



Klorprifos tayini için karbon nitrit nanotüp/poliokso metalat hibriti ile fonksiyonlaştırılmış nanopartikül temelli moleküler baskılı elektrokimyasal sensörlerin hazırlanması

Program Kodu: 1001

Proje No: 116Z153

Proje Yürütücüsü:
Doç. Dr. Mehmet Lütfi YOLA

Araştırmacı(lar):

Prof. Dr. Necip ATAR
Dr. Öğr. Üyesi Levent Gürel

Bursiyer(ler):

Özge AYDOĞAN
Kadriye KEÇEBAŞ

ŞUBAT 2019
HATAY



ÖNSÖZ

“Klorprifos tayini için karbon nitrit nanotüp/polioksometalat hibriti ile fonksiyonlaştırılmış nanopartikül temelli moleküler baskılı elektrokimyasal sensörlerin hazırlanması” konusundaki bu proje, 1001-AR-GE Projeleri Destekleme Programı kapsamında TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir. Proje, 01 Mart 2017 tarihinde başlamış olup, 01 Şubat 2019 tarihinde tamamlanmıştır.

Klorprifostayini her zaman güncelliğini korumuş ve bu alanda yapılacak yenilikler ilgiyle izlenmiştir. Dünyada çeşitli çalışmalar yapılmış olmasına karşın ülkemizde Klorprifos’un analizi ile ilgili çok sayıda çalışma mevcut değildir. Proje kapsamında kullanım alanı oldukça geniş ve fakat bunun yanında çok düşük dozlarının dahi insan sağlığı ve çevre üzerine olumsuz etkileri olduğu bilinen Klorprifos’un tayin edilmesinde kullanılmak üzere yüzeyi moleküler baskılı polimerik (MIP) film ile kaplı, karbon nitrit nanotüp/polioksometalat hibriti ile fonksiyonlaştırılmış altın nanopartikül temelli bir elektrokimyasal sensör geliştirilmesi hedef alınmıştır. Hazırlanan sensör, moleküler baskılamanın karbon nitrit nanotüp/polioksometalat hibriti ile fonksiyonlaştırılmış altın nanopartikül temelli kompozit malzeme yüzeyinde gerçekleştirilecek olmasından dolayı **HIZLI** (kütle transfer hızı yüksek) ve **YÜKSEK SEÇİCİ**, kullanılan hibrit malzemenin yüksek elektrokatalitik özelliğinden dolayı **YÜKSEK DUYARLILIK** ve herhangi bir indirgeyici ajan kullanılmadan tek adımda (one-pot) altın nanopartikül ve hidrotermal koşullarda yapılan hibrit malzeme sentezinden dolayı **EKONOMİK** ve **ÇEVRE DOSTU** oluşu gibi avantajlara sahiptir. Çalışmamızın bu konuda gelecekte yapılacak olan çalışmalara yol gösterici olacağı düşünülmektedir.

Bu bağlamda her anlamda bizden desteğini esirgemeyen TÜBİTAK’a şükranlarımızı sunarız.

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
ÖNSÖZ	i
İÇİNDEKİLER	ii
TABLO LİSTESİ	iv
ŞEKİL LİSTESİ	vi
ÖZET	viii
ABSTRACT	ix
BÖLÜM 1. GİRİŞ	1
1.1. Klorprifos	1
1.2. Klorprifos'un Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	1
1.3. Klorprifos'un Kullanım Alanları	1
1.4. Klorprifos ile İlgili Yasal Sınır Değerleri	2
1.5. Klorprifos Tayin Yöntemleri	3
1.6. Grafitik Karbon Nitrit	5
1.7. Poliokzometalatlar (POMs)	6
1.8. Hidrotermal Sentez	8
1.9. Moleküler Baskılama	8
BÖLÜM 2. GEREÇ ve YÖNTEMLER	10
2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	10
2.2. Kullanılan Cihaz ve Aletler	11
2.3. Deneysel Yöntem	13
2.3.1. Çözeltilerin Hazırlanması	13
2.3.2. Hibrit Malzemenin Hazırlanması	13
2.3.3. Oluşturulan Hibrit Yüzeyinde Elektropolimerizasyon Yoluyla Klorprifos Baskılanmış (MIP) ve Baskılanmamış (NIP) Camsı Karbon Elektrotların Hazırlanması	14
2.3.4. Yöntem ve Ortam Şartlarının Optimizasyon Çalışmaları	15
2.3.5. Validasyon	15
2.3.6. Hazırlanan Sensörlerin Gerçek Numunelere Uygulanması ve Literatürde Bulunan Çalışmalar ile Karşılaştırılması	17

2.4. Numune Toplanması ve Hazırlanması	17
BÖLÜM 3. BULGULAR	19
3.1. Hazırlanan Nanokompozitlerin ve Elektrotların Karakterizasyon Çalışmaları	19
3.2. Aşama Aşama Hazırlanan Modifiye Elektrotların Elektrokimyasal Karakterizasyon Çalışmaları	22
3.3. Hazırlanan Baskılanmış ve Baskılanmamış Elektrotlarının SEM Analizleri	24
3.4. Modifiye Edilmemiş ve CPF Baskılanmış Modifiye Camsı Karbon Yüzeylerinin AFM ve Elipsometre Analizleri	25
3.5. Hazırlanan Üç Bileşenli Hibrit Malzemenin XPS ve FTIR Analizleri	26
3.6. Geliştirilen Analitik Yöntemin Optimizasyon Çalışmaları	28
3.7. Destek Elektrolitin Derişiminin Belirlenmesi	32
3.8. AuNPs/H ₃ PW ₁₂ O ₄₀ /C ₃ N ₄ NT Hibrit Malzeme Yüzeyinde CPF Baskılanmış (MIP) ve Baskılanmamış (NIP) Elektrokimyasal Yüzeylerin Hazırlanması	33
3.9. Geliştirilen Analitik Yöntemin Validasyonu	35
3.9.1. Hedef Molekül ve Hazırlanan Sensörün Kararlılık Çalışmaları	35
3.9.2. Kalibrasyon Eğrisi ve Doğrusallık aralığı	36
3.9.3. Duyarlılık	38
3.9.4. Kesinlik ve Doğruluk	38
3.9.5. Tekrarlanabilirlik	40
3.9.6. Sağlamlık ve Tutarlılık	40
3.9.7. Özgüllük (Seçicilik)	42
3.10. Numune Taşınması ve Hazırlanması	45
3.11. Geri Kazanım Deneyleri	45
3.12. Literatür Karşılaştırılması	50
BÖLÜM 4. TARTIŞMA VE SONUÇ	51
KAYNAKLAR	53
EKLER	59

TABLO LİSTESİ

	SAYFA
Tablo 1.1. Klorprifos'un bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri	1
Tablo 3.1. CPF'nin farklı derişimlerdeki pH 6.0 fosfat tamponları ile elde edilen pik akımları	32
Tablo 3.2. CPF için uzun dönem kararlılık bulguları (Eklenen CPF derişimi 0.500 nM, 0.1 M fosfat varlığında)	35
Tablo 3.3. CPF için kısa dönem kararlılık bulguları (Eklenen CPF derişimi 0.500 nM, 0.1 M fosfat varlığında)	35
Tablo 3.4. Çeşitli zamanlarda yapılan sonikasyon sonucunda elde edilen pik akımı ve potansiyel bulguları (Eklenen CPF derişimi 0.500 nM, 0.1 M fosfat varlığında) (n = 6)	36
Tablo 3.5. CPF'nin SWV yöntemi ile analizinden elde edilen kalibrasyon eğrisinin korelasyon katsayısı ile doğrusallıktan ayrılış önem kontrolü için yapılan istatistiksel hesaplamalar	37
Tablo 3.6. Önerilen SWV yöntemine ait kalibrasyon eğrisinin özellikleri (n = 6)	38
Tablo 3.7. SWV yönteminin gün içi ve günler arası kesinlik ve doğruluk bulguları	39
Tablo 3.8. Sensör tekrarlanabilirliği bulguları	40
Tablo 3.9. SWV yönteminin sağlamlığına ait analiz bulguları	41
Tablo 3.10. SWV yönteminin tutarlılığına ait analiz bulguları	41
Tablo 3.11. CPF'ye göre CPF-Me, CPF-Ox ve TCL-Pr için seçicilik ve bağıl seçicilik katsayıları	44
Tablo 3.12. Moleküler baskılanmış elektrokimyasal sensör için doğrudan kalibrasyon tekniği kullanılarak CPF'nin 5 farklı noktadan alınan nehir suyu numunelerinden hesaplanan geri kazanım değerleri	46
Tablo 3.13. Standart Ekleme Tekniği ile Doğrudan Kalibrasyon Tekniği ile elde edilen kalibrasyon denklemleri	47
Tablo 3.14. Karşılaştırma yöntemi için doğrudan kalibrasyon tekniği kullanılarak CPF'nin 5 farklı noktadan alınan nehir suyu numunelerinden hesaplanan geri kazanım değerleri	48

Tablo 3.15. Hazırlanan sensör ve Karşılaştırma yöntemi ile elde edilen analiz bulguları	49
Tablo 3.16. Proje kapsamında geliştirilen yöntemin diğer tekniklerle karşılaştırılması	50

ŞEKİL LİSTESİ

	SAYFA
Şekil 1.1. Klorprifos'un kimyasal yapısı	1
Şekil 1.2. Klorprifos'un metabolitlerine dönüşümü	2
Şekil 1.3. Grafitik karbon nitritin yapısal birimleri olarak s-triazin (a) ve tri-s-triazin (b) yapıları	6
Şekil 1.4. POMs'ların genel kristal yapıları	7
Şekil 1.5. POMs'dan elde edilen yapılar ve bu yapıların sağladığı uygulamalar	8
Şekil 1.6. Moleküler baskılanmış polimer için hazırlama süreci	9
Şekil 3.1. Taramalı elektron mikroskopu (SEM) görüntüleri (A) grafitik karbon nitrit (kütlesel (bulk) tabakalı), (B) grafitik karbon nitrit nano tabakası, (C) karbon nitrit nanotüp	19
Şekil 3.2. Karbon nitrit nanotüp'ün Raman spektrumu	20
Şekil 3.3. 0.1 M KCl çözeltisinde hazırlanan 1.0 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ çözeltisinin impedans (Nyquist) eğrileri	21
Şekil 3.4. Karbon nitrit nanotüp/polioksometalat hibriti (10:10) ile fonksiyonlaştırılmış altın nanopartikül temelli hibrit malzemenin TEM görüntüsü	22
Şekil 3.5. AuNPs/ $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ / $\text{C}_3\text{N}_4\text{NT}$ nanokompozitinin EDX analizi	22
Şekil 3.6. (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	24
Şekil 3.7. SEM görüntüleri (A) MIP/AuNPs/ $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ / $\text{C}_3\text{N}_4\text{NT}$ /GCE ve (B) NIP/AuNPs/ $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ / $\text{C}_3\text{N}_4\text{NT}$ /GCE	24
Şekil 3.8. (A) Modifiye edilmemiş; (B) CPF baskılanmış modifiye camısı karbon yüzeylerinin AFM görüntüleri	25
Şekil 3.9. CPF baskılanmış modifiye camısı karbon yüzeyinin 3B elipsometre görüntüsü	26
Şekil 3.10. FTIR analizleri (a) $\text{C}_3\text{N}_4\text{NT}$, (b) $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ / $\text{C}_3\text{N}_4\text{NT}$ ve (c) AuNPs/ $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ / $\text{C}_3\text{N}_4\text{NT}$	27
Şekil 3.11. AuNPs/ $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ / $\text{C}_3\text{N}_4\text{NT}$ nanokompozitinin C1s, N1s, W4f ve Au4f XPS analizleri	28

- Şekil 3.12.** CPF baskılanmış elektrokimyasal sensör üzerine destek elektrolit pH etkisi (5.0 nM CPF varlığında) (n=6) (Diğer Deneysel Koşullar; CPF: 20 mM, Piro: 80 mM, Tarama Sayısı: 20, Desorpsiyon zamanı: 20 dakika) 29
- Şekil 3.13.** CPF baskılanmış elektrokimyasal sensör üzerine monomer:hedef molekül oranı (pirol:CPF) etkisi (5.0 nM CPF varlığında) (n=6) (Diğer Deneysel Koşullar; Destek elektrolit pH: 6.0, Tarama Sayısı: 20, Desorpsiyon zamanı: 20 dakika) 30
- Şekil 3.14.** CPF baskılanmış elektrokimyasal sensör üzerine tarama sayısı etkisi (5.0 nM CPF varlığında) (n=6) (Diğer Deneysel Koşullar; Destek elektrolit pH: 6.0, CPF: 20 mM, Piro: 80 mM, Desorpsiyon zamanı: 20 dakika) 31
- Şekil 3.15.** CPF baskılanmış elektrokimyasal sensör üzerine desorpsiyon zamanı etkisi (5.0 nM CPF varlığında) (n=6) (Diğer Deneysel Koşullar; Destek elektrolit pH: 6.0, CPF: 20 mM, Piro: 80 mM, Tarama sayısı: 15) 31
- Şekil 3.16.** 0.1 M, pH 6.0 fosfat tamponu sisteminde AuNPs/H₃PW₁₂O₄₀/C₃N₄NT hibrit malzeme ile modifiye edilmiş camsı karbon elektrotu üzerinde 20 mM CPF varlığında 80 mM pirol monomerinin elektropolimerizasyonu 33
- Şekil 3.17.** CPF'nin CPF baskılanmış AuNPs/H₃PW₁₂O₄₀/C₃N₄NT hibrit malzeme ile modifiye edilmiş camsı karbon elektrotu kullanılarak alınan kare dalga voltamogramları 34
- Şekil 3.18.** CPF'nin SWV yöntemi ile elde edilen kalibrasyon eğrisi (n = 6) 37
- Şekil 3.19.** 1.00 nM suluCPF, CPF-Me, CPF-Ox ve TCL-Pr çözeltileri ile CFB baskılanmış elektrokimyasal sensör arasındaki etkileşimlere ait kare dalga voltamogramları 43
- Şekil 3.20.** 1.00 nM suluCPF, CPF-Me, CPF-Ox ve TCL-Pr çözeltileri ile CFB baskılanmamış elektrokimyasal sensör arasındaki etkileşimlere ait kare dalga voltamogramları 43
- Şekil 3.21.** Büyük Menderes nehri örnek alma güzergahları 45

ÖZET

Önerilen projede, yüzeyi moleküler baskılı polimerik (MIP) film ile kaplı, karbon nitrit nanotüp/poliokzometalat hibriti ile fonksiyonlaştırılmış altın nanopartikül temelli bir elektrokimyasal sensör geliştirilerek nehir sularından klorprifos tayininde kullanılması hedeflenmektedir. Klorprifos pestisitler grubundan kristal şeklinde organofosfat türü bir böcek ilacıdır.

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.

Bu sensörün geliştirilmesinde öncelikli olarak, grafitik karbon nitrit ($g\text{-C}_3\text{N}_4$) termal polimerizasyon yoluyla sentezlenmiştir. Daha sonra, poliokzometalat ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$, POM) ile fonksiyonlaştırılmış karbon nitrit nanotüp hibriti hidrotermal tekniği ile hazırlanmıştır. Poliokzometalat ile fonksiyonlaştırılmış karbon nitrit nanotüp sulu süspansiyonları hazırlandıktan sonra, daha önceden hazırlanmış kloraurik asit (HAuCl_4) çözeltilerine belli oranda eklenerek UV ışığı altında yaklaşık 40 dakika karıştırma işlemi gerçekleştirilmiştir. Daha sonra hazırlanan karbon nitrit nanotüp/poliokzometalat hibriti ile fonksiyonlaştırılmış altın nanopartikül temelli malzemeler ($\text{AuNPs/POM/C}_3\text{N}_4$ NT) temizlenmiş camsı karbon elektrot yüzeylerine damlatılarak modifiye elektrotlar hazırlanmıştır ($\text{AuNPs/POM/C}_3\text{N}_4$ NT/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) karbon nitrit nanotüp/poliokzometalat hibriti ile fonksiyonlaştırılmış altın nanopartikül 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, nehir sularından klorprifos'un hassas tayin edilmesinde uygulanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Klorprifos, Nanokompozit, Moleküler baskılanmış polimerler, Elektrokimya, Validasyon

ABSTRACT

The aim of this project is to develop an electrochemical sensor composed of the combination of carbon nitride nanotube /polyoxometalate hybrid functionalized gold nanoparticle and surface molecularly imprinted polymers (MIP) and apply to the determination of chlorpyrifos in river waters. Chlorpyrifos is crystalline organophosphate insecticide in the group of pesticides.

The traditional methods were developed for the determination of organophosphate pesticides such as gas chromatography (GC), liquid chromatography-mass spectroscopy (LC-MS) and high performance liquid chromatography (HPLC). However, the used instruments in these methods are expensive. In addition, these methods require highly skilled personnel and elaborate sample preparation. Therefore, there is a need to develop more sensitive, economically viable and faster for the analysis of these pesticides. Especially, electroanalytical techniques based on nanomaterial are frequently used because of their various advantages such as selective and sensitive and stable responses.

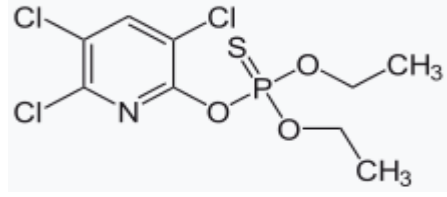
In this project, firstly, graphitic carbon nitride was synthesized by thermal polymerization. After that, polyoxometalate ($H_3PW_{12}O_{40}$, POM) functionalized carbon nitride nanotube hybrid was prepared by using hydrothermal method. The $H AuCl_4$ solution was added to the prepared polyoxometalate functionalized carbon nitride nanotube aqueous suspensions. The dispersions were stirred under the UV light for about 40 min. Finally, carbon nitride nanotube/polyoxometalate hybrid functionalized gold nanoparticle based materials (AuNPs/POM/ C_3N_4 NT) were dropped on the cleaned glassy carbon electrode surfaces (AuNPs/POM/ C_3N_4 NT/GCE). 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 carbon nitride nanatube/polyoxometalate hybrid functionalized gold nanoparticle 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 in river waters.

Keywords: Chlorpyrifos, Nanocomposite, Molecularly imprinted polymers, Electrochemistry, Validation

BÖLÜM 1. GİRİŞ

1.1 Klorprifos

Organofosfat grubu böcek öldürücü bir tarım ilacı olan Klorprifos (Şekil 1.1), çeşitli sivrisinekler, sinekler, böcekler ve haşerelerin kontrolü için tarımsal alanlarda kullanılmasının yanı sıra ektoparazitleri 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 1. 1. Klorprifos'un kimyasal yapısı

1.2 Klorprifos'un Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Organofosfat türü bir böcek ilacı olan Klorprifos kristal yapıda olan bir kimyasaldır ve yaklaşık %99.5 saflıkta olmaktadır. Klorprifos'un bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri Tablo 1. 1'de verilmiştir.

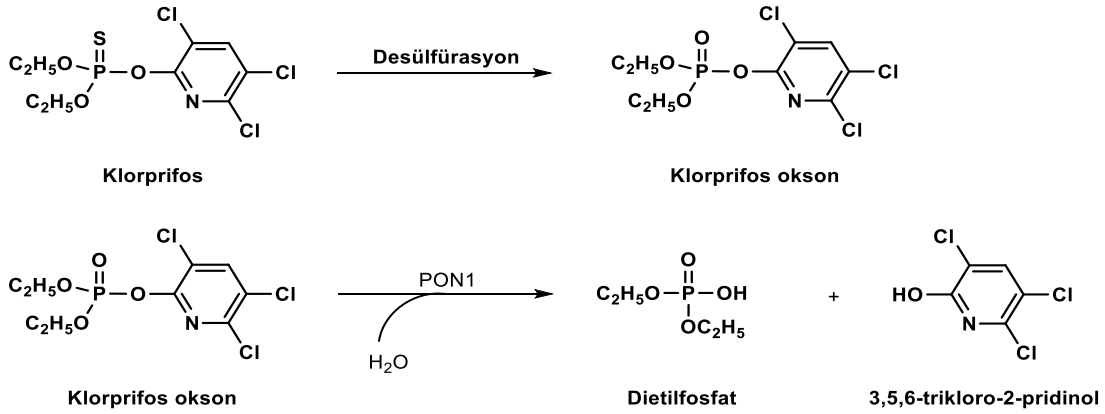
Tablo 1.1.Klorprifos'un bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri

Genel ismi	Klorprifos
IUPAC adlandırması	O,O-dietil-O-(3,5,6-trikloro-2-piridinil) fosforotiyoat
Sınıflandırma	Organotiyofosfat
Kimyasal formülü	C ₉ H ₁₁ Cl ₃ NO ₃ PS
Molekül ağırlığı	350.59 g/mol
Yoğunluk	1.40 g/cm ³
Erime noktası	42.0 °C
Kaynama noktası	160.0 °C
Sudaki çözünürlüğü (25°C)	1.39 mg/L

1.3 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 yanısıra 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-ridinol'e dönüşür (Şekil 1.2).



