



MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



KLORPİRİFOS TAYİNİ İÇİN POLİMER ESASLI FLUORESANS SENSÖR GELİŞTİRİLMESİ

AYNUR ÇALIŞKAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kimya Anabilim Dalı

Analitik Kimya Programı

DANIŞMAN

Prof. Dr. Ece KÖK YETİMOĞLU

II. DANIŞMAN

Dr. Öğretim Üyesi Soner ÇUBUK

İSTANBUL, 2018



MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



KLORPİRİFOS TAYİNİ İÇİN POLİMER ESASLI FLUORESANS SENSÖR GELİŞTİRİLMESİ

AYNUR ÇALIŞKAN

520413011

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kimya Anabilim Dalı

Analitik Kimya Programı

DANIŞMAN

Prof. Dr. Ece KÖK YETİMOĞLU

II. DANIŞMAN

Dr. Öğretim Üyesi Soner ÇUBUK

İSTANBUL, 2018

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı'nda Analitik Kimya programında gerçekleştirilmiştir.

Çalışmalarımızı büyük bir titizlikle yöneten bilgi birikimi, deneyimleri ve hayat tecrübesinden yararlandığım, güler yüzü, yardımsever tavırları ve daima teşvik edici karakteriyle çalışmalarına ve hayatıma ışık tutan, kıymetli hocam sayın Prof. Dr. Ece KÖK YETİMOĞLU' na sonsuz teşekkür ederim.

Çalışmam boyunca hiçbir sorumu cevapsız bırakmayan, yardımlarını bir an olsun esirgemeyen, zevkle çalıştığım sevgili hocam ve eş danışmanım Dr. Öğretim Üyesi Soner ÇUBUK' a,

Yüksek lisans öğrenimim boyunca her anı beraber yaşadığımız sevgili arkadaşım Neşe TAŞCI'ya,

Hayatımın her anında maddi ve manevi desteğini esirgemeyen, evlatları olmaktan her zaman gurur duyduğum sevgili aileme,

Her zaman yanımda olan bana destek veren sevgili eşim Ömer Fikret ŞEN'e,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

TEMMUZ, 2018

Aynur ÇALIŞKAN

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
ÖZET.....	VII
ABSTRACT	VIII
SEMBOLLER	IX
KISALTMALAR	X
ŞEKİL LİSTESİ	XII
TABLO LİSTESİ	XIII
BÖLÜM 1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
1.1. PESTİSİTLER HAKKINDA GENEL BİLGİ	1
1.2. PESTİSİTLERİN TARİHÇESİ	2
1.3. PESTİSİT KULLANIMININ YARARLARI-ZARARLARI.....	3
1.4. PESTİSİT FORMÜLASYONLARI.....	5
1.5. PESTİSİTLERİN SINIFLANDIRILMASI	6
1. 5. 1. Formülasyon Şekillerine Göre Sınıflandırma	6
1. 5. 2. Kullanıldıkları Zararlı Grubuna Göre Sınıflandırma.....	7
1. 5. 3. Etki Şekillerine Göre Sınıflandırma.....	8
1. 5. 4. Kimyasal Yapılarına Göre Sınıflandırma.....	8

1. 5. 4. 1. Organoklorlu pestisitler	9
1. 5. 4. 2. Organofosforlu pestisitler.....	9
1. 5. 4. 3. Karbamatlı pestisitler	10
1. 5. 4. 4. Piretroit grubu pestisitler	10
1. 6. PESTİSİT TAYİN YÖNTEMLERİ	11
1. 7. KLORPİRİFOS HAKKINDA GENEL BİLGİ	12
1. 7. 1. Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri	12
1.7.2. Klorpirifosun Bozunması	14
1. 8. SENSÖRLER HAKKINDA GENEL BİLGİ	16
1. 8. 1. Kimyasal Sensörler	17
1. 8. 1. 1. Biyolojik sensörler	17
1. 8. 1. 2. Elektrokimyasal sensörler	17
1. 8. 1. 3. Optik sensörler	18
1. 8. 1. 4. Gaz sensörleri	18
1 8. 2. Fiziksel Sensörler	18
1. 8. 2. 1. Basınç sensörleri	18
1. 8. 2. 2. Termal sensörler	18
1. 8. 2. 3. Manyetik sensörler	18
1. 9. LİTERATÜRLER IŞIĞINDA YÖNTEMİMİZİN YERİ.....	19

BÖLÜM 2. MATERİYAL VE YÖNTEM.....	23
2. 1. MATERİYAL.....	23
2. 1. 1. Kullanılan Kimyasallar	23
2. 1. 2. Kullanılan Cihazlar	25
2. 2. YÖNTEM	26
2. 2 .1. Çözeltilerin Hazırlanması	26
2. 2. 1. 1. Tampon çözeltilerin hazırlığı	26
2.2.1.2. Klorpirifos stok, çalışma ve standart çözeltilerinin Hazırlanması.....	26
2.2.1.3. Yabancı tür etkisinin araştırılması için hazırlanan çözeltiler	27
2. 2. 2. Polimer Esaslı Sensör Membranın Hazırlanması	27
2. 2. 2. 1. Akrilolil β-siklodekstrin monomerinin hazırlaması	27
2. 2. 3. Polimerik Floresans Sensörün Hazırlanması	28
2. 2. 4. Polimerik Sensör Membranın Karakterizasyonu	28
2. 2. 4. 1. FTIR analizi	28
2. 2. 4. 2. Yüzey morfolojisi	28
2. 2. 5. Polimer Esaslı Sensörün Klorpirifos Tayininde Kullanıma Uygunluğunun Araştırılması	28
2. 2. 5. 1. Spektral karakterizasyon çalışmaları.....	28
2. 2. 5. 2. pH etkisinin araştırılması	29
2. 2. 5. 3. Sensörün cevap verme süresi	29

2. 2. 5. 4. Sensörün rejenerasyonu ve yeniden kullanılabilirliği	29
2. 2. 5. 5. Kalibrasyon aralığı, tespit ve tayin sınırı	29
2. 2. 5. 6. Sensörün ömrü, kararlılığı, tekrarlanabilirliği.....	29
2. 2. 5. 7. Yabancı tür etkisinin incelenmesi	30
2. 2. 5. 8. Sensörün analitik uygulamaları	30
BÖLÜM 3. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	32
3. 1. POLİMERİK SENSÖR MEMBRANIN	
KARAKTERİZASYONU	32
3. 1. 1. FTIR Analiz Sonuçları	32
3. 1. 2. SEM Görüntüleri Sonuçları	33
3. 2. POLİMER ESASLI SENSÖRÜN KLORPİRİFOS	
TAYİNİNDE KULLANIMINA UYGUNLUĞUNUN	
ARAŞTIRILMASI	33
3. 2. 1. Spektral Karakterizasyon Çalışmaları	33
3. 2. 2. Hazırlanan Sensör İçin En Uygun pH Değerinin Tespiti..	34
3. 2. 3. Sensörün Cevap Verme Süresinin Tespit Edilmesi.....	35
3. 2. 4. Sensörün Rejenerasyonu ve Yeniden	
Kullanılabilirliğinin Tespiti	36
3. 2. 5. Kalibrasyon Aralığı , Tespit – Tayin Sınırları	37
3. 2. 6. Sensörün Ömrü , Kararlılığı, Tekrarlanabilirliği	39
3. 2. 7. Yabancı tür etkisinin incelenmesi	39
3. 2. 8. Sensörün Analitik Uygulamaları	40

BÖLÜM 4. SONUÇLAR.....	42
KAYNAKLAR	49
ÖZGEÇMİŞ.....	58

ÖZET

KLORPİRİFOS TAYİNİ İÇİN POLİMER ESASLI FLUORESANS SENSÖR GELİŞTİRİLMESİ

Çalışmamızda klorpirifos tayini için spektrofotometrik bir yöntem geliştirilmiştir. Tayin için polimer esaslı bir membran hazırlanmış ve karakterizasyonu yapıldıktan sonra pH, kalibrasyon aralığı, duyarlılık, seçicilik, hassasiyet, cevap verme süresi, tekrarlanabilirlik gibi parametreler sistematik olarak incelenmiştir.

Bir organofosforlu pestisit olan klorpirifos, sırasıyla 376 nm ve 422 nm'deki maksimum uyarma ve emisyon dalga boylarını kullanarak, hazırladığımız sensör ile tayin edilebilmektedir. Ölçümler 20 saniye içinde tamamlanabilmekte olup yöntem aynı zamanda $4,44 \times 10^{-10}$ mol L⁻¹ (0,156 µg L⁻¹) kadar çok düşük bir tespit sınırına sahiptir.

Sensörün gerçek örnek uygulaması için polen ve musluk suyu numuneleri kullanılmıştır. Geri kazanım yüzdeleri sırasıyla % 102,6 - %104,2 ve % 103,2 – %104,1 olarak bulunmuştur.

TEMMUZ, 2018

Aynur ÇALIŞKAN

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF POLYMER BASED FLUORESCENCE SENSOR FOR ANALYSIS OF CHLORPYRPHOS

In our study, a spectrofluorimetric method for the determination of chlorpyriphos was developed. A polymer based membrane was prepared for determination and parameters such as pH, calibration range, sensitivity, selectivity, sensitivity, response time, reproducibility were systematically investigated after characterization.

Chlorpyrifos, an organophosphorous pesticide, can be determined by the sensor we have prepared using the maximum excitation and emission wave lengths at 376 nm and 422 nm, respectively. The measurements can be completed in 20 seconds and the method also has a very low detection limit of $4.44 \times 10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$ ($0.156 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$).

Pollen and tap water samples are used for real sample applications of the sensor. The recovery was found to be between 102.6% - 104.2% and 103.2 %– 104.1% , respectively.

