmektedir. Sunulan projenin yukarıda ifade edilen bu zorluklardan bağımsız basit, hızlı, duyarlı ve seçici bir tayin yöntemi sunduğu rahatlıkla ifade edilebilir. Modern elektrokimyasal tekniklerde, modifiye elektrotlar gibi farklı tip elektrotlar çevresel/biyolojik numunelerden önemli analitlerin hassas tayininin yapılabilmesi için hazırlanmaktadır. Bundan dolayı, modifiye elektrotlar elektrokimyada son yıllarda artan bir ilgiye sahiptir. Bu elektrotlar genellikle yüzeyde spesifik reaksiyonların gerçekleşmesi için karbon yada metal substratların modifikasyonu ile yapılmaktadır (Yola vd., 2012; Yola vd., 2013; Gupta vd., 2013). Bundan dolayı iletken substratların modifikasyonu, sensör uygulamaları gibi malzeme biliminde önemli bir amaca sahiptir (Ranganathan vd., 2001). Her ne kadar modifiye elektrotlar kullanılarak geliştirilen elektroanalitik teknikler pestisitlerin toksik düzeylerini görüntüleme de daha uygun olmasına rağmen, klorprifos'un elektrokimyasal tayini üzerine birkaç çalışma rapor edilmiştir. Bu çalışmaların başlıcaları aşağıda açıklanmıştır:

Çalışma elektrotu olarak damlayan civa elektrotunun (HMDE) kullanıldığı katodik adsorptif sıyırma voltametri ve diferansiyel puls polarografisi teknikleri yardımıyla klorprifos'un tayinleri yapılmıştır (El-Shahawi ve Kamal,1998; Al-Meqbali vd., 1998; Pelit vd., 2011). Ayrıca, klorprifos'un civa temelli elektrotlardaki indirgenme potansiyeli hidrojenin indirgenme potansiyeline hemen hemen yakın olduğundan dolayı elde edilen piklerin hassas bir şekilde değerlendirilmesi çok fazla mümkün olmamaktadır.

2. KLORPRİFOS

Organofosfat grubu böcek öldürücü bir tarım ilacı olan Klorprifos (Şekil 2.1), çeşitli sivrisinekler, sinekler, böcekler ve haşerelerin kontrolü için tarımsal alanlarda kullanılmasının yanı sıra ekto parazitleri kontrol altına almak için koyun ve sığır yemlerinde de kullanılır. Fakat, tarımsal ve ticari kullanımı çevrede yüksek derişimlerde klorprifos birikimine ve toprakta 60-120 gün kalmasına neden olabilir. Bundan dolayı uzun vadede insanlarda ve hayvanlarda zararlı etkileri görülmektedir.



Şekil 2.1 : Klorprifos'un kimyasal yapısı

2.1 Klorprifos'un Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

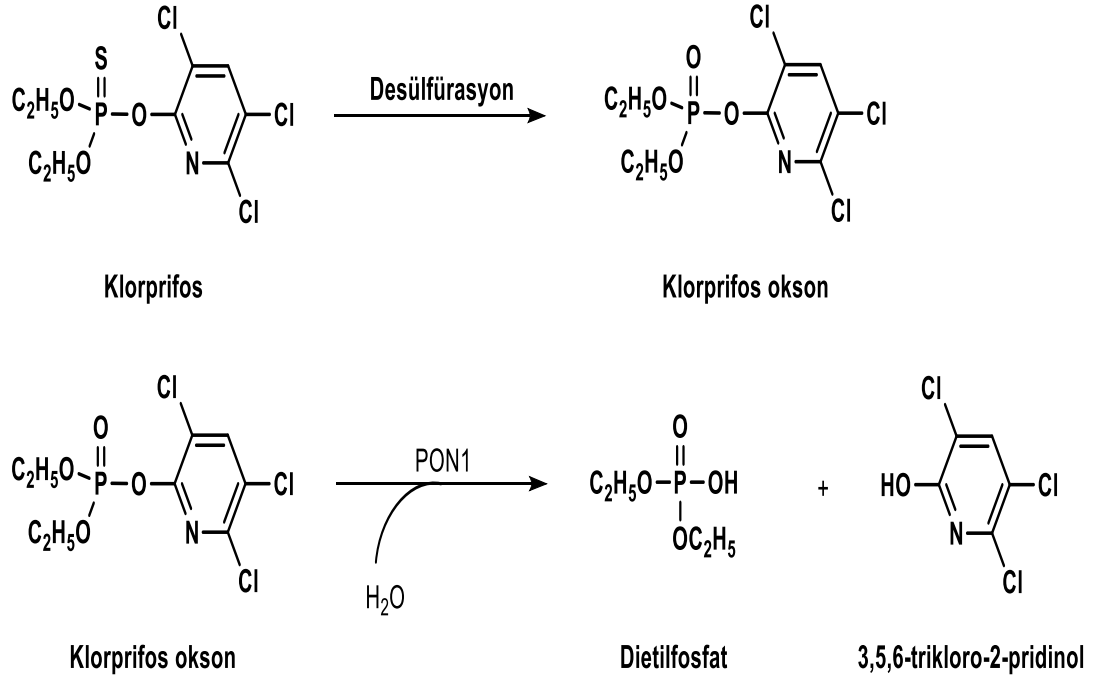
Organofosfat türü bir böcek ilacı olan Klorprifos kristal yapıda olan bir kimyasaldır. Klorprifos'un bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri Tablo 2. 1'de verilmiştir.

Tablo 2.1.Klorprifos'un bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri

Genel ismi	Klorprifos
IUPAC adlandırması	O,O-dietil-O-(3,5,6-trikloro-2-piridinil) fosforotiyolat
Sınıflandırma	Organotiyofosfat
Kimyasal formülü	C ₉ H ₁₁ Cl ₃ NO ₃ PS
Yoğunluk	1,40 g/cm ³
Erime noktası	42,0 °C
Kaynama noktası	160,0 °C
Sudaki çözünürlüğü (25°C)	1,39 mg/L

2.2 Klorprifos'un Kullanım Alanları

Klorprifos, pestisitler grubundan kristal şeklinde, organofosfat türü bir tarım ilacıdır. Bundan dolayı tarımsal alanlarda çeşitli haşerelerin kontrolü için kullanılmasının yanı sıra hayvanlarda oluşabilen dış parazitleri kontrol etmek amacıyla da kullanılır (Mohan vd., 2004). Bunun yanı sıra kene ve karınca öldürücü olup, sivrisinek türevlerine, kemirici ve mısır kökü kurtlarına, ekin güvelerine ve yaprak zararlılarına karşı etkilidir. Klorprifos aynı zamanda golf sahasındaki çim alanlar, fidanlıklar, çim çiftlikleri, seralar, ahşap ürünler ve endüstriyel sahalar gibi gıda dışı alanlarda da kullanılmaktadır (Maryoung vd., 2014). Klorprifos, biyotransformasyon reaksiyonu sonucu klorprifos-okson metabolitine kolayca dönüşerek daha toksik hale gelebilir. Klorprifos-okson ise insan serum paraoksonaz enzimi (PON1) tarafından hidrolizlenerek toksik etkisi olmayan diğer metabolit olan 3,5,6-trikloro-2-piridinol'e dönüşür (Şekil 2.2).



Şekil 2.2 : Klorprifos'un metabolitlerine dönüşümü (Costa vd.,2003)

2.3 Poliokzometalatlar (POMs)

(POMs) ilk kez 1826 yılında Jöns Jacob Berzelius tarafından rapor edilmiş olup sonradan bu maddenin $[PMo_{12}O_{40}]^{3-}$ anyonu içerdiği tespit edilmiştir. Bununla birlikte kesin yapı 100 yıldan fazla bir süre bilinmeden kalmıştır. Fakat, 1933'de James F. Keggin, x-ışınları spektroskopisini kullanarak ilişkili bir heteropoliasit türevi olan $H_3[PW_{12}O_{40}] \cdot nH_2O$ yapısını çözmüştür. Keggin tarafından çözülen yapıya göre merkezde bir PO_4^{3-} tetrahedral grup vardır. Bu grup 12 adet birbirine bağlı WO_6 oktahedral metaloksit kümeleri tarafından çevrilmiş olup bu kümeler köşe ve kenarlardaki oksijenleri paylaşmışlardır. Poliokzometalatların genel formülü $[X_xM_mO_y]^{q-}$ şeklindedir ($X = B, Al, Si, Ge, P, As, Fe, Mn, Co, Cu$ vd, $M = Mo, W, V, Ta, Nb, Os$ ve $q =$ polianyonun yükü (-3 ten -28'e değişebilir). Bu proje kapsamında kullanacağımız ticari poliokzometalatın genel formülü: $H_3PW_{12}O_{40}$). Bu bileşiklerin yapıları x-ışınları spektroskopisindeki gelişmelere bağlı olarak geçtiğimiz on yıllar içinde çok iyi bir şekilde aydınlatılmış ve gruplandırılmıştır. Bu gruplar genel olarak; α -Keggin $[XM_{12}O_{40}]^{n-}$, Wells-Dawson $[X_2M_{18}O_{62}]^{n-}$, Lindqvist $[M_6O_{19}]^{n-}$ ve Anderson-Evans $[XM_6O_{24}]^{n-}$ olarak ifade edilebilir. Poliokzometalatlar

en basit tanımı ile metal-oksijen anyonik kümeleridir ve çok dişli inorganik ligantlar olarak davranırlar. Bu anyonik yapıdaki dikkat çeken bir husus da geçiş metali olan M'nin her zaman mümkün olan en yüksek oksidasyon basamağında yer almasıdır. Poliokzometalatlar, son 20 yılda malzeme biliminde çalışan araştırmacıların en çok kullandıkları kimyasallardandır. Bu malzemeler yapısal özelliklerinden kaynaklı gösterdikleri fiziksel özellikler sayesinde katı yüzeylere mükemmel bir şekilde tutunmakta, elektrostatik ve kovalent etkileşimler sergileyebilmektedir. Bunlar sayesinde farklı boyutlardaki yapılar; suyun oksidasyonu, desülfürizasyon işlemleri, sera gazı olan CO₂'nin dönüştürülmesi ve ticari öneme sahip organik reaksiyonların gerçekleştirilmesi alanlarında katalizör olarak kullanılmaktadır. Bunun yanında, DNA ve RNA ile etkileşiminden dolayı canlı biliminde, LIBs ve SMMs (single molecule magnets) gibi elektronik aygıtların yapımı konusunda çok yoğun araştırmalar yapılan bir kimyasal madde grubudur. Poliokzometalatların yukarıda bahsedildiği üzere kristal yapıları çok iyi bilinmektedir ve bunun yanında manyetik, lüminesans ve elektrokimyasal özellikleri de araştırılarak değerli bilgilere ulaşılmıştır. Poliokzometalatlar ile ilgili çalışmalar günümüzde büyük bir hızla devam etmektedir. Hem kimya biliminde hem de multidisipliner olarak fizik, malzeme, nanoteknoloji, biyoloji, elektronik ve enerji konusundaki çalışmalarda büyük bir yarış gözlenmektedir. (Kim ve Shanmugam, 2013; Li vd., 2014).