Şekil 1.2. Klorprifos'un metabolitlerine dönüşümü (PON1; organofosfat yapısındaki birçok pestisit hidrolizleme özelliğinden dolayı, organofosfat zehirlenmelerinde kullanılmak üzere terapatik katalitik ajan olarak geliştirilmeye aday bir enzimdir (Costa vd., 2003).

1.4 Klorprifos ile İlgili Yasal Sınır Değerleri

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 aldığına, 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.

1.5 Klorprifos Tayin Yöntemleri

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 için 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 tayini yapılmıştır (El-Shahawi ve Kamal, 1998; Al-Meqbali vd., 1998; Pelit vd., 2011). Fakat bu teknikler civa elektrotların sahip olduğu toksik etkiden dolayı çok fazla kullanım alanlarına sahip değildir. 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.

- P. Manisankar ve arkadaşları tarafından duvar jeti (wall-jet) tipi elektrokimyasal hücre tasarlanarak dere sularından klorprifos'un tayini gerçekleştirilmiştir. Geliştirilen yöntemde, poli-3,4-etilendioksitiyofen (PEDOT) ile modifiye edilmiş camsı karbon elektrotları çalışma elektrotları (wall-jet PEDOT/GCE) olarak kullanılmıştır. Fakat çalışmada kullanılan hücrenin hidrodinamiği oldukça karmaşıktır ([Manisankar vd., 2005](#)).

- H. Li ve arkadaşları; yeşil sebzelerden klorprifos'un tayini için poli(3-heksiltiyofen)-TiO₂ nanopartikül (P3HT/TiO₂) temelli fotoelektrokimyasal bir sensör geliştirmişlerdir. Bu sensör ile diğer pestisitler varlığında klorprifos'un tayininin yüksek bir seçicilikte yapılabileceği gösterilmiştir ([Li vd., 2011](#)).

- Başka bir çalışmada, elma suyu numunelerinde klorprifos'un tayini kil (sepiyolit)-karbon pasta temelli elektrot (CMCPE) hazırlanarak yapılmıştır. Çalışmada kullanılan modifiye elektrotun basit, kolay ve hızlı sinyal üretme gibi özellikleri sunulmuştur. Bu çalışma ile çeşitli çevresel ürünlerde bulunan klorprifos'un diğer pestisitler varlığında başarılı bir şekilde tayin edilebileceği gösterilmiştir ([Sirisha vd., 2007](#)).

- A. Kumaravel ve arkadaşları; nano-TiO₂/selüloz asetat hibrit malzeme ile modifiye edilmiş camsı karbon elektrotlar (n-TiO₂/CA/GCE) kullanarak su numunelerinden klorprifos'un tayinini çeşitli iyonlar varlığında (Ca²⁺, Mg²⁺, Na⁺, NH₄⁺ ve K⁺) seçici olarak gerçekleştirmişlerdir. Çalışmada nano-TiO₂, yüksek afinitesinden dolayı sensör probu olarak kullanılmış ve selüloz asetat membranına immobilize edilerek elde edilen hibrit malzemenin yüksek bir elektrokatalitik özelliği gösterdiği bulunmuştur ([Kumaravel vd., 2015](#)).

- D. Chen ve arkadaşları; klorprifos'un çeşitli gıda numunelerinden (lahana, pırasa, marul vd.) tayinini asetilkolin enziminin, karbon nanotüp-SnO₂-sitosan nanokompositi (MWCNTs-SnO₂-CHIT) ile modifiye edilmiş elektrotlar üzerine immobilizasyonunu sağlayarak başarmışlardır. Bu çalışmada, karbon nanotüplerin yüksek elektriksel iletkenliğinden ve SnO₂ nano-malzemenin redoks reaksiyonlarını hızlandırıcı etkisinden faydalanarak modifiye elektrotlar hazırlanmıştır. Hazırlanan modifiye elektrotlara enzim immobilizasyonu sağlanarak klorprifos için kararlı ve hassas biosensörler oluşturulmuştur ([Chen vd., 2015](#)).

Ayrıca literatüre bakıldığında klorprifos'un moleküler baskılanmış polimerler kullanılarak çeşitli teknikler yardımıyla analizleri ve ayırmaları gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalar incelendiğinde;

- C. Xie ve arkadaşları; yüzeyde moleküler baskılama tekniğini kullanarak, kabuk kısmı klorprifos baskılanmış polimerden oluşan core-shell (çekirdek-kabuk) tipi partiküller sentezlemişlerdir. Partiküller, klorprifos varlığında 3-metakriloksipropil trimetoksisilan ile modifiye edilmiş silika partiküllerinin yüzeyinde metakrilol gruplarının polimerizasyonu ile hazırlanmıştır. Hazırlanan klorprifos baskılanmış polimerler kemilüminesans tekniği ile

birleştirilerek, klorprifos'un geleneksel kemilüminesans tekniğine göre daha hassas tayini gerçekleştirilmiştir (Xie vd., 2011).

- G. Yao ve arkadaşları; klorprifos varlığında dopaminin polimerizasyonu ile Fe_3O_4 nanopartikül yüzeyinde moleküler baskılanmış polimerler sentezlemişlerdir. Hazırlanan manyetik polimerler daha sonra altın yüzeyli çip üzerine tutturularak güçlendirilmiş rezonans (SPR) sinyalleri elde edilmiştir (Yao vd., 2013).

- G. Ma ve arkadaşları tarafından klorprifos'un pirinç numunelerinden seçici ayırımı için manyetik Fe_3O_4 nanopartikülleri sentezlenmiştir. Sentezlenen manyetik partiküller yüzeyine, fonksiyonel monomer olarak metakrilik asit ve çapraz bağlayıcı olarak trimetilpropan trimetakrilat kullanılarak klorprifos baskılanmış polimerler oluşturulmuştur. Karakterizasyon çalışmaları tamamlandıktan sonra spesifik bağlanma kapasitelerini incelemek için adsorpsiyon çalışmaları HPLC cihazı kullanılarak yapılmıştır (Ma ve Chen, 2014).

- T. S. Anirudhan ve arkadaşları tarafından klorprifos'un sulu çözeltilerden ayırımı için çok duvarlı karbon nanotüp temelli moleküler baskılanmış polimerler sentezlenmiştir (MWCNT-MIP). Polimer sentezlenirken fonksiyonel monomer olarak metakrilik asit ve çapraz bağlayıcı olarak trimetilpropan trimetakrilat kullanılmıştır. Langmuir izoterm modeline uygun maksimum adsorpsiyon yeteneği 30 °C'de 38.14 mg g⁻¹ olarak bulunmuştur (Anirudhan ve Alexander, 2013).

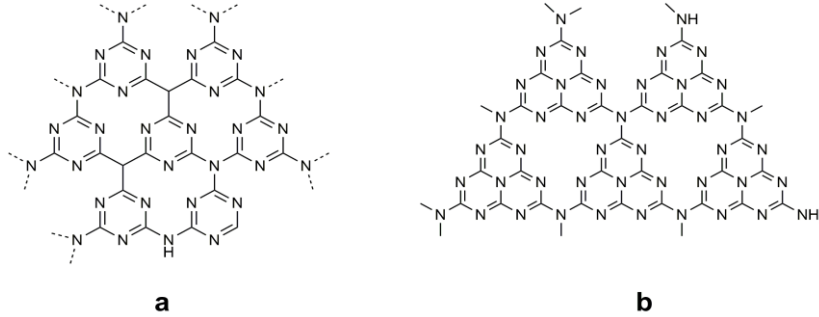
- Z.O. Uygun ve arkadaşları tarafından klorprifos varlığında pirol monomerinin elektropolimerizasyonu ile kalem elektrot yüzeyinde klorprifos baskılanmış film oluşturulmuş ve tasarlanan elektrot impedimetrik sensör olarak kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar ışığında toprak numune analizleri için düşük maliyetli, seçici ve hassas bir impedimetrik sensör tasarlanmıştır (Uygun ve Dilgin, 2013).

- X. Ren ve arkadaşları klorprifos'un hassas ve seçici tayini için floresans probu tasarlamışlardır. Geliştirilen prob, akrilamit kaplı Mn(II) doplu ZnS kuantum noktacıkları yüzeyinde klorprifos baskılı polimerden oluşmaktadır. Son zamanlarda, kuantum noktacıkları olarak bilinen yarı-iletken nanokristaller üstün optik ve elektronik özelliklerinden dolayı sensör uygulamalarında yoğun ilgi görmektedirler. Bu çalışmada hazırlanan floresans sensörlerinin su numunelerine başarılı şekilde uygulandığı görülmektedir (Ren vd., 2015).

1.6 Grafitik Karbon Nitrit

s-triazin veya tri-s-triazin temelli kalıp yoluyla birleştirilmiş karbon ve azot atomlarından oluşan polimerik bir malzemedir (Şekil 1.3). s-triazin birimleri periyodik C_3N_3 halkasından ve tri-s-triazin birimleri ise periyodik C_6N_7 halkasından oluşmaktadır. tri-s-triazin birimlerinin daha geniş periyodik boşlukları olduğundan dolayı en kararlı bağlanma kalıbına sahiptir. Bundan dolayı, grafitik karbon nitrit için tri-s-triazin birimleri temel birim olarak kabul

edilir. Grafitik karbon nitrit mükemmel elektriksel iletkenlik, dar band aralığı (HOMO-LUMO: 2.7 eV), yüksek yüzey alanı (306 m²/g) ve mekanik dayanıklılık gibi fizikokimyasal özelliklerinden dolayı son yıllarda yoğun bir ilgiye sahiptir. Sahip olduğu yüksek kararlılık sonucunda ısı dayanıklılığı da bulunmaktadır. Zengin yüzey özelliklerinden dolayı kataliz gibi önemli uygulamalara da sahiptir (Zhu vd., 2014). Grafitik karbon nitrit üzerine yapılan termal gravimetrik analiz sonuçları 600 °C'ye kadar malzemenin uçucu olmadığını, sıcaklığın 700 °C'ye kadar yükseltildiğinde ise hemen hemen bozunduğunu göstermiştir. E.G. Gillan tarafından yapılan çalışmayla ortaya çıkan bu yüksek kimyasal kararlılık grafitik karbon nitrit'in su, etil alkol, toluen ve dietil eter gibi çözücülerde hemen hemen çözünmediğini göstermiştir (Gillan, 2000). Ayrıca, son yıllarda grafitik karbon nitrit ve hibritleri; yakıt hücresi, süper kapasitör ve elektrokatalitik hidrojen aygıtları gibi sistemlerde elektrot malzemesi olarak kullanılmaktadır (Zhang vd., 2015).

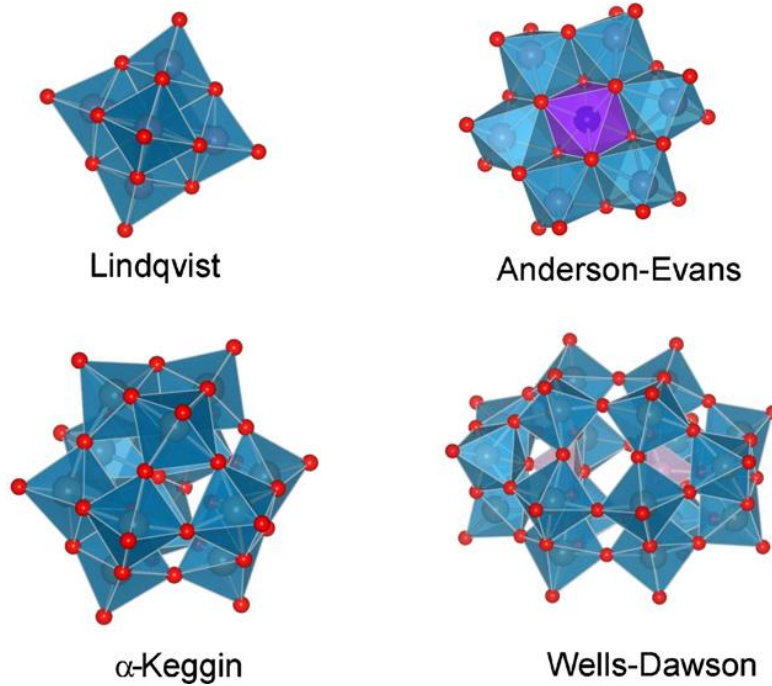


Şekil 1.3. Grafitik karbon nitritin yapısal birimleri olarak s-triazin (a) ve tri-s-triazin (b) yapıları

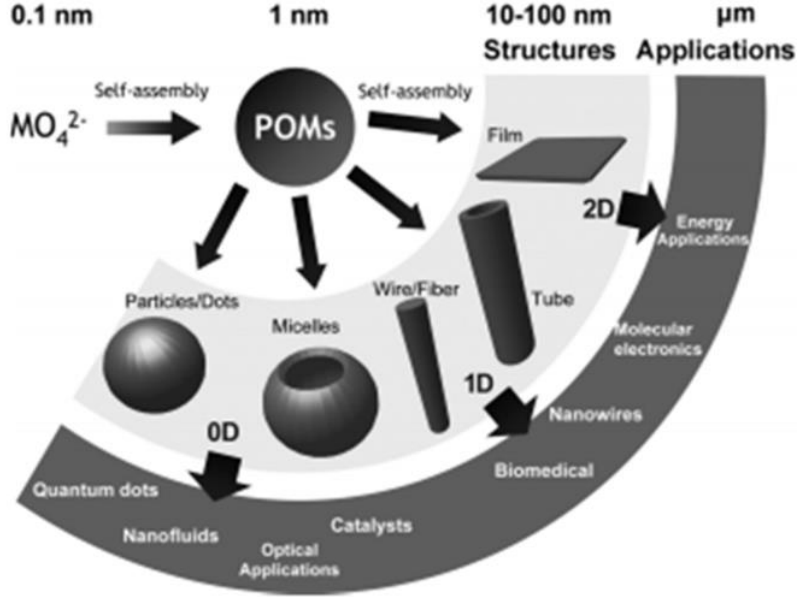
1.7 Poliokzometalatlar (POMs)

Poliokzometalatlar (POMs) ilk kez 1826 yılında Jöns Jacob Berzelius tarafından rapor edilmiş, sonradan bu maddenin [PMo₁₂O₄₀]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 H₃[PW₁₂O₄₀].nH₂O yapısını çözmüştür. Keggin tarafından çözülen yapıya göre, merkezde bir PO₄³⁻ tetrahedral grup vardır. Bu grup 12 adet birbirine bağlı WO₆ 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'den -28'e değişebilir). Bu proje kapsamında kullanacağımız ticari poliokzometalatın genel formülü: H₃PW₁₂O₄₀). 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 [XM₁₂O₄₀]ⁿ⁻, Wells-Dawson [X₂M₁₈O₆₂]ⁿ⁻, Lindqvist [M₆O₁₉]ⁿ⁻ ve Anderson-Evans [XM₆O₂₄]ⁿ⁻ olarak ifade edilebilir (Şekil 1.4). 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. Poliookzometalatlar, son 20 yılda malzeme biliminde çalışan araştırmacıların en çok kullandıkları kimyasallardandır. Bu malzemeler yapısal özelliklerinden dolayı 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. Poliookzometalatların yukarıda bahsedildiği üzere kristal yapıları çok iyi bilinmektedir ve bunun yanında manyetik, lüminesans ve elektrokimyasal özellikleri de araştırılarak değerli bilgilere ulaşılmıştır. Poliookzometalatlar 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 (Şekil 1.5) (Kim ve Shanmugam, 2013; Li vd., 2014).



Şekil 1.4. POMs'ların genel kristal yapıları



Şekil 1.5. POMs'dan elde edilen yapılar ve bu yapıların sağladığı uygulamalar

1.8 Hidrotermal Sentez

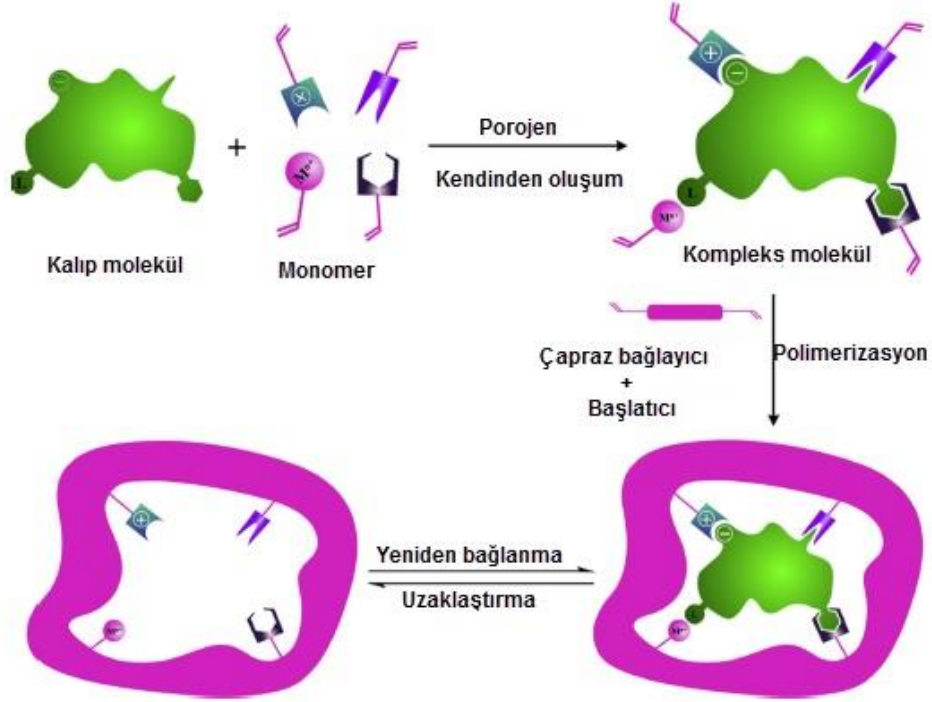
Hidrotermal işlem normal şartlar altında çözünmeyen maddeleri çözmek ve kristallendirmek için yüksek basınç ve sıcaklık altında sulu çözücüler veya mineralleştiricilerin varlığında yapılan heterojen bir reaksiyon olarak tanımlanır. Hidrotermal teknik sadece homojen nano partiküllerin işlenmesinde değil, aynı zamanda nano-kompozit malzemelerin işlenmesinde de büyük rol oynamaktadır. Son yıllarda bilim adamları insan sağlığına ve çevreye daha az zararlı kimya sektörünün gelişimi için önemli çalışmalar yapmaktadır. Bu yeni yaklaşım **Yeşil Kimya** (green chemistry) ve **Temiz Kimya** gibi birçok isim altında ilgi görmüştür. Hidrotermal koşullarda yapılan sentezler Yeşil Kimya için ideale yakın sentezlerdir. Çünkü hidrotermal yöntemde atık oluşumu olmamaktadır. Yöntemde işlenecek veya temizlenecek atık bırakmamak üzere, tamamen etkin, çok az veya zararsız kimyasal sentezler tasarlanmaktadır. Kapalı sistemde gerçekleşmesi açısından insan sağlığına ve çevreye hiç bir zararı olmayan işlemlerdir. Son ürünün başlangıç maddesinin en yüksek oranını içerdiği yüksek verimli sentezlerdir. Kimyasal tepkimeleri uygun ortam sıcaklığı ve basıncında gerçekleştirilerek enerji etkinliğini arttırmaktadır. Kolay sentez basamakları sayesinde kaza potansiyelini en aza indirgeyerek, patlama, yangın ve çevreye yayılma gibi etkileri yoktur ([Anastas ve Warner, 1998](#)).

1.9 Moleküler Baskılama

Moleküler baskılama klasik olarak kalıp molekül (analit) ve ona şekil ve büyüklük olarak benzer bir fonksiyonel monomerle kompleks oluşturarak polimerizasyon yapma işlemidir (Şekil 1.6) ([Hu vd., 2013](#)). Polimerizasyon işlemi, kalıp molekül, fonksiyonel

monomer, çapraz bağlayıcı ajan ve başlatıcının uygun çözücünde 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.



Şekil 1.6. Moleküler baskılanmış polimer için hazırlama süreci

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 ekibimizde 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).