JULY, 2018

Aynur ÇALIŞKAN

SEMBOLLER

A : Absorbans

I : Işık Şiddeti

pH : Çözeltideki hidroksonyum iyonu aktivitesinin eksi logaritması

λ : Lamda

KISALTMALAR

AC	: Akrioil klorür
AChE	: Asetilkolinesteraz
β-CD	: β -siklodekstrin
CV	: Dönüşümlü Voltametri (Cyclic Voltammetry)
DLLME	: Dispersif Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon (Dispersive Liquid-Liquid Microextraction)
DMPA	: 2,2-Dimetoksi-2-Fenilasetofenonon
DMF	: Dimetil formamid
DPV	: Diferansiyel Puls Voltametri
ECD	: Elektron Yakalama Detektörü
em.	: Emisyon
EPA	: Çevre Koruma Örgütü (Environmental Protection Agency)
FAO	: Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organization)
FI	: Floresans Şiddeti
FIA	: Akış Enjeksiyon Analizi (Flow Injection Analysis)
FTD	: Alev Termiyonik Detektör
FTIR	: Infrared (Kızılötesi) Işınım Spektroskopisi
GC	: Gaz Kromatografisi (Gas Chromatography)
GC-ECD	: Gaz Kromatografisi - Elektron Yakalama Dedektörü (Gas Chromatography - Electron Capture Detector)
GC-FID	: Gaz Kromatografisi - Alev İyonizasyon Dedektörü (Gas Chromatography - Flame Ionization Dedector)
GC-NPD	: Gaz Kromatografisi - Azot Fosfor Dedektörü (Gas Chromatography - Nitrogen Phosphorous Detector)
h/h	: Hacim/ hacim
HDDA	: Hekzendioldiakrilat
HEMA	: 2-Hidroksietil Metakrilat
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi (High Performance Liquid Chromatography)
HS	: Tepe Boşluğu (Headspace)

IL-DLLME	: İyonik Sıvı temelli Dispersif Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon
IR	: Infrared (Kızılötesi) Işınım
LC	: Sıvı Kromatografi (Liquid Chromatography)
LC-ESI-MS-MS	: Sıvı Kromatografi-Elektrosprey İyonizasyon Tandem Kütle Spektrometresi
LOD	: Tespit Sınırı (Limit of Detection)
LPME	: Sıvı Faz Mikroekstraksiyon (Liquid Phase Microextraction)
m/z	: kütle/ yük
MS	: Kütle Spektrometresi (Mass Spectrometry)
nm	: nanometre
PIF	: Fotokimyasal İndüklenmiş Fluoresans (Photochemically Induced Fluorescence)
PMT	: Fotoçoğaltıcı Tüp
ppb	: Milyarda Bir Kısım
ppm	: Milyonda Bir Kısım
rpm	: Dakikadaki devir sayısı (revolutions per minute)
PVC	: Polivinildiklorür
RPLC	: Ters Faz Sıvı Kromatografisi (Reverse Phase Liquid Chromatography)
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
TEA	: Trietilamin
TLC	: İnce Tabaka Kromatografisi (Thin Layer Chromatography)
UV	: Ultraviyole
uy.	: Uyarma
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization)
λ_{em}	: Emisyon Dalga Boyu
λ_{max}	: Maksimum Dalga Boyu
λ_{uy}	: Uyarma Dalga Boyu

ŞEKİL LİSTESİ

	SAYFA
Şekil 1. 1. Klorpirifosun kimyasal yapısı.	12
Şekil 1.2. Klorpirifos muhtemel bozunma ürünleri.	15
Şekil 3. 1. Polimerik membranın ATR- FTIR spektrumu.	32
Şekil 3. 2. Klorpirifos tayini için hazırlanan sensör membranın 5000 kat büyütülmüş SEM görüntüsü.	33
Şekil 3. 3. $5,70 \times 10^{-9}$ mol L ⁻¹ klorpirifos varlığında (a) ve yokluğunda (b) sensörün uyarma ve emisyon şiddetlerini gösteren spektrumları ; ($\lambda_{uy} = 376$ nm, $\lambda_{em} = 422$ nm, slit aralıkları: 5 nm, fotoçoğaltıcı tüp voltajı: 600V).	34
Şekil 3. 4. Floresans şiddeti üzerine pH etkisi.	35
Şekil 3. 5. Sensörün floresans şiddetindeki zamana bağlı değişim grafiği (pH:2, $5,70 \times 10^{-9}$ mol L ⁻¹ klorpirifos varlığında)	36
Şekil 3. 6. Sensörün floresans şiddetinin $5,70 \times 10^{-9}$ mol L ⁻¹ klorpirifosa maruz bırakıldıktan sonra saf su ile rejenerasyonu sonrası değişimi.	37
Şekil 3. 7. Ana grafik: 376 nm uyarma dalga boyu kullanılarak elde edilen klorpirifos standart çözeltilerine ait floresans spektrumları (10 ve 1, sırasıyla ortamda klorpirifos bulunmadığı ve bulunduğu durumlardaki floresans şiddetleri); analizi için hazırlanan sensörün iç kısımda yer alan grafik: Standart çözeltiler kullanılarak hazırlanmış kalibrasyon grafiği ($\lambda_{uy}/\lambda_{em}$: 376 nm/ 422 nm; pH:2; t :20 s).	38

TABLO LİSTESİ

	SAYFA
Tablo 1.1. En çok kullanılan pestisitler.	2
Tablo 3.1. Geliştirilen yöntemde ölçümler için belirlenen optimum şartlarda girişim yapabilecek muhtemel türlerin müsaade edilen konsantrasyon sınırları ($C_{\text{klorpirifos}}: 5,70 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$).	40
Tablo 3.2. Geliştirilen yöntem ve UPLC/MS/MS cihazı ile yapılan gerçek numune analiz sonuçları (n=6).	41
Tablo 3.3. Geri kazanım çalışması sonuçları (n=6).	41
Tablo 3.4. Musluk suyu ile yapılan geri kazanım çalışması sonuçları (n=6).	41
Tablo 4.1. Geliştirdiğimiz yöntem ile seçilmiş bazı klorpirifos tayin yöntemlerinin karşılaştırılması.	47

BÖLÜM 1

GİRİŞ VE AMAÇ

1. 1. PESTİSİTLER HAKKINDA GENEL BİLGİ

Pestisitler özellikle tarımda istenmeyen zararlı organizmaları yok etmek ve /veya bu zararlı organizmaları kontrol altına almak amacıyla kullanılan kimyasal madde ve madde kombinasyonlarıdır. Pestisitler havada, suda, toprakta, yağmurda, karda, buzda, siste bulunabilmektedir. Bu yüzden dünyadaki bütün canlılar pestisitlerden etkilenir [1].

Pestisit kullanımında hedeflenen, ilgili pestisitinin istenmeyen zararlı canlı organizmaları yok etmesi ve hedef dışında olan canlılara ise zarar vermeden etki etmesidir. Bu nedenle pestisitinin seçici özellikte olması oldukça önem kazanmaktadır.

Pestisitler hem insanlara hem diğer canlılara zarar vermesi yanı sıra çevreye de zarar verebilmektedir. Pestisitler hava, toprak, su, yağmur gibi neredeyse çevresel tüm öğelerde bulunabilmektedir. Dolayısıyla tüm canlılar pestisitlere bir şekilde maruz kalabilmektedir [2].

Zehirlilikleri ve çevrede yaygın olarak bulunabilmelerinden dolayı pestisit analizlerinin duyarlı ve doğru yöntemlerle yapılması oldukça önemlidir. Pestisit kalıntı analizleri için çok sayıda yöntem kullanılmaktadır. Analiz yöntemleri içerisinde bugün kromatografik yöntemler seçicilik ve duyarlılık açısından tercih edilmektedir. Ancak kromatografik yöntemlerin uygulanamadığı pestisitler bulunmaktadır.

Pestisitler, toksisitelerinin yüksek olması nedeniyle kontrol altında tutulması gereken çok önemli bir kimyasal bileşik grubunu oluşturmaktadır. Özellikle tarımsal uygulamalarda, tarla ve hasat sonrası korumada da yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Pestisitlerin insan, hayvan ve doğaya olan zararlı etkisine rağmen hastalıklara sebep olan organizmaları, böcek, haşare gibi zararlı canlıları öldürmesi nedeniyle kullanılması bir zorunluluk haline gelmektedir [3-5].

Dünyada ve Türkiyede en çok kullanılan pestisitler ve bunların kullanım yüzdeleri Tablo 1.1’de verilmektedir.

Tablo 1.1. En çok kullanılan pestisitler.

Pestisit Grubu	Dünyada Kullanım	Türkiyede Kullanım
Herbisitler	% 47	%24
İnsektisitler	% 29	% 47
Fungusitler	%19	%16
Diğer	% 5	%13

Tablodan da görüleceği üzere en çok kullanılan pestisit grupları dünyada % 47 ile herbisitler, Türkiyede % 47 ile insektisitlerdir [6].

1.2. PESTİSİTLERİN TARİHÇESİ

Pestisit kullanımı başlangıcı Roma ve Eski Yunan’a dayanmaktadır. M.Ö. 1500 yıllarında papirüs üzerinde haşerelere karşı pestisitler hazırlanmıştır. M.Ö. 1000’li yıllarda Homer kükürt fumigasyonundan bahsetmektedir. Democraticus bitkilerin yapraklarını zeytin eksrakı ile yağlayarak küfü engellemeye çalışmıştır. (İsa’dan Önce 470). Daha sonraki yıllarda Cato üzüm bağlarında kükürt dumanını kullanmıştır. Çinliler ise ağaçları böceklerin zararlarından korumak için karıncaları kullanmışlar ve 900’ü yıllarda bahçe böcekleri için arsenik kullanmışlardır [7-9].