2.4 Moleküler Baskılama

Membran Moleküler baskılama klasik olarak kalıp molekül (analit) ve ona şekil ve büyüklük olarak benzer bir fonksiyonel monomerle kompleks oluşturarak polimerizasyon yapma işlemidir (Hu vd., 2013). Polimerizasyon işlemi, kalıp molekül, fonksiyonel monomer, çapraz bağlayıcı ajan ve başlatıcının uygun çözücüde çözünmesiyle başlar. Genel olarak bu işlem üç adımda gerçekleşir. - Fonksiyonel monomerle kalıp molekül arasında ön kompleksleşme, - Çapraz bağlayıcı varlığında üç boyutlu polimer ağ oluşumu, - Kalıp molekülün uygun çözücü ile yıkanarak polimerden uzaklaştırılmasıyla kalıp molekülü tamamlayan boşluklar oluşur. Oluşan bu boşluklar kalıp molekülün şeklini, yapısını ve

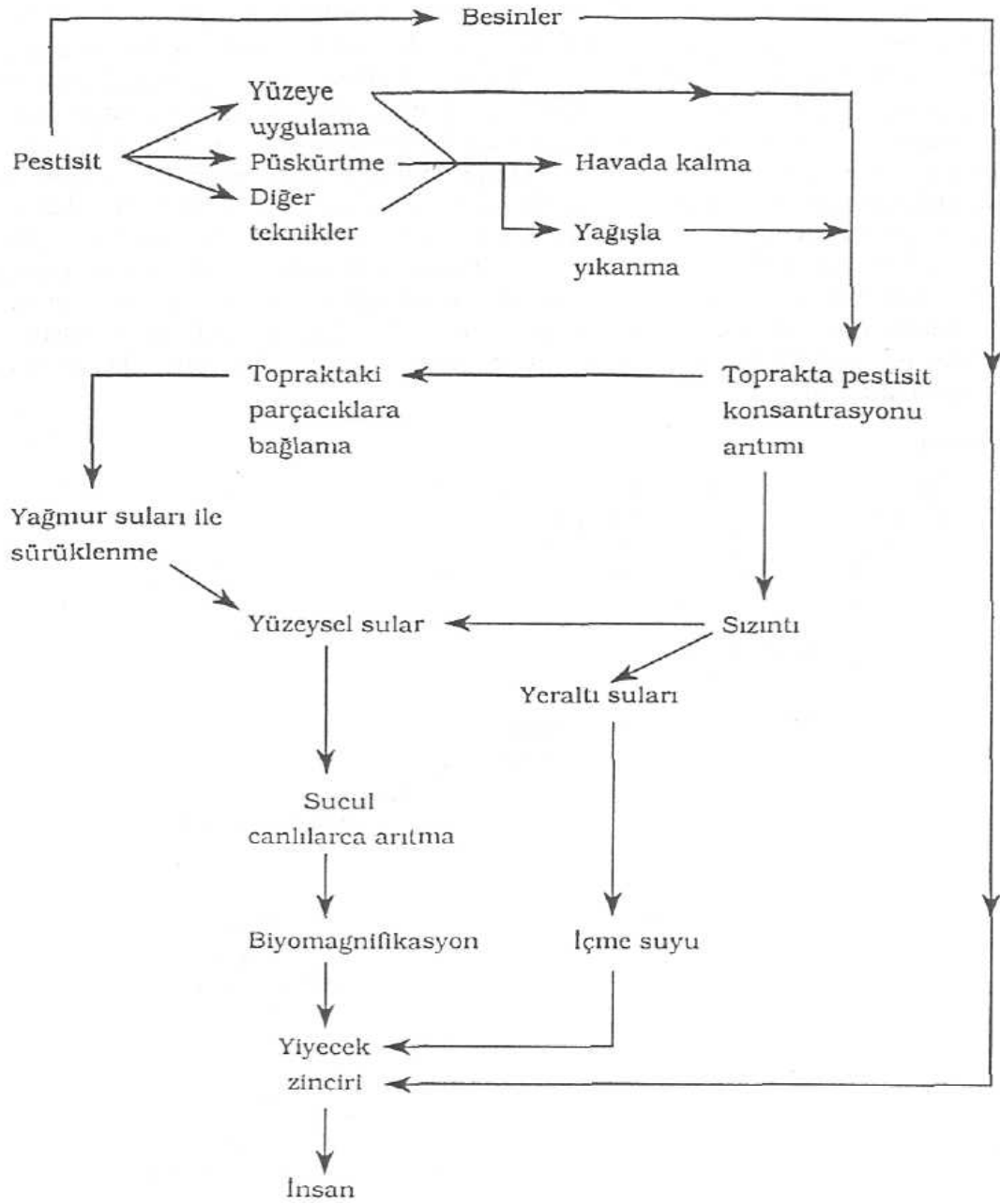
fizikokimyasal özelliklerini tanıyarak seçici ve etkin olarak kalıp molekülü bağlar. Moleküler baskılama yöntemi temel olarak, fonksiyonel monomer ile kalıp molekül arasında oluşan bağın çeşidine göre ikiye ayrılır. Kovalent baskılama tekniğinde; polimerizasyondan önce baskılanacak molekül ile fonksiyonel monomer arasında kuvvetli, tersinir bir kovalent düzenleme oluşur. Polimerizasyon işleminden sonra kovalent bağlar kırılır ve kalıp oluşturmak amacıyla polimerden uzaklaştırılır. Hedef molekül, baskılanmış polimerle etkileştirildiğinde aynı kovalent bağ yine oluşur. Kovalent olmayan yaklaşımda ise, fonksiyonel monomer ile kalıp molekülün bağlanması non-kovalent (H-bağı, dipol-dipol etkileşim, iyon-iyon etkileşimi, π - π etkileşimi, hidrofobik etkileşim vd) etkileşimlerle gerçekleşir. Polimerizasyonun ardından sonra uygun çözücülerle kalıp molekülün polimerden uzaklaştırılmasından sonra, kalıp molekülünün şekil ve boyut bakımından tamamlayıcısı olan üç boyutlu bir boşluk (cavity) elde edilir. Moleküler baskılanmış polimerler sensör çalışmalarında tanıma ve sinyal aktarıcı eleman olarak son yıllarda kullanılmaktadır. Çalışma ekibimizinde son yıllarda moleküler baskılanmış polimer temelli elektrokimyasal, kuvars kristal mikroterazi (QCM) ve yüzey plazmon rezonans (SPR) sensör çalışmaları bulunmaktadır (Yola vd., 2014c; Atar vd., 2015).

2.5 Pestisit Tanımı ve Çeşitleri

Gıda ve Tarım Organizasyonu (FAO) pestisit terimini, insan ya da hayvan hastalıklarına etken olan herhangi zararlı bir canlının kontrol edilmesi, önlenmesi ya da yok edilmesi, istenmeyen bitki ya da hayvan türlerinin zararlarının önlenmesini, gıdalar, tarım ürünleri, ahşap ve ahşap ürünler ya da hayvan yemlerinden depolama, nakliye ya da pazarlama işlemlerinde zarara neden olan canlıları hedef alan madde ve ya maddeler karışımı olarak yapar. Bu maddeler, böcekler, araknitler ya da hayvanların üzerinde olan diğer pestlerin kontrolü için de uygulanabilir.

Pestisitler, inorganik ve organik bileşikler grubudur. Zararlı türleri kontrol altına almak veya yabancı otları öldürmek, ürün verimliliğini artırmak için kullanılırlar. Polar olmayan herbisit grubu olarak geçmektedir. Suya, toprağa, havaya

birincil şekilde karışabilirler, bu kimyasallar yer altı ve yüzey sularında yaygın kirleticilerdir.



Şekil 2.3 : Pestisitlerin doğadaki hareketleri

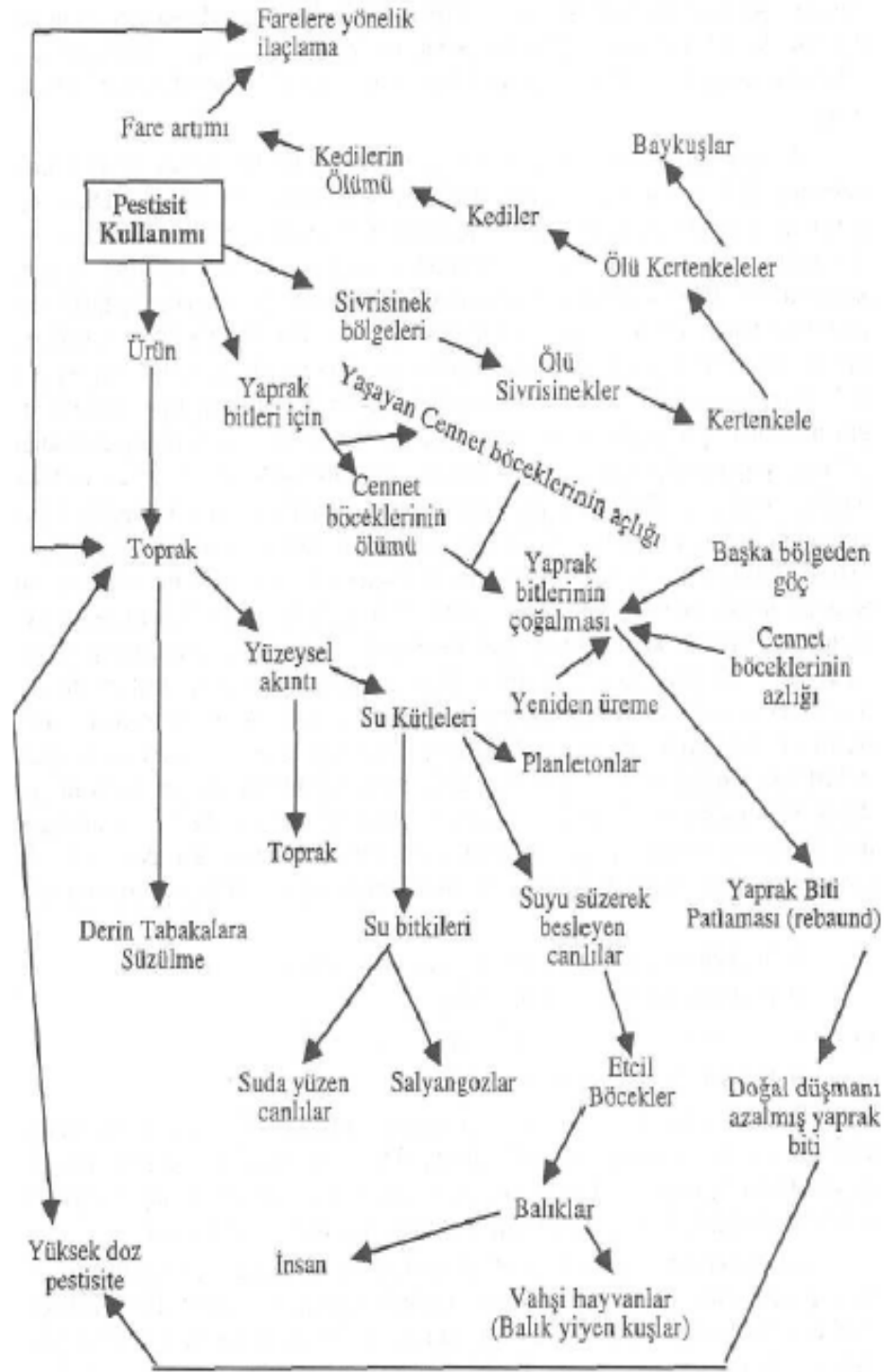
2.6 Pestisit Kalıntıları

Ülkemizde pestisitlerin bir miktar bilinçsiz ve bir miktar da kontrolsüz kullanımını, başta gıda güvenliğimiz olmak üzere, çevremiz ve tarımsal ürün ihracatımız olumsuz etkilenmektedir. Çiftçilerin zirai ilaçlar ve böcek ilacı kullanımı hakkında bilgisinin yetersiz olması, pestisitlere maruz kalınmasına karşı daha az korunma, tarım işçilerinin eğitimsizliği, sağlık risklerinin az anlaşılması ve en önemlisi yetersiz güvenlik uyarıları da dahil olmak üzere çeşitli nedenlerle bilinçsiz kullanımlar olmaktadır.

Delen ve arkadaşlarının yayınlamış olduğu bildiride, Avrupa Birliği Hızlı Alarm Sistemi verileri, 2008'de tarım ürünlerinin %2,3'ünün kalıntı limitlerini aşmasına karşılık, Türkiye'den ihraç edilen ürünlerde pestisit kalıntısı açısından uygun olmayan parti miktarının artış göstermekte olduğunu göstermektedir. Pestisit kalıntı analiz çalışmalarında, ana pestisit yanarda parçalanma ürünlerinin de araştırılması gerekmektedir.

Tarım ürünlerindeki pestisit dağılımı, ürünün işleme süresine ve pestisit çeşidine göre farklılık gösterebilir. Ayrıca bazı pestisitler zaman içerisinde dayanıklılık kazanabilmektedir. Tarımla uğraşan kişiler, bu problemi önlemek için ürünlere uygulanan miktarı artırır. Artan doz miktarı bir taraftan dayanıklılığı tetiklerken, diğer taraftan kalıntı ile ilgili problemlerin çıkmasına yol açar. Ülkemizde ve dünyada pestisit kalıntı sorunu araştırmalar yapılmıştır ve yöntem geliştirme çalışmaları yürütülmüştür.

Pestisit kalıntıları, yabancı ot ve böcek türündeki zararlı canlıları öldürür iken bir yandan diğer canlı türlerine zarar vererek ekolojik dengeyi bozabilmektedir. Şekil 3.1' deki döngüde görüldüğü gibi, bazı canlı türleri azalırken, diğer canlı türlerinde artış görülmüştür. Pestisitlerin dünya ülkelerine gıda konusunda faydaları bulunmaktadır, fakat bu faydanın yanarda dış ortama olan zararın maliyeti konusundaki şüpheler gittikçe artmaktadır.