BÖLÜM 2. GEREÇ ve YÖNTEMLER

2.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Klorprifos

Üretici Firma: Sigma-Aldrich
Molekül Ağırlığı: 350.57 g/mol

Molekül Formülü: $C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$

Klorprifos-okson

Üretici Firma: Sigma-Aldrich
Molekül Ağırlığı: 334.51 g/mol

Molekül Formülü: $C_9H_{11}Cl_3NO_4P$

Klorprifos-metil

Üretici Firma: Sigma-Aldrich
Molekül Ağırlığı: 322.52 g/mol

Molekül Formülü: $C_7H_7Cl_3NO_3PS$

3,5,6-trikloro-2-pridinol

Üretici Firma: Sigma-Aldrich
Molekül Ağırlığı: 198.43 g/mol

Molekül Formülü: $C_5H_2Cl_3NO$

Melamin

Üretici Firma: Sigma-Aldrich
Molekül Ağırlığı: 126,12 g/mol

Molekül Formülü: $C_3H_6N_6$

Pirol

Üretici Firma: Sigma-Aldrich
Molekül Ağırlığı: 67.09 g/mol

Molekül Formülü: C_4H_5N



Poliokzometalat

Üretici Firma: Sigma-Aldrich
Molekül Ağırlığı:2880.05 g/mol

Molekül Formülü:H₃PW₁₂O₄₀

Kloroaurik asit

Üretici Firma: Sigma-Aldrich
Molekül Ağırlığı:339.79 g/mol

Molekül Formülü:HAuCl₄

2.2 Kullanılan Cihaz ve Aletler

Vakum etüvü:

Kullanılan cam malzemelerin kurutulması işlemi için vakum etüvü kullanılmıştır.

Ultra saf su cihazı:

Deneylerde 18.2 MΩ 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.

Mikropipet:

Yapılan çalışmalarda düşük konsantrasyondaki çözeltileri hazırlamak amacıyla Eppendorf marka 1000 µL ve 100 µL hassasiyetli mikropipetler kullanılmıştır.

pH-metre:

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

Mağnetik Karıştırıcı:

Çalışma sırasında kullanılan çözeltilerin hazırlanmasında Heidolph Magnetic Stirrer (MR Hei-Tec) marka mağnetik karıştırıcı kullanılmıştır.

Fourier Transform Infrared (FTIR) Spektroskopisi:

Geliştirilen sensörlerin karakterizasyonu için FTIR spektrofotometresi (Thermo Fisher Scientific, Nicolet iS10, Waltham, MA, ABD) kullanılmıştır. Ölçüm yapılan örnek haznesinden 10 dk azot gazı geçirilerek havadan kaynaklanan nem ve karbondioksit uzaklaştırılmıştır.

Geliştirilen sensörler cihazın örnek yuvasına yerleştirilmiş 400 - 4000 cm^{-1} dalga sayısı aralığında yüzeyde gerçekleşen toplam yansıma miktarı ölçülerek spektrumları alınmıştır.

Atomik Kuvvet Mikroskopisi (AFM):

Sensörlerin karakterizasyonu için yarı degen modda atomik kuvvet mikroskobu (Nanomagnetics Instruments, Oxford, İngiltere) kullanılmıştır. Atomik kuvvet mikroskobu, serbest kantileverli interferometre özelliği ile 4096×4096 piksel gibi çok yüksek çözünürlükte ölçüm alabilmektedir. Geliştirilen sensörler çift yüzlü karbon bant ile örnek tutucuya yerleştirilmiştir. Görüntüleme çalışmaları hava ortamında, yarı degen modda gerçekleştirilmiştir. Salınım rezonans frekansı, 341.30 kHz olarak uygulanmıştır. Titreşim genliği, 1 V_{RMS} ve boş titreşim genliği ise 2 V_{RMS} 'dir. Örnekler 2 $\mu\text{m/s}$ tarama hızında, 256 × 256 piksel çözünürlükte, 2 × 2 μm 'lik bir alanın görüntüsü olarak alınmıştır.

Elipsometre:

Hazırlanan elektrokimyasal sensörlerinin yüzeyindeki kalınlık ölçümleri Nanofilm EP3-Nulling Elipsometre (Göttingen, Almanya) cihazı ile karakterize edilmiştir. Kalınlık ölçümleri 532 nm dalga boyunda, 62°'lik bir geliş açısında gerçekleştirilmiştir. Geliştirilen sensörler lazer ışık kaynağı altına yerleştirilmiştir. Ölçümler sensör yüzeyinde 6 farklı noktada 3 kere tekrarlanmış ve sonuçlar bu değerlerin ortalaması alınarak rapor edilmiştir.

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.

2.3 Deneysel Yöntem

2.3.1 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. Standart TOB çözeltileri, bu stok çözeltinin istenen derişime fosfat tamponu ile seyreltilerek hazırlanmıştır.

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 çözdükten 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.

2.3.2 Hibrit Malzemenin Hazırlanması

Grafitik Karbon Nitrit ($g\text{-C}_3\text{N}_4$) Eldesi: Grafitik karbon nitrit, melaminin direkt kalsinasyonu ile hazırlanmaktadır (Kalsinasyon, bir maddenin nemini ve karbondioksit gibi uçucu maddelerini uzaklaştırmak için o maddeyi yakarak toz haline getirmektir). 50 g melamin tozu, 100 mL'lik alümina krozeye eklendikten sonra kroze, oda sıcaklığından 250 °C'ye kadar kül fırında ısıtılır (Isıtma hızı 5 °C/dakika). Daha sonra ısıtma hızı artırılarak (10 °C/dakika) alümina kroze 550 °C'ye kadar ısıtmaya devam edilir. 550 °C'de 2 saat bekletildikten sonra soğumaya bırakılır ve sarımsı polimerik grafitik karbon nitrit (kütlesel (bulk) formunda) hazırlanmış olur. Daha ileri ki kullanımlar için havanda öğütülerek toz haline getirilir (Zhang vd., 2015; Li vd., 2014).

Karbon Nitrit Nanotüp/Polioksometalat Hibritinin Eldesi: 1.0 g polimerik grafitik karbon nitrit'in (kütlesel (bulk) formunda), 15 mL distile su içinde 12 saat oda sıcaklığında ultrasonikasyonu yapılarak grafitik karbon nitrit nano tabakaları elde edilir. Ultra-sonikasyon işlemi tamamlandıktan sonra süspansiyon kalan grafitik karbon nitrit partiküllerini uzaklaştırmak için 5.000 rpm hızında tekrar santrifüj edilir. Sonrasında elde edilen kalıntı oda sıcaklığında kurutularak toz haline getirilir. Elde edilen ultra-ince grafitik karbon nitrit'in (1.0 g), 15 mL distile su içinde ultrasonik banyoda süspansiyonları hazırlandıktan sonra farklı oranlarda (0.1, 0.3, 0.5, 0.7 ve 1.0 g) ticari polioksometalat çözeltileri 15 mL hidroklorik asit çözeltisinde (2.0 mol/L) hazırlanır. Hazırlanan ultra-ince grafitik karbon nitrit süspansiyonları, bu çözeltilere eklenip elde edilen yeni süspansiyonlar ultrasonik banyoda karıştırılır. Oda sıcaklığında 1 saatlik karıştırma işlemi bittikten sonra, karışımlar 24 saat boyunca 150 °C'de hidrotermal işleme maruz bırakılır (Isıtma hızı 1 °C/dakika). Elde edilen ürünler 24 saat

boyunca 60 °C'de kurutulduktan sonra tekrar 24 saat boyunca 120 °C'de termal işleme devam edilir. Oda sıcaklığına kadar soğutma işleminden sonra elde edilen malzemeler var olan safsızlıkları gidermek için su ile yıkanıp dikkatli bir şekilde süzme işlemi gerçekleştirilir. Sonunda hazırlanan malzemeler POM/C₃N₄ NT (x:y) şeklinde etiketlenir (x:y=H₃PW₁₂O₄₀/C₃N₄NT kütle oranları).

Karbon Nitrit Nanotüp/Polioksometalat Hibrit Yüzeyinde Altın Nanopartikül Eldesi:

Karbon nitrit nanotüp/polioksometalat hibrit yüzeyinde altın nanopartikül sentezi tek adımda gerçekleşir. Öncelikle farklı polioksometalat yüklemeleri ile H₃PW₁₂O₄₀/C₃N₄NT (x:y) hibritlerinin sulu süspansiyonları (0.4 mg mL⁻¹) hazırlanır. Daha sonrasında bu süspansiyonlar ile kloroaurik asit (HAuCl₄) sulu çözeltileri (1.0 mM) 1:1 (h/h) oranında karıştırılır. Hazırlanan bu süspansiyonlar homojenlik sağlamak amacıyla ultrasonik banyoda 15 dakika karıştırıldıktan sonra UV ışığı altında 40 dakika daha karıştırılır ve hibrit malzeme yüzeyinde altın nanopartikülleri oluşması sağlanır (Atar vd., 2016).

2.3.3 Oluşturulan Hibrit Yüzeyinde Elektropolimerizasyon Yoluyla Klorprifos Baskılanmış (MIP) ve Baskılanmamış (NIP) Camsı Karbon Elektrotların Hazırlanması

Camsı Karbon Elektrotların Temizlenmesi: 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.

Karbon Nitrit Nanotüp/Polioksometalat Hibriti ile Fonksiyonlaştırılmış Altın Nanopartikül Temelli Modifiye Camsı Karbon Elektrotların Eldesi: 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 molekölü kullanılmadan da gerçekleştirilerek, klorprifos baskılanmamış polimerler karbon nitrit nanotüp/polioksometalat hibriti ile fonksiyonlaştırılmış altın nanopartikül yüzeyine kaplanır. Hedef molekölün uzaklaşması için ise hedef molekölün 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

çözültisi kullanılır. Hedef molekülün uzaklaşması ısı kontrollü çalkamalı banyo sisteminde gerçekleştirilir. Klorprifos baskılanmış elektrotlar 25 mL desorpsiyon çözültisine daldırıldıktan sonra camsı 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).

2.3.4 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:Piról 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 çözültisinde 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.

2.3.5 Validasyon

Hedef Molekül Kararlılığı: Klorprifos'un sudaki çözültisinin kararlılık çalışması yapılmıştır. Bunun için buzdolabında ve oda sıcaklığında saklanan klorprifos çözültülerinden kalibrasyon aralığına giren standart klorprifos çözültileri hazırlanmıştır. Uzun dönem kararlılık çalışması için buzdolabında saklanan klorprifos çözültisinin 1 ay boyunca ve kısa dönem kararlılık çalışması için oda sıcaklığında saklanan klorprifos çözültisinin 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 çözültileri ile elektrokimyasal sensör sisteminde gerçekleştirilmiştir. Elektrokimyasal sensör sistemi; çalışma (klorprifos uzaklaştırılmış MIP/AuNPs/H₃PW₁₂O₄₀/C₃N₄ NT/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 μL 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 çözelti 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 ($\%GK = \frac{\text{Bulunan miktar}}{\text{Olmaması gereken miktar}}$) 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. Klorprifos'a göre yarışmacı moleküller için seçicilik ($k = \Delta I_{\text{hedef}} / \Delta I_{\text{yarışmacı}}$) ve bağlı seçicilik katsayıları ($k' = k_{\text{baskılanmış}} / k_{\text{baskılanmamış}}$) hesaplanıp bir tablo olarak verilmiştir (Geliştirilen sensörün moleküllere vermiş olduğu sinyaller (P_{ik} akımları) belirlenecektir).

2.3.6 Hazırlanan Sensörlerin Gerçek Numunelere Uygulanması ve Literatürde Bulunan Çalışmalar ile Karşılaştırılması

Doğrudan Kalibrasyon Yöntemi ile Analiz: 5.0 mL nehir suyu numunesi, 25 saniye vorteks yardımıyla karıştırıldıktan sonra 0.50- μm çaplı filtreden süzülür. Elde edilen süzüntü geliştirilen moleküler baskılanmış elektrokimyasal sensörlerle analizi için uygun pH ve derişimdeki destek elektrolit ile doğrusallık aralığına girecek şekilde seyreltilir. Elektrokimyasal hücredeki destek elektrolit üzerine bu çözülden doğruluk ve kesinliğin en iyi olduğu derişimi sağlamak üzere μL düzeyinde ekleme yapılır ve voltamogram kaydedilir. Daha önceden elde edilmiş kalibrasyon denklemi yardımıyla ve yapılan seyreltmeler göz önünde bulundurularak derişim değerine geçilir.

Standart Ekleme Yöntemi ile Analiz: 5.0 mL nehir suyu numunesi, 25 saniye vorteks yardımıyla karıştırıldıktan sonra 0.50- μm çaplı filtreden süzülür. Elde edilen süzüntü beş ayrı 25 mL'lik balon jöjelere eşit şekilde bölüştürülür. Birincisi hariç diğerlerine artan derişimde standart klorprifos çözeltileri eklendikten sonra beş ayrı balon jöje eşit hacime gelecek şekilde destek elektrolit ile seyreltilir. Ölçülen pik akımı değerleri eklene klorprifos derişimlerine karşı grafiğe geçirilip doğrunun x eksenini kestiği noktadaki derişim bulunur. Yapılan seyreltmeler göz önünde bulundurularak klorprifos miktarı hesaplanır.

Karşılaştırma Yöntemi ile Analiz: Proje kapsamında klorprifos'un hassas tayini için hibrit malzeme temelli moleküler baskılanmış elektrokimyasal sensörlerin geliştirilmesi planlanmaktadır. Ayrıca, klorprifos tayini literatürde var olan herhangi bir yöntemle ([Gibbs vd., 2014](#)) yapılarak elde edilen analiz sonuçlarının güvenilirliği için sonuçlar istatistiksel olarak (Farklı iki teknik için Kruskal Wallis varyans analizi) karşılaştırılmıştır.

2.4. Numune Toplanması ve Hazırlanması

Klorprifosun en sık rastlanacağı ortamlar tarımsal faaliyetlerin sürdürüldüğü, verimli ovaların bulunduğu ve tarımsal faaliyetler esnasında kullanılan zirai mücadele ilaçlarının

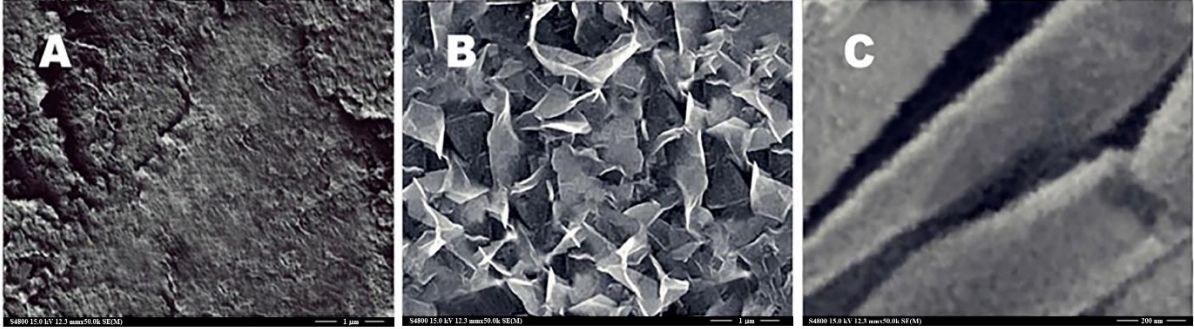
büyük oranda deşarj olduğu sucul ortamlardır (Pinto vd., 2015). Sudaki çözünürlüğünün düşük olmasına karşın özellikle yağışlar ve sulama faaliyetleri esnasında suyun bünyesine geçebilen düşük derişimlerdeki klorprifos kalıntılarının aranacağı en önemli ortamlardan biri nehir sularıdır. Bu nedenle proje kapsamında, Denizli ili sınırları içerisinde geçen Büyük Menderes nehrinin belirli noktalarından su örnekleri alınarak ve uygun taşıma işlemleri sonrasında laboratuvar ortamında geliştirilmiş olan moleküler baskılanmış sensör ile tayin çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Klorprifos tayini için örnek alımları, Büyük Menderes nehrinin belirlenen bölümlerinden yaklaşık 5 ayrı noktadan yapılmıştır. Örnek alımında uygulanacak yöntem kapsamında laboratuvar ortamına rahat bir şekilde taşınabilecek boyutta ve yapılacak analizlere yetecek miktarda fazla örneklerin alınmasına dikkat edilmiştir. Örneklerin yapılacak olan deneysel çalışmalardan önce sahip olacağı bileşiminin bozulmaması esas teşkil ettiğinden, laboratuvar ortamına gelinceye kadar özelliklerinde bir değişimin olmaması sağlanmıştır. Örneklerin alındığı ve saklandığı ortamların büyük önem taşıması nedeniyle alınan örneğe özgü kapların kullanılması ve örneğin, kap ile reaksiyon vermesi önemli bir sorun oluşturduğundan örneğe uygun kap seçimi yapılmıştır. Örnekler, Su Kirliliği ve Kontrolü Yönetmeliği Numune Alma ve Analiz Metotları Tebliği'ne uygun olarak pestisit analizleri için bildirilmiş olan cam örnek kaplarına alınarak ve +4°C'de muhafaza edilerek laboratuvar ortamına getirilmiştir. Analizler için maksimum süre 7 gün olarak belirtildiğinden, yürütülecek olan analizler bu süre içerisinde tamamlanmıştır.

Örneklerin alınması esnasında örnek kapları, örneği alınan su ile üç defa çalkalanıp dökülmüştür. İncelenecek nehre düzensiz, değişken, ani ve özel deşarjlar olabileceğinden bu tür deşarjların içinde bulunduğu zaman dilimini temsil etmek açısından kompozit örnek alınmıştır. Bunun için 10 dakika ara ile üç kez örnek alınıp karıştırılarak kompozit örnek oluşturulmuştur. Örnekler, nehrin 30-40 cm derinliğinden ve en kesit içerisinde en az iki noktadan yapılarak ve en kesit örnekleri karıştırılmıştır. Örnek alma işlemleri yılda 2 kez gerçekleştirilmiştir. Örneklerin alındığı noktalar GPS koordinatları ile belirlenmiştir. Çalışma kapsamında örnek alınacak yüzeysel su kaynağı için Orman ve Su İşleri Bakanlığı Su Yönetimi Genel Müdürlüğü'nden izin alınmıştır.