Arsenik ve kükürt pestisit olarak kullanılan ilk maddelerdir. Daha sonraki süreçlerde bitkisel köken maddelerden olan nikotin kullanılmıştır.

Krizantemden elde edilen piretrum,19. yüzyıl itibari ile kullanıma geçmiştir. ABD’de 1860’lı yıllara kadar colorado patates böceğine karşı bakır arsenik bileşikleri kullanılmıştır. Daha sonraki süreçlerde civa ve kurşun metal bileşikleri de kullanılmaya başlamıştır. II. Dünya savaşına kadar kimyasal kontrolde daha çok bakır ve civa tuzları, böceklerle karşı arsenik, siyanür gibi zehirler ve kükürt fungusit olarak kullanılmıştır [10].

Böceklerle karşı savaşta pestisit kullanımının yaygınlaşmaya başlaması 1940'ların ortalarında. 1939'da Paul Mueller (İsviçreli kimyager), DDT (diklorodifenil trikloroetan)'ın pestisit etkisi gösteren özelliklerini belirlemiştir ve 1942'de piyasaya sunulan DDT yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. İtalya'daki askeri birliklerde tifüs salgını için DDT kullanılarak hastalık kısa zamanda yok edilmiştir. 1940 yılında İngiltere ve Fransa'da benzen heksaklorür insektisit olarak kullanılmıştır. II. Dünya Savaşı sırasında alman bilim adamları yeni bir sinir gazı üzerinde çalışmaktadır ve organofosforlu insektisit grubunda yer alan parathionu bularak kullanmaya başlamışlardır. Fenoksi herbisitler (2,4-D, ve 2,4,5-T)'in kullanıma başlanması 1940'ların başlangıcındadır [10,11].

İlk pestisit yasası 1947'de ABD'de çıkarılmıştır. ABD Çevre Koruma Örgütü / EPA (Environmental Protection Agency) 1970 yılında kurulmuştur [9,12].

1. 3. PESTİSİT KULLANIMININ YARARLARI-ZARARLARI

Dünya nüfusunun hızla artış göstermesinin sebep olduğu başlıca problemler arasında beslenme problemi yer almaktadır. Nüfusun hızla artmasına rağmen tarım alanlarının yeterli olmaması bu problemi doğurmaktadır. Bu nedenle işletilen tarım topraklarından en yüksek verimin alınması oldukça önemlidir.

FAO verileri esas alındığında günümüzde mevcut dünya nüfusunun %40'ı yaşamını sürdürebilmek için yeterli düzeyde besin alamamakta, açlık ve yoksulluk sebebiyle her geçen yıl binlerce insan hayatını kaybetmektedir[9].

Tarım ilaçların kullanılmaması durumunda yetiştirilen ürünlerin yaklaşık % 65'inin kayıp olabileceği tahmin edilmektedir. Hem ürün hem de maddi kayıpları indirmek için zirai mücadelede tarım ilaçlarının kullanılması gerekmektedir [9]. FAO verilerine göre, tüm dünyada özellikle gelişmekte olan ülkelerde yetiştirilen tarım ürünlerinin yaklaşık %20-40 ının böceklerle bağlı olarak kaybedilmektedir. Bu kayıplar tahıl ve taneli ürünler için yaklaşık %10; kökler, bitkiler ve sebzeler için ise yaklaşık %20 olarak belirlenmektedir. Yaşanan verim kaybı yetiştirilen ürünlerin hasatı, kurutulması, depolanması, öğütülmesi ve pişirilmesi dahil hemen her aşamada gerçekleşmektedir [11].

Pestisitlerin kullanımı bir yandan tarımsal verimi artırırken diğer taraftan uygun olmayan hatalı kullanımlar insan ve çevre sağlığına oldukça zarar vermektedir.

Pestisitlerin kullanımında belirlenen dozların üstüne çıkıldığında, gerekenden fazla sayıda uygulama yapıldığında, bir veya birden çok pestisit karıştırılmak suretiyle uygulandığında veya uygulanan son ilaç ile hasat dönemi arasındaki süreye uyulmadığında gıda maddeleri fazla miktarda pestisit kalıntısı içerebilmektedir. İçeriğinde yüksek miktarlarda pestisit kalıntısı ihtiva eden gıdalar ile beslenme ihtiyacını karşılayan insanlar ve doğada yaşayan diğer canlılar akut veya kronik zehirlenmelerle karşılaşabilmektedir. Ayrıca yüksek dozda pestisit kullanımı bazı ürünlerin aroma ve kalitesinde değişimlere sebep olabilmektedir [9].

Pestisitlerin bilinçsiz kullanımının sebep olduğu bir diğer sorun ise zararlı organizmaların gösterdiği duyarlılığın azalması ve buna bağlı olarak direnç oluşması problemidir. Pestisitlere karşı zararlı organizmaların gösterdiği duyarlılık azaldıkça, ilgili pestisitlerin etkisi de azalmaktadır. Kullanıcılar uyguladıkları pestisitlerin dozunu arttırarak aynı etkiyi elde etmeye çalışmaktadırlar. Bu durumda direnç sorununun ortaya çıkmasıyla, daha fazla miktarda pestisit kullanılmakta, bir taraftan ekonomik maliyet artmakta, diğer taraftan pestisitlerin etkisizliği nedeniyle zararlı organizmaların yol açtığı ürün kaybı ve kalite sorunları oluşmakta ve daha da önemlisi ise insan sağlığı ve çevre üzerindeki problem giderek büyümektedir.

Pestisitler hakkında ilk önemli uyarı Rachel Carson'un 1962 yılında yayımlanan "Silent Spring_Sessiz İlkbahar" kitabında yer almaktadır. Bu kitapta DDT (dikloro difenil trikloroetan) ve klor içeren hidrokarbonların çevrede dayanıklılığı, insanlar ve hayvanların yağ dokusunda birikme özelliği, hedeflenmeyen canlılar üzerinde toksik etki göstermesi, çevre ve insan sağlığı üzerinde ilgili yıkıcı etkilerinden bahsedilmiştir. Ayrıca özellikle DDT, dieldrin ve aldrinin olumsuz etkilerine değinilmiştir [13].

Dünya Sağlık Örgütü(WHO)'nün yürüttüğü ve DDT kullanılarak sıtma hastalığını yok etme programı, 1965'ten bugüne kadar 15 milyon hayat kurtarmıştır. Fakat bu programda, DDT'nin uygulandığı bölgelerde zamanla DDT'nin etkisini kaybettiği, buna karşılık hızlı bir şekilde direnç oluştuğu görüşleri ortaya çıkmıştır. Ayrıca DDT'nin sivrisinekleri yiyen bir çok hayvanın ölüm sebebi olduğu belirtilmiştir. DDT'nin uygulandığı sivrisineklerle beslenen kertenkelelerin zehirlenmesine neden olmuş, bu kertenkeleleri yiyen kediler de zehirlenmiştir. Kedi sayısının azalmasıyla birlikte sıçan sayısında da artış meydana gelmiştir. Bu nedenle ve bu kez rodentisit grubu pestisitlerin kullanımı gerekli hale gelmiştir. Zehirlenen farelerin baykuşlar tarafından

yenilmesiyle problemin ciddiyeti giderek artmıştır. 1960'lı yıllara ait çalışmalarda ise DDT'nin farelerde karsinogenik etkisi olduğu tespit edilmiştir. 1958'de hemotoloji uzmanı Dr. Malcolm, DDT kullanımının lösemi, hodkings, anemi, kan hastalıkları, karaciğer ve dalakta bazı enzimleri ve vitaminleri tahrip etmesi sebebiyle karaciğer iltihabı siroz ve kansere yol açtığını öne sürmüştür. 1971'de DDT kullanımı ABD de yasaklanmıştır. Günümüzde ise DDT kullanımı tamamen yasaklanmıştır. Tüm bunlar doğrultusunda pestisitlerin hem yararları hem zararları olduğu söylenebilir. Pestisitlerin zararlarını minimuma indirebilmek için izin verilen belirli limitler içerisinde ve doğru şekilde kullanım oldukça önem kazanmaktadır [9].

Son dönemde yapılan çalışmalar pestisitlerin insan sağlığı üzerinde karsinogenik etki gösterdiği ve nörotoksisiteyle direkt ilişkili olduğunu göstermektedir [14-16].

1. 4. PESTİSİT FORMÜLASYONLARI

Pestisitler bir ya da birkaç yardımcı madde ile karıştırılarak belirli preparat formuna getirilir. Hazırlanan bu preparatlar ilaç olarak uygulanmak suretiyle direk kullanılabilirdiği gibi daha çok seyreltilerek kullanılır. Bir pestisiti oluşturan ana kısımlar şu şekildedir; etken madde (aktif madde) , dolgu maddesi ve diğer maddeler.

- **Etken madde ya da aktif madde:** Pestisit içinde bulunan ve hedef etkiyi gösteren ana bileşendir. Pestisit formülasyonuna bağlı olarak içinde bulunduğu oran değişebilmektedir.
- **Dolgu maddesi:** İlaç içerisinde bulunan etken ya da aktif kısmı taşıyan ve herhangi bir kimyasalla reaksiyona göstermeyen bileşendir.
- **Diğer maddeler:** İlaç içerisinde bulunan pestisit etkinliği ve dayanıklılık seviyesini arttıran, canlılar ve çevre üzerinde oluşan olumsuz etkisini indirgeyen ve ilaca uygulama kolaylığı sağlayan katkı maddeleridir [17].

Bir pestisit formülasyonu WHO standartlarına uygun şekilde imal edilmelidir. Bu doğrultuda WHO'daki metotlara göre kimyasal ve fiziksel analizleri yapılır.