Şekil 2.4 : Pestisitlerin besin döngüsüne girmesi

2.7 Pesticitlerin Canlılara ve Çevreye Etkisi

Pesticitlerle temas, teneffüs, yutma ve cilt yoluyla olabilir. Bu temasların artışı ile kanser, genetik mutasyon, kısırlık gibi bazı hastalıklar meydana gelebilir.

İnsanlarda pesticitlere maruz kalma, astımı tetikleyebilir, bronkospazm gibi hastalıklar oluşturabilir. Yüksek dozlardaki bazı pesticitler, hava yolunu tahriş etmektedir. Astım, hırıltı ve hiperreaktif hava yolu hastalığına bağlı böcek ilaçları, herbisitler alaklor, atrazin, EPTC ve paraquatlar içermektedir. Güney Kaliforniya'daki nüfusa dayalı Çocuk Sağlığı Çalışması'nda teşhis edilen beş yaşındaki çocukların pesticitlere maruz kalması durumunda astıma daha yatkın oldukları belirtildi. Mesleki Riskler İçin Olay Bildirim Sistemi), Michigan ve New Jersey'deki 534 işyerinde astım vakasının %3,4'ünün böcek ilacıyla ilişkili olduğu tespit edilmiştir ve yine Kaliforniya, Massachusetts, Michigan ve New Jersey'de rapor edilen 1101 mesleki astım vakasının %2,6'sının pesticitlerden kaynaklandığı belirtilmiştir.

Bir başka sağlık etkisi de bazı fungusitlerin parçalanma ürünlerinden çıkan fungusit etkisi olmayan bir bileşik ETU (ethylenethiourea), insanlarda tiroit kanseri riski taşımaktadır.

Yapılan bir çalışmada, pesticit türlerinden atrazinin yaygın kullanımı, halkın su kaynağına potansiyel bir tehdidi çünkü su yaşamı için potansiyel toksite idi ve insan sağlığına olumsuz etkilerde bulunabilmektedir.

Hayes ve arkadaşları (2010) , düşük konsantrasyondaki atrazinin amfibiler üzerinde endokrin bozucu olması ile ilgili bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışmadan önceki çalışmalarda atrazinin amfibi larva gelişimini olumsuz etkilediği tespit edilmiştir. Bu çalışmada ise, yetişkin amfibilerin atrazin maruziyetine kalması sonucunda üreme durumları incelenmiştir. Atrazine maruz kalmış erkeklerin hem yetişkin olarak feminize edildiği hem de tamamen kimyasal kısırlaştırıldıkları tespit edilmiştir. Atrazine maruz kalmış erkeklerin %10'u fonksiyonel dişilere dönüşmüş, atrazine maruz kalmamış erkeklerle çiftleşerek yumurta üretmişlerdir. Atrazine maruz kalmış erkekler, testesteron kaynaklı sıkıntı yaşamışlardır. Üreme bezleri küçülmüş, kısırlaştırılmış laringeal görülmüş, bastırılmış çiftleşme davranışı tespit

edilmiş ve doğurganlık azalmıştır. Bu sonuçlar da atrazinin endokrin bozucu rolünü göstermektedir.

Son yıllarda memeli hayvanlarda organofosfatın (CPF) toksisitesi dikkat çekmektedir. Pek çok ksenobiyotik için en önemli detoksifikasyon organı olan böbrek sıklıkla nefrotoksik etkilere duyarlı olmuştur. Nefrotoksisite, uzun süre akut maruziyete kalındıktan sonra Klorpirifosun toksik bulgularından biridir.

Yapılan bir çalışmada pestisite maruziyetin Parkinson hastalığına etkisi incelenmek üzere 250 Parkinson hastası ve 388 sağlıklı kontrol denekleri (yaş ve cinsiyet eşleşmesi yapılmış) ve kişisel olarak bildirilenlerin pestisite maruz kalma durumlarını değerlendirilmiştir. Tahmini risk oranları (OR) ve % 95 güven aralıkları (CI), ile yaş, cinsiyet ve sigara içmeyi kontrol eden lojistik regresyon modelleri kullanılarak belirlenmiştir. Pestisitlerde organofosfatın tahmini risk oranları mesleki maruziyetler ile bir paralellik göstermiştir. Kullanılan kuyu sularında incelenen herbisit grubunun tahmini risk oranında da artış görülmüştür. Mesleki pestisite maruz kalma bulgularının, pestisit maruziyetlerinin Parkinson rahatsızlığını bağdaştırıcı bilgi ile örtüşmekte olduğu görülmüştür.

İncelenen bir çalışmada, atrazin- Desetil (DEAT) 4 farklı sucul türde toksisite olarak değerlendirilmiştir, 0,1 den 100 mg/L ye kadar olan toksisite konsantrasyon aralığında doğrulanmıştır.

Wirbisky ve arkadaşları (2017), atrazin maruziyetinin DNA metiltransferaz aktivitesi ve kinetiği üzerindeki etkileri değerlendirmişlerdir. Embriyojenez boyunca 30 ppb atrazine maruz kalan zebra balığı larvalarında global DNA metilasyon seviyeleri ve ekspresyonunu incelemişlerdir. Sonuçlar, atrazinin bakım aktivitesini önemli ölçüde azalttığını ve inhibisyon mekanizmasının rekabetçi olmayan Michaelis-Menten kinetiği kullanılarak tanımlanmıştır. Bir embriyonik atrazine maruz kalmanın global metilasyon seviyelerini azalttığı sonuçlarına varılmıştır.

3. YÖNTEM

3.1 Kullanılan cihazlar

Vakum etüvü: Kullanılan cam malzemelerin kurutulması işlemi için vakum etüvü kullanılmıştır.

Ultra saf su cihazı: Deneylerde 18,2 M Ω rezistivite saf su sağlayan MERCK MilliporeDirect-Q®- 3 Ultra Saf Su Cihazı kullanılmıştır.

Terazi: Kimyasal maddelerin tartımlarının alınmasında Presica (hassasiyeti 0,0001 gram olan) marka analitik terazi kullanılmıştır.

pH-metre: pH' a bağlı çalışmaların yapılması ve tampon çözeltilerin hazırlanmasında Thermo Scientific Orion Star A211 marka pH metre kullanılmıştır.

Magnetik Karıştırıcı: Çalışma sırasında kullanılan çözeltilerin hazırlanmasında Heidolph Magnetic Stirrer (MR Hei-Tec) marka magnetik karıştırıcı kullanılmıştır.

Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM): Hazırlanan nanoparçacıkların morfolojik özellikleri Orta Doğu Teknik Üniversitesi'nde JEOL 2100 HRTEM (JEOL Ltd., Tokyo, Japan) model cihaz ile incelenmiştir. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM):Hazırlanan yüzeylerin morfolojik özellikleri ZEISS EVO 50 SEM (GERMANY model cihaz ile incelenmiştir.

Elektrokimyasal İmpedans Spektroskopik (EIS), Dönüşümlü voltametri (CV) ve Kare dalga voltametri (SWV) ölçümleri: EIS, CV ve SWV ölçümleri için Gamry Referans 600 donanımlıPCI4/300 potansiyostat cihazı (New York/ABD) kullanılmıştır. X-Işınları Fotoelektron Spektroskopisi (XPS): XPS analizi için PHI 5000 Versa Probe (Φ ULVAC-PHI, Inc., Japan/USA)model cihaz kullanılmıştır. Raman Spektroskopisi:Hazırlanan nanomalzemenin raman spektrumuDeltaNu Examiner Raman Microscopy system (Deltanu Inc., Laramie, WY) model cihaz ile alınmıştır.

3.2 Çözeltilerin Hazırlanması

Stok Klorprifos Çözeltisi (0,001 M): 3,505 mg standart Klorprifos tartılıp 5 mL su ile çözüldükten sonra yine aynı çözücü ile 10 mL'ye tamamlanmış ve 4°C'da buzdolabında saklanmıştır.

0,1 M Fosfat Tamponu: 9,08 g KH_2PO_4 ve $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ayrı ayrı tartılıp su ile çözüldükten sonra bir litreye tamamlanmış ve uygun miktarlarda karıştırılarak istenilen pH'ya ayarlanmıştır.

1,0 M NaOH Çözeltisi: 40,0 g NaOH tartılarak su ile çözüldükten sonra hacim bir litreye tamamlanmıştır. Daha seyreltik NaOH çözeltileri 1,0 M NaOH çözeltisinin su seyreltilmesi ile hazırlanmıştır.

0,1 M HCl Çözeltisi: Balon joje içerisine bir miktar su konulduktan sonra üzerine 8,44 mL HCl çözeltisi eklenmiş ve su ile bir litreye tamamlanmıştır..

3.3 Elektrokimyasal sensör çalışmaları

Deneyler sırasında kullanılan camsı karbon elektrotlar sırasıyla ince petler üzerine dökülen 0,1 μm and 0,05 μm alumina çözeltileri kullanılarak yüzeyleri temizlenir. Alümina çözeltileriyle muamele edilmiş elektrotlar önce saf su ile iki kez sonra da izopropil alkol/asetonitril 50:50 (h/h) karışımıyla iki kez sonike edilir. Yüzeyde kalmış alumina kalıntıları uzaklaştırıldıktan sonra elektrotlar asetonitril ile son kez yıkanır ve azot gazı ile kurutulur. Daha önceden hazırlanmış üç bileşenli kompozit malzemesi (20 μL) temizlenmiş camsı karbon elektrotların yüzeyine damlatılır. Çözücü infrared (IR) lambasıyla buharlaştırıldıktan sonra, hazırlanan modifiye elektrotlar saf su ile 3 kez yıkanır. Yıkanma işleminden sonra modifiye elektrotlar azot gazı ile kurutulur. Klorprifos baskılanmış elektrotlar, klorprifos (20 mM) ve pirol (80 mM) sulu çözeltilerinin destek elektrolit (pH 6,0, 0,1 M fosfat tamponu) varlığında (2 mL) dönüşümlü voltametri tekniği yardımıyla (Tarama hızı: 100 mV s⁻¹) çoklu tarama yapılarak (tarama sayısı: 15) hazırlanır. Hazırlanan elektrotlar, üzerinde bulunan polimerleşmemiş kalıntıları uzaklaştırmak için 1 dakika izopropil alkol/asetonitril 50:50 (h/h) karışımında sonike edilir. Aynı işlem hedef molekülü kullanılmadan da gerçekleştirilerek, klorprifos baskılanmamış polimerler

PtNPs/POM/GCE yüzeyine kaplanır. Hedef molekülün uzaklaşması için ise hedef molekülün polar grupları ve pirol monomerinin azot grupları arasında elektrostatik etkileşimler ve hidrojen bağı bulunmaktadır. Bu etkileşimleri kırmak için desorpsiyon ajanı olarak 1,0 M NaCl çözeltisi kullanılır. Hedef molekülün uzaklaşması ısı kontrollü çalkamalı banyo sisteminde gerçekleştirilir. Klorprifos baskılanmış elektrotlar 25 mL desorpsiyon çözeltisine daldırıldıktan sonra camı karbon elektrotlar banyo sisteminde 200 rpm hızında oda sıcaklığında (desorpsiyon zamanı: 15 dakika) çalkalanır. Elektrot yüzeyi saf su ile yıkandıktan sonra elektrotlar azot gazı ile kurutulur (Yola vd., 2016).

Yöntem ve Ortam Şartlarının Optimizasyon Çalışmaları : Klorprifos'un tayini için SWV yöntemi uygulanmıştır. Bu yöntemde deneysel ve cihaza ait parametreler değiştirilerek uygun şartlar araştırılmıştır. Bu amaçla ilk önce en kararlı ön kompleks oluşturmak için kendi içinde Klorprifos: Pirol oranları da değiştirilerek bir dizi ön kompleksler hazırlandı. Alınan dönüşümlü voltammogramlara göre en uygun oran ve ortam pH'sı belirlendi. Ayrıca hazırlanan klorprifos baskılanmış elektrot farklı zamanlarda desorpsiyon çözeltisinde tutularak optimum desorpsiyon zamanları elde edilmeye çalışılacaktır. Cihaza ait optimum parametreler araştırılırken, SWV yönteminde önemli cihaz parametreleri olan frekans, adım yüksekliği, puls genliği ve MIP oluşturmak için tarama sayısı değiştirilerek optimum şartlar belirlenmiştir.