BÖLÜM 3. BULGULAR

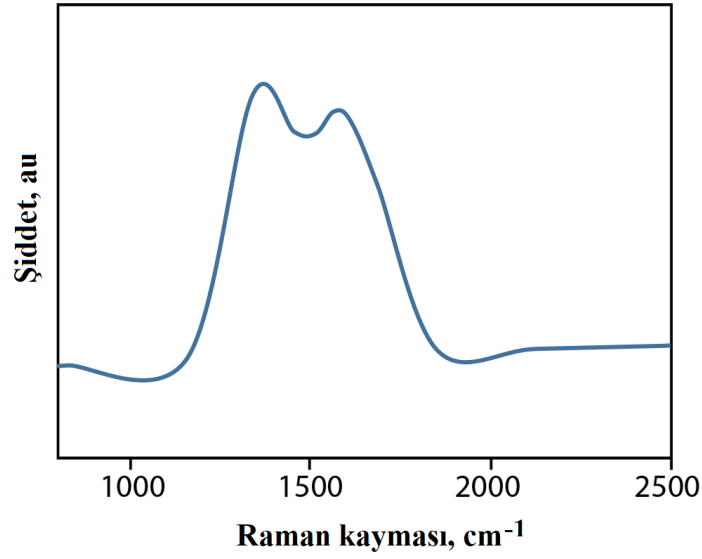
3.1 Hazırlanan Nanokompozitlerin ve Elektrotların Karakterizasyon Çalışmaları

Proje kapsamında Klorprifos (CPF) tayini için karbon nitrit nanotüp/polioksometalat hibriti ile fonksiyonlaştırılmış nanopartikül temelli moleküler baskılı elektrokimyasal sensörlerin hazırlanması ve gerçek numunelere uygulanması hedeflenmektedir. Öncelikle moleküler baskılanmış sensörün elde edilmesi için aşama aşama üç bileşenli nanokompozitin (AuNPs/H₃PW₁₂O₄₀/C₃N₄NT) sentezi gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.1. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri (A) grafitik karbon nitrit (kütlesel (bulk) tabakalı), (B) grafitik karbon nitrit nano tabakası, (C) karbon nitrit nanotüp

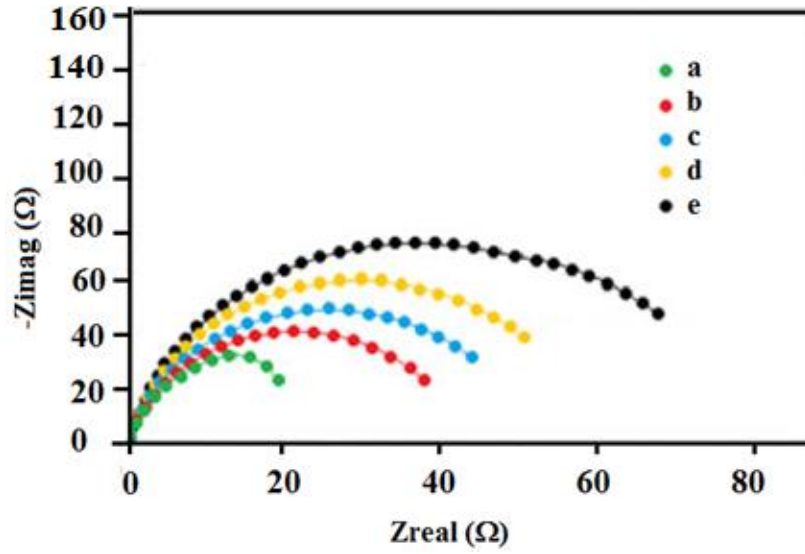
Şekil 3.1.A grafitik karbon nitrit'in termal polimerizasyon ile hazırlandıktan sonraki kütlesel (bulk) tabakalı yapısını göstermektedir. Yapılan ultrasonik işlemden sonra kütlesel (bulk) tabakalı formu nanotabakalı yapıya dönüşmektedir (Şekil 3.1.B). Şekil 3.1.C ise hidrotermal işlem sonucunda karbon nitrit nanotabakalarının kıvrılarak nanotüp haline dönüştüğünü kanıtlamaktadır. Hazırlanan tek duvarlı karbon nitrit nanotüplerin çaplarının yaklaşık 200 nm olduğu belirlenmiştir. Ayrıca gerçekleştirilen TEM analizine göre (Şekil 3.4), 200 nm boyutuna sahip olan karbon nitrit nanotüplerin H₃PW₁₂O₄₀ ile verimli bir şekilde arayüzey etkileşiminde olduğu görülmektedir. Hazırlanan karbon nitrit nanotüplerin raman spektrumunda belirgin 2 bandı ortaya çıkmaktadır (Şekil 3.2). Bu bandlardan birisi yaklaşık 1350 cm⁻¹'de D bandı ve diğeri ise yaklaşık 1570 cm⁻¹'de G bandı olarak ifade edilir. G bandı grafit yapısında olduğu gibi sp² hibritleşmesine sahip simetrik titreşim moduna karşılık gelirken, D bandı ise azot atomlarının bağlanması sonucu oluşan bozulmuş sp² hibritleşmesine karşılık gelir.



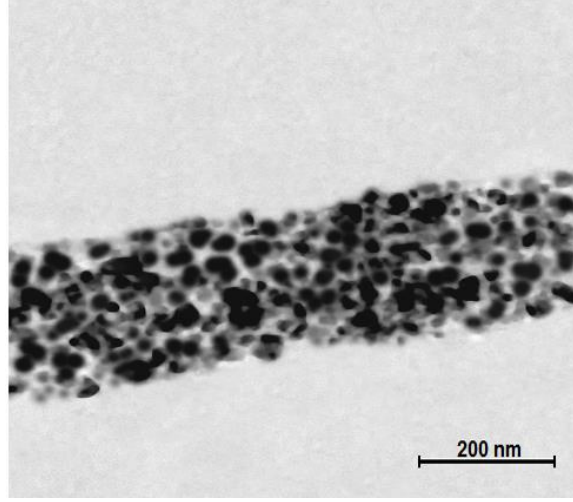
Şekil 3.2.Karbon nitrit nanotüp'ün Raman spektrumu

Elde edilen ultra-ince grafitik karbon nitrit'in (1.0 g), 15 mL distile su içinde ultrasonik banyoda süspansiyonları hazırlandıktan sonra farklı oranlarda (0.1, 0.3, 0.5, 0.7 ve 1.0 g) ticari polioksometalat çözeltileri 15 mL hidroklorik asit çözeltisinde (2.0 mol/L) hazırlandı. Hazırlanan ultra-ince grafitik karbon nitrit süspansiyonları, bu çözeltilere eklenip elde edilen yeni süspansiyonlar ultrasonik banyoda karıştırıldı. Karışımlar 24 saat boyunca 150 °C'de hidrotermal işleme maruz bırakıldıktan sonra hazırlanan malzemeler ($H_3PW_{12}O_{40}/C_3N_4NT$, 1:10), ($H_3PW_{12}O_{40}/C_3N_4NT$, 3:10), ($H_3PW_{12}O_{40}/C_3N_4NT$, 5:10), ($H_3PW_{12}O_{40}/C_3N_4NT$, 7:10) ve ($H_3PW_{12}O_{40}/C_3N_4NT$, 10:10) şeklinde etiketlendi. Daha sonrasında bu malzemelerin süspansiyonları ile kloroaurik asit ($HAuCl_4$) sulu çözeltileri (1.0 mM) 1:1 (h/h) oranında karıştırılarak hibrit malzeme yüzeylerinde altın nanopartikülleri oluşması sağlandı. Hazırlanan bu değişik oranlardaki üç bileşenli nanokompozitlerin elektrokimyasal sensör olarak kullanımlarını ilk defa görmek için elektrokimyasal impedans spektroskopisi (EIS) tekniği kullanılarak yüzey özelliklerini görmeye çalıştık. Farklı oranlardaki her bir malzemenin temizlenmiş camı 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 (Şekil 3.3). Bu sonuçlara göre $AuNPs/H_3PW_{12}O_{40}/C_3N_4NT(10:10)$ ile modifiye edilmiş elektrotun yük transfer direncinin en düşük olduğu, haliyle daha yüksek elektrokimyasal sinyallerin elde edilebileceğini görerek bundan sonraki çalışmalarda çalışma elektrotu olarak **$AuNPs/H_3PW_{12}O_{40}/C_3N_4NT(10:10)$** ile modifiye edilmiş camı karbon elektrotlarının kullanılacağını görmüş olduk. Dolayısıyla nanokompozit bileşiminde polioksometalat oranının ne kadar fazla olması altın nanopartiküllerin yüzeyde daha fazla indirgenerek oluşmasına neden olacağı için beklenen bir sonuç olduğunu söylememiz mümkündür.

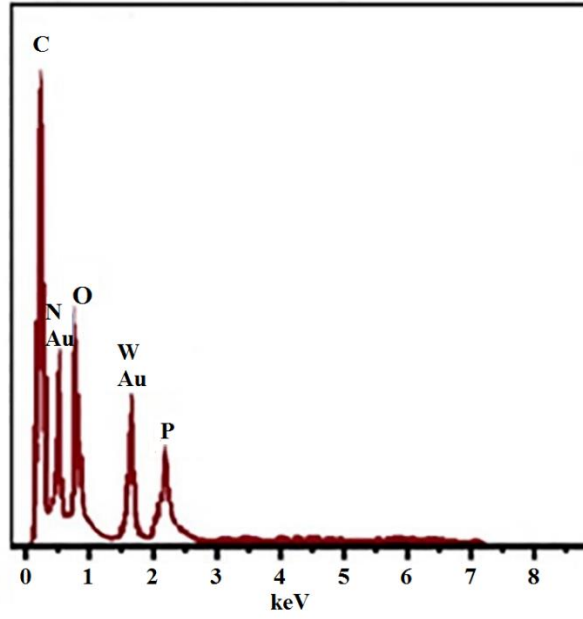
Üç bileşenli malzemenin ($\text{AuNPs}/\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}/\text{C}_3\text{N}_4\text{NT}, 10:10$) transmisyon (geçirimli) elektron mikroskopu (TEM) görüntüsüne göre (Şekil 3.4); koyu $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ kümeleri, beyaz karbon nitrit nanotüp yüzeylerinin iç kısımlarına birleşmiş şekilde görülmektedir. Bu bulgular $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ ve karbon nitrit nanotüp arasında arayüzey etkileşiminin olduğunu göstermektedir. Ayrıca daha açık renkteki $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}/\text{C}_3\text{N}_4\text{NT}$ substratı üzerinde siyah noktacıklar altın nanopartiküllerini ve ortalama boyutlarının 10-20 nm olduğunu göstermektedir. Ayrıca enerji dağılımlı x-ışını spektroskopisi (EDX) tekniği kullanılarak yapılan element analizi üç bileşenli nanokompozit malzemesinde bulunan altın nanopartiküllerin varlığını kanıtlamıştır (Şekil 3.5).



Şekil 3.3. 0.1 M KCl çözeltisinde hazırlanan 1.0 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ çözeltisinin impedans (Nyquist) eğrileri. Çalışma elektrotları (a) $\text{AuNPs}/\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}/\text{C}_3\text{N}_4\text{NT}(10:10)/\text{GCE}$, (b) $\text{AuNPs}/\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}/\text{C}_3\text{N}_4\text{NT}(7:10)/\text{GCE}$, (c) $\text{AuNPs}/\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}/\text{C}_3\text{N}_4\text{NT}(7:10)/\text{GCE}$, (d) $\text{AuNPs}/\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}/\text{C}_3\text{N}_4\text{NT}(3:10)/\text{GCE}$ ve (e) $\text{AuNPs}/\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}/\text{C}_3\text{N}_4\text{NT}(1:10)/\text{GCE}$; Referans elektrot: Ag/AgCl suda; Karşıt (yardımcı) elektrot: Platin tel. Frekans aralığı: 100000 – 0.1 Hz, Genlik: 10 mV, Formal potansiyel: 0.160 V



Şekil 3.4. Karbon nitrit nanotüp/polioksometalat hibriti (10:10) ile fonksiyonlaştırılmış altın nanopartikül temelli hibrit malzemenin TEM görüntüsü



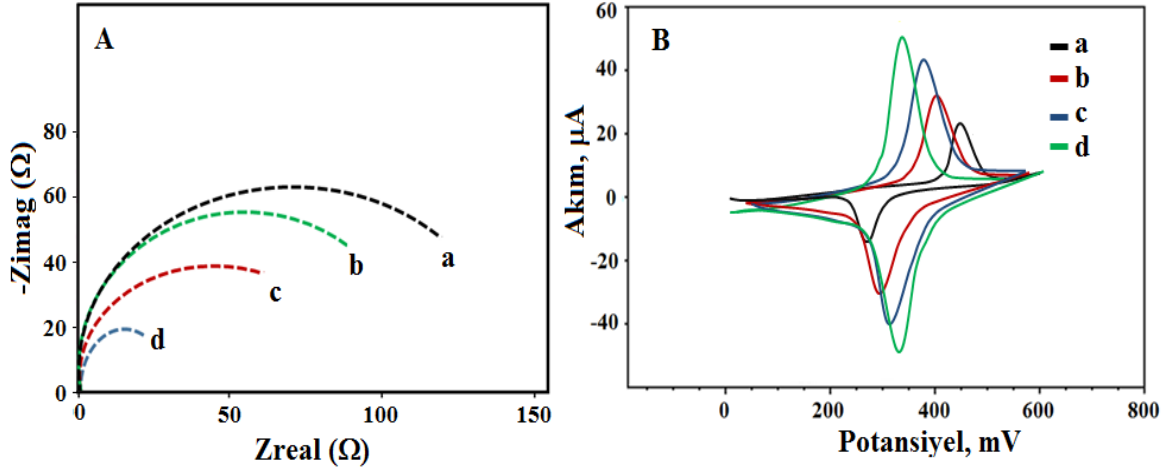
Şekil3.5. AuNPs/H₃PW₁₂O₄₀/C₃N₄NT nanokompozitinin EDX analizi

3.2 Aşama Aşama Hazırlanan Modifiye Elektrotların Elektrokimyasal Karakterizasyon Çalışmaları

EIS tekniği modifiye elektrotların yüzey özelliklerini açıklamak için kullanılan bir tekniktir. Şekil 3.6.A modifiye edilmemiş camı karbon elektrot (bare GCE), C₃N₄NT/GCE, H₃PW₁₂O₄₀/C₃N₄NT/GCE ve AuNPs/H₃PW₁₂O₄₀/C₃N₄NT/GCE yüzeylerinin impedans (Nyquist diyagramları) eğrilerini göstermektedir. Modifiye edilmemiş elektrotta yük transfer direnci (R_{ct}) 140 ohm olarak ölçülmüştür. Temizlenmiş elektrot yüzeyinin C₃N₄NT ile modifiye edilmesiyle R_{ct} değerinin 110 ohm'a düştüğü görülmektedir. Karbon nitrit nanotüp'ün

elektriksel iletkenlik, yüksek spesifik yüzey alanı ve mekanik dayanıklılığından dolayı, yüzey ile çözelti arasında elektron transferinin kolaylaştığı görülmektedir. Karbon nitrit nanotüp, ticari polioksometalat ile hibrit malzemesi oluşturduktan sonra oluşturulan elektrotta R_{ct} değerinin daha da azaldığı impedans eğrisinde görülmektedir. Karbon nitrit nanotüp/polioksometalat hibriti ile fonksiyonlaştırılmış altın nanopartikül temelli camsı karbon elektrotun ise yük transfer direnci en azdır. Böylece yüzey aktif alanının ve yüzeydeki elektron transfer hızının en yüksek olduğunu söylememiz mümkündür.

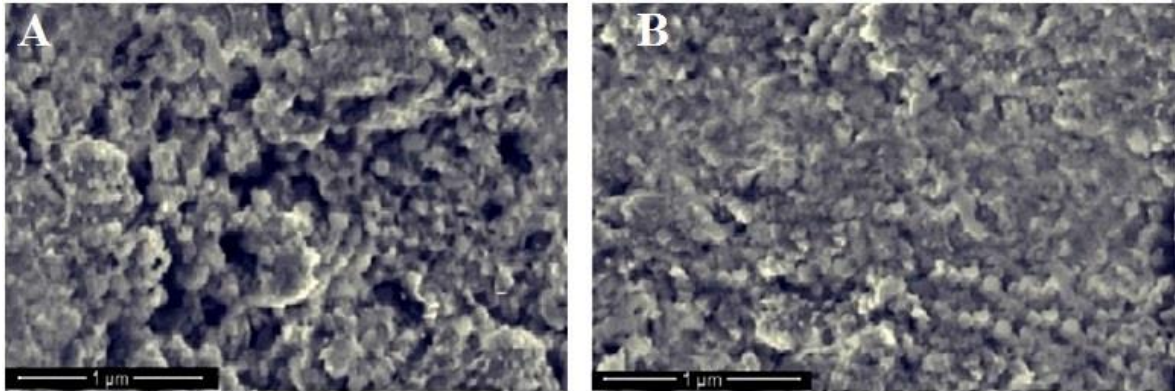
CV ile yapılan karakterizasyon sonuçlarına göre (Şekil 3.6.B) modifiye edilmemiş elektrottan (bare GCE) AuNPs/H₃PW₁₂O₄₀/C₃N₄NT ile modifiye edilmiş elektrotta doğru gidildikçe 1.0 mM [Fe(CN)₆]³⁻ redoks bileşenine aitanodik-katodik pik potansiyel farklarının aşama aşama azaldığını görüyoruz. Bu sonuçlara göre üç bileşenli kompozit malzeme ile hazırlanan modifiye elektrotta redoks bileşeninin daha kolay elektrot yüzeyinde indirgendiği ve yükseltgendiğini 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 [Fe(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/cm²) belirlenmiştir. Eşitlikte; 1.0 mM [Fe(CN)₆]³⁻ için $n=1$ ve Difüzyon katsayısı (D)= 7.6×10^{-6} cm²/s (25 °C), v =Tarama hızları 100-1000 mV/s olarak alınmıştır. Buna göre $I_p-v^{1/2}$ grafiğinden yararlanılarak bare GCE, C₃N₄NT/GCE, H₃PW₁₂O₄₀/C₃N₄NT/GCE ve AuNPs/H₃PW₁₂O₄₀/C₃N₄NT/GCE elektrotları için 0.070 cm², 0.158 cm², 0.341 cm² ve 0.749 cm² yüzey alanları elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlar ışığında EIS ve CV teknikleri yardımıyla elde edilen bulgular arasında iyi bir uyumun olduğunu söyleyebiliriz.



Şekil 3.6.(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. Çalışma elektrotları (a) bare GCE, (b) $\text{C}_3\text{N}_4\text{NT}/\text{GCE}$, (c) $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}/\text{C}_3\text{N}_4\text{NT}/\text{GCE}$ ve (d) $\text{AuNPs}/\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}/\text{C}_3\text{N}_4\text{NT}/\text{GCE}$; Referans elektrot: $\text{Ag}/\text{AgCl}_{\text{suda}}$; Karşıt (yardımcı) elektrot: Platin tel. Frekans aralığı: 100.000 – 0.1 Hz, genlik: 10 mV, Formal potansiyel: 0.160 V

3.3 Hazırlanan Baskılanmış ve Baskılanmamış Elektrotlarının SEM Analizleri

Şekil 3.7 MIP/ $\text{AuNPs}/\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}/\text{C}_3\text{N}_4\text{NT}/\text{GCE}$ ve NIP/ $\text{AuNPs}/\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}/\text{C}_3\text{N}_4\text{NT}/\text{GCE}$ elektrotlarının SEM görüntülerini göstermektedir. $\text{AuNPs}/\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}/\text{C}_3\text{N}_4\text{NT}$ ile modifiye edilmiş yüzeyde yoğun CPF baskılanmış polimer tabakaları görülmektedir (Şekil 3.7.A). CPF baskılanmamış yüzeye (Şekil 3.7.B) göre baskılama sonucunda daha fazla gözenekli yüzeyin elde edildiği ve böylece yüzeyde hedef moleküle özgü nano boşlukların başarılı bir şekilde oluşturulduğu anlaşılmaktadır.

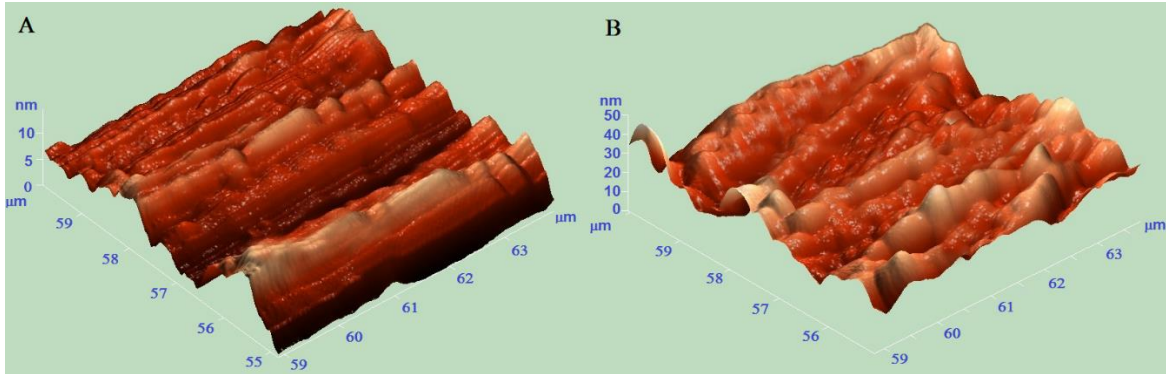


Şekil 3.7. SEM görüntüleri (A) MIP/ $\text{AuNPs}/\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}/\text{C}_3\text{N}_4\text{NT}/\text{GCE}$ ve (B) NIP/ $\text{AuNPs}/\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}/\text{C}_3\text{N}_4\text{NT}/\text{GCE}$

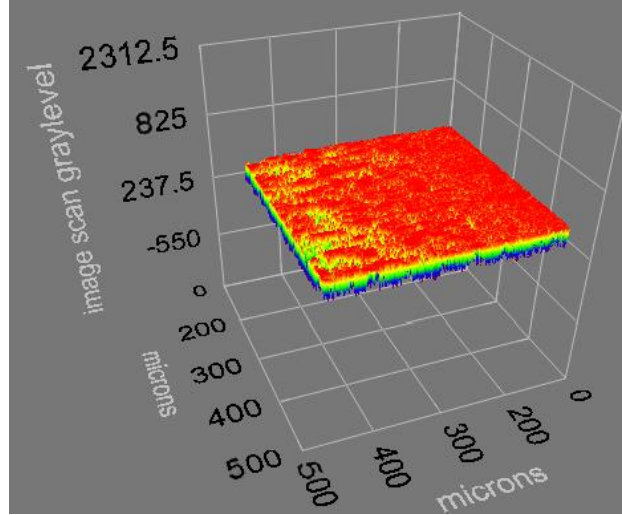
3.4 Modifiye Edilmemiş ve CPF Baskılanmış Modifiye Camsı Karbon Yüzeylerinin AFM ve Elipsometre Analizleri

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 ± 0.37 ve 47.17 ± 1.09 nm olarak bulunmuştur. Böylece temizlenmiş ve modifiye edilmemiş camı karbon elektrot yüzeyinde CPF baskılanmış polimer oluşumu sonucunda yüzeyde pürüzlülük artışı açıkça görülmektedir (Şekil 3.8).