Pestisitler emülsiyon konsantre, ıslanabilir toz, su-yağ emülsiyonu, suda çözünabilir toz gibi çeşitli fiziksel formülasyonlarda hazırlanabilirler. Bir pestisitte aranan ideal özellikler şu şekildedir:

- ✓ Hedeflenen canlı için spesifik olarak toksisite göstermelidir.
- ✓ İnsanlar için zararlı olmamalıdır.
- ✓ Ekonomik olmalıdır.
- ✓ Uygulama kolaylığına sahip olmalıdır.
- ✓ Toksik etki göstermeyen diğer maddelere dönüşümü kolay olmalıdır.
- ✓ Yanıcı etkiye sahip olmamalıdır.
- ✓ Korozif etksi olmamalıdır.
- ✓ Boyayıcı etkisi olmamalıdır.
- ✓ Patlayıcı olmamalıdır [18].

1.5. PESTİSİTLERİN SINIFLANDIRILMASI

Pestisitler genel olarak aşağıda belirtildiği şekilde sınıflandırılabilir[5].

- Formülasyon şekillerine
- Fiziki hallerine
- Kullanım tekniğine
- Etki şekillerine
- Etki ettikleri canlıların gelişim evrelerine
- Kontrol ettiği zararlıların bulunduğu yer ve konukçunun durumuna
- Kalıcılıklarına
- Kullanım alanlarına
- Toksik özelliklerine
- Kullanıldıkları zararlılara göre

Pestisitlerin sınıflandırılmasında, formülasyonlarına göre sınıflandırma ve etki gösterdikleri zararlı grubuna göre sınıflandırma diğer sınıflandırma şekillerinden daha yaygındır.

1. 5. 1. Formülasyon Şekillerine Göre Sınıflandırma

Formülasyon şekillerine göre pestisitlerin sınıflandırılması aşağıdaki gibi olmaktadır.

- Toz ilaçlar

- Islanabilir toz ilaçlar
- Emülsiyon konsantre ilaçlar
- Solüsyon konsantre ilaçlar
- Suda çözünebilen toz ilaçlar
- Yazlık ve kışlık yağlar
- Granüller
- Peletler
- Tabletler
- Toz tohum ilaçları
- Sıvı tohum ilaçları
- Acrosoller
- Zehirli yemler
- Kapsül şeklindeki formülasyonlar
- Süspansiyon konsantre ilaçlar
- Kuru akışkan ilaçlar [19]

1.5.2. Kullanıldıkları Zararlı Grubuna Göre Sınıflandırma

Pestisitlerin kullanıldıkları zararlı grubuna göre sınıflandırılması aşağıdaki gibi olmaktadır.

- Böcek öldürenler (İnsektisit)
- Fungus (mantar) öldürenler (Fungusit)
- Fungusların faaliyetini durduranlar (Fungustatik)
- Yabancı ot öldürenler (Herbisit)
- Örümcek öldürenler (Akarisit)
- Bakteri öldürenler (Bakterisit)

- Yaprak bitini öldürenler (Afisit)
- Kemirgen öldürenler (Rodentisit)
- Nematod öldürenler (Nematosit)
- Yumuşakça öldürenler (Mollusisit)
- Alg öldürenler (Algisit)
- Kuş öldürenler veya kaçırıcılar (Auensit)
- Kaçırıcılar (Repellent)
- Çekiciler (Atrakant) [18]

Bu pestisit grupları da kimyasal yapılarına göre kendi içinde farklı gruplara ayrılmaktadır.

1.5.3. Etki Şekillerine Göre Sınıflandırma

Pestisitlerin etki şekillerine göre sınıflandırılması aşağıdaki gibi olmaktadır.

- Bitkilerde
 - o Sistemikler
 - o Yarı sistemikler
 - o Sistemik olmayanlar

- Zararlılarda

- o Mide zehiri; zararlıların vücuduna ağız yolu ile verilerek sindirim sistemine ulaşması akabinde zehirlenmeye sebebiyet verir.

- o Temas zehiri; zararlının ilaçlı olan yüzeylere temas etmeleri ile kutikularından (bitkilerin koruyucu ve su geçirmeyen mumsu yapıdaki tabaka) nüfuz etmek suretiyle vücuda girerek zehirlenmeye neden olur.

- o Solunum zehiri; gaz formuna geçerek solunum organları yolu ile vücuda girerek zehirlenmeye sebebiyet verir [17].

1. 5. 4. Kimyasal Yapılarına Göre Sınıflandırma

Pestisitlerin kimyasal yapıları esas alınarak yapılan sınıflandırılma çok çeşitlidir. Ancak yaygın olarak bilinen dört temel grup bulunmamaktadır.

1. 5. 4. 1. Organoklorlu pestisitler

Organoklorlu pestisit grupları; yapılarında, karbon, hidrojen ve klor atomları içerirler.

DDT, aldrin, dieldrin, heptaklor, endosülfan, lindan, endrin bu grupta yer alan pestisitlere örnek olarak verilebilir. Çevre ve insanlar üzerindeki zararlı etkileri nedeniyle bu grupta bulunan pestisitlerin kullanımı yasaklanmaktadır. Temas ve solunum yolu ile etki etmektedirler.

1. 5. 4. 2. Organofosforlu pestisitler

Organofosforlu insektisitler, genel olarak triester olup fosforik asit türevleridir. Bu grupta klorpirifos ile birlikte diazinon, azinfos- metil, metidatyon, fosmet, primifos- metil ve klorpirifos-metil de bulunmaktadır. Organofosforlu insektisitlerin gösterdiği etki, seçici özelliği ve ne kadar süre kalıcı oldukları çoğunlukla fosfor atomuna bağlanmış olan kimyasal grubun özelliğine göre değişir. Bu grup hidroliz ve oksidasyon gibi kimyasal reaksiyonlar tarafından önemli derecede etkilenir.

Etken maddelerinin yapısında fosfor atomu içerirler. Klorpirifos, kumafos, diazinon, diklorvos, malation, triklorfon, paration, mevinfos bu grupta yer alan pestisitlere örnektir. Organofosforlu pestisit gruplarında yüzden fazla etken madde bulunmaktadır. Triester yapıları sebebiyle ester gruplarının özelliğine bağlı olarak bu grupta bulunan pestisitler kimyasal yapıları bakımından farklılıklara sahiptir. Kimyasal yapıya göre genel olarak gaz kromatografisi yöntemleri veya sıvı kromatografisi yöntemleri ile analiz edilmektedirler. Temas etme, sindirim ve solunum yoluyla etki etmektedirler. Bu grupta yer alan insektisitler, ergin larva dönemi ve yumurta dönemini kontrol etmektedirler. Asetilkolinesteraz inhibitörleridir [17-20].

Dünyada kullanılan pestisitlerin % 45'ini bu grupta yer alan pestisitler oluşturur. Sentez proseslerinin kolay olması organik fosforlu bileşiklerin çok çeşitli olmasını sağlamaktadır. İçerisinde ihtiva ettiği etken maddeler buharlaşma, çözünürlük, kalıcılık, sıcakkanlılara zehirli etkide bulunma gibi özellikleri diğer gruplardan farklılık gösterir. Neredeyse tüm zararlılara uygun özellikte olan organofosforlu bir etken madde bulunabilmektedir. Organofosforlu pestisitler temas, sindirim ve solunum yolu ile etki etmektedir. Etkileri şu şekildedir; Parasempatik sistemin çok fazla çalışması, kalbin

uyarılması ile kan basıncının yükselmesi, çizgili kasların kasılması, kaslarda hissizleşme ve felç durumları görülebilir.

Organofosforlu insektisitler, çevresel koşullardan etkilenmeleri ve etken maddelerinin hızlı bozunmaları nedeniyle uzun süre etkinliklerini koruyamamaktadırlar [17,19,20].

1. 5. 4. 3. Karbamatlı pestisitler

Karbamatlı pestisitler, karbamik asit ester yapılarındadırlar. Aldikarb, karbaril, karbofuran, metiokarb, metomil, oksamil, pirimikarb bu grupta bulunan pestisitlere örnektir. Kimyasal isimleri N,N-dimetil karbamat'tır.

Asetilkolinesteraz denilen enzime kimyasal olarak bağlanırlar. Bu enzimi organofosforlu insektisitlerden farklı şekilde engellemektedirler.

Karbamat grubu bileşikler temas yolu ya da sistematik olarak etki edebilmektedirler. İnsan üzerindeki zehirlenme etkileri organofosforularla benzer şekilde olmakla birlikte, enzim düzeylerinin normale dönmesi daha kısa sürededir.

Yapısal özellikleri nedeniyle gaz kromatografisi yöntemi ile analiz edilebilmeleri zordur. Genellikle analiz yöntemi olarak sıvı kromatografisi yöntemi kullanılmaktadır. Asetilkolinesteraz inhibitörleridir.

1. 5. 4. 4. Piretroit grubu pestisitler

Bu grupta yer alan pestisitler; Krizantem çiçeğinden elde edilen doğal bileşikler olan piretrinlerin sentetik analoglarıdır. Bu grupta bulunan pestisitler uzun süredir biliniyor olmasına rağmen son dönemlerde oldukça önem kazanmıştır. Piretrinlerle kıyaslandığında ışığa olan duyarlılığı daha az, dayanıklılığı ise daha fazla olan bileşiklerdir. Piretrin ve piretroit maddeleri, sinerjist etki sağlamak amacıyla genellikle birlikte kullanılmaktadır.

Alfa-sipermetrin, siflutrin, bifentrin, lamda sihalotrin, deltametrin, permetrin, fenvalerat piretroit grubunda bulunan pestisitlere örnektir. Analiz yöntemi olarak sıvı ve gaz kromatografisi kullanılmaktadır ancak genel olarak gaz kromatografisi yöntemi tercih edilir. Zehirli etkisini sinir hücrelerini engelleyerek gösterir. Temas etkisi ve mide zehiri etkisi vardır. Sıcak kanlı canlılara karşı olan toksik etki oldukça düşüktür. Memeli

canlıların vücutlarında birikmez, dışarı atılırlar. Doğada kolaylıkla parçalanabilmektedirler.