Validasyon Hedef Molekül Kararlılığı: Klorprifos'un sudaki çözeltisinin kararlılık çalışması yapılmıştır. Bunun için buzdolabında ve oda sıcaklığında saklanan klorprifos çözeltilerinden kalibrasyon aralığına giren standart klorprifos çözeltileri hazırlanmıştır. Uzun dönem kararlılık çalışması için buzdolabında saklanan klorprifos çözeltisinin 1 ay boyunca ve kısa dönem kararlılık çalışması için oda sıcaklığında saklanan klorprifos çözeltisinin 12 saat boyunca kare dalga voltammogramları alınarak elde edilen potansiyel ve pik akımları ışığında hedef molekülün kararlılık çalışmaları yapılmıştır.

Hazırlanan Sensörün Kararlılığı: Hazırlanan modifiye elektrotun sensör çalışmalarında kullanımı süresince önemli etkilere neden olabilecek sonikasyon zamanı göz önünde bulundurularak kararlılık çalışması yapılmıştır. Bunun için hazırlanan klorprifos baskılanmış elektrotlar çeşitli sürelerde (5, 15, 30, 45 ve 60

dakika) izopropil alkol/asetonitril 50:50 (h/h) karışımında sonike edilmiştir. Her sonikasyon işlemi sonucunda saf su ile temizlenen baskılanmış elektrot SWV tekniği yardımıyla doğrusallık aralığı içinde yer alan hedef molekül derişime karşı kullanılmıştır. Elde edilen pik akımları ve potansiyel değerleri ışığında sonikasyon kararlılığı bu şekilde incelenmiş oldu.

Doğrusal Aralık Çalışmaları: Doğrusallık aralığı çalışması, farklı derişimlerdeki klorprifos çözeltileri ile elektrokimyasal sensör sisteminde gerçekleştirilmiştir. Elektrokimyasal sensör sistemi; çalışma (klorprifos uzaklaştırılmış MIP/PtNPs/POM/GCE), karşıt (Platin tel), referans (Ag/AgCl/suda) elektrotlardan oluşan elektrot sistemi ve verilerin okunduğu potansiyostat cihazından oluşmaktadır. Destek elektrolit olarak seçilen tampon çözeltiden (pH 6.0, 0,1 M fosfat tamponu) 2.0 mL alınarak elektrokimyasal hücreye konulmuş ve 10 dakika azot gazı geçirilmiştir. Hücreye mikropipet yardımıyla μ L düzeyinde standart klorprifos çözeltisinden eklenmiş ve bir dakika azot gazı geçirildikten sonra belirlenen potansiyelde SWV tekniği kullanılarak voltamogram kaydedilmiştir. Desorpsiyon çalışması yapıldıktan sonra artan derişimlerde klorprifos eklenerek deneyler tekrarlanmıştır. Okunan pik akımlarını klorprifos derişimlerine karşı grafiğe geçirilerek kalibrasyon grafiği ve denklemi elde edilmiştir.

LOD ve LOQ Çalışmaları: LOD ve LOQ değerleri aşağıdaki formüller kullanılarak hesaplanmıştır: $LOD=3.3 \times SS/m$ ve $LOQ=10 \times SS/m$ (SS, oluşturulan kalibrasyon eğrilerinin y eksenini kestiği noktanın standart sapması, m ise oluşturulan kalibrasyon eğrilerinin eğimlerinin ortalamasıdır) Kesinlik ve Doğruluk Çalışmaları: Kesinlik ve doğruluk çalışmaları için gün içi ve günler arası olmak üzere ayrı ayrı çalışılmıştır. Bu amaçla doğrusallık aralığına giren üç farklı derişim seviyesinde (alt tayin sınırına yakın, orta ve üst tayin sınırına yakın) klorprifos'un tekrarlı analizleri yapılmıştır. Gün içi çalışmalarda; üç derişim seviyesinde ve her derişim için altı ayrı çözeltiler hazırlanarak ve bu çözeltiler aynı gün içinde analizleri yapılmıştır. Günler arası çalışmalarda; art arda altı ayrı günde ve üç derişimde yeni hazırlanan çözeltilerin analizleri yapılmıştır. Kesinlik, bulunan değerlerin ortalaması, standart sapması (SS) ve % bağıl standart sapması (BSS) ile verilecektir. Doğruluk ise, eklenen klorprifos miktarı ile bulunan klorprifos miktarının karşılaştırılması ve bulunan % bağıl hata ile verilmiştir.

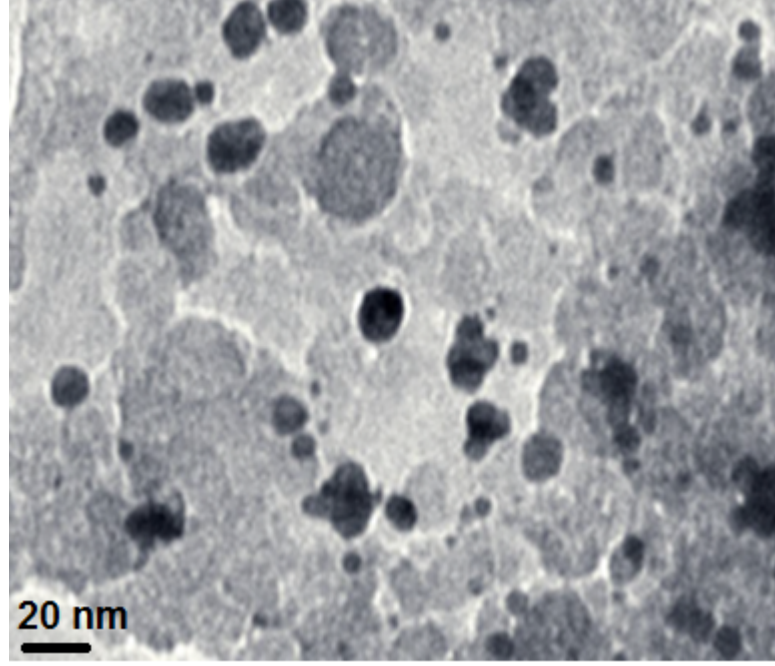
Sağlamlık ve Tutarlılık Çalışmaları: Geliştirilen yöntemin sağlamlık çalışmaları için belirlenen optimum deney koşullarında küçük değişiklikler yapılarak ve tutarlılık çalışmaları için farklı analizci tarafından çözeltilerin analizleri tekrarlanılarak yapılmıştır. Daha sonra elde edilen analiz sonuçları istatistiksel olarak (Wilcoxon Testi) değerlendirilmiştir. Geri Kazanım Çalışmaları: Nehir suyu numunelerinin üzerine kalibrasyon aralığına düşen üç farklı derişimde klorprifos çözeltisi eklenmiştir. Kalibrasyon denklemi kullanılarak, numunedeki klorprifos miktarı hesaplanarak ve buradan da yüzde geri kazanım ($\%GK = \frac{\text{Bulunan miktar}}{\text{Olması gereken miktar}}$) değerlerine geçilmiştir. Üç farklı analit derişimi en az altı kez tekrarlanarak gerçekleştirilmiştir.

Tekrarlanabilirlik: Geliştirilen moleküler baskılanmış elektrokimyasal sensörün tekrarlanabilirlik çalışmaları için geliştirilen yöntemde doğrusallık aralığına giren bir derişim seviyesinde 10 ayrı klorprifos çözelti hazırlanır ve bunların aynı gün içinde tekrarlı analizleri yapılır. Elde edilen potansiyel ve pik akımları ışığında hazırlanan sensörün tekrarlanabilirliği incelenir. Seçicilik Çalışmaları: Seçicilik deneylerinin gerçekleştirilmesi amacıyla; yarışmacı moleküller olarak klorprifos-metil yanı sıra klorprifos-okson ve 3,5,6-trikloro-2-pridinol metabolitleri seçilmiştir. Bu moleküller içinde tayini yapılacak klorprifos, 3,5,6-trikloro-2-pridinol ile piridin halkası boyunca benzer yapıya sahipken, diğer iki molekül ile hemen hemen benzer yapılara sahiptir. Bu kapsamda geliştirilen moleküler baskılanmış elektrokimyasal sensörler (MIP) ayrı ayrı hedef molekül ve diğer yarışmacı ajanlarla etkileştirilir. Aynı işlem, geliştirilen elektrokimyasal sensörün baskılama seçiciliğini de göstermek için baskılanmamış elektrokimyasal sensörler de (NIP) hazırlanıp yapılmıştır.

4. BULGULAR

4.1 Hazırlanan PtNPs/POM ve Elektrotların Karakterizasyonu

Proje kapsamında Klorprifos (CPF) tayini için PtNPs/POM temelli moleküler baskılı elektrokimyasal sensörlerin hazırlanması hedeflenmektedir. Öncelikle moleküler baskılanmış sensörün elde edilmesi için PtNPs/POM sentezi gerçekleştirilmiştir. 0,5 g POM 20 mL 0,2 M HCl içerisinde çözüldükten sonra platin (II) nitrat $[Pt(NO_3)_2]$ sulu çözeltileri (1,0 mM) 1:1 (h/h) oranında karıştırılarak platin nanopartiküllerinin (PtNPs) oluşması sağlandı. Hazırlanan bu nanokompozitin elektrokimyasal sensör olarak kullanımlarını ilk defa görmek için elektrokimyasal impedans spektroskopisi (EIS) tekniği kullanılarak yüzey özelliklerini görmeye çalışıldı. Farklı oranlardaki her bir malzemenin temizlenmiş camısı karbon elektrotuna IR ışığı altında modifikasyonları tamamlandıktan sonra her bir elektrot kullanılarak 0,1 M KCl çözeltisinde hazırlanan 1.0 mM $[Fe(CN)_6]^{3-}$ çözeltisinin impedans (Nyquist) eğrileri elde edilmiştir. Bu sonuçlara göre PtNPs/POM ile modifiye edilmiş elektrotun yük transfer direncinin en düşük olduğu, haliyle daha yüksek elektrokimyasal sinyallerin elde edilebileceğini görerek bundan sonraki çalışmalarda çalışma elektrotu olarak PtNPs/POM ile modifiye edilmiş camısı karbon elektrotlarının kullanılacağını görmüş olduk. Dolayısıyla nanokompozit bileşiminde polioksometalat oranının ne kadar fazla olması platin nanopartiküllerin yüzeyde daha fazla indirgenerek oluşmasına neden olacağı için beklenen bir sonuç olduğunu söylememiz mümkündür. PtNPs/POM transmisyon (geçirimli) elektron mikroskopi (TEM) görüntüsüne göre; koyu POM kümeleri görülmektedir. Bu bulgular POM ve PtNPs arasında etkileşimin olduğunu göstermektedir. Ayrıca siyah noktacıklar platin nanopartiküllerini ve ortalama boyutlarının 10-20 nm olduğunu göstermektedir (Şekil 4.1).