Karbon nitrit nanotüp/poliokso metalat hibriti ile fonksiyonlaştırılmış 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 ± 0.24 nm olarak ölçülmüş ve böylece homojen ve tek tabakalı bir filmin oluşumu başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.9).



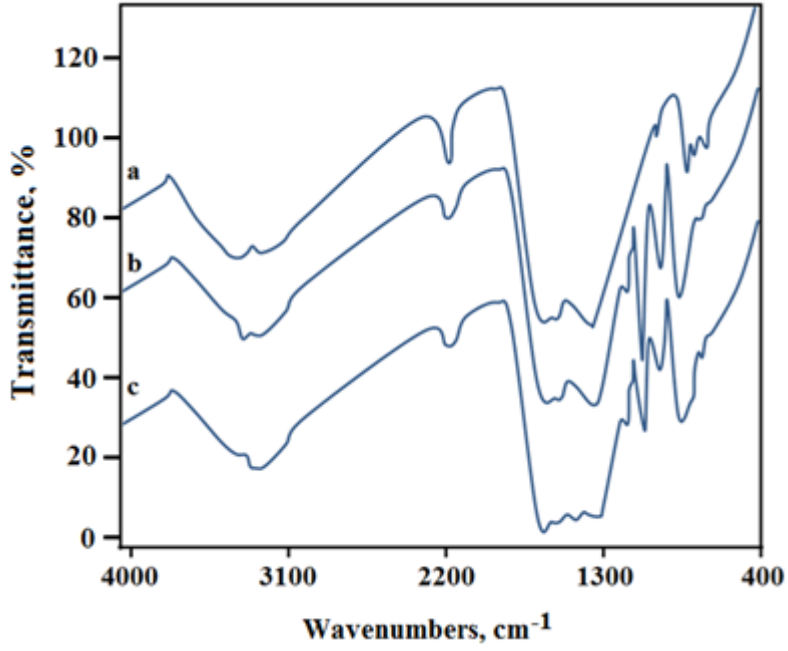
Şekil 3.8. (A) Modifiye edilmemiş; (B) CPF baskılanmış modifiye camı karbon yüzeylerinin AFM görüntüleri



Şekil 3.9. CPF baskılanmış modifiye camı karbon yüzeyinin 3B elipsometre görüntüsü

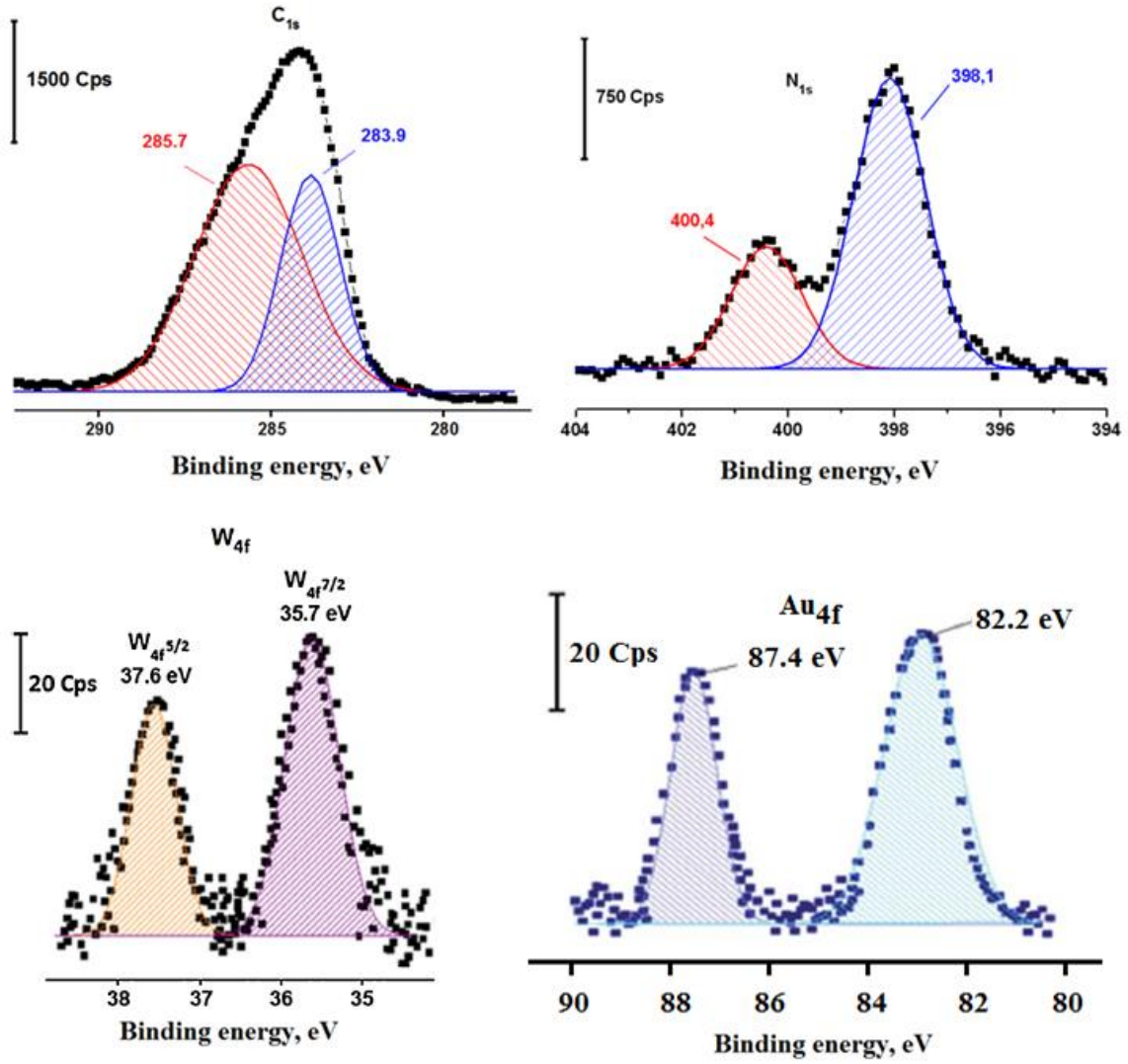
3.5 Hazırlanan Üç Bileşenli Hibrit Malzemenin XPS ve FTIR Analizleri

FTIR ölçümleri, aşama aşama üç bileşenli nanokompozitin (AuNPs/H₃PW₁₂O₄₀/C₃N₄NT) yapılarını incelemek üzere gerçekleştirilmiştir. Şekil 3.10a' da C₃N₄NT' ün karakteristik FTIR spektrumu görülmektedir. Spektruma bakıldığında grafit yapısındaki gibi sp² hibritleşmesine sahip simetrik titreşim bandları ve azot atomlarının bağlanması sonucu oluşan bozulmuş sp² hibritleşmesine karşılık gelen bandlar görülmektedir. Bu spektrumdaki 1552 cm⁻¹'de absorpsiyon bandı C=N'ye, 1328 cm⁻¹'de C-N'ye, 2138 cm⁻¹'de C≡N'ye titreşim modlarını ve 800 cm⁻¹'deki absorpsiyon bandı s-triazin halka modlarını göstermektedir. Şekil 3.10b ise H₃PW₁₂O₄₀/C₃N₄NT nanokompozitin FTIR spektrumunu göstermektedir. Yaklaşık 1055 cm⁻¹, 952 cm⁻¹, 880 cm⁻¹ ve 802 cm⁻¹'deki FTIR karakteristik absorpsiyon bantları sırasıyla P-O, W-O, inter-oktahedral ve intra-oktahedral W-O-W titreşimlerini göstermektedir. Şekil 3.10c' de ise AuNPs/H₃PW₁₂O₄₀/C₃N₄NT nanokompozitin FTIR spektrumu görülmektedir. Bu spektrumdaki P-O, W-O titreşim bandlarının zayıflaması Au⁴⁺ iyonlarının H₃PW₁₂O₄₀/C₃N₄NT yüzeyinde indirgenliğini göstermektedir.



Şekil 3.10. FTIR analizleri (a) C_3N_4NT , (b) $H_3PW_{12}O_{40}/C_3N_4NT$ ve (c) $AuNPs/H_3PW_{12}O_{40}/C_3N_4NT$

Proje kapsamında elde edilen altın nanopartiküllerinin, $H_3PW_{12}O_{40}/C_3N_4NT$ nanokompozitinin yapısı üzerinde varlığını kanıtlamak için XPS analizi yapılmıştır. Şekil 3.11'de $AuNPs/H_3PW_{12}O_{40}/C_3N_4NT$ nanokompozite ait C1s, N1s, W4f ve Au4f x-ışınları fotoelektron pikleri görülmektedir. C1s'e ait spektrumda 283.9 eV ve 285.7 eV bağlanma enerjilerinde görünen pikler sırasıyla C-C, C-N ve gruplarına ait piklerdir. N1s'e ait spektrumda 397.4 eV ve 400.6 eV bağlanma enerjisinde görünen pikler C-N ve az da olsa tüp haline gelmeyen melamin yapısındaki N-H gruplarını göstermektedir. Au4f'e ait spektrum sırasıyla 82.1 eV ve 87.3 eV bağlanma enerjili, 4f7/2 ve 4f5/2 şeklinde iki dubletten oluşur ve sentezlenen nanokompozitin yapısında AuNPs olduğunu kanıtlamaktadır. W4f'e ait spektrumdaki pikler ise poliozometalatın yapıda var olduğunu kanıtlamaktadır.

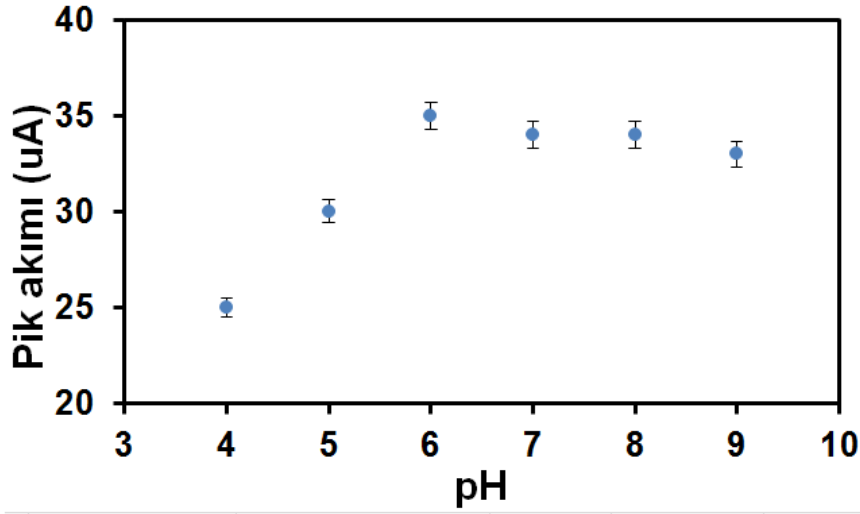


Şekil 3.11. AuNPs/H₃PW₁₂O₄₀/C₃N₄NT nanokompozitinin C_{1s}, N_{1s}, W_{4f} ve Au_{4f} XPS analizleri

3.6 Geliştirilen Analitik Yöntemin Optimizasyon Çalışmaları

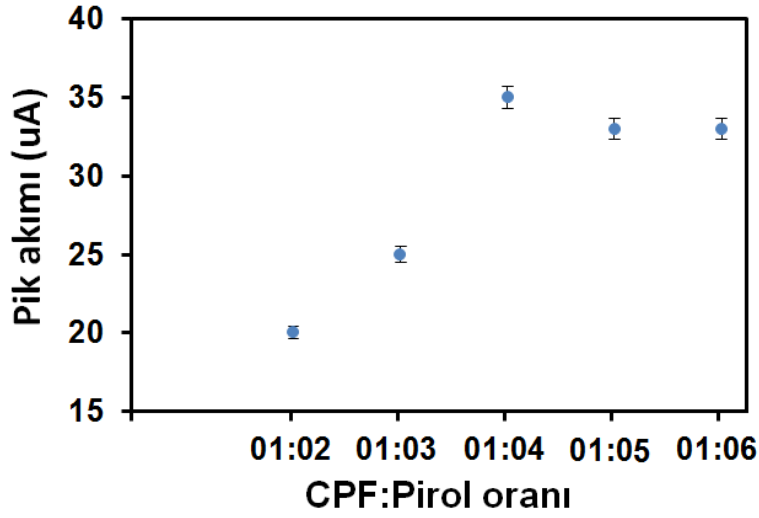
Geliştirilen yöntemde optimum analiz parametrelerinin bulunması için öncelikle seçilen destek elektrolit (0.1 M fosfat tamponu) ve belirli bir Klorprifos (CPF) derişiminde (5.0 nM) **destek elektrolit pH'sı**, **hedef molekül (CPF):monomer (pirol) oranı**, **tarama sayısı** ve **desorpsiyon zamanı** değişiminin CPF baskılanmış voltametrik sensör üzerine etkileri incelenmiştir (Şekil 3.12 – Şekil 3.15).

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 3.12). 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.



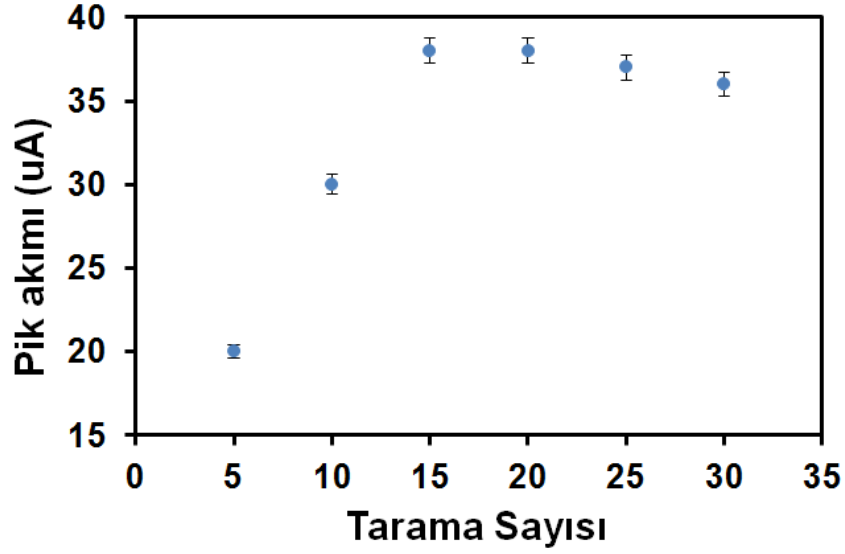
Şekil 3.12. CPF baskılanmış elektrokimyasal sensör üzerine destek elektrolit pH etkisi (5.0 nM CPF varlığında) (n=6) (Diğer Deneysel Koşullar; CPF: 20 mM, Pirol: 80 mM, Tarama Sayısı: 20, Desorpsiyon zamanı: 20 dakika)

Hedef Molekül (CPF):Monomer (Pirol) Değişiminin Geliştirilen CPF Baskılı Elektrokimyasal Sensör Üzerine Etkisi: Şekil 3.13'e göre monomer oranı (80 mM kadar) arttıkça geliştirilen CPF baskılanmış sensör üzerinde elde edilen sinyallerde önemli bir artışın meydana geldiği gözlemlenmiştir. Bu durumun monomer oranı arttıkça bağlanma bölgelerinin sayısının artışına bağlı olduğunu söyleyebiliriz. Fakat daha yüksek monomer oranlarında elde edilen sinyallerin sabite yakın gittiğini hatta küçüğe azaldığını görüyoruz. Bu durum ise artık kompleks oluşumunun yüksek verimde tamamlandığını hatta oranın artışıyla camsı karbon yüzeyinde monomer ile analit arasında spesifik olmayan etkileşimlerin ortaya çıktığını söyleyebiliriz. Böylece optimize CPF:Pirol oranı (20 mM:80 mM) olarak seçilmiştir.



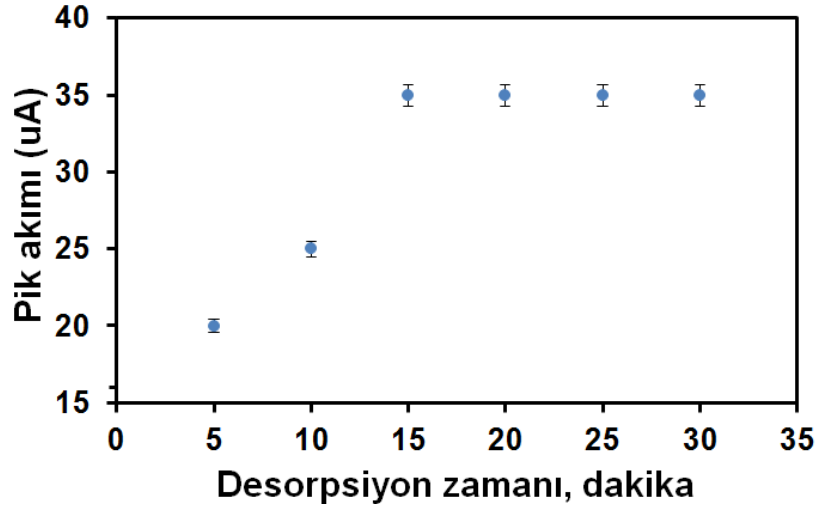
Şekil 3.13. CPF baskılanmış elektrokimyasal sensör üzerine monomer:hedef molekül oranı (pirol:CPF) etkisi (5.0 nM CPF varlığında) (n=6) (Diğer Deneysel Koşullar; Destek elektrolit pH: 6.0, Tarama Sayısı: 20, Desorpsiyon zamanı: 20 dakika)

Tarama Sayısı Değişiminin Geliştirilen CPF Baskılı Elektrokimyasal Sensör Üzerine Etkisi: Şekil 3.14'e göre hazırlanan CPF baskılanmış sensör de tarama sayısının artışı ile beraber sinyallerde önemli bir artışın olduğu görülmektedir. Bu durumun tarama sayısı ile birlikte camı karbon yüzeyinde hedef moleküle özgü bağlanma bölgelerinin sayısının artışına bağlı olduğunu söyleyebiliriz. Tarama sayısı 15'i geçtikten sonra yüzey filminin kalınlaşması yüzeyde spesifik olmayan etkileşimlerin ortaya çıkmasına neden olur. Böylece hassas sinyallerin elde edilmesi engellenir. Bu durumda dönüşümlü voltametri tekniği kullanılarak yapılan elektropolimerizasyon işleminde optimize tarama sayısı 15 olarak seçilmiştir.



Şekil 3.14. CPF baskılanmış elektrokimyasal sensör üzerine tarama sayısı etkisi (5.0 nM CPF varlığında) (n=6) (Diğer Deneysel Koşullar; Destek elektrolit pH: 6.0, CPF: 20 mM, Pirool: 80 mM, Desorpsiyon zamanı: 20 dakika)

Desorpsiyon Zamanı Değişiminin Geliştirilen CPF Baskılı Elektrokimyasal Sensör Üzerine Etkisi: Şekil 3.15'e göre çalışma elektrotu olarak kullanılan CPF baskılanmış sensör de desorpsiyon zamanının artışı ile beraber sinyallerde belirgin bir artış görülmektedir. 15 dakikalık desorpsiyon zamanına kadar yüzeyde halen uzaklaşmamış CPF moleküllerinden dolayı yüzeyde bağlanma-uzaklaşma kinetiği yavaştır. 15 dakikadan sonra yüzeyde hedef molekül uzaklaşması tamamlandığından elde edilen sinyallerde sabitleşir. Bundan dolayı optimize desorpsiyon zamanı 15 dakika olarak seçilmiştir.