Kolaylıkla bozulmaları ve üretim maliyetinin yüksek olması bu gruptaki pestisitlerin dezavantajıdır. Bazı piretroitlerin etkisi sıcaklıkla artmaktadır. Ancak düşük sıcaklıkta etkinlikleri daha yüksektir. Sentetik yapıdaki piretroitler, ışığa dayanıklılıklarının fazla olması nedeniyle tarımda yaygın olarak kullanılmaktadır. İnsanlar üzerindeki sistemik ve akut toksisite dereceleri düşüktür.

1. 6. PESTİSİT TAYİN YÖNTEMLERİ

Pestisitlerin ilk analizleri kolorimetrik yöntemlerle 1940'lı yılların başlarına dayanmaktadır. Pestisit analizlerinin zor olması, farklı fizikokimyasal özellikleri olan yüzlerce aktif maddenin farklı matrikslerde ve birlikte analiz edilmesi ihtiyacındandır. 1944'de sebzelerde DDT analizi bu yöntemle gerçekleştirilmiştir. Bu yöntem ile aynı anda sadece bir pestisit analiz edilebilmektedir.

Çoklu analizler ilk defa 1950'lerde ince tabaka kromatografisi (TLC) yöntemiyle yapılmıştır. O yıllarda TLC metodu pestisit analizleri için en yaygın olarak kullanılan tekniktir. Daha sonraki dönemlerde dolgu kolonların yer aldığı gaz kromatografisi (GC) yöntemi kullanılmaya başlanmıştır. GC ile analize uygun olmayan; polar yapıdaki, uçuculuğu düşük olan pestisit analizleri için 1980'li yıllarda UV veya floresans dedektör ile birleştirilen ters faz sıvı kromatografisi (RPLC) yöntemi pestisit analizleri için kullanılmış ve daha sonra sıvı kromatografisi (LC) özellikle polar yapıdaki pestisitlerin analizinde oldukça yaygın olarak kullanılmıştır. Kütle spektrometresi (MS) cihazı ile birleştirilen LC cihazları (LC/MS) 1990 yıllarında pestisitlerin analizleri için yaygınlaşmış ve 2000'li yıllarda ise sıralı MS sistemleri (MS/MS) geliştirilerek kullanılmıştır. MS tekniğindeki gelişmelerle sıralı MS sistemlerinin tespit limitleri 1 ppb seviyelerine kadar inmiştir.

Günümüzde geliştirilen yöntemler ile farklı yapılarda olan pestisitlerin aynı anda ve birlikte analiz edilebilmesi ve tespit limitlerinin oldukça düşük olması sağlanmıştır [21].

Pestisit analizleri için çeşitli yöntemler var olsa da çalışmamızda kullandığımız yöntem olan spektrofotometrik yöntem zamandan tasarruf sağlaması, düşük maliyete sahip olması ve tespit edilebilme limitlerinin oldukça düşük olması gibi nedenlerle

pestisit analizleri için son dönemlerde oldukça yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bu çalışma ile yüksek hassasiyet kısa zamanda sonuç, seçicilik ve düşük maliyet ile pestisit analizlerine yön verici olacak ve dikkat çekecektir.

1. 7. KLORPİRİFOS HAKKINDA GENEL BİLGİ

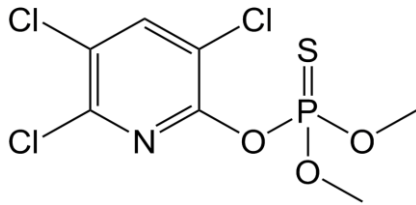
1. 7 .1. Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri

Klorpirifos (o,o-dietil-o-3,5,6-triklor-2-piridil tiofosfat) organofosforlu insektisitlerin heterohalkalı türevleri alt grubunda yer alan geniş spektrumlu bir insektisittir [22].

Beyaz renkli kristal yapıda ve kükürt kokulu bir maddedir. Molekül ağırlığı 350,62 g/mol'dür. 25 °C sıcaklıkta suda çözünürlüğü 2 mg/L'dir. Benzen, metanol, aseton, kloroform, hekzan gibi organik çözücüler içerisinde çözünabilirliği yüksektir [8]. Hidrolizle yarılanma ömrü 18,9 ile 80 gün arasında, fotolizle yarılanma ömrü 21 ile 28 gün arasında, buharlaşmayla yarılanma ömrü 3,5 ile 20 gün arasındadır. Suda dayanıklılık 0,2 ile 4 gün arasında, bitkide dayanıklılık ise 1 ile 7 gün arasındadır. Kaynama noktası değeri ise 41,5-44 °C arasındadır [23].

Klorpirifos ilk defa 1965 yılında Dursban ticari adı ile Dow Elanco firması tarafından piyasaya sunulmuştur. Bilinen diğer ticari isimleri Agrospan, Korban, Lorsban, Priman, Terpan Pyrinex, Empire, Piridane, Dowco 179, Paqant, Scout Stipend'dir. Formülasyon şekli toz, granül, ıslanabilir toz, sıvı mikrokapsüllü olarak bulunabilir. Ayrıca kullanılan yem ya da tohumlara katılabilir.

Klorpirifosun kimyasal yapısı Şekil 1.1'de verilmektedir.



Şekil 1.1. Klorpirifosun kimyasal yapısı.

Hidroforbik özellikte, suda çözünürlüğü az, apolar yapıda olan bileşiktir. Klorpirifosun ilk kullanımı sivrisinek lavralarını ortadan kaldırmak amacıyla dır. Daha sonraları ise bu amaç için kullanımı tercih edilmemiştir. Günümüzde ise hem tarım alanında hem de tarım alanı dışında (ev, büro gibi) kullanılmaktadır. Diptera, Lepidoptera, ve Coleoptera türleri, yaprak bitkileri, kırmızı örümcekler, karıncalar, toprak ve ev zararlılarına asetilkolinesterazı inhibe ederek etki gösterir.

Çeşitli ürünlerde uygulama dozu da çeşitlilik göstermektedir. Örnek verecek olursak mısır için belirlenen standart uygulama dozu 0,56 ile 2,24 kg arasında aktif madde/hektar, buğday için 0,28 ile 0,56 kg arasında aktif madde/hektar, tütün için 1,18 ile 1,168 kg arasında aktif madde/hektar, şekerpancarı için 1,12 ile 2,24 kg arasında aktif madde/hektar'dır. Termisit olarak uygulanmak istendiğinde oldukça yüksek doz örneğın 392 kg aktif madde/hektar kullanılmaktadır.

Organofosforlu bileşikler içinde klorpirifos orta derecede toksisiteye sahip olan insektisittir. Klorpirifos tarımsal kullanımın yanı sıra çimlerde, süs bitkileri , ev, büro, çiftlik hayvan zararlıları gibi alanlarda da yaygın bir şekilde tercih edilmektedir [24].

Klorpirifosun balıklarda, diğer su canlılarında ve bunlara ait besin ağında birikebilmesi nedeniyle sulu ortamlarda kullanımı genel olarak sorun yaratmaktadır. Klorpirifosun yaprak ya da toprağı uygulanması esnasında havaya karışması ya da erezyonla uzak mesafelere taşınabilmesi, yüzey akışıyla yüzey sularına ulaşabilmesi, toprakta hareket edebilmesi ile yer altı sularına bulaşabilmesi nedeniyle klorpirifosun balıklar ve diğer su canlıları için yüksek derecede toksik etki yarattığı bilinmektedir.

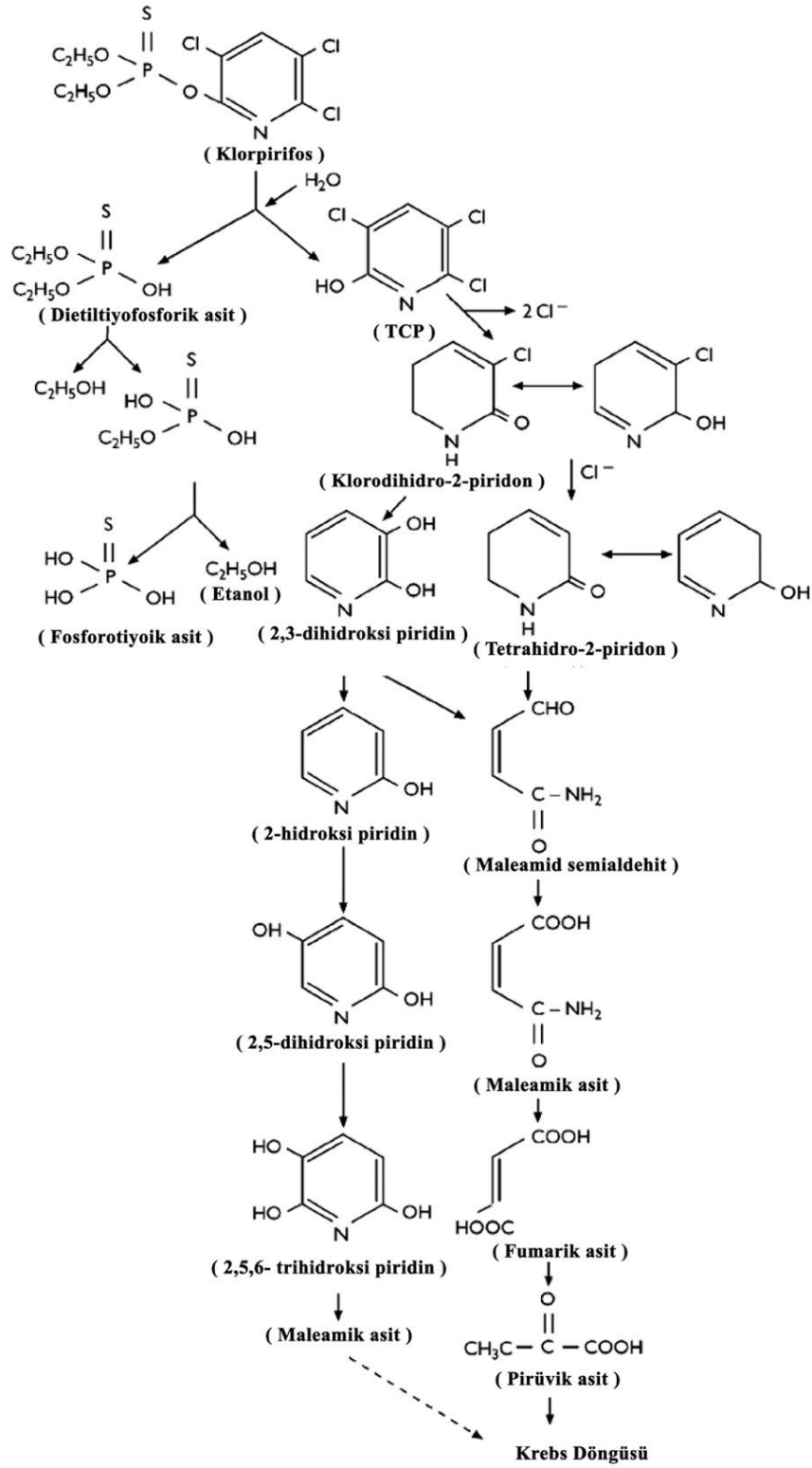
Klorpirifos çocuklarda gelişme geriliğı, davranış bozuklukları, hiperaktivite gibi hastalıklarla ilişkili olduğu belirtilmektedir. EPA klorpirifos kullanımının yasaklanması ve yerine zararsız alternatiflerin kullanılması ile ilgili çalışmalar yapmaktadır [25].