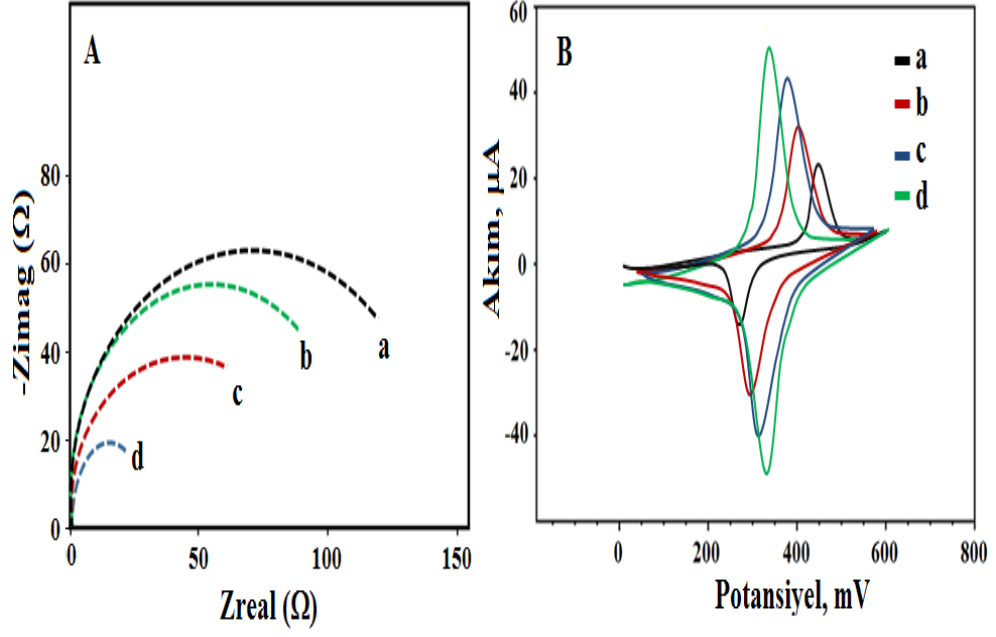


Şekil 4.1 : PtNPs/POM nanokompozitinin TEM görüntüsü

4.2 Aşama Aşama Hazırlanan Modifiye Elektrotların Elektrokimyasal Karakterizasyon Çalışmaları

EIS tekniği modifiye elektrotların yüzey özelliklerini açıklamak için kullanılan bir tekniktir. Şekil 4.2.A modifiye edilmemiş camсы karbon elektrot (GCE), POM/GCE, PtNPs/GCE ve PtNPs/POM/GCE yüzeylerinin impedans (Nyquist diyagramları) eğrilerini göstermektedir. Modifiye edilmemiş elektrotta yük transfer direnci (R_{ct}) 140 ohm olarak ölçülmüştür. Temizlenmiş elektrot yüzeyinin POM ile modifiye edilmesiyle R_{ct} değerinin 110 ohm'a düştüğü görülmektedir. POM' nın elektriksel iletkenlik, yüksek spesifik yüzey alanı ve mekanik dayanıklılığından dolayı, yüzey ile çözelti arasında elektron transferinin kolaylaştığı görülmektedir. Polioksometalat ile fonksiyonlaştırılmış platin nanopartikül temelli camсы karbon elektrotun ise yük transfer direnci en azdır. Böylece yüzey aktif alanının ve yüzeydeki elektron transfer hızının en yüksek olduğunu söylememiz mümkündür.

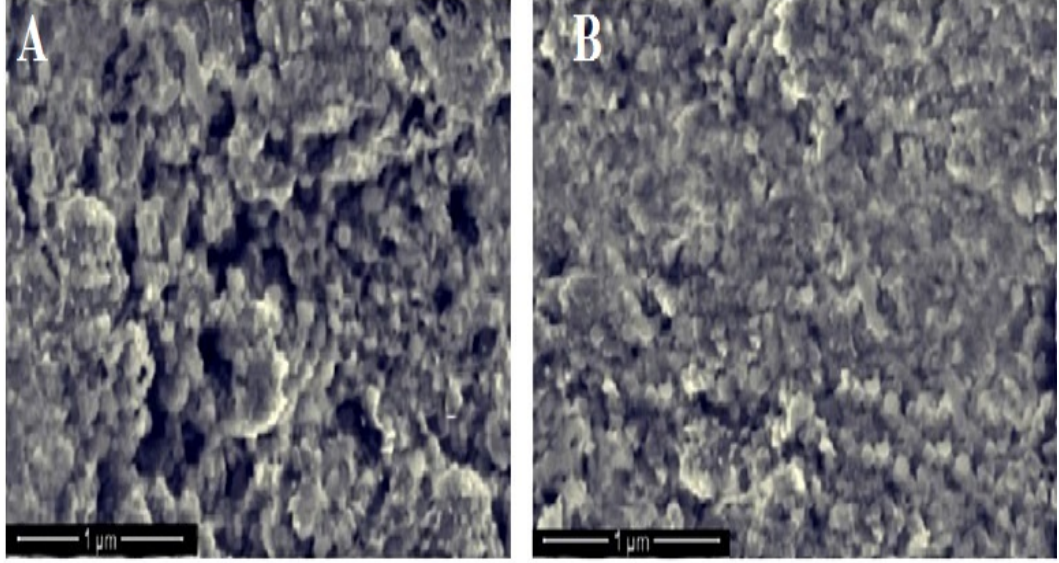
CV ile yapılan karakterizasyon sonuçlarına göre modifiye edilmemiş elektrottan (bare GCE) PtNPs/POM ile modifiye edilmiş elektrota doğru gidildikçe 1,0 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ redoks bileşenine aitanodik-katodik pik potansiyel farklarının aşama aşama azaldığını görüyoruz. Bu sonuçlara göre kompozit malzeme ile hazırlanan modifiye elektrotta redoks bileşeninin daha kolay elektrot yüzeyinde indirgendiği ve yükseltgenildiğini söylememiz mümkündür. Ayrıca elde edilen aşama aşama artan pik akımları kompozit malzemeyi oluşturan bileşenler arasında iyi bir sinerjik etkinin oluştuğunu, dolayısıyla elektrokataliz etkisinin en fazla olduğunu söylememiz mümkündür. Ayrıca proje kapsamında geliştirilen bu modifiye elektrotların yüzey alanları prob olarak 0,1 M KCl çözeltisinde hazırlanan 1,0 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ kullanılarak hesaplanmıştır. Farklı tarama hızlarında alınan dönüşümlü voltamogramlar kullanılarak “ $I_p = 2.69 \times 10^5 A n^{3/2} D^{1/2} C v^{1/2}$ ” eşitliği vasıtasıyla yüzey alanları (A/cm^2) belirlenmiştir. Eşitlikte; 1,0 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ için $n=1$ ve Difüzyon katsayısı (D)= $7,6 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$ (25 °C), v =Tarama hızları 100-1000 mV/s olarak alınmıştır. Buna göre $I_p-v^{1/2}$ grafiğinden yararlanılarak bare GCE, POM/GCE, PtNPs/GCE ve PtNPs/POM/GCE elektrotları için 0,070 cm^2 , 0,158 cm^2 , 0,341 cm^2 ve 0,749 cm^2 yüzey alanları elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlar ışığında EIS ve CV teknikleri yardımıyla elde edilen bulgular arasında iyi bir uyumun olduğunu söyleyebiliriz.



Şekil 4.2 : (A) 0,1 M KCl çözeltisinde hazırlanan 1,0 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ çözeltisinin impedans (Nyquist) eğrileri, (B) 0.1 M KCl çözeltisinde hazırlanan 1.0 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ çözeltisinin dönüşümlü voltammogramları.

4.3 Hazırlanan Baskılanmış ve Baskılanmamış Elektrotların SEM Analizleri

Şekil 4.3 MIP/PtNPs/POM/GCE ve NIP/ PtNPs/POM/GCE elektrotlarının SEM görüntülerini göstermektedir. PtNPs/POM ile modifiye edilmiş yüzeyde yoğun CPF baskılanmış polimer tabakaları görülmektedir (Şekil 4.3.A). CPF baskılanmamış yüzeye (Şekil 4.3.B) göre baskılama sonucunda daha fazla gözenekli yüzeyin elde edildiği ve böylece yüzeyde hedef moleküle özgü nano boşlukların başarılı bir şekilde oluşturulduğu anlaşılmaktadır.



Şekil 4.3 : SEM görüntüleri (A) MIP/PtNPs/POM/GCE ve (B) NIP/PtNPs/POM/GCE

4.4 Modifiye Edilmemiş ve CPF Baskılanmış Modifiye Camı Karbon Yüzeylerinin AFM ve Elipsometre Analizleri

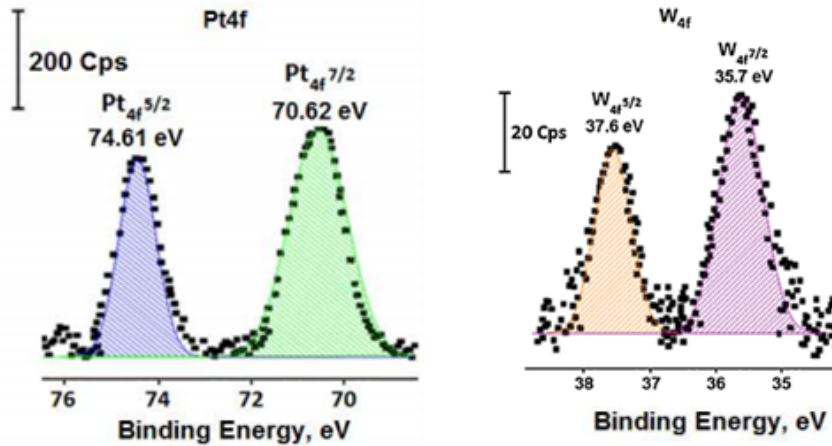
Modifiye edilmemiş ve CPF baskılanmış modifiye camı karbon yüzeylerinin yüzey morfolojisi yarı değer modda atomik kuvvet mikroskobu ile karakterize edilmiştir. Hazırlanan yüzeylerin sırasıyla yüzey derinlikleri $7,18 \pm 0,37$ ve $47,17 \pm 1,09$ nm olarak bulunmuştur. Böylece temizlenmiş ve modifiye edilmemiş camı karbon elektrot yüzeyinde CPF baskılanmış polimer oluşumu sonucunda yüzeyde pürüzlülük artışı açıkça görülmektedir.

Poliokso metalat ile fonksiyonlaştırılmış platin nanopartikül temelli CPF baskılanmış elektrotlar, CPF (20 mM) ve pirol (80 mM) sulu çözeltilerinin destek elektrolit (pH 6,0, 0,1 M fosfat tamponu) varlığında (2 mL) dönüşümlü voltametri tekniği yardımıyla (Tarama hızı: 50 mV s^{-1}) çoklu tarama yapılarak (tarama sayısı: 15) hazırlandıktan sonra Elipsometri tekniği yardımıyla en az 6 farklı bölgeden yüzey kalınlığı ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Elipsometrik sonuçlara göre CPF baskılanmış elektrokimyasal filminin yüzey kalınlığı $22,71 \pm 0,24$ nm olarak ölçülmüş

ve böylece homojen ve tek tabakalı bir filmin oluşumu başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir.

4.5 Hazırlanan Malzemenin XPS Analizleri

Elde edilen altın nanopartiküllerinin, PtNPs/POM nanokompozitinin yapısı üzerinde varlığını kanıtlamak için XPS analizi yapılmıştır. Şekil 4.4’de PtNPs/POM nanokompozite ait W_{4f} ve Pt_{4f} x-ışınları fotoelektron pikleri görülmektedir. Pt_{4f} ’e ait spektrum sırasıyla 70,62 eV ve 74,61 eV bağlanma enerjili, $4f^{7/2}$ ve $4f^{5/2}$ şeklinde iki dubletten oluşur ve sentezlenen nanokompozitin yapısında PtNPs olduğunu kanıtlamaktadır. W_{4f} ’e ait spektrumdaki pikler ise poliokzometalatın yapıda var olduğunu kanıtlamaktadır.

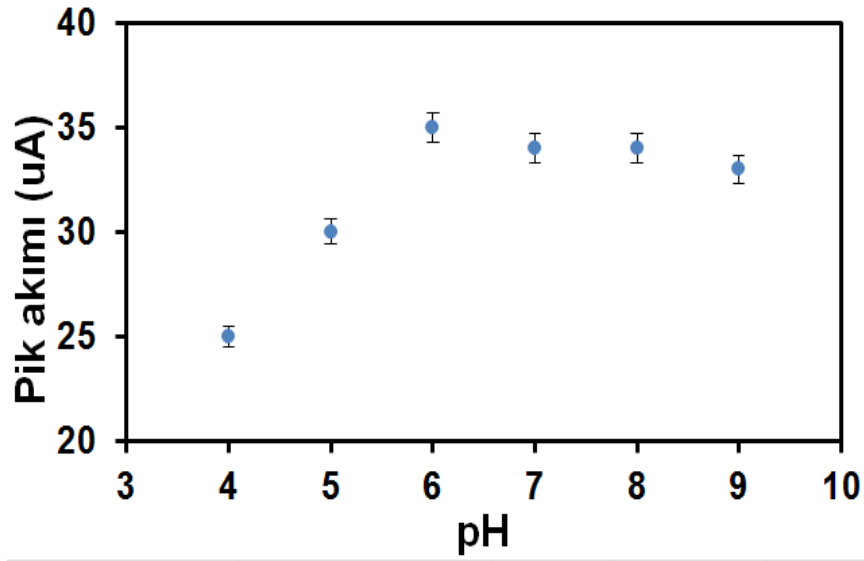


Şekil 4.4 : PtNPs/POM nanokompozitinin Pt_{4f} ve W_{4f} XPS analizleri

4.6 Destek Elektrolit pH Değişiminin Geliştirilen CPF Baskılı Elektrokimyasal Sensör Üzerine Etkisi

Farklı pH değerlerinde hazırlanan 0,1 M fosfat tamponunun, 5,0 nM CPF varlığında elektrokimyasal sensör cevabı üzerine etkisi incelenmiş ve pik akımı değişimleri ölçülmüştür (Şekil 4.5). Elektrot yüzeyine CPF birikimi pH 6.0 değerine

kadar aşamalı olarak artmıştır. pH 6.0 değerinden sonra elde edilen sinyallerin sabite yakın bir şekilde ortaya çıktığı hatta bir miktar azaldığını görüyoruz. Bazik ortamda hedef molekül CPF ile monomer arasındaki hidrojen bağ ve elektrostatik etkileşimler zayıflayarak sensör-analit afinitesi azalmaktadır. Sonuç olarak en uygun pH değeri olarak sonraki çalışmalar için 6,0 seçilmiştir.