Şekil 3.15. CPF baskılanmış elektrokimyasal sensör üzerine desorpsiyon zamanı etkisi (5.0 nM CPF varlığında) (n=6) (Diğer Deneysel Koşullar; Destek elektrolit pH: 6.0, CPF: 20 mM, Pirool: 80 mM, Tarama sayısı: 15)

3.7 Destek Elektrolitin Derişiminin Belirlenmesi

Yapılan ön denemeler ve kararlılık çalışmaları sonucunda iyi bir baskılama seçiciliği ve kararlı CPF-pirol kompleksi oluşumundan dolayı destek elektrolit olarak fosfat tamponu seçilmiştir. Seçilen fosfat tamponunun sensör cevabı üzerine derişim etkisini göstermek için farklı tampon derişimlerinde çalışma elektrotu olarak MIP/AuNPs/H₃PW₁₂O₄₀/C₃N₄NT/GCE kullanılarak CPF'in pik akımı değerleri ölçülmüştür. Pikin yüksekliği ve şekli göz önüne alındığında tampon derişimi olarak 0.1 M Fosfat tamponu sistemi seçilmiştir (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. CPF'nin farklı derişimlerdeki pH 6.0 fosfat tamponları ile elde edilen pik akımları (Elektropolimerizasyon koşulları; CPF derişimi: 20 mM; pirol derişimi: 80 mM; tarama sayısı: 15; desorpsiyon zamanı:15 dakika, SWV tekniği için Frekans: 50 Hz, adım yüksekliği: 3mV ve puls genliği: 20 mV)

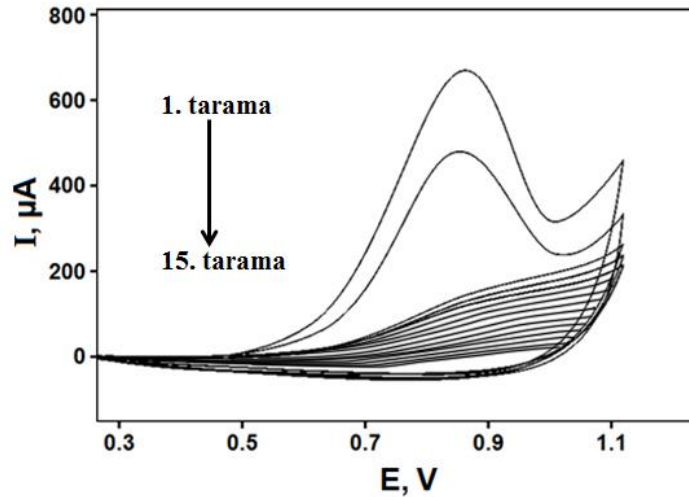
CPF derişimi (nM)	pH 6.0 Fosfat tamponu derişimi			
	0.025 M	0.05 M	0.10 M	0.20 M
	(μ A)	(μ A)	(μ A)	(μ A)
0.01	0.11	0.13	0.17	0.16
0.05	0.46	0.53	0.75	0.74
0.10	0.81	1.39	1.50	1.57
0.50	2.87	3.69	4.00	3.94
1.00	5.79	6.09	7.00	7.09
2.00	13.09	13.37	14.00	14.07
5.00	33.03	33.49	34.00	33.28

Ayrıca tayin metodu olarak kullanılan Kare Dalga Voltametri (SWV) tekniğinde belli bir derişimde (5.0 nM CPF); frekans (10 – 100 Hz), adım yüksekliği (2 – 6 mV) ve puls genliği (5 – 45 mV) değişiminin CPF'nin pik akımı üzerindeki etkileri de araştırılmıştır. 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.

3.8 AuNPs/H₃PW₁₂O₄₀/C₃N₄NT Hibrit Malzeme Yüzeyinde CPF Baskılanmış (MIP) ve Baskılanmamış (NIP) Elektrokimyasal Yüzeylerin Hazırlanması

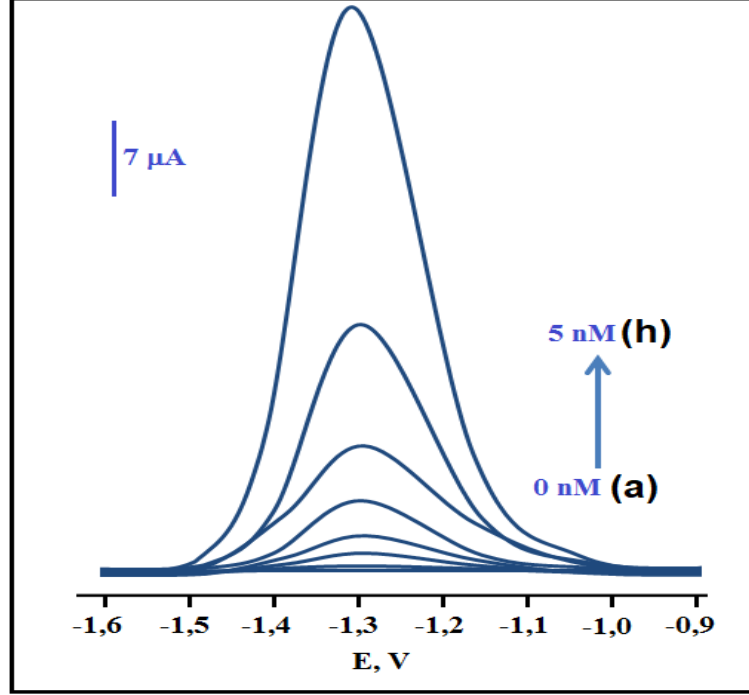
Daha önceden hazırlanmış AuNPs/H₃PW₁₂O₄₀/C₃N₄NT kompozit malzemesi (20 µL) temizlenmiş camı karbon elektrotların yüzeyine damlatıldıktan sonra hazırlanan modifiye elektrotlar saf su ile 3 kez yıkandı. Temizleme işleminden sonra modifiye elektrotlar azot gazı ile kurutuldu. CPF baskılanmış elektrotlar, 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 3.16).

Aynı işlem hedef molekül kullanılmadan da yapılarak, CPF baskılanmamış polimerler (NIP) karbon nitrit nanotüp/poliokso metalat hibriti ile fonksiyonlaştırılmış altın nanopartikül yüzeyine kaplandı ve proje kapsamında CPF tayini için hazırlanan elektrokimyasal sensörün yarışmacı ajanlar varlığında baskılama seçiliğini (Şekil 3.20 ve Tablo 3.11) göstermek için bu elektrotlar kullanıldı.



Şekil 3.16. 0.1 M, pH 6.0 fosfat tamponu sisteminde AuNPs/H₃PW₁₂O₄₀/C₃N₄NT hibrit malzeme ile modifiye edilmiş camı karbon elektrotu üzerinde 20 mM CPF varlığında 80 mM pirol monomerinin elektropolimerizasyonu (Deneysel Koşullar: Tarama hızı: 50 mV s⁻¹, Tarama sayısı: 15)

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 tekniğı yardımıyla artan derişimlerde elde edilen voltamogramlar Şekil 3.17’de gösterilmektedir.



Şekil 3.17. CPF'nin CPF baskılanmış AuNPs/H₃PW₁₂O₄₀/C₃N₄NT hibrit malzeme ile modifiye edilmiş camısı karbon elektrotu kullanılarak alınan kare dalga voltamogramları (a) 0.1 M fosfat destek elektroliti; (b) 0.01; (c) 0.05; (d) 0.1; (e) 0.5; (f) 1.0; (g) 2.0; (h) 5.0 nM CPF (frekans: 50 Hz, adım yüksekliğı: 3 mV ve puls genliğı: 20 mV, pH 6.0, 0.1 M fosfat destek elektroliti varlığında)

3.9 Geliştirilen Analitik Yöntemin Validasyonu

3.9.1 Hedef Molekül ve Hazırlanan Sensörün Kararlılık Çalışmaları

CPF'nin uzun ve kısa dönem kararlılık bulguları Tablo 3.2 ve Tablo 3.3'de verilmiştir.

Tablo 3.2. CPF için uzun dönem kararlılık bulguları (Eklenen CPF derişimi 0.500 nM, 0.1 M fosfat varlığında)

	1 saat	8 saat	24 saat	10 gün	20 gün	30 gün
Ölçülen Pik akımı I (μA)	3.982	3.941	3.983	4.001	3.947	4.004
Bulunan miktar (nM)	0.501	0.494	0.501	0.503	0.495	0.504
Geri Kazanım (%)	100.22	98.80	100.22	100.60	99.00	100.80

Tablo 3.3. CPF için kısa dönem kararlılık bulguları (Eklenen CPF derişimi 0.500 nM, 0.1 M fosfat varlığında)

	Ölçülen Pik akımı I (μA)	Bulunan miktar (nM)	Geri Kazanım (%)
12 saat	3.986	0.501	100.22

Çalışılan maddenin stok çözeltisinin oda sıcaklığında ve buzdolabındaki kararlılığının belirlenmesi amacıyla kare dalga voltammogramları incelenmiştir. Bu stok çözeltiden 0.500 nM'lık çözeltiler hazırlanarak kare dalga voltammogramları alınmış ve taze hazırlanmış çözeltilerin kare dalga voltammogramları ile karşılaştırılmıştır. Kare dalga voltammogramlarda elde edilen sinyallerde önemli bir değişiklik gözlenmemiştir. Çalışılan maddenin stok çözeltilerinin buzdolabında minimum bir ay kararlı, oda sıcaklığında ise 12 saat olduğu söylenebilir (Tablo 3.2 – Tablo 3.3).

Ayrıca hazırlanan elektrotun CPF tayin çalışmalarında kullanımı süresince önemli etkilere neden olabilecek sonikasyon zamanı göz önünde bulundurularak hazırlanan CPF baskılanmış elektrokimyasal sensörün kararlılık çalışması yapılmıştır. Bunun için hazırlanan CPF 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 derişimine (0.500 nM CPF) karşı kullanılarak pik akımları ve potansiyel değerleri not edilmiştir. Tablo 3.4 her sonikasyon işlemi sonucunda elektrotların 0.500 nM CPF derişimine karşı elde edilen pik akımları ve potansiyel değerlerini

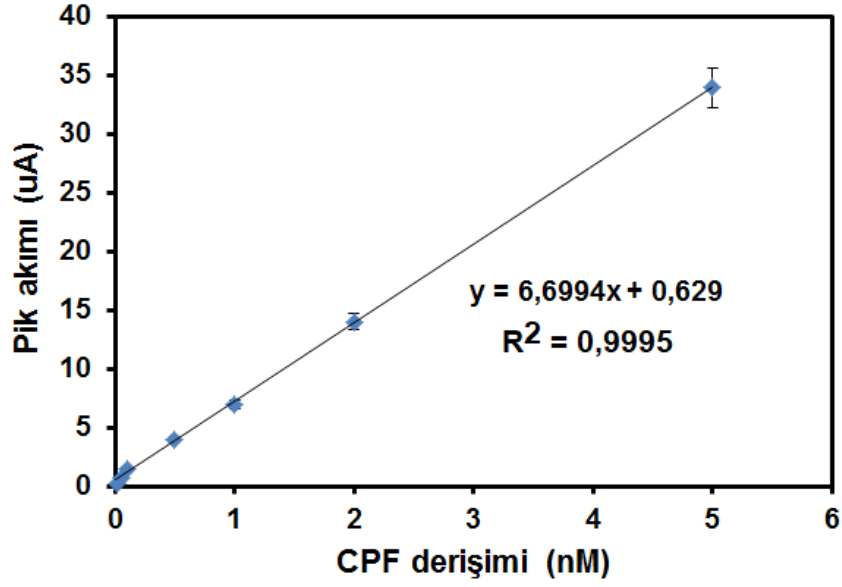
göstermektedir. Bu değerler ışığında pik akımlarının ve potansiyel değerlerinin bağıl standart sapma değerlerinin düşük olduğu ve böylece CPF baskılanmış elektrokimyasal sensörün en az 1 saat sonikasyon kararlılığına sahip olduğu söylenebilir. Ayrıca bu yüksek sonikasyon kararlılığı hedef molekül CPF ile seçilen monomer pirol arasında meydana gelen kompleksin yüksek kararlı olduğunu ve dolayısıyla baskılama veriminin de yüksek çıkmasına neden olduğunu söylememize imkan sağlar.

Tablo 3.4. Çeşitli zamanlarda yapılan sonikasyon sonucunda elde edilen pik akımı ve potansiyel bulguları (Eklenen CPF derişimi 0.500 nM, 0.1 M fosfat varlığında) (n = 6)

Sonikasyon zamanı (dk)	Ölçülen Pik akımı I (μ A)	Ölçülen Potansiyel (mV)
5	3.981	-1304
15	3.985	-1302
30	3.989	-1303
45	3.992	-1300
60	3.986	-1300
Ortalama (\bar{X})	3.987 \pm 0.0017	-1301.8 \pm 0.73
Standart sapma (SS)	0.0042	1.79
% Bağıl standart sapma (BSS)	0.11	0.14

3.9.2 Kalibrasyon Eğrisi ve Doğrusallık Aralığı

Geliştirilen MIP/AuNPs/H₃PW₁₂O₄₀/C₃N₄NT/GCE temelli yöntemde CPF derişimine karşı elde edilen sinyaller grafiğe geçirilerek kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir (Şekil 3.18). SWV yöntemi ile 0.01 – 5.0 nM aralığında doğrusal olan kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir (Şekil 3.18). Geliştirilen yöntem için doğrusallıktan ayrılışın önem kontrolü yapılmıştır (Tablo 3.5). 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 3.18. CPF'nin SWV yöntemi ile elde edilen kalibrasyon eğrisi (n = 6)

Tablo 3.5. CPF'nin SWV yöntemi ile analizinden elde edilen kalibrasyon eğrisinin korelasyon katsayısı ile doğrusallıktan ayrılış önem kontrolü için yapılan istatistiksel hesaplamalar

Korelasyon Katsayısının Önem Kontrolü						
n	r	Sr	t _H	t _T		
7	0.9995	0.01	99.95	2.48		
Doğrusallıktan Ayrılış Önem Kontrolü						
RKT	YOAKT	RAKT	RAKO	RKO	F _H	F _T
899.651	888.429	11.222	2.244	179.9302	80.18	5.59

* Terimler Ek 1'de açıklanmıştır

Geliştirilen SWV yöntemi için elde edilen kalibrasyon eğrisinin özellikleri Tablo 3.6'da gösterilmiştir. Korelasyon ve tanımlayıcılık katsayılarının yaklaşık olarak 1.0000 bulunması çizilen kalibrasyon eğrilerinin bir doğru olduğunu göstermektedir.

Tablo 3.6. 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)	3.2×10^{-12}
LOQ (M)	9.7×10^{-12}

* $y = ax + b$; x: nM biriminde derişim, y: SWV için pik akımı (μA), a: Kesişim, b: Eğim, LOD ve LOQ nasıl hesaplandığı Ek 2’de açıklanmıştır

3.9.3 Duyarlılık

CPF’nin SWV yöntemine ait LOD ve LOQ değerleri Tablo 3.6’da verilmiştir. Bulunan gözlenebilme sınırı (LOD) ve alt tayin sınırı (LOQ) değerlerinin düşük olması geliştirilen hibrit malzeme temelli moleküler baskılanmış elektrokimyasal sensörün oldukça duyarlı olduğunu göstermektedir.

3.9.4 Kesinlik ve Doğruluk

CPF’nin SWV yöntemiyle yapılan doğruluk ve kesinlik çalışmalarına ait gün içi ve günler arası değerlendirme sonuçları Tablo 3.7’de verilmiştir. Doğruluk, ölçülen ve doğru kabul edilen değerler arasındaki uyumun bir ölçüsüdür ve % bağıl hata (BH) ile belirlenmektedir. Yöntemin doğruluğunun belirlenmesi için bilinen numunelerde en az 3 farklı derişimde her derişim için en az 3 analiz sonucu bulunmalıdır.

Kesinlik, sonuçların tekrarlanabilirliğinin göstergesidir. Hazırlanan standart numunelerin yapılan tekrarlı analizleri sonucunda saptanan BSS terimi ile tanımlanır. BSS, standart sapmanın ortalamaya göre yüzde kaçlık bir değişim gösterdiğini belirtir.

CPF’nin SWV yöntemi ile tayininde 0.050, 0.500 ve 2.000 nM derişimlerde gün içi ve günler arası tekrarlı analizler yapılmıştır. Gün içi çalışmalarda 3 farklı derişim seviyesinde altı tane hazırlanan standart çözeltilerin analizleri aynı gün yapılmış, elde edilen bulguların SWV yöntemi için bağıl standart sapma değerleri % 1.28 – 1.78 arasında, % bağıl hata değerleri de mutlak değer olarak 0.0 – 4.45 arasında bulunmuştur. Günler arası çalışmalarda ise; üç farklı derişim seviyesinde ardışık altı ayrı günde hazırlanan çözeltilerin analizi ile yapılmış ve elde edilen bulguların SWV yöntemi için bağıl standart sapma değerleri % 1.41 – 2.80 arasında, % bağıl hata değerleri de mutlak değer olarak 0.0 – 4.80 arasında bulunmuştur (Tablo 3.7). Geliştirilen yöntemde gün içi ve günler arası için % bağıl hata değerlerinin %

5'den az olması yöntemlerin doğruluğunu göstermektedir. Bağlı standart sapmanın her üç yöntemde de % 5'in altında olması yöntemlerin kesinliğinin oldukça iyi olduğunu belirtir.

Tablo 3.7. SWV yönteminin gün içi ve günler arası kesinlik ve doğruluk bulguları (n = 6)

CPF miktarı (nM)	Gün İçi ¹		Günler Arası ²	
	Bulunan miktar	% Bağlı hata	Bulunan miktar	% Bağlı hata
0.050	0.050	0.0	0.048	4.0
	0.051	2.0	0.049	2.0
	0.050	0.0	0.051	2.0
	0.049	2.0	0.052	4.0
	0.049	2.0	0.050	0.0
	0.051	2.0	0.050	0.0
\bar{X}	0.050 ± 0.00036		0.050 ± 0.00057	
SS	0.00089		0.0014	
BSS (%)	1.78		2.80	
0.500	0.511	2.2	0.514	2.8
	0.512	2.4	0.516	3.2
	0.500	0	0.517	3.4
	0.498	0.4	0.493	1.4
	0.500	0	0.507	-1.4
	0.499	0.2	0.494	1.2
\bar{X}	0.503 ± 0.0026		0.507 ± 0.0045	
SS	0.0064		0.011	
BSS (%)	1.28		2.17	
2.000	2.081	4.05	2.074	3.70
	2.023	1.15	2.085	4.25
	2.021	1.05	2.039	1.95
	2.037	-1.85	2.096	4.80
	2.089	4.45	2.074	3.70
	2.018	0.90	2.018	0.90
\bar{X}	2.044 ± 0.013		2.064 ± 0.012	
SS	0.032		0.029	
BSS (%)	1.57		1.41	

¹Gün içi çalışmalar; üç derişim seviyesinde altı ayrı çözelti kullanılarak aynı günde yapılmıştır.

²Günler arası çalışmalar; üç derişim seviyesinde altı ayrı çözelti kullanılarak 6 ayrı günde yapılmıştır.

\bar{X} : Ortalama ± Standart hata, SS:Standart sapma, BSS:Bağlı standart sapma (İstatistiksel hesaplamalar Ek 2'de açıklanmıştır).

3.9.5 Tekrarlanabilirlik

Önerilen yöntem için sensör tekrarlanabilirlik sonuçları Tablo 3.8' de verilmiştir. CPF'nin SWV yöntemi için pik potansiyelleri ve pik akımlarının BSS değerleri sırasıyla % 0.16 ve % 0.048 olarak bulunmuştur (Tablo 3.8). Bağlı standart sapmalarının % 1'den düşük olması sensör tekrarlanabilirliğinin iyi olduğunu ve maliyet-fayda ekseninde önemli avantajlar sunduğunu göstermektedir.

Tablo 3.8. Sensör tekrarlanabilirliği bulguları (Eklenen CPF derişimi SWV yöntemi için 2.0 nM) (n = 6)

SWV Yöntemi	
Ölçülen Potansiyel, Ep(mV)	Ölçülen Pik akımı, I (µA)
-1300	3.986
-1305	3.981
-1305	3.984
-1303	3.983
-1304	3.982
-1306	3.985
$\bar{X} = -1303.4 \pm 0.85$ SS = 2.07 BSS = % 0.16 GA = -1304.25 / -1302.15	$\bar{X} = 3.983 \pm 0.018$ SS = 0.0019 BSS = % 0.048 GA = 4.001 – 3.965

\bar{X} : Ortalama±standart hata. SS: Standart Sapma. BSS: % Bağlı Standart Sapma. GA: Güven Aralığı (α :0.05) (Bkz. Ek 2)

3.9.6 Sağlamlık ve Tutarlılık

Sağlamlık ve Tutarlılık çalışmalarına ait sonuçlar ve istatistiksel olarak karşılaştırma sonuçları Tablo 3.9 ve Tablo 3.10'da verilmiştir. Sağlamlık çalışmaları için optimum şartlarda küçük değişiklikler yapılarak analiz sonuçlarına etkisi incelenmiştir. Bu çalışmalar SWV yöntemi için 0.500 nM CPF derişimin de gerçekleştirilmiştir. Her bir değişiklikte yapılan analiz sonuçları optimum şartlarda bulunan analiz sonuçları ile Wilcoxon testi kullanılarak karşılaştırılmıştır. Tüm karşılaştırmalarda T_H değeri T_T değerinden büyük olduğu için analizler arasında fark olmadığı sonucuna varılmıştır (Tablo 3.9). Bu sonuçlar CPF analizi için geliştirilen yöntemlerin sağlam olduğunu göstermektedir. Tutarlılık çalışmaları için farklı analizci etkisi araştırılmış ve bulunan değerler Wilcoxon testi kullanılarak karşılaştırılmıştır. Bu çalışmalar SWV yöntemi için 0.500 nM CPF derişimin de gerçekleştirilmiştir. Farklı iki analizci tarafından elde edilen bulgular arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaması

geliştirilen yöntemin tutarlı olduğunu göstermektedir (SWV yöntemi için $T_H = 5.00 > T_T = 2.00$; $p > 0.05$) (Tablo 3.10).