Klorpirifos, çeşitli bitki türlerinde bulunan böcekleri ve çeşitli toprak böceklerini kontrol etmek için dünya çapında kullanılan bir organofosforlu pestisittir [20].

Klorpirifos, Türkiye'de turunçgiller, pamuk, mısır, badem ve elma ağaçlarında geniş bir uygulama alanına sahiptir [3].

1.7.2. Klorpirifosun Bozunması

Çoğu organofosforlu pestisit gibi klorpirifos da genellikle temel toksik metabolit olarak kabul edilen ve kolinesterazların inhibisyonundan sorumlu okson türevi olan klorpirifos okson'a yükseltgenir. Klorpirifos okson, enzimatik olarak veya kendiliğinden dietilfosfat ve 3,5,6-trikloro-2-piridinol (TCP) oluşturmak üzere hidrolizlenir. Klorpirifosun temel ara hidroliz ürünleri TCP ve dietiltiofosforik asittir (DETP). Bunlardan TCP, klorpirifostan daha fazla suda çözünürlüğe sahiptir ve topraka ve su ortamında geniş çapta kirlenmeye neden olmaktadır [26]. Ayrıca klorpirifosun farklı pH'larda sulu ortamdaki davranışını inceleyen çalışmalar, pH ve sıcaklıktan çok büyük ölçüde etkilendiğini, zayıf asidik pH'larda (pH:4) hidrolizinin başladığını ve daha yukarıdaki pH'larda hidrolizin arttığını, düşük sıcaklıklarda ve düşük pH değerlerinde hidrolizin oldukça yavaş olduğunu ortaya koymaktadır [27-29]. Şekil 1.2 klorpirifosun muhtemel parçalanma ürünlerini göstermektedir.



Şekil 1.2. Klorpirifos muhtemel bozunma ürünleri [30].

1. 8. SENSÖRLER HAKKINDA GENEL BİLGİ

Sensörler, sıcaklık, miktar, akım, dalga boyu, reaksiyon hızı, pH, yoğunlaşma, basınç gibi fiziksel ve kimyasal büyüklükleri elektrik sinyaline çeviren cihazlardır.

Bir sensördeki algılayıcı kısım gelen bilgiyi dönüştürücü kısma iletir. Dönüştürücü kısım da gelen bu veriyi analitik sinyale çevirir.

Bir sensörün performansı seçicilik, doğruluk, tekrarlanabilirlik, duyarlılık, stabilite, tayin sınırı, geniş ölçüm aralığı, hızlı cevap verme, maliyet gibi parametrelere bağlıdır.

Tüm bu özelliklerin yanında içerdiği materyal ile analite kısa sürede cevap oluşturmamasının yanı sıra ideal bir sensörün tekrar kullanılıp hem zamandan hem de maliyetten tasarruf edilebilme özelliklerine de sahip olması gerekir [31,32].

Kimya, biyoloji ve mühendislik gibi alanlarında geliştirilen sensörlerden genellikle hassas analizler gerçekleştirme, güvenlik, endüstriyel hijyen, kalite kontrol, emisyon kontrolü, otomotiv, klinik tanı alanlarında faydalanılmaktadır.

Sensörler, gıda alanında bakteri, biyolojik madde, kimyasal maddeler, pH, nem gibi parametrelerin tayininde kullanılır. Tarımda amonyak, amin ve pestisit tayininde kullanılırken su ve arıtma işleminde ise pH, klor, karbondioksit, hidrojen sülfür tayininde kullanılmaktadır. Çevrede çeşitli kimyasal gazlar ve ağır metal iyonlarının ölçümleri, endüstride toksik ve yanıcı gazların ölçümlerinde kullanılmaktadır [33,34].

Sensörler çalışma prensiplerine göre fiziksel ve kimyasal olmak üzere iki ana gruba ayrılarak sınıflandırılmaktadır. Kimyasal sensörler de kendi arasında şu şekilde sınıflandırılmaktadır;

- Biyolojik Sensörler
- Elektrokimyasal Sensörler
- Optik Sensörler
- Gaz Sensörler

Fiziksel sensörler grubunda bulunan sensör sınıfları ise şu şekildedir;

- Termal Sensörler
- Basınç Sensörleri
- Manyetik Sensörler

1. 8 .1. Kimyasal Sensörler

Kimyasal sensörler kimyasal bir reaksiyon sonucu seçimli olarak ve analite cevap veren, bir analitin kalitatif veya kantitatif analizlerinde kullanılan sensörlerdir.

Sensörlerin her birinde fiziksel dönüştürücü ve ara yüzey tabakası olarak adlandırılan iki tabaka mevcut olup ara yüzeyde analit kimyasal ile etkileşim halindeyken fiziksel dönüştürücü ile de ölçülebilir değişiklikler elektrik sinyali şeklinde kaydedilir

Kimyasal sensörler seçicilik, duyarlılık tekrarlanabilirlik ve kararlılık, geniş ölçüm aralığı, hızlı cevap verme, uzun ömürlü olmaları gibi özellikleri nedeniyle daha çok tercih edilmektedir [35].

1. 8. 1. 1. Biyolojik sensörler

Biyolojik sensörler, biyomoleküller arasındaki etkileşim sonucu karakteristik özellikleri ve yüksek duyarlılıklarıyla biyolojik tepkimelerde hedef kimyasal türlerin konsantrasyonundaki değişimi hızlı ve doğru bir şekilde ölçmek için kullanılan sensörlerdir [36,37]. Biyosensörler renkli ve bulanık çözeltilerde geniş ölçüm aralığında ölçüm yapabilmektedir. Fakat reseptörler pH, sıcaklık ve iyon şiddeti gibi ortam şartlarından etkilenebildiğinden biyosensörün kullanım ömrünün kısılmasına sebep olabilir [38].

Biyosensörler, ilaç analizlerinde, biyomedikal sektörde, biyoreaktör kontrol ve analitiğinde, gıda üretimi ve analizinde, endüstri atıklarının kontrolü, çevre koruma ve kirliliğin kontrolü, tarım, veterinerlik, madenlerdeki toksik gaz analizleri ve savunma sanayi alanlarında kullanılmaktadır [39,40].

1. 8. 1. 2. Elektrokimyasal sensörler

Analit ve elektrot arasında oluşan etkileşimi elektirik sinyaline dönüştüren sensörlerdir. Elektrokimyasal sensör sınıflarında amperometrik, potansiyometrik, kondüktometrik, voltametrik sensörler yer alır.

1. 8. 1. 3. Optik sensörler

Optik sensörlerin ölçme sistemi, maddenin konsantrasyonuna bağlı olarak absorbands veya lüminesans şiddetinde değişim gösterir.

Ortama verilen ışık yardımıyla bir cisme dokunmadan gerçekleşen algılama olayının elektrik sinyaline çevrilmesi prensibine dayanır. Floresans, infrared, hiperspektral, lazer sensörler bu grupta yer alır .

Son dönemlerde kullanımı oldukça yaygınlaşan optik sensörlerin maliyetlerinin düşük olması, minyatürize edilebilmeleri ve esnek yapıları sebebiyle tercih edilmektedir. Biyomedikal çalışmalardan çevresel görüntüleme çalışmalarına kadar pek çok alanda kullanıma uygundur. Optik sensörlerin bu üstünlükleri nedeniyle yapılan çalışmalar giderek artış göstermektedir [41].

1. 8. 1. 4. Gaz sensörleri

Gaz sensörleri sulu çözeltide çözünen gazların konsantrasyonlarına cevap verirler. Gaz, membran içinden geçtiğinde çözeltinin ince tabakasında meydana gelen değişim, elektrot tarafından algılanarak ölçülür

1. 8 .2. Fiziksel Sensörler

1. 8. 2. 1. Basınç sensörleri

Basınç değişimlerini algılayarak elektriksel sinyale çeviren sensörlerdir.