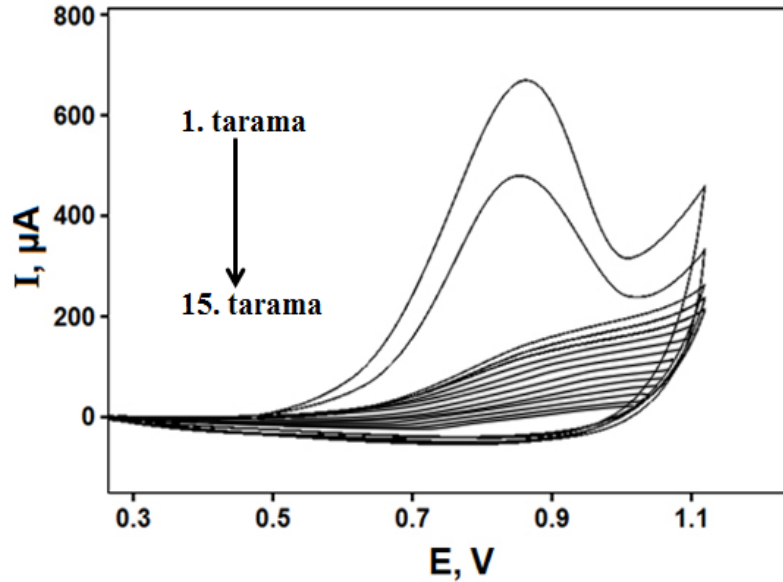
Şekil 4.5 : CPF baskılanmış elektrokimyasal sensör üzerine destek elektrolit pH etkisi (5,0 nM CPF varlığında) (n=6)

4.7 PtNPs/POM Hibrit Malzeme Yüzeyinde CPF Baskılanmış (MIP) ve Baskılanmamış (NIP) Elektrokimyasal Yüzeylerin Hazırlanması

Daha önceden hazırlanmış PtNPs/POM kompozit malzemesi (20 μ L) temizlenmiş camsı karbon elektrotların yüzeyine damlatıldıktan sonra hazırlanan modifiye elektrotlar saf su ile 3 kez yıkandı. Temizleme işleminden sonra modifiye elektrotlar azot gazı ile kurutuldu. CPF baskılanmış elektrotlar, CPF (20 mM) ve

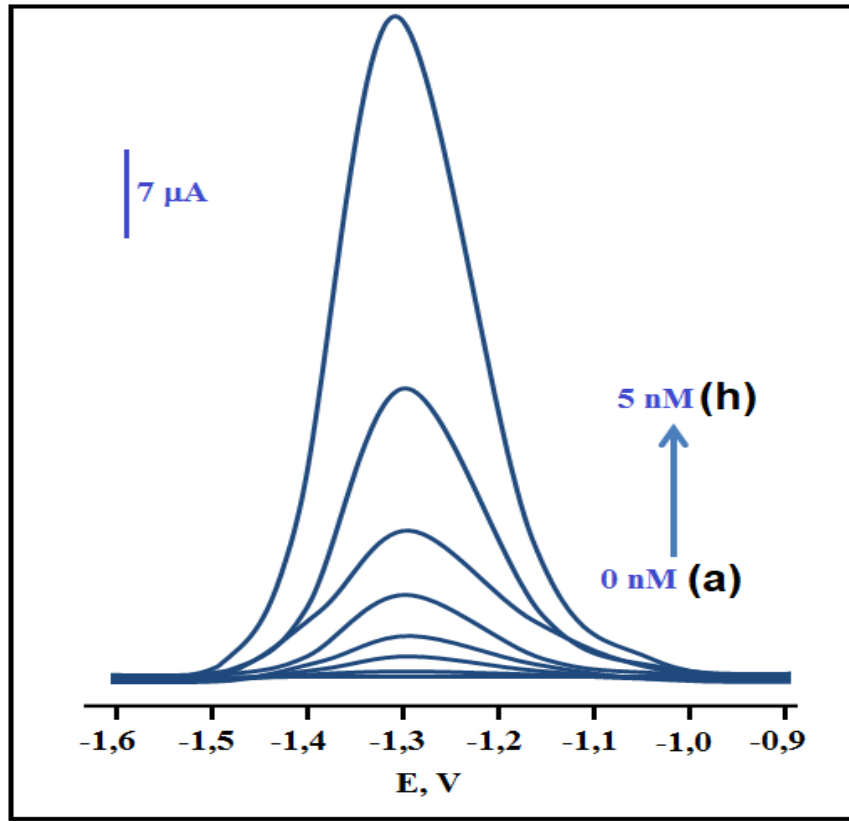
pirol (80 mM) sulu çözeltilerinin destek elektrolit (pH 6.0, 0,1 M fosfat tamponu) varlığında (2 mL) dönüşümlü voltametri tekniği yardımıyla (Tarama hızı: 50 mV s⁻¹) çoklu tarama yapılarak (tarama sayısı: 15) hazırlandı. Şekilde görüldüğü üzere pirol monomerinin ilk tarama esnasında yaklaşık 0,90 V'da oksidasyonu görülmektedir. İlk taramadan sonra aşama aşama oksidasyon akımının azaldığı ve böylece yüzeyde polimerik filmin geliştiğini söyleyebiliriz. Bu bulgular camı karbon elektroduna pirol monomerinin başarılı bir şekilde elektropolimerize olduğunu göstermektedir. Ayrıca tarama sayısının artmasıyla pik akım şiddetinin azalmasının diğer bir nedeni ise elektrot yüzeyinde sürekli bir polipirol tabakasının oluşmasından dolayı daha az baskılanmış bölge içeren daha kalın bir polimerik tabakanın oluşmasından kaynaklanmaktadır (Şekil 4.6).

Aynı işlem hedef molekülü kullanılmadan da yapılarak, CPF baskılanmamış polimerler (NIP) karbon nitrit nanotüp/polioksometalat hibriti ile fonksiyonlaştırılmış altın nanopartikül yüzeyine kaplandı ve proje kapsamında CPF tayini için hazırlanan elektrokimyasal sensörün yarışmacı ajanlar varlığında baskılama seçiliğini göstermek için bu elektrotlar kullanıldı.



Şekil 4.6 : 0,1 M, pH 6.0 fosfat tamponu sisteminde PtNPs/POM ile modifiye edilmiş camı karbon elektrotu üzerinde 20 mM CPF varlığında 80 mM pirol monomerinin elektropolimerizasyonu

Hazırlanan CPF baskılanmış elektrotlar sonike edilip desorpsiyon çözeltisi (1,0 M NaCl) ile hedef molekül uzaklaştırıldıktan (desorpsiyon zamanı:15 dk) sonra farklı derişimlerdeki CPF çözeltileri elektrokimyasal sensör sistemine verilmiş ve deneyler bu şekilde tekrar edilmiştir. SWV tekniği yardımıyla artan derişimlerde elde edilen voltamogramlar Şekil 4.7’de gösterilmektedir.

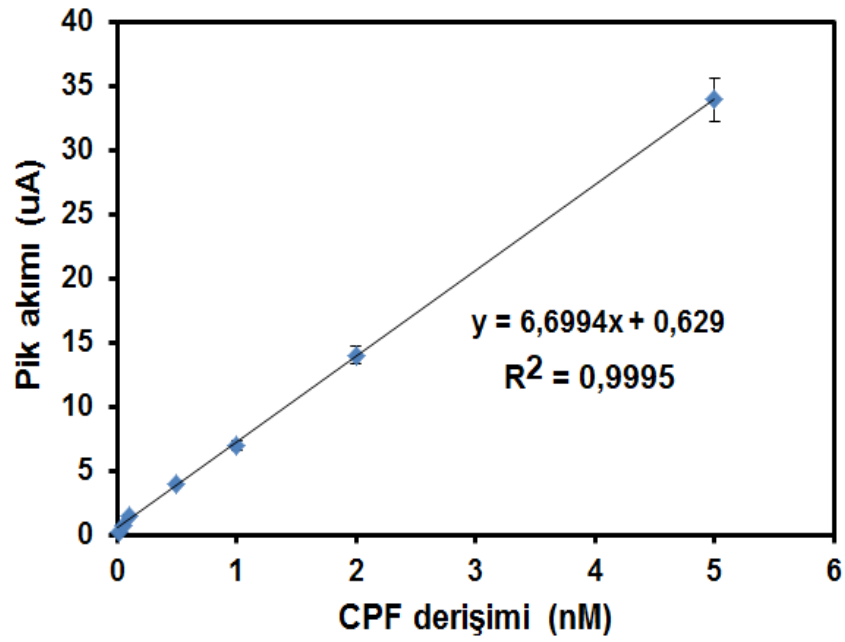


Şekil 4.7 : CPF'nin CPF baskılanmış PtNPs/POM ile modifiye edilmiş camı karbon elektrotu kullanılarak alınan kare dalga voltamogramları.

4.8 Kalibrasyon Eğrisi ve Doğrusallık Aralığı

Geliştirilen MIP/PtNPs/POM/GCE temelli yöntemde CPF derişimine karşı elde edilen sinyaller grafiğe geçirilerek kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir. SWV yöntemi ile 0,01 – 5,0 nM aralığında doğrusal olan kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir (Şekil

4.8). Geliştirilen yöntem için doğrusallıktan ayrılışın önem kontrolü yapılmıştır. SWV yöntemi için $F_H = 80,18 > F_T = 5,59$ değerleri elde edilmiş ve bu sonuçlara göre doğrusallıktan ayrılışın önemsiz olduğu bulunmuştur ($p < 0,05$). Ayrıca korelasyon katsayılarının önem kontrolü yapılarak bu katsayıların istatistiksel olarak önemli değerler olduğu bulunmuştur (SWV yöntemi için $t_H = 99,95 > t_T = 2,48$, $p < 0,05$).



Şekil 4.8 : CPF'nin SWV yöntemi ile elde edilen kalibrasyon eğrisi ($n = 6$)

Geliştirilen SWV yöntemi için elde edilen kalibrasyon eğrisinin özellikleri Tablo 4.1'de gösterilmiştir. Korelasyon ve tanımlayıcılık katsayılarının yaklaşık olarak 1,0000 bulunması çizilen kalibrasyon eğrilerinin bir doğru olduğunu göstermektedir.

Tablo 4.1. Önerilen SWV yöntemine ait kalibrasyon eğrisinin özellikleri (n = 6)

	SWV yöntemi
Regresyon Denklemi	$y^* = 6,6994x + 0,629$
Korelasyon katsayısı (r)	0,9997
Tanımlayıcılık katsayısı (R²)	0,9995
Doğrusallık aralığı (nM)	0,01 – 5,0
LOD (M)	$3,2 \times 10^{-12}$
LOQ (M)	$9,7 \times 10^{-12}$

4.9 Özgüllük (Seçicilik)

Özgüllük (Seçicilik), yöntemin diğer maddeler varlığında analizi yapılan maddenin miktarını doğru olarak tayin edebilme yeteneğidir. Geliştirilen CPF baskılanmış elektrokimyasal sensörün seçicilik deneylerinin gerçekleştirilmesi amacıyla; yarışmacı moleküller olarak klorprifos-metil (CPF-Me) yanı sıra klorprifos-okson (CPF-Ox) ve 3,5,6-trikloro-2-pridinol (TCL-Pr) metabolitleri seçilmiştir. Bu moleküller içinde tayini yapılacak CPF, 3,5,6-trikloro-2-pridinol ile piridin halkası boyunca benzer yapıya sahipken, diğer iki molekül ile hemen hemen benzer yapılara sahiptir. Bu kapsamda geliştirilen CPF baskılanmış elektrokimyasal sensörler (MIP) ayrı ayrı hedef molekül ve diğer yarışmacı ajanlarla etkileştirilmiştir.