Tablo 3.9. SWV yönteminin sağlamlığına ait analiz bulguları (n = 6)

	Bulunan (nM)	BSS (%)	Karşılaştırm a Sonuçları
pH = 6.00 (0.500 nM CPF)	0.503 ± 0.0026	1.28	-
pH 5.90	0.502 ± 0.0011	1.32	$T_H = 9.0$
pH 6.10	0.501 ± 0.0078	1.47	$T_H = 7.0$
İlk potansiyel (-1.10 V)	0.503 ± 0.0077	0.85	$T_H = 12.0$
İlk potansiyel (-0.90 V)	0.501 ± 0.0069	0.93	$T_H = 12.0$

Sonuçlar tek tek normal şartlarda bulunan sonuçlarla karşılaştırılmıştır (Wilcoxon Testi) $T_{\text{tablo}} = 2.0$ ($p > 0.05$) Sonuçlar arasında fark yoktur (Ek 2 ve Ek 3)

Tablo 3.10. SWV yönteminin tutarlılığına ait analiz bulguları

SWV yöntemi (n = 6)		
	1. Analizci	2. Analizci
Eklene miktar	Bulunan miktar (nM)	Bulunan miktar (nM)
CPF 0.500 nM	0.511	0.511
	0.512	0.512
	0.500	0.500
	0.498	0.498
	0.500	0.500
	0.499	0.499
\bar{x}	0.503 ± 0.0026	0.504 ± 0.0027
SS	0.0064	0.0067
BSS	1.28	1.33
$T_{\text{Hesap}} : 5.0 > T_{\text{Tablo}} : 2.0, p > 0.05$ (Wilcoxon Testi)		

\bar{X} : Ortalama±standart hata. SS: Standart Sapma. BSS: % Bağıl Standart Sapma. GA:

Güven Aralığı ($\alpha : 0.05$) (Ek 2 ve Ek 3)

3.9.7 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 dağılıma ve seçicilik katsayıları aşağıdaki eşitliğine göre belirlenmiştir.

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

Eşitlikte K_d dağılıma 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,

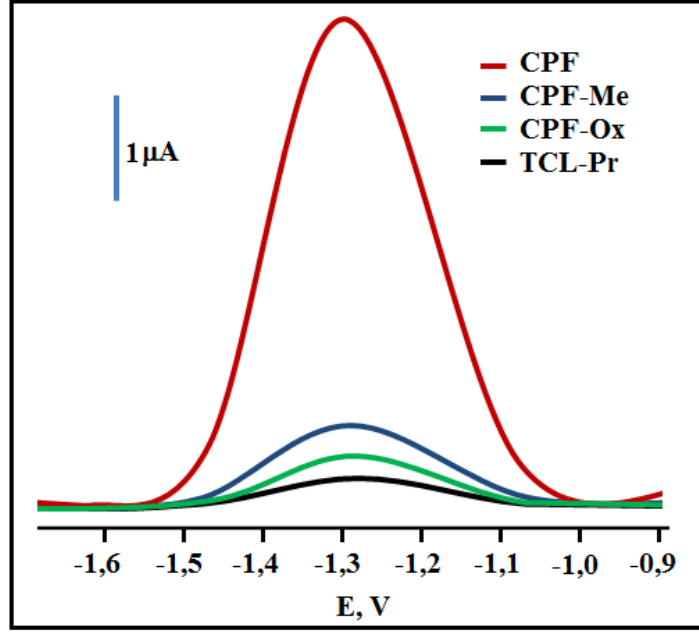
$$k = \Delta I_{kalıp} / \Delta I_{girişimci}$$

şeklinde kullanılabilir.

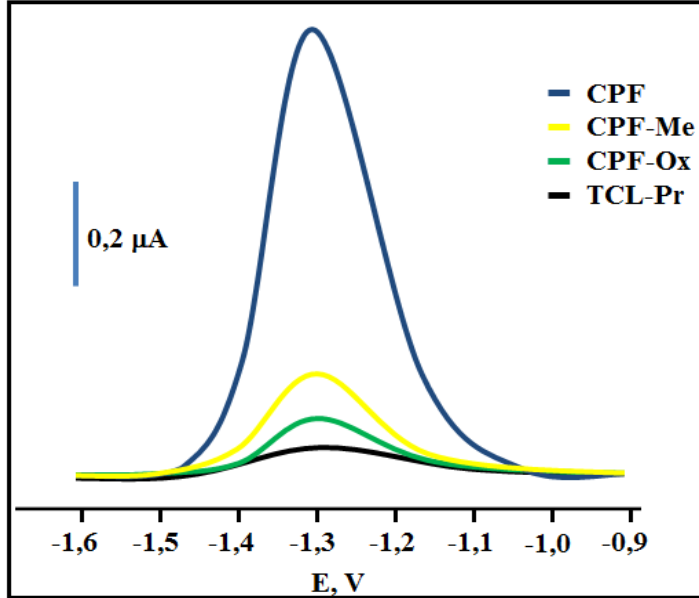
Geliştirilen CPF baskılanmış sensörün baskılama seçiciliğinin belirlenmesi için kullanılan bağıl seçicilik katsayısı (k') ise;

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

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 3.19 ve Şekil 3.20'de görülmektedir. Geliştirilen sensörler için CPF'ye göre CPF-Me, CPF-Ox ve TCL-Pr için seçicilik ve bağıl seçicilik katsayıları Tablo 3.11'de verilmiştir.



Şekil 3.19. 1.00 nM sulu CPF, CPF-Me, CPF-Ox ve TCL-Pr çözeltileri ile CFB baskılanmış elektokimyasal sensör arasındaki etkileşimlere ait kare dalga voltamogramları (pH 6.0 fosfat tamponu varlığında)



Şekil 3.20. 1.00 nM sulu CPF, CPF-Me, CPF-Ox ve TCL-Pr çözeltileri ile CFB baskılanmamış elektokimyasal sensör arasındaki etkileşimlere ait kare dalga voltamogramları (pH 6.0 fosfat tamponu varlığında)

CPF baskılanmış elektrokimyasal sensörünün sulu CPF, 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 3.11). Etkileşimdeki bu hassasiyet kalıp molekül olan CPF'nin üç boyutlu yapısının polimerik hafızaya alınmasından kaynaklanmaktadır.

CPF baskılanmamış elektrokimyasal sensörün aynı derişimdeki sulu CPF, CPF-Me, CPF-Ox ve TCL-Pr'ye verdiği voltammogram sinyal değerleri (ΔI) 0.80, 0.20, 0.10 ve 0.05'dir. Şekil 3.20 incelendiğinde CPF baskılanmamış elektrokimyasal sensörün aynı derişimdeki sulu CPF, 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 3.11. 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

3.10 Numune Taşınması ve Hazırlanması

Proje kapsamında, Denizli ili sınırları içerisinde geçen Büyük Menderes nehrinin belirli noktalarından su örnekleri alındı ve uygun taşıma işlemleri sonrasında var olan Klorprifos laboratuvar ortamında geliştirilen moleküler baskılanmış sensör ile öncelikle **doğrudan kalibrasyon yöntemi** ile tayin çalışmaları gerçekleştirildi. Klorprifos tayini için örnek alımları, Büyük Menderes nehrinin Şekil 3.21’de belirtilen bölümlerinden seçilen yaklaşık 5 ayrı noktadan yapılmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 3.12’de gösterilmiştir.



Şekil 3.21. Büyük Menderes nehri örnek alma güzergahları

3.11 Geri Kazanım Deneyleri

Nehir suyu numunelerinin taşınması ve analize hazır hale getirilme işlemlerinden sonra toplanan numuneler tekrar 4500 rpm hızında santrifüjlendikten sonra 0.50-µm çaplı filtreden süzölmüştür. Elde edilen süzöntüler geliştirilen CPF baskılanmış elektrokimyasal sensörler ile analizleri için pH 6.0, 0.1 M fosfat tamponu ile (1:10) oranında seyreltilmiştir. Seyreltilmiş nehir suyu numunelerinin üzerine kalibrasyon aralığına düşen üç farklı derişimde klorprifos çözeltisi eklenmiştir. Doğrudan kalibrasyon denklemi kullanılarak, numunedeki klorprifos miktarı hesaplanmış ve buradan da yüzde geri kazanım (%GK= Bulunan miktar/Olması gereken miktar) değerlerine geçilmiştir. Üç farklı analit derişimi en az altı kez tekrarlanarak gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3.12. Moleküler baskılanmış elektrokimyasal sensör için doğrudan kalibrasyon tekniği kullanılarak CPF'nin 5 farklı noktadan alınan nehir suyu numunelerinden hesaplanan geri kazanım değerleri (n=6)

Numune	Eklene CPF miktarı (mol L ⁻¹)	Bulunan CPF miktarı (mol L ⁻¹)	Geri Kazanım (%)
1	-	1.31 (± 0.04) × 10 ⁻⁹	-
	5.00 × 10 ⁻¹¹	1.35 (± 0.01) × 10 ⁻⁹	99.3 ± 1.3
	1.00 × 10 ⁻¹⁰	1.42 (± 0.04) × 10 ⁻⁹	100.7 ± 2.1
	2.00 × 10 ⁻¹⁰	1.52 (± 0.06) × 10 ⁻⁹	100.7 ± 1.4
2	-	2.12 (± 0.07) × 10 ⁻⁹	-
	5.00 × 10 ⁻¹¹	2.15 (± 0.03) × 10 ⁻⁹	99.1 ± 0.3
	1.00 × 10 ⁻¹⁰	2.23 (± 0.03) × 10 ⁻⁹	100.5 ± 0.8
	2.00 × 10 ⁻¹⁰	2.34 (± 0.02) × 10 ⁻⁹	100.9 ± 0.5
3	-	2.37 (± 0.06) × 10 ⁻⁹	-
	5.00 × 10 ⁻¹¹	2.44 (± 0.01) × 10 ⁻⁹	100.8 ± 1.3
	1.00 × 10 ⁻¹⁰	2.46 (± 0.02) × 10 ⁻⁹	99.6 ± 1.1
	2.00 × 10 ⁻¹⁰	2.55 (± 0.04) × 10 ⁻⁹	99.2 ± 1.7
4	-	1.77 (± 0.08) × 10 ⁻⁹	-
	5.00 × 10 ⁻¹¹	1.83 (± 0.02) × 10 ⁻⁹	100.5 ± 1.2
	1.00 × 10 ⁻¹⁰	1.85 (± 0.04) × 10 ⁻⁹	98.9 ± 1.7
	2.00 × 10 ⁻¹⁰	1.98 (± 0.07) × 10 ⁻⁹	100.5 ± 0.9
5	-	3.22 (± 0.03) × 10 ⁻⁹	-
	5.00 × 10 ⁻¹¹	3.28 (± 0.04) × 10 ⁻⁹	100.3 ± 1.1
	1.00 × 10 ⁻¹⁰	3.33 (± 0.03) × 10 ⁻⁹	100.3 ± 1.6
	2.00 × 10 ⁻¹⁰	3.44 (± 0.06) × 10 ⁻⁹	100.6 ± 1.9

Tablo 3.12'de geliştirilen moleküler baskılanmış sensör ile elde edilen geri kazanım sonuçlarının %100.0 değerine yakın olduğu görülmektedir. Bu sonuçlar, geliştirilen elektrokimyasal sensörün doğruluğunun diğer bir kanıtıdır.

Geliştirilen CPF baskılanmış SWV sensörünün seçicilik çalışmaları yapılırken gerçek numunelerde çok fazla sayıda, molekül yapısı benzer veya benzemeyen girişim etkisi muhtemel olan moleküllerin bulunduğunu hatırlatmakta fayda olduğunu söylemiştik. İşte bütün bu moleküllerin girişim etkisini görebilmemiz için 5 farklı noktadan alınan nehir suyu numunelerine **STANDART EKLEME YÖNTEMİ** uygulanarak doğrudan kalibrasyon tekniği ile elde edilen eğim ile karşılaştırma yapılmıştır. Her iki teknik ile elde edilen eğimler arasında anlamlı bir farkın olmadığı gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar gerçek numune ortamında yapılan analizlerde matriks etkisinden kaynaklanan bir girişimin olmadığını göstermiştir. Bu sonuçlar gerçek numune analizi yapılırken her iki tekniğinin de uygulanabilir olduğunu kanıtlamaktadır.

Tablo 3.13. Standart Ekleme Tekniği ile Doğrudan Kalibrasyon Tekniği ile elde edilen kalibrasyon denklemleri

	<i>Standart Ekleme Tekniği ile elde edilen kalibrasyon denklemi</i>	<i>Doğrudan Kalibrasyon Tekniği ile elde edilen kalibrasyon denklemi</i>
Numene 1	$y^* = 6.6913x + 2.331$	$y^* = 6.6994x + 0.629$
Numene 2	$y^* = 6.6982x + 3.773$	$y^* = 6.6994x + 0.629$
Numene 3	$y^* = 6.6902x + 4.217$	$y^* = 6.6994x + 0.629$
Numene 4	$y^* = 6.7004x + 3.157$	$y^* = 6.6994x + 0.629$
Numene 5	$y^* = 6.7008x + 5.731$	$y^* = 6.6994x + 0.629$

Ayrıca 5 ayrı noktadan alınan numunelerin analizleri karşılaştırma yöntemi ([Gibbs vd., 2014](#)) ile yapılmış olup veriler Tablo 3.14'de gösterilmiştir.

Tablo 3.14. Karşılaştırma yöntemi için doğrudan kalibrasyon tekniği kullanılarak CPF'nin 5 farklı noktadan alınan nehir suyu numunelerinden hesaplanan geri kazanım değerleri (n=6)

Numune	Eklenen CPF miktarı (mol L ⁻¹)	Bulunan CPF miktarı (mol L ⁻¹)	Geri Kazanım (%)
1	-	1.32 (± 0.03) × 10 ⁻⁹	-
	5.00 × 10 ⁻¹¹	1.36(± 0.02) × 10 ⁻⁹	99.3 ± 0.8
	1.00 × 10 ⁻¹⁰	1.43(± 0.05) × 10 ⁻⁹	100.7 ± 1.8
	2.00 × 10 ⁻¹⁰	1.53(± 0.07) × 10 ⁻⁹	99.4± 1.6
2	-	2.11 (± 0.04) × 10 ⁻⁹	-
	5.00 × 10 ⁻¹¹	2.17(± 0.06) × 10 ⁻⁹	100.5± 0.6
	1.00 × 10 ⁻¹⁰	2.20(± 0.01) × 10 ⁻⁹	99.6± 0.1
	2.00 × 10 ⁻¹⁰	2.32(± 0.04) × 10 ⁻⁹	100.4± 0.2
3	-	2.39 (± 0.05) × 10 ⁻⁹	-
	5.00 × 10 ⁻¹¹	2.43 (± 0.02) × 10 ⁻⁹	99.6± 1.0
	1.00 × 10 ⁻¹⁰	2.50 (± 0.04) × 10 ⁻⁹	100.4± 1.5
	2.00 × 10 ⁻¹⁰	2.58 (± 0.03) × 10 ⁻⁹	99.6± 1.3
4	-	1.76 (± 0.08) × 10 ⁻⁹	-
	5.00 × 10 ⁻¹¹	1.82 (± 0.01) × 10 ⁻⁹	100.6± 1.0
	1.00 × 10 ⁻¹⁰	1.87 (± 0.03) × 10 ⁻⁹	100.5± 1.1
	2.00 × 10 ⁻¹⁰	2.01 (± 0.05) × 10 ⁻⁹	99.5 ± 0.5
5	-	3.21 (± 0.02) × 10 ⁻⁹	-
	5.00 × 10 ⁻¹¹	3.27 (± 0.01) × 10 ⁻⁹	100.3 ± 1.4
	1.00 × 10 ⁻¹⁰	3.30 (± 0.04) × 10 ⁻⁹	99.7± 1.1
	2.00 × 10 ⁻¹⁰	3.42 (± 0.05) × 10 ⁻⁹	100.3± 1.2

Tablo 3.15. Hazırlanan sensör ve Karşılaştırma yöntemi ile elde edilen analiz bulguları (n = 6)

Numune	Geliştirilen sensör ile bulunan CPF miktarı (mol L ⁻¹)	Karşılaştırma Yöntemi ile bulunan CPF miktarı (mol L ⁻¹)
1	1.31 (± 0.04) × 10 ⁻⁹	1.32 (± 0.03) × 10 ⁻⁹
	1.35 (± 0.01) × 10 ⁻⁹	1.36(± 0.02) × 10 ⁻⁹
	1.42 (± 0.04) × 10 ⁻⁹	1.43(± 0.05) × 10 ⁻⁹
	1.52 (± 0.06) × 10 ⁻⁹	1.53(± 0.07) × 10 ⁻⁹
Kruskal Wallis varyans analizi KW _T = 7.815 > KW _H = 3.57, p < 0.05		
2	2.12 (± 0.07) × 10 ⁻⁹	2.11 (± 0.04) × 10 ⁻⁹
	2.15 (± 0.03) × 10 ⁻⁹	2.17(± 0.06) × 10 ⁻⁹
	2.23 (± 0.03) × 10 ⁻⁹	2.20(± 0.01) × 10 ⁻⁹
	2.34 (± 0.02) × 10 ⁻⁹	2.32(± 0.04) × 10 ⁻⁹
Kruskal Wallis varyans analizi KW _T = 7.815 > KW _H = 3.69, p < 0.05		
3	2.37 (± 0.06) × 10 ⁻⁹	2.39 (± 0.05) × 10 ⁻⁹
	2.44 (± 0.01) × 10 ⁻⁹	2.43 (± 0.02) × 10 ⁻⁹
	2.46 (± 0.02) × 10 ⁻⁹	2.50 (± 0.04) × 10 ⁻⁹
	2.55 (± 0.04) × 10 ⁻⁹	2.58 (± 0.03) × 10 ⁻⁹
Kruskal Wallis varyans analizi KW _T = 7.815 > KW _H = 2.19, p < 0.05		
4	1.77 (± 0.08) × 10 ⁻⁹	1.76 (± 0.08) × 10 ⁻⁹
	1.83 (± 0.02) × 10 ⁻⁹	1.82 (± 0.01) × 10 ⁻⁹
	1.85 (± 0.04) × 10 ⁻⁹	1.87 (± 0.03) × 10 ⁻⁹
	1.98 (± 0.07) × 10 ⁻⁹	2.01 (± 0.05) × 10 ⁻⁹
Kruskal Wallis varyans analizi KW _T = 7.815 > KW _H = 2.48, p < 0.05		
5	3.22 (± 0.03) × 10 ⁻⁹	3.21 (± 0.02) × 10 ⁻⁹
	3.28 (± 0.04) × 10 ⁻⁹	3.27 (± 0.01) × 10 ⁻⁹
	3.33 (± 0.03) × 10 ⁻⁹	3.30 (± 0.04) × 10 ⁻⁹
	3.44 (± 0.06) × 10 ⁻⁹	3.42 (± 0.05) × 10 ⁻⁹
Kruskal Wallis varyans analizi KW _T = 7.815 > KW _H = 3.06, p < 0.05		

Proje kapsamında hazırlanan sensörün geçerli olabilmesi için diğer bir yol, hazırlanan sensörün gerçek numunelere uygulanması ile elde edilen sonuçların kaynaklarda geçerli olan başka bir yöntemin sonuçları ile karşılaştırılarak aralarında istatistiksel olarak fark bulunmadığının gösterilmesidir (Tablo 3.15). Bu nedenle aynı numunenin analizi kaynakta

bildirilen LC-MS/MS yöntemle yapılarak analiz sonuçları geliştirilen yöntemlerin sonuçları ile istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. Kruskal Wallis testi ile yapılan istatistiksel değerlendirmede her iki yöntemin bulguları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Böylece geliştirilen yöntemlerin doğruluğu ve nehir suyu analizine uygulanabilirliği gösterilmiştir.