1. 8. 2. 2. Termal sensörler

Termal sensörlerin çalışma prensibi, ortamdaki ısı değişimini algılayarak sıcaklığa karşı hassas olan maddelerin elektriksel dirençlerindeki değişimi ölçme esasına dayanır [42].

1. 8. 2. 3. Manyetik sensörler

Manyetik sensörler, tel bobin içerisinden akım geçirilerek oluşan manyetik alan ile bobin içerisinde meydana gelen hareket ve çevresine yaklaştırılan metallerin bobinin indüktansında meydana gelen değişimi ölçen sensörlerdir.

1.9. LİTERATÜRLER İŞİĞİNDA YÖNTEMİMİZİN YERİ

Zehirlilikleri ve çevrede yaygın olarak bulunabilmelerinden dolayı pestisit analizlerinin duyarlı ve doğru yöntemlerle yapılması önem taşımaktadır.

Pestisit kalıntı analizleri için çok sayıda yöntem bilinmektedir. Analiz yöntemleri içinde bugün kromatografik yöntemler seçicilik ve duyarlılık açısından tercih edilmektedir. Ancak kromatografik yolların uygulanamadığı pestisitler de vardır [8]. Uçuculuğu az olan ve termal olarak kararlı olmayan pestisitler de bu yöntemle tayin edilememektedir.

Spektrofluorimetrik yöntem ise ancak floresans özelliği olan pestisitlere uygulanabilmektedir. Bununla birlikte bir pestisitın floresans özelliği yoksa ya da yok denecek kadar az ise, türevlendirme yoluyla floresans özelliğe sahip olan bir bileşiğe dönüştürülebilir [43].

Pestisitlerin fluorimetrik yöntemle kalitatif tayini son yıllarda üzerinde çalışılan bir konudur. Fluorimetrik yöntemle pestisitler oldukça hızlı, seçici ve hassas olarak analiz edilebilmektedir [44,45]. Günümüze kadar fluorimetrik yöntemle pek çok pestisit tayini yapılmıştır. Ancak yapılan literatür araştırması sonucunda klorpirifosun fluorimetrik yöntemle tayinine ilişkin çok fazla çalışmaya rastlanmamıştır.

Klorpirifos analizlerinde seçicilik ve duyarlılık açısından kromatografik teknikler günümüzde en yaygın biçimde kullanılan metodlar arasındadır. Bu kromatografik teknikler arasında en yaygın olarak kullanılanları ise GC ve HPLC'dir. GC-MS, iyi ayırma ve tayin potansiyeline sahip olmasından dolayı günümüzde pestisit analizlerinde en çok tercih edilen yöntemlerin başında gelmektedir. HPLC, GC'den sonra en yaygın kullanılan ikinci tayin yöntemidir. [22]. Ancak bazı literatür sonuçları göstermiştir ki, fluorimetrik tayin yöntemi diğer tayin yöntemlerinden çok daha seçici ve duyarlıdır. Günümüze kadar birçok pestisit farklı matrislerde fluorimetrik yöntemle analiz edilmiş ve edilmeye devam etmektedir.

Literatürler incelendiğinde en hassas, ekonomik ve hızlı yöntem olarak fluorimetrik metot öne çıkmaktadır. Bunun nedeni de klorpirifosun doğal olarak floresans verme özelliğidir. β -siklodekstrin kullanarak bu özellik artırılmış ve bundan yararlanılarak fluorimetrik metot ile kısa sürede güvenilir sonuçlar elde edilmiştir.

Yapılan araştırmalar klorpirifosun organik çözücülerde güçlü sinyal verdiğini göstermektedir [46].

Coly ve arkadaşları 1998 yılında yaptıkları “Cyclodextrin-enhanced fluorescence and photochemically-induced fluorescence determination of five aromatic pesticides in water” adlı çalışmada β -siklodekstrin ve hidroksipropil- β -siklodekstrin sulu çözeltilerinin aralarında Klorpirifos da bulunan beş pestisitinin fluoresans özellikleri üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Klorpirifosun β -CD varlığında fluoresans şiddetinin önemli ölçüde arttırdığını gözlemlemişlerdir. Klorpirifosun organik çözücülerde güçlü PIF (Photochemically-Induced Fluorescence) sinyalleri gösterdiği ortaya konmuştur. Klorpirifos konsantrasyonundaki artışın PIF şiddetini arttırdığı gözlemlenmiştir. Ayrıca klorpirifosun uyarma dalga boyu 378 nm, emisyon dalga boyu ise 428 nm olarak ölçülmüştür. Bu yöntemin çevresel su analizleri için uygun olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışma sonucunda klorpirifosun LOD değeri 0,2 ile 54 ng/mL arasında belirlenmiştir [43].

Morales ve arkadaşları 2010 yılında yaptıkları “Luminescence methods for study and determination of pollutants in the environment” adlı çalışmada çeşitli lüminesans spektrometrik yöntemlerin performansı ve analitik uygulamaları yanı sıra son yirmi yılda çevredeki kirleticilerin düşük miktarlarının tayini üzerinde bir araştırma yapmışlardır. Bu yöntemlerin HPLC, FIA gibi diğer başka yöntemlerle karşılaştırılması yapılmıştır. Bunun sonucu olarak, spektrofluorimetrik yöntemlerin daha hassas, seçimli ve ucuz olduğu belirtilmiştir. Ayrıca pestisitlerinin çoğunun zayıf da olsa doğal fluoresans verdiği bu nedenle bu fluoresans şiddetini arttırmak için ise miselli ortam, CDs ve ya kalikserenler kullanılmasının uygun olduğu belirtilmiştir Bu çalışmada klorpirifosun LOD değeri 4,3 ng/mL olarak belirlenmiştir [47].

Klorpirifos tayini için kullanılan güncel yöntemlerin zaman alıcı olması ve aynı zamanda çevreye zararlı kimyasal kullanımının fazla olması gibi problemler göz önüne alındığında bunların yerine alternatif başka yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır ve fluoresans yöntemlerinin klorpirifosun belirlenmesi için oldukça önemlidir.

Organofosfor bileşikleri temelde insektisit olarak kullanılırlar ve dünya çapında kimyasal silah olarak bilinen sarin ve soman gibi sinir gazları olarak geliştirilmişlerdir. Organofosfor pestisit kalıntılarının hava, toprak, su ve gıda gibi çevrelerde yüksek

miktarlarda olması ve sinir gazlarıyla terörist saldırıların yapılması hakkında temel halk sağlığı ve ulusal güvenlik endişeleri mevcuttur. Bunların zehirliliği ve yerleşim alanlarında kazara veya kasten yayılması ile meydana gelen tehlike sebebiyle çevresel ve biyolojik olarak izlenmesi için hızlı, hassas, ucuz belirleme araçları sürekli büyük ilgi duyulan bir alan olmuştur [48].

Günümüzde pestisit tayini için olan yöntemler genellikle güvenilirlik ve hassasiyetleri sebebiyle kütle spektrometresi detektörlü sıvı veya gaz kromatograf (HPLC-MS, GC-MS) içerir, ama bu yöntemler oldukça tecrübeli ve bilgili personel ile çok titiz örnek hazırlama süreci içermektedir. Bu metodlar geniş doğrusal aralık ve iyi tespit limitleri sağlayabilmekte, ama laboratuvarında kullanmak için oldukça pahalı gelişmiş cihazlara ihtiyaç duymaktadırlar. Ayrıca örneğin analize hazırlanması da potansiyel hata kaynağı olarak göze çarpmaktadır. [49].

Kullanılan numune hazırlama yöntemleri genellikle, ekstraksiyon, izolasyon ve gerektiğinde analiz yapılacak matrinden hedef pestisit in fraksiyonlanması için ek analitik adımlar içerir. Bu amaçla farklı ekstraksiyon teknikleri geliştirilmiştir. Bu yöntemler ait detaylı bilgiler aşağıda yer almaktadır [50].

Sıvı-sıvı ekstraksiyon zaman alıcı olmakla beraber yorucudur ve analizden önce ekstraktın ön derişiklendirilmesini gerektirir. Aynı zamanda çevreye zararlı olan yüksek miktarda pahalı, zehirli çözücü ihtiyacı bu yöntemin en büyük handikaplarından biri olmaktadır.

Katı faz ekstraksiyonu daha az çözüye ihtiyaç duyma, daha az zaman alma gibi özellikleri ile bu dezavantajların üstesinden gelebildiği için popüler hale gelmiştir. Fakat kullanılan kartuşların tıkanması ve tekrar kullanılabilir olmaması gibi önemli dezavantajlar içermektedir.

Süperkritik akışkan ekstraksiyonu (SFE), ekstraksiyonun gerçekleştirilmesi için daha az zaman gerektirdiği ve SPE ve LLE tarafından kullanılan çözücülerin daha az bir miktarını kullandığı için önemli bir analitik numune hazırlama tekniği haline gelmiştir. Bununla birlikte, SFE yöntemleri, yüksek saflıkta CO₂ veya çok pahalı olabilecek diğer gazları gerektirir ve çok fazla taşınabilir olmayan bir yöntemdir.

Alternatif olarak, son zamanlarda geliştirilen mikroekstraksiyon metotları, geleneksel yöntemlerden daha az organik çözücü ve daha küçük örnek boyutuna ihtiyaç duymaktadır ve yüksek verimlerine rağmen, uzun ekstraksiyon süreleri gerektirmektedir.

Bu durum tekniğin ana dezavantajı olup otomasyonu çok zor görünmektedir ve henüz bu konuda bir ilerleme kaydedilememiştir.