CPF-Me, CPF-Ox ve TCL-Pr için CPF moleküllerine göre dağılma ve seçicilik katsayıları aşağıdaki eşitliğine göre belirlenmiştir.

$$K_d = [(C_i - C_f)/C_f] \times V/m$$

Eşitlikte K_d dağılma katsayısını (1/nM); C_i ve C_f analit moleküllerinin başlangıç ve sonuç derişimlerini (nM); V, kullanılan çözelti hacmini (mL) ve m,

polimerin ağırlığını (g) ifade etmektedir. Ancak; sensör uygulamalarında, derişim ve kütle parametrelerinin dönüştürülmesi gerekmektedir. Bu yaklaşımdaki temel sebepler; başlangıç ve son derişimleri arasında önemli bir fark gözlenememesi ve derişimin ΔI (akım) ile doğrusal ilişkide olmasıdır.

Bu durumda seçicilik katsayısı,

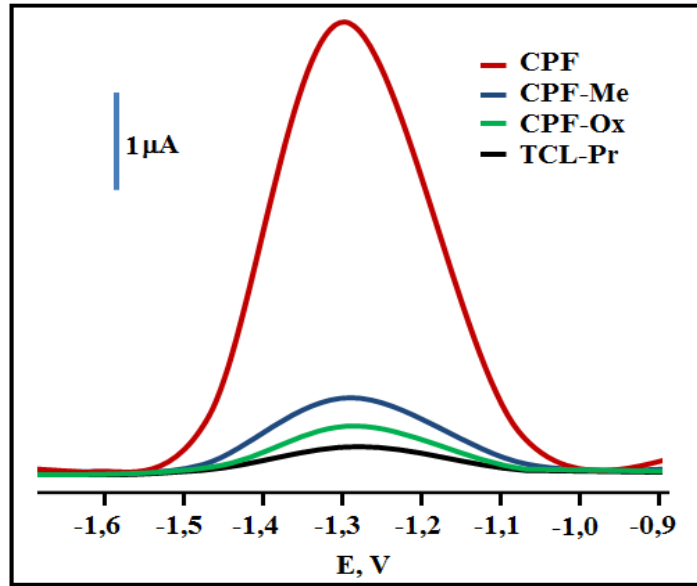
$$k = \Delta I_{\text{kalıp}} / \Delta I_{\text{girişimci}}$$

şeklinde kullanılabilir.

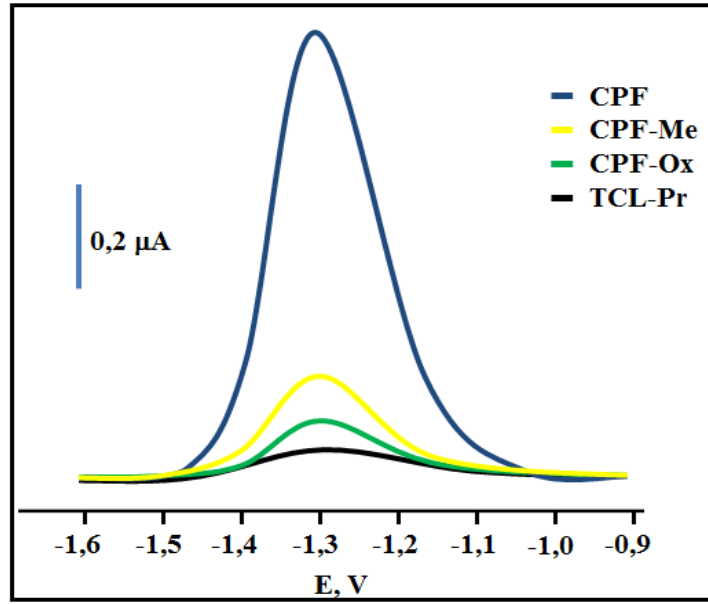
Geliştirilen CPF baskılanmış sensörün baskılama seçiciliğinin belirlenmesi için kullanılan bağıl seçicilik katsayısı (k') ise;

$$k' = k_{\text{baskılanmış}} / k_{\text{kontrol}}$$

şeklinde ifade edilebilir. Hazırlanan CPF baskılanmış elektrokimyasal sensörlerin CPF'ye karşı seçiciliğinin belirlenmesi için yarışmalı adsorpsiyon deneyleri CPF-Me, CPF-Ox ve TCL-Pr çözeltileri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. CPF baskılanmış (MIP) ve baskılanmamış (NIP) sensörlerin bu karışımlara gösterdiği tepki Şekil 4.9 ve Şekil 4.10'da görülmektedir. Geliştirilen sensörler için CPF'ye göre CPF-Me, CPF-Ox ve TCL-Pr için seçicilik ve bağıl seçicilik katsayıları Tablo 4.2'de verilmiştir.



Şekil 4.9 : 1,00 nM suluCPF, CPF-Me, CPF-Ox ve TCL-Pr çözeltileri ile CFB baskılanmış elektrokimyasal sensör arasındaki etkileşimlere ait kare dalga voltamogramları



Şekil 4.10 : 1.00 nM suluCPF, CPF-Me, CPF-Ox ve TCL-Pr çözeltileri ile CFB baskılanmamış elektrokimyasal sensör arasındaki etkileşimlere ait kare dalga voltamogramları.

CPF baskılanmış elektrokimyasal sensörünün suluCPF, CPF-Me, CPF-Ox ve TCL-Pr'ye verdiği voltammogram sinyal değerleri (ΔI) sırasıyla 0,60, 0,40 ve 0,23'tür. Aynı derişimde CPF için elde edilen sinyal değeri ise 7.02'dir. Bu sonuçlara göre CPF baskılanmış elektrokimyasal sensörü CPF'yi, CPF-Me'ye göre 11,70 kat, CPF-Ox'a göre 17,55 kat ve TCL-Pr'ye göre 30,52 kat daha duyarlı tayin edebilmektedir (Tablo 4.2). Etkileşimdeki bu hassasiyet kalıp molekül olan CPF'nin üç boyutlu yapısının polimerik hafızaya alınmasından kaynaklanmaktadır.

CPF baskılanmamış elektrokimyasal sensörün aynı derişimdeki suluCPF, CPF-Me, CPF-Ox ve TCL-Pr'ye verdiği voltammogram sinyal değerleri (ΔI) 0,80, 0,20, 0,10 ve 0,05'dir. Şekil 4.10 incelendiğinde CPF baskılanmamış elektrokimyasal sensörün aynı derişimdeki suluCPF, CPF-Me, CPF-Ox ve TCL-Pr sulu çözeltilerine verdiği sinyal artışının oldukça az olduğu görülmektedir. Hesaplanan seçicilik katsayıları CPF-Me için 11,70 (baskılanmış), 4,0 (baskılanmamış) olarak, CPF-Ox için 17,55 (baskılanmış), 8,00 (baskılanmamış) olarak ve TCL-Pr için 30,52 (baskılanmış), 16,00 (baskılanmamış) olarak bulunmuştur. Baskılama seçiciliğini

gösteren bağıl seçicilik katsayısı 2,93 (CPF/CPF-Me), 2,19 (CPF/CPF-Ox) ve 1,91 (CPF/TCL-Pr) olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlara göre CPF baskılanmış elektrokimyasal sensör; CPF'yi CPF-Me'ye göre 2,93 kat, CPF-Ox'a göre 2,19 ve TCL-Pr'ye göre 1,91 kat seçicilikle tanımaktadır. Molekül yapılarının ve molekül ağırlıklarının birbirine çok yakın olan bu moleküller arasında 2,93, 2,19 ve 1,91 katlık ayırma faktörünün başarılı bir sonuç olduğu söylenebilir.

Tablo 4.2 : CPF'ye göre CPF-Me, CPF-Ox ve TCL-Pr için seçicilik ve bağıl seçicilik katsayıları (CPF baskılanmış elektrokimyasal sensörün etkileştiği sulu CPF, CPF-Me, CPF-Ox ve TCL-Pr derişimleri 1,00 nM)

	MIP		NIP		k'
	ΔI (μA)	k	ΔI (μA)	k	
CPF	7,02	-	0,80	-	-
CPF-Me	0,60	11,70	0,20	4,00	2,93
CPF-Ox	0,40	17,55	0,10	8,00	2,19
TCL-Pr	0,23	30,52	0,05	16,00	1,91

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yüzeyi moleküler baskılı polimerik (MIP) film ile kaplı, karbon nitrit nanotüp/polioksometalat hibriti ile fonksiyonlaştırılmış altın nanopartikül temelli bir elektrokimyasal sensör geliştirilerek klorprifos tayininde kullanılmıştır. Literatürde klorprifos analizi için karbon nitrit nanotüp/polioksometalat hibriti ile fonksiyonlaştırılmış altın nanopartikül temellinanokompozit ilk kez bu çalışmada kullanılmıştır. Kademe kademe oluşturulan yüzeylerin ve kompozit malzemelerin çeşitli teknikler (TEM, SEM, XPS, EIS, CV) kullanılarak karakterizasyon çalışmaları başarılı bir şekilde tamamlandıktan sonra hazırlanan nanokompozit temelli moleküler baskılanmış elektrokimyasal sensörün optimizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Pik akımı ile birlikte pik şeklinin düzgünlüğü de göz önüne alınarak optimum cihaz parametreleri olarak; frekans için 50 Hz, adım yüksekliği 3 mV ve puls genliği 20 mV seçilmiştir. Ayrıca geliştirilen SWV yöntemi için optimize edilmiş en uygun koşullar destek elektrolit pH'sı için 6.0, monomer derişimi için 80 mM, tarama sayısı için 15 ve hedef molekül (klorprifos) derişimi için 20 mM bulunmuştur. Geliştirilen yöntemin doğrusallık, duyarlılık, doğruluk, kesinlik, sağlamlık, tutarlılık ve seçicilik gibi validasyon parametreleri değerlendirilmiş ve geçerlilikleri kanıtlanmıştır. Moleküler baskılama tekniği kullanılarak geliştirilen elektroanalitik sensörün klorprifos'un analizine dayananan proje çalışmasının literatüre önemli katkılar sağlaması beklenilmektedir. Proje kapsamında geliştirilen yöntemin; validasyon parametreleri açısından iyi sonuçlar vermesine ek olarak basit, hızlı ve seçici yöntem olması nedeniyle kaynaklardaki klorprifosanalizi için geliştirilen yöntemlere alternatif olarak sunulmaktadır. Sonuç olarak geliştirdiğimiz yöntem klorprifos analizi için literatürde daha önce kullanılmamış olan bir elektrokimyasal sensörün kullanılmış olması açısından öncü bir çalışmadır. Ayrıca hazırlanan sensörün hızlı ve tekrar kullanılabilirlik gibi avantajlara da sahiptir. Bunların yanı sıra geliştirdiğimiz yöntem hızlı, hassas ve ekonomik bir yöntem olarak da son derece önemlidir ve çalışmamızın bu konuda gelecekte yapılacak olan çalışmalara yol göstereceği düşünülmektedir.

6. KAYNAKLAR

Al-Meqbali A.S.R., El-Shahawi M.S., Kamal M.M., "Differential Pulse Polarographic Analysis of Chlorpyrifos Insecticide", *Electroanalysis*, 10, 784-786,(1998).

Anastas, P.T., Warner, J.C.," *Green Chemistry: Theory and Practice*", New York Journal Science, (in press) (1998).

Anirudhan TS., Alexander S., "Synthesis and characterization of vinyl-functionalizedmultiwalled carbon nanotubes based molecular imprinted polymer for the separation of chlorpyrifos from aqueous solutions", *J Chem Technol Biotechnol* 88, 1847–1858,(2013).

Atar N., Eren T., Yola M.L., "A molecular imprinted SPR biosensor for sensitive determination of citrinin in red yeast rice", *Food Chemistry*, 184, 7-11,(2015).

Atar N., Yola M.L., Eren T., "Sensitive determination of citrinin based on molecular imprinted electrochemical sensor", *Applied Surface Science*, 362, 315-322,(2016).

Chen D., Jiao Y., Jia H., Guo Y., Sun X., Wang X., Xu J., "Acetylcholinesterase Biosensor for Chlorpyrifos Detection Based on Multi-Walled Carbon Nanotubes-SnO₂-chitosan Nanocomposite Modified Screen-Printed Electrode", *Int. J. Electrochem. Sci.*, 10, 10491 – 10501,(2015).