3.12 Literatür Karşılaştırılması

Son olarak optimum şartlarda elde ettiğimiz analiz sonuçlarının literatürde klorprifos tayini için kullanılan diğer tekniklerle karşılaştırılmasının net olarak anlaşılması için Tablo 3.16 oluşturulmuştur.

Tablo 3.16. Proje kapsamında geliştirilen yöntemin diğer tekniklerle karşılaştırılması

Yöntem	Elektrot ^a	Doğrusallık Aralığı (mol L ⁻¹)	LOD (mol L ⁻¹)	Referans
DPV	HMDE (-1.2 V)	5.7×10 ⁻⁸ – 28.5×10 ⁻⁸	4.0×10 ⁻¹⁰	Pelit vd., 2011
CV	wall-jet PEDOT/GCE (-1.6 V)	9.9×10 ⁻¹⁰ – 7.4×10 ⁻⁷	2.6×10 ⁻¹⁰	Manisankar vd., 2005
Fotoelektrokimya	P3HT/TiO ₂	2.0×10 ⁻⁷ – 1.6×10 ⁻⁵	1.0×10 ⁻⁸	Li vd., 2011
DPA _{Ad} SV	CMCPE (-1.2 V)	2.8×10 ⁻¹⁰ – 5.7×10 ⁻⁶	2.2×10 ⁻¹⁰	Sirisha vd., 2007
DPV	TiO ₂ /CA/GCE (-1.5 V)	2.0×10 ⁻⁵ – 11.0.×10 ⁻⁵	3.5×10 ⁻⁶	Kumaravel ve Chandrasekaran, 2015
CV	MWCNTs-SnO ₂ -CHIT	1.4×10 ⁻¹⁰ – 2.9×10 ⁻⁶	1.4×10 ⁻¹⁰	Chen vd., 2015
MIP/kemilüminesans	-	1.0×10 ⁻⁶ – 2.0×10 ⁻⁹	9.0×10 ⁻¹⁰	Xie vd., 2011
MIP/ Fe ₃ O ₄ /SPR	-	1.0×10 ⁻⁹ – 1.0×10 ⁻⁵	7.6×10 ⁻¹⁰	Yao vd., 2013
MIP/EIS	Kalem	5.7×10 ⁻⁸ – 8.6×10 ⁻⁷	1.3×10 ⁻⁸	Uygun ve Dilgin, 2013
MIP/Floresans	-	3.0×10 ⁻⁷ – 6.0×10 ⁻⁵	1.7×10 ⁻⁸	Ren vd., 2015
BiOCl/TiO ₂	-	1.0×10 ⁻⁶ – 1.2×10 ⁻⁵	1.1×10 ⁻⁷	Luo vd., 2019
PEC	-	2.9×10 ⁻⁹ – 4.4×10 ⁻⁶	2.1×10 ⁻¹⁰	Cheng vd., 2019
DLLME	-	2.9×10 ⁻¹⁰ – 9.0×10 ⁻⁹	1.2×10 ⁻¹⁰	Rezayat vd., 2019
Fluorescent	-	2.9×10 ⁻⁹ – 2.9×10 ⁻⁶	1.1×10 ⁻⁹	Liu vd., 2019
ISFET	-	1.0×10 ⁻¹⁰ – 1.0×10 ⁻³	1.0×10 ⁻¹⁰	Pabbi vd., 2018
Fluorescent	-	2.9×10 ⁻⁸ – 2.9×10 ⁻⁶	9.0×10 ⁻⁹	Lin vd., 2018
MIP/SWV	AuNPs/H₃PW₁₂O₄₀/C₃N₄ NT/GCE (-1.3 V)	1.0×10⁻¹¹ – 5.0×10⁻⁹	3.2×10⁻¹²	Bu Proje

^aParantez içinde verilen değerler klorprifos için indirgenme potansiyelleridir

Tablo 1'den görüldüğü üzere yapılan ön denemeler sonucunda hassas bir gözlenebilme sınırının elde edildiği görülmektedir. Ayrıca önerilen yöntemde klorprifos için -1.3 V'da tayin yapılmaktadır. Literatürdeki bazı elektrokimyasal tekniklere baktığımızda -1.5 V ve -1.6 V indirgenme potansiyellerinde analizin yapıldığı görülmektedir. Bu potansiyel değerlerinden şunu söyleyebilmemiz mümkündür; Proje kapsamında geliştirilen SWV tekniğinde geliştirilen hibrit malzeme ile modifiye edilmiş elektrotlar kullanılarak yüzeyde

klorpirifos indirgenmesinin daha kolay olduğu ve böylece daha az potansiyel uygulanarak analizin başarılı bir şekilde gerçekleşeceği mümkün görülmektedir. Ayrıca belirttiğimiz üzere klorpirifos'un civa temelli elektrotlardaki indirgenme potansiyeli hidrojenin indirgenme potansiyeline yakın olduğundan dolayı analiz esnasında girişimlerin varlığı da fazla olmaktadır.

BÖLÜM 4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Önerilen projede, yüzeyi moleküler baskılı polimerik (MIP) film ile kaplı, karbon nitrit nanotüp/polioksometalat hibriti ile fonksiyonlaştırılmış altın nanopartikül temelli bir elektrokimyasal sensör geliştirilerek nehir sularından klorpirifos tayininde kullanılmıştır. Literatürde klorpirifos 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 (FTIR, TEM, SEM, XPS, EIS, CV, EDX) 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 (klorpirifos) derişimi için 20 mM bulunmuştur.

Geliştirilen yöntemin doğrusalılık, duyarlılık, doğruluk, kesinlik, sağlamlık, tutarlılık ve seçicilik gibi validasyon parametreleri değerlendirilmiş ve geçerlilikleri kanıtlanmıştır. Moleküler baskılama tekniği kullanılarak geliştirilen elektroanalitik sensörün nehir suyu numunelerinden klorpirifos'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 klorpirifos analizi için geliştirilen yöntemlere alternatif olarak sunulmaktadır.

Sonuç olarak geliştirdiğimiz yöntem klorpirifos 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.



PROJE ÇIKTILARI;

Proje Kapsamında Yapılan veya Hazırlanan Yayınlar ve Toplantılarda Sunulan Bildiriler

YAYIN :

Proje çıktıları kapsamında hazırlanan “Preparation of molecular imprinted electrochemical sensor based on carbon nitride nanotube/polyoxometalate hybrid functionalized nanoparticle for the determination of chlorpyrifos” başlıklı yayın SCI kapsamında olan bir dergiye gönderilmiş olup değerlendirme aşamasındadır, yayın kabul edildiğinde sistemde proje çıktılarına eklenecektir.

KAYNAKLAR

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

Anastas P.T., Warner, J.C. 1998 "Green Chemistry: Theory and Practice", in, Oxford University Press New York.

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

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

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

Chen D., Jiao Y., Jia H., Guo Y., Sun X., Wang X., Xu J. 2015. "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.

Cheng W., Zheng Z., Yang J., Chen M., Yao Q., Chen Y., Gao W. 2019. "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

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

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

Estévez E., Cabrera M.d.C., Molina-Díaz A., Robles-Molina J., Palacios-Díaz M.d. P. 2008. "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.

García de Llasera M.P., Cruz-Reyes L., Vera-Avila L.E. 2009. "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.

Gibbs J.L., Dills R.L., Yu J., Yost M., Fenske R.A. 2014. "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.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Li K., Yan L., Zeng Z., Luo S., Luo X., Liu X., Guo H., Guo Y. 2014. "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.

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

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

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

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

Manisankar P., Viswanathan S., Pusphalatha A.M., Rani C. 2005. "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.

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

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

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



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

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

Pelit F.O., Ertas H., Ertas F.N. 2011. "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.

Pelit F.O., Pelit L., Ertas H., Ertas F.N. 2012. "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.

Pinto M.I., Salgado R., Cottrell B.A., Cooper W.J., Burrows H.D., Vale C., Sontag G., Noronha J.P. 2015. "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.

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

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

Rezayat M.R., Jafari M.T., Rahmanian F. 2019."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

Rigueira L.M.B., Ribeiro K.d.L., de Queiroz M.E.L.R., Neves A.A., Zambolim L., Oliveira R.M. 2013. 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.

Sinha S.N., 2011. "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.

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

Uygun Z.O., Dilgin Y. 2013. 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.

Viswanathan S., Radecka H., Radecki J. 2009. "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.

Xie C., Li H., Li S., Gao S. 2011. "Surface molecular imprinting for chemiluminescence detection of the organophosphate pesticide chlorpyrifos", *Microchim Acta*, 174, 311-320.

Xiong J., Guan Z., Zhou G., Tang X., Lv Y., Wang H. 2012. "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.

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

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

Yola M.L., Atar N., Üstündağ Z., Solak A.O. 2013. "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.



Yola M.L., Eren T., Atar N., 2014c. "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.

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

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

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

EKLER

Ek 1. Korelasyon Katsayısı ve Doğrusallıktan Ayrılış Önem Kontrolü: Bulunan korelasyon katsayısının önemli bir katsayı mı yoksa tesadüfe bağlı bir katsayımı olduğu test edilmiştir.

Testin yapımında işlemler:

1) H_0 : Korelasyon katsayısı tesadüfe bağlı bir değerdir ($r = 0$).

2) Test istatistiğinin hesaplanması:

$$T = \frac{r}{S_r}$$
$$S_r = \left(\frac{1 - r^2}{n - 2} \right)^{\frac{1}{2}} \text{ (Korelasyon katsayısının standart hatası)}$$

3) Yanılma olasılığı olarak $\alpha = 0.05$ seçilmiştir.

4) Serbestlik derecesi = $n - 2$

5) $\alpha = 0.05$ düzeyinde ve 4. Madde de bulunan serbestlik derecesinde tablo t değerine bakılır.

6) Karşılaştırma: Hesapla bulunan t değeri Tablo t değerinden büyükse H_0 hipotezi reddedilir, küçükse kabul edilir.

7) Karar: Korelasyon katsayısı önemli bir değerdir, tesadüfen bulunmuş bir değer değildir ($t =$ Hesapla bulunan değer, $p < 0.05$) veya korelasyon katsayısı önemli bir değer değildir, tesadüfen bulunmuş bir değerdir ($t =$ Hesapla bulunan değer, $p > 0.05$).

Doğrusallıktan Ayrılış Önem Kontrolü:

1) Kareler toplamları bulunur:

a) Regresyon Kareler Toplamı (RKT):

$$RKT = \frac{\left[\sum xy - \frac{(\sum x \sum y)}{n} \right]^2}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}$$

b) Y Ortalamadan Ayrılış Kareler Toplamı (YOAKT):

$$YOAKT = \sum y^2 - \frac{(\sum y)^2}{n}$$

c) Regresyondan Ayrılış Kareler Toplamı \Rightarrow RAKT = YOAKT – RKT

2) Serbestlik dereceleri bulunur:

a) Regresyon Serbestlik Derecesi (RSD) = 1

b) Y Ortalamadan Ayrılış Serbestlik Derecesi \Rightarrow YOASD = $n-1$

c) Regresyondan Ayrılış Serbestlik Derecesi \Rightarrow RASD = YOASD – RSD

3) Kareler ortalamaları bulunur:

a) Regresyon Kareler Ortalaması \Rightarrow RKO = RKT / RASD

b) Regresyondan Ayrılış Kareler Ortalaması \Rightarrow RAKO = RAKT / RASD

4) H_0 = Derişim ile pik cevabı arasındaki ilişki doğrusal değildir.

5) Yanılma olasılığı $\alpha = 0.05$ seçilmiştir.

6) $F = RKO / RAKO$

7) $p = 0.05$ düzeyinde RSD ve RASD serbestlik derecelerindeki tablo F değerleri bulunur.

8) Karşılaştırma: Hesapla bulunan F değeri tablo F değerinden büyükse H_0 hipotezi reddedilir, küçükse kabul edilir.

9) Karar: Derişim ile pik cevabı arasındaki ilişki doğrusaldır ($F =$ Hesapla bulunan, $p < 0.05$) veya doğrusal değildir ($F =$ Hesapla bulunan, $p > 0.05$).

Keşişimin sıfırdan ayrılışının önem kontrolü:

$$1) S_{yx} = \frac{\sum y^2 - (\sum x)^2/n}{n-1} \left[\frac{(1-r)^2(n-1)}{n-2} \right]^{1/2}$$

$$2) S_{H(a)} = S_{yx}^2 \left[\left(\frac{1}{n} \right) + \frac{\bar{X}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} \right]$$

3) H_0 = Keşişim değeri (a) sıfıra eşittir.

4) Yanılma olasılığı $p = 0.05$ seçilmiştir.

5) $T_{\text{Hesap}} = a / SH(a)$

6) $\alpha = 0.05$ düzeyinde T_{Tablo} değerleri bulunur.

10) Karşılaştırma: Hesapla bulunan t değeri tablo t değerinden büyükse H_0 hipotezi reddedilir, küçükse kabul edilir.

11) Karar: Keşişim değeri sıfıra eşittir ($t_H =$ Hesapla bulunan, $p > 0.05$) veya Keşişim değeri sıfırdan farklıdır ($t_H =$ Hesapla bulunan, $p < 0.05$).

Ek 2. İstatistiksel Katsayıların Hesaplanması:

$$\text{Bağıl Standart Sapma (BSS)} = \frac{SS}{\bar{X}} \times 100$$

SS: Standart Sapma

\bar{X} : Aritmetik ortalama

$$\% \text{ Bağıl Hata (\%BH)} = \frac{|\text{Olması gereken miktar} - \text{Bulunan miktar}|}{\text{Olması gereken miktar}} \times 100$$

$$\text{Standart Hata (SH)} = \frac{SS}{\sqrt{n}}$$

SS: Standart sapma

n: Ölçüm sayısı

%Geri Kazanım Hesaplanması:

$$\% \text{ Geri Kazanım} = \frac{\text{Bulunan miktar}}{\text{Olmaması gereken miktar}} \times 100$$

Ek 3. Wilcoxon Eşleştirilmiş İki Örnek Testi:

Aynı örneklerin değişik iki durumdaki ölçüm sonuçları arasında fark olup olmadığının belirlenmesinde $n < 25$ ise uygulanan önemlilik testidir.

H_0 = İki yöntemle elde edilen sonuçlar arasında fark yoktur.

$\alpha = 0.05$ yanılma düzeyi seçilmiştir.

Test istatistiğinin hesaplanması: İki yöntemden elde edilen sonuçlar iki sütun şeklinde yanyana yazılır. Sağda yeni bir sütuna satırlar arasındaki farklar +/- işaretleriyle birlikte yazılır. Ardından farklar küçükten büyüğe doğru sıralanır ve sıra no. verilir. Sıra no.ların önüne farklardaki +/- işaretleri yazılır. + ve - işaretli sıra no. grupları arasında işareti sayıca fazla olan grup toplanır. Elde edilen değer, hesapla bulunan T değeridir (TH). Ölçüm sayısı (n) serbestlik derecesindeki tablo T değerine bakılır. Karar:

a) $T_{\text{Hesap}} > T_{\text{Tablo}}$ ise iki yöntemle elde edilen sonuçlar arasında fark yoktur ($p > 0.05$).

b) $T_{\text{Hesap}} < T_{\text{Tablo}}$ ise iki yöntemle elde edilen sonuçlar arasında fark vardır ($p < 0.05$).

Ek 4. Kruskal Wallis Varyans Analizi:

Parametrik test varsayımları yerine getirilmediğinde, bir değişken yönünden ikiden fazla bağımsız grup arasında fark olup olmadığının belirlenmesinde kullanılır.

Test işlemleri:

Bütün gruptaki değerler küçükten büyüğe doğru tek dizi halinde sıralanır ve her bir değere sıra numarası verilir. Aynı değerler için ortalama sıra numarası hesaplanır aynı olan değerlere verilir.

Test istatistiğinin (KW) hesaplanması:

$$KW = \frac{12}{n(n+1)} \left[\sum_{j=1}^k \frac{T_j^2}{n_j} \right] - k(n+1)$$

T_j : j. gruptaki değerlerin sıra numaraları toplamı (her bir grup için);

n_j : j. gruptaki denek sayısı (her bir grup için);

k: Grup sayısı

n: Toplam denek sayısı

H_0 : İki yöntemle elde edilen sonuçlar arasında fark yoktur.

$\alpha = 0.05$ yanılma düzeyi için (grup sayısı – 1) serbestlik derecesindeki tablo değerine (KW_T) bakılır.

Karar : $KW_T > KW$ ise H_0 hipotezi kabul edilir.



$KW_T < KW$ ise H_0 hipotezi kabul edilir.

TÜBİTAK
PROJE ÖZET BİLGİ FORMU

Proje Yürütücüsü:	Doç. Dr. MEHMET LÜTFİ YOLA
Proje No:	116Z153
Proje Başlığı:	Klorprifos Tayini İçin Karbon Nitrit Nanotüp/Polioksometalat Hibriti ile Fonksiyonlaştırılmış Nanopartikül Temelli Moleküler Baskılı Elektrokimyasal Sensörlerin Hazırlanması
Proje Türü:	1001 - Araştırma
Proje Süresi:	23
Araştırmacılar:	LEVENT GÜREL, NECİP ATAR
Danışmanlar:	
Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi:	İSKENDERUN TEKNİK Ü.
Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri:	01/03/2017 - 01/02/2019
Onaylanan Bütçe:	247486.0
Harcanan Bütçe:	148123.96
Öz:	<p>Önerilen projede, yüzeyi moleküler baskılı polimerik (MIP) film ile kaplı, karbon nitrit nanotüp/polioksometalat hibriti ile fonksiyonlaştırılmış altın nanopartikül temelli bir elektrokimyasal sensör geliştirilerek nehir sularından klorprifos tayininde kullanılması hedeflenmektedir. Klorprifos pestisitler grubundan kristal şeklinde organofosfat türü bir böcek ilacıdır.</p> <p>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.</p> <p>Bu sensörün geliştirilmesinde öncelikli olarak, grafitik karbon nitrit (g-C₃N₄) termal polimerizasyon yoluyla sentezlenmiştir. Daha sonra, poliokzometalat (H₃PW₁₂O₄₀, POM) ile fonksiyonlaştırılmış karbon nitrit nanotüp hibriti hidrotermal tekniği ile hazırlanmıştır. Poliokzometalat ile fonksiyonlaştırılmış karbon nitrit nanotüp sulu süspansiyonları hazırlandıktan sonra, daha önceden hazırlanmış kloroaurik asit (HAuCl₄) çözeltilerine belli oranda eklenerek UV ışığı altında yaklaşık 40 dakika karıştırma işlemi gerçekleştirilmiştir. Daha sonra hazırlanan karbon nitrit nanotüp/polioksometalat hibriti ile fonksiyonlaştırılmış altın nanopartikül temelli malzemeler (AuNPs/POM/C₃N₄ NT) temizlenmiş camsı karbon elektrot yüzeylerine damlatılarak modifiye elektrotlar hazırlanmıştır (AuNPs/POM/C₃N₄ NT/GCE). Klorprifos baskılanmış elektrotlar, klorprifos (hedef molekül) içeren pirol (monomer) çözeltileri varlığında dönüşümlü voltametri tekniği kullanılarak hazırlanmıştır. Aynı işlem hedef molekül kullanılmadan da gerçekleştirilerek, klorprifos baskılanmamış polimerler (NIP) karbon nitrit nanotüp/polioksometalat hibriti ile fonksiyonlaştırılmış altın nanopartikül 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, nehir sularından klorprifos'un hassas tayin edilmesinde uygulanmıştır.</p>
Anahtar Kelimeler:	Klorprifos, Nanokompozit, Moleküler baskılanmış polimerler, Elektrokimya, Validasyon
Fikri Ürün Bildirim Formu Sunuldu Mu?:	Hayır
Projeden Yapılan Yayınlar:	1- Phenylethanolamine A (PEA) Imprinted Polymer on CarbonNitride Nanotubes/Graphene Quantum Dots/Core-ShellNanoparticle Composite for Electrochemical PEA Detection inUrine Sample (Makale - Diğer Hakemli Makale), 2- Electrochemical sensing of ractopamine by carbon nitride nanotubes/ionic liquid nanohybrid in presence of other β-agonists (Makale - Diğer Hakemli Makale),