Cheng W., Zheng Z., Yang J., Chen M., Yao Q., Chen Y., Gao W.,"The visible light-driven and self-powered photoelectrochemical biosensor for organophosphate pesticides detection based on nitrogen doped carbon quantum dots for the signal amplification", *Electrochimica Acta*, 296, 627-636,(2016).

Costa L.G., Cole T.B., Jarvik G.P., Furlong C.E., "Functional Genomics of the Paraoxonase (PON1) Polymorphisms: Effects on Pesticide Sensitivity, Cardiovascular Disease, and Drug Metabolism", *Annual Review of Medicine*, 371-392,(2003).

El-Shahawi M.S., Kamal M.M., "Determination of the pesticide Chlorpyrifos by cathodic adsorptive stripping voltammetry", *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 362, 344-347,(1998).

Estévez E., Cabrera M.d.C., Molina-Díaz A., Robles-Molina J., Palacios-Díaz M.d. P., "Screening of emerging contaminants and priority substances (2008/105/EC) in reclaimed water for irrigation and groundwater in a volcanic aquifer (Gran Canaria, Canary Islands, Spain)", *Science of the Total Environment* 433, 538-546,(2008).

García de Llasera M.P., Cruz-Reyes L., Vera-Avila L.E., “A method for the analysis of organophosphorus pesticide residues in Mexican axolotl”, *Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 45, 25-32,(2009).

Gibbs J.L., Dills R.L., Yu J., Yost M., Fenske R.A., “A sensitive LC-MS/MS method for measurement of organophosphorus pesticides and their oxygen analogs in air sampling matrices”, *Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 49, 102-108,(2014).

Gillan E.G., “Synthesis of Nitrogen-Rich Carbon Nitride Networks from an Energetic Molecular Azide Precursor”, *Chemistry of Materials*, 12, 3906-3912,(2000).

Gupta V.K., Eren T., Atar N., Yola M.L., Parlak C., Karimi-Maleh H., “CoFe₂O₄@TiO₂ decorated reduced graphene oxide nanocomposite for photocatalytic degradation of chlorpyrifos”, *Journal of Molecular Liquids*, 208, 122-129,(2015).

Gupta V.K., Yola M.L., Atar N., Solak A.O., Uzun L., Üstündağ Z., “Electrochemically modified sulfisoxazole nanofilm on glassy carbon for determination of cadmium(II) in water samples”, *Electrochimica Acta*, 105, 149-156,(2013).

Hu Y., Pan J., Zhang K., Lian H., Li G., “Novel applications of molecularly-imprinted polymers in sample preparation”, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 43, 37-52,(2013).

Ion A.C., Ion I., Culetu A., Gherase D., Moldovan C.A., Iosub R., Dinescu A., “Acetylcholinesterase voltammetric biosensors based on carbon nanostructure-chitosan composite material for organophosphate pesticides”, *Materials Science and Engineering C*, 30, 817-821,(2010).

Ismail M., Khan H.M., Sayed M., Cooper W.J., “Advanced oxidation for the treatment of chlorpyrifos in aqueous solution”, *Chemosphere*, 93, 645-651,(2013).

Kim Y., Shanmugam S., “Polyoxometalate–Reduced Graphene Oxide Hybrid Catalyst: Synthesis, Structure, and Electrochemical Properties”, *ACS Applied Materials & Interfaces*, 5, 12197-12204,(2013).

Kumaravel A., Chandrasekaran M., “Electrochemical Determination of Chlorpyrifos on a Nano-TiO₂/Cellulose Acetate Composite Modified Glassy Carbon Electrode”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63, 6150-6156,(2015).

Li H., Li J., Xu Q., Hu X., “Poly(3-hexylthiophene)/TiO₂ Nanoparticle-Functionalized Electrodes for Visible Light and Low Potential Photoelectrochemical Sensing of Organophosphorus Pesticide Chlorpyrifos”, *Analytical Chemistry*, 83, 9681-9686,(2011).

Li K., Yan L., Zeng Z., Luo S., Luo X., Liu X., Guo H., Guo Y., "Fabrication of H₃PW₁₂O₄₀-doped carbon nitride nanotubes by one-step hydrothermal treatment strategy and their efficient visible-light photocatalytic activity toward representative aqueous persistent organic pollutants degradation", *Applied Catalysis B: Environmental*, 156–157, 141-152,(2014).

Lin B., Yan Y., Guo M., Cao Y., Yu Y., Zhang T., Huang Y., Wu D., "Modification-free carbon dots as turn-on fluorescence probe for detection of organophosphorus pesticides", *Food Chemistry*, 245, 1176-1182,(2018).

Liu M., Wei J., Wang Y., Ouyang H., Fu Z., "Dopamine-functionalized upconversion nanoparticles as fluorescent sensors for organophosphorus pesticide analysis", *Talanta*, 195, 706-712,(2019).

Luo Y., Mi Y., Tan X., Chen Q., Feng D., Ai C., "Ultrathin BiOCl nanosheet modified TiO₂ for the photoelectrochemical sensing of chlorpyrifos", *Analytical Methods*, (2019)

Ma G., Chen L., "Determination of Chlorpyrifos in Rice Based on Magnetic Molecularly Imprinted Polymers Coupled with High-Performance Liquid Chromatography", *Food Anal. Methods* 7, 377-388,(2014).

Manisankar P., Viswanathan S., Pusphalatha A.M., Rani C., "Electrochemical studies and square wave stripping voltammetry of five common pesticides on poly 3,4-ethylenedioxythiophene modified wall-jet electrode", *Analytica Chimica Acta*, 528, 157-163,(2005).

Maryoung L.A., Lavado R., Schlenk D., "Impacts of hypersaline acclimation on the acute toxicity of the organophosphate chlorpyrifos to salmonids", *Aquatic Toxicology*, 152, 284-290,(2014).

Mauldin R.E., Primus T.M., Buettgenbach T.A., Johnston J.J., Linz G.M., "A simple HPLC method for the determination of chlorpyrifos in black oil sunflower seeds", *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*, 29, 339-348,(2006).

Mohan S.V., Sirisha K., Rao N.C., Sarma P.N., Reddy S.J., "Degradation of chlorpyrifos contaminated soil by bioslurry reactor operated in sequencing batch mode: Bioprocess monitoring", *Journal of Hazardous Materials*, 116, 39-48,(2004).

Moschet C., Vermeirssen E.L.M., Seiz R., Pfefferli H., Hollender J., "Picogram per liter detections of pyrethroids and organophosphates in surface waters using passive sampling", *Water Research*, 66, 411-422,(2014).

Pabbi M., Kaur A., Mittal S.K., Jindal R., "A surface expressed alkaline phosphatase biosensor modified with flower shaped ZnO for the detection of chlorpyrifos", *Sensors and Actuators B: Chemical*, 258, 215-227,(2018).

Pelit F.O., Ertas H., Ertaş F.N., "Development of an adsorptive catalytic stripping voltammetric method for the determination of an endocrine disruptor pesticide chlorpyrifos and its application to the wine samples", *Journal of Applied Electrochemistry*, 41, 1279-1285,(2011).

Pelit F.O., Pelit L., Ertaş H., Ertaş F.N., “Development of a gas chromatographic method for the determination of Chlorpyrifos and its metabolite Chlorpyrifos-oxon in wine matrix”, *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 904, 35-41,(2012).

Pinto M.I., Salgado R., Cottrell B.A., Cooper W.J., Burrows H.D., Vale C., Sontag G., Noronha J.P., “Influence of dissolved organic matter on the photodegradation and volatilization kinetics of chlorpyrifos in coastal waters”, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 310, 189-196,(2015).

Ranganathan S., Steidel I., Anariba F., McCreery R.L., “Covalently Bonded Organic Monolayers on a Carbon Substrate: A New Paradigm for Molecular Electronics”, *Nano Letters*, 1, 491-494,(2001).

Ren X., Liu H., Chen L., “Fluorescent detection of chlorpyrifos using Mn(II)-doped ZnS quantum dots coated with a molecularly imprinted polymer”, *Microchim Acta* 182, 193-200,(2015).

Rezayat M.R., Jafari M.T., Rahmanian F., “Thin film nanofibers containing ZnTiO₃ nanoparticles for rapid evaporation of extraction solvent: application to the preconcentration of chlorpyrifos prior to its quantification by ion mobility spectrometry”, *Microchimica Acta*, 186,35,(2019).

Rigueira L.M.B., Ribeiro K.d.L., de Queiroz M.E.L.R., Neves A.A., Zambolim L., Oliveira R.M., Determination of Chlorpyrifos and Thiamethoxam in Potato Tuber (*Solanum tuberosum* L.) and Soil of Brazil Using Solid-Liquid Extraction with Low Temperature Partitioning (SLE/LTP), *J. Braz. Chem. Soc.*, 24, 2042-2049,(2013).

Sinha S.N., “Liquid Chromatography Mass Spectrometer (LC-MS/MS) Study of Distribution Patterns of Base Peak Ions and Reaction Mechanism with Quantification of Pesticides in Drinking Water Using a Lyophilization Technique”, *American Journal of Analytical Chemistry*, 2, 511-521,(2011).

Sirisha K., Mallipattu S., Reddy S., Reddy J., “Differential Pulse Adsorptive Stripping Voltammetric Determination of Chlorpyrifos at a Sepiolite Modified Carbon Paste Electrode”, *Analytical Letters*, 40, 1939-1950,(2007).

Uygun Z.O., Dilgin Y., A novel impedimetric sensor based on molecularly imprinted polypyrrole modified pencil graphite electrode for trace level determination of chlorpyrifos, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 188, 78-84,(2013).

Viswanathan S., Radecka H., Radecki J., “Electrochemical biosensor for pesticides based on acetylcholinesterase immobilized on polyaniline deposited on vertically assembled carbon nanotubes wrapped with ssDNA”, *Biosensors and Bioelectronics*, 24, 2772-2777,(2009).

Xie C., Li H., Li S., Gao S., “Surface molecular imprinting for chemiluminescence detection of the organophosphate pesticide chlorpyrifos”, *Microchim Acta*, 174, 311–320,(2011).

Xiong J., Guan Z., Zhou G., Tang X., Lv Y., Wang H., "Determination of chlorpyrifos in environmental water samples by dispersive liquid-liquid microextraction with solidification of a floating organic drop followed by gas chromatography with flame photometry detection", *Analytical Methods*, 4, 3246-3250,(2012).

Yao G.-H., Liang R.-P., Huang C.-F., Wang Y., Qiu J.-D., "Surface Plasmon Resonance Sensor Based on Magnetic Molecularly Imprinted Polymers Amplification for Pesticide Recognition", *Analytical Chemistry*, 85, 11944-11951,(2013).

Yola M.L., Atar N., Qureshi M.S., Üstündağ Z., Solak A.O., "Electrochemically grafted etodolac film on glassy carbon for Pb(II) determination", *Sensors and Actuators B: Chemical*, 171–172, 1207-1215,(2012).

Yola M.L., Atar N., Üstündağ Z., Solak A.O., "A novel voltammetric sensor based on p-aminothiophenol functionalized graphene oxide/gold nanoparticles for determining quercetin in the presence of ascorbic acid", *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 698, 9-16,(2013).

Yola M.L., Eren T., Atar N., "Molecularly imprinted electrochemical biosensor based on Fe@Au nanoparticles involved in 2-aminoethanethiol functionalized multi-walled carbon nanotubes for sensitive determination of cefexime in human plasma", *Biosensors and Bioelectronics*, 60, 277-285,(2014).

Yola M.L., Gupta V.K., Atar N., "New molecular imprinted voltammetric sensor for determination of ochratoxin A", *Materials Science and Engineering: C*, 61, 368-375,(2016).

Zhang J., Zhu Z., Di J., Long Y., Li W., Tu Y., "A Sensitive Sensor for trace Hg²⁺ Determination Based on Ultrathin g-C₃N₄ Modified Glassy Carbon Electrode", *Electrochimica Acta*, 186, 192-200,(2015).

Zhu J., Xiao P., Li H., Carabineiro S.A.C., "Graphitic Carbon Nitride: Synthesis, Properties, and Applications in Catalysis", *ACS Applied Materials & Interfaces*, 6, 16449-16465,(2014).

7. ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad: Seval ÇÖPÜR

Doğum Yeri ve Tarihi: Denizli

Elektronik posta:

İletişim Adresi: Ataköy/İstanbul

Lisans Üniversitesi: İnönü Üniversitesi

Yüksek Lisans: Pamukkale Üniversitesi