Yine son zamanlarda test çubukları veya kitlerin farklı türlerini içeren, enzim bağlı immunosorbent assays (ELISA), enzim inhibisyon veya moleküler baskılanmış polimer içeren, nispeten hızlı, ucuz ve uygun pestisit tayin yöntemleri geliştirilmiştir. Ancak bu yöntemlerin beraberinde getirdiği hala çeşitli sınırlandırmalar mevcuttur. Örneğin; bir antibody ve bir antijen arasındaki reaksiyonu içeren immunoassay yöntemler hızlı ve spesifik olmalarına rağmen, antikorlarının hazırlanması zordur, antibodyler sıcaklığa duyarlıdır, biyolojik etkinlikleri çevre tarafından etkilenmektedir ve yanlış pozitif sonuçlar yöntemin doğruluğunu etkileyebilmektedir. Ayrıca yöntemde organik çözücü veya matris bileşenlerinin varlığı nedeniyle girişimler mevcuttur.

Enzim inhibisyonu üzerine olan yöntemlerde çoğunlukla asetilkolinesteraz (AChE) kullanılmaktadır. Bu yöntemde, AChE örnek çözeltisine katılabilir veya bir elektrot üzerine immobilize edilebilir. Yöntemin düşük maliyeti ve yüksek hassasiyeti olmasına rağmen, en büyük handikapı sadece bazı pestisit türleri için uygun olmasıdır.

Elektrokimyasal yöntemler genellikle enzimatik reaksiyonlarla birleştirilmiş şekilde kullanılmaktadır. Asetiltiyokolin klorürün enzimatik hidrolizi yoluyla oluşan tiyokolinin elektrokimyasal olarak yükseltgenmesini içeren bu yöntemde elde edilen sinyaller, özellikle gıda örneklerindeki askorbik asit gibi elektroaktif türlerin girişimlerinden oldukça fazla etkilenmektedir. Ayrıca tiyokolin elektrotların pasifleşmesi neden olmaktadır. Bu dezavantajların üstesinden gelinebilmesi için elektrotlar modifiye edilmiş, fakat bu işlem elektrotların üretiminin karmaşık olmasının yanısıra elektrot üzerinde enzim stabilizasyonu için zorluklar, zaman alıcı reaktivasyon süreci ve uygun elektron transfer araçlarını eksikliği gibi birçok dezavantajı beraberinde getirmiştir. Moleküler baskılanmış polimerlerin kullanıldığı yöntemler her ne kadar ön işlem için kullanılan çözücülerden ve zamandan tasarruf edilmesini sağlasa da tayin edilmesi istenen pestisitın GC ile analizi için polimerik matristen çözücü kullanarak elüe edilerek derişiklendirmeye tabi tutulması gerekmektedir. Bununla birlikte tanecik yapıdaki polimerler numunede eşit olmayan bir şekilde dağıldığından dolayı sonuçlar arasında büyük farklar ortaya çıkmakta ve sonuçlar numunedeki moleküler baskılanmış polimerlerin süspansiyon oluşturmamasından etkilenmektedir [48-51].

BÖLÜM 2

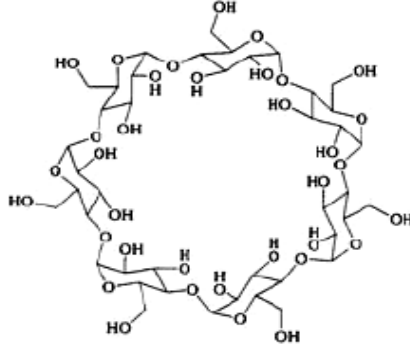
MATERYAL VE YÖNTEM

2. 1. MATERYAL

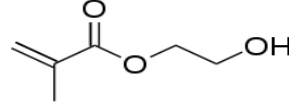
2. 1 .1. Kullanılan Kimyasallar

Polimer esaslı floresans sensörün hazırlanması aşamalarında ve deneysel çalışmalarda Sigma marka aşağıdaki kimyasal maddeler kullanılmıştır.

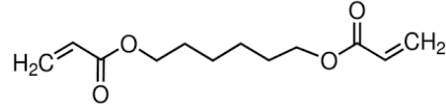
β -siklodekstrin (β -CD)



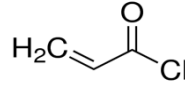
2-Hidroksietil metakrilat (HEMA)



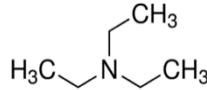
Heksandiol diaktilat (HDDA)



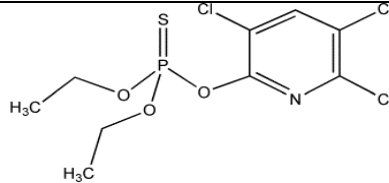
Akriolil Klorür (AC)



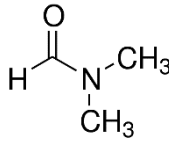
Trietilamin (TEA)



Klorpirifos

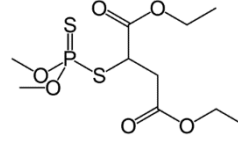


Dimetil formamit (DMF)

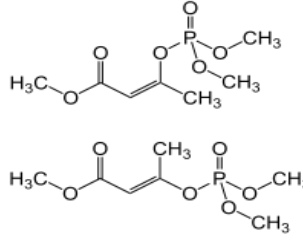


Çalışmamızda yabancı tür etkisini incelemek için Dr. Ehrenstorfer GmbH firmasından temin edilen kimyasal maddeler kullanılmıştır.

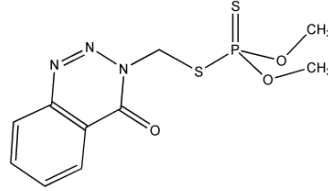
Malation (M_A: 330,36 g/mol)



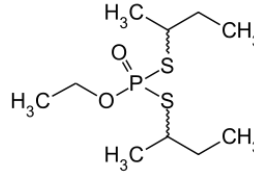
Mevinfos (M_A: 224,15 g/mol)



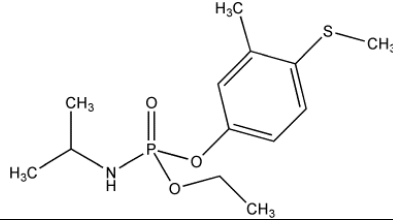
Azinfos-Metil (M_A:317,32 g/mol)



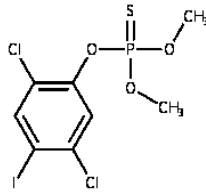
Cadusafos (M_A:270,39 g/mol)



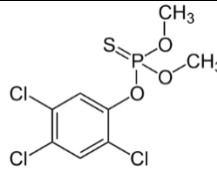
Fenamifos (M_A:303,36 g/mol)



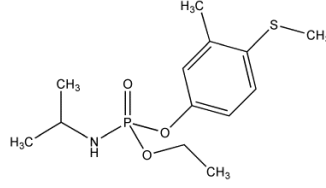
Jodfenfos (M_A: 413 g/mol)



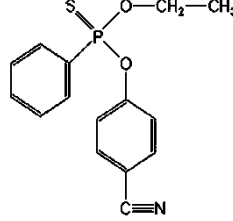
Fenklorfos (M_A: 321,55 g/mol)



Heptenfos (M_A:303,36 g/mol)



Siyanofenfos (M_A: 303,32 g/mol)



Ayrıca gerçek örnek numunesinin UPLC-MS/MS cihazı ile analize hazırlanmasında ve analizinde Merck'ten temin edilen asetonitril, metanol, magnezyum sülfat, sodyum sülfat, amonyum formiyat, formik asit ve Agilent'tan temin edilen dispersif katı faz ekstraksiyon kiti (Quechers Bond Elut EMR Lipid Removal Kit) kullanılmıştır.

Deneysel çalışmalarda ortam pH değeri ayarlamasında tampon çözelti olarak Merck firmasından temin edilen asetik asit (CH₃COOH), sodyum asetat trihidrat (NaCH₃COO.3H₂O), sodyum dihidrojenfosfat monohidrat (NaH₂PO₄.H₂O), potasyum klorür (KCl), klorür asidi (HCl) kullanılmıştır. Bu çözeltiler Britton Robinson sistemine göre hazırlanmıştır.

2. 1 .2. Kullanılan cihazlar

Spektrofluorimetre: Çalışmamızda gerçekleştirilen spektrofotometrik ölçümler Xenon lambaya sahip Varian Carry Eclipse marka Spektrofluorimetre cihazı ile yapılmıştır.

UPLC-MS/MS: Gerçek örnek analizi için Waters marka BEH C18 (50 mm×2,1 mm; 1,7 µm) UPLC kolonu ve Waters Xevo TQ MS ultrabasinçlı likit kromatografi tandem kütle spektrometresi (UPLC-MS/MS) kullanılmıştır.

Ultra saf su cihazı: Çalışmamızda kullanılan saf su temini Millipore Direct-Q®- 3 Ultra Saf Su Cihazı'ndan sağlanmıştır.

Hassas Terazı: Çalışmamızda yapılan tüm tartımlar Mettler-Toledo marka 0,0001 gram hassasiyetli terazi ile yapılmıştır.

pH-metre: Çalışmamız için hazırlanmış olan çözeltilerin ve örneklerin pH ölçümleri Hanna pH-213 masaüstü pH metre kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Magnetik Karıştırıcı: Çalışmamız için çözeltilerin hazırlanma aşamasında karıştırma işlemi için Heidolph MR Hei-Standard marka ve model ısıtıcılı manyetik karıştırıcı kullanılmıştır.

Ultrasonik Banyo: Zor çözünen maddelerin çözünmesini kolaylaştırmak amacıyla Bandelin Sonorex Super RK 100 ultrasonik banyo kullanılmıştır.

Vorteks (Girdaplı Karıştırıcı): Polen numunelerinin çözülmesi amacıyla Velp marka ZX3 Advanced model vorteks kullanılmıştır.

Santrifüj Cihazı: Polen numunesinin analize hazırlanma aşamasında Hettich EBA20 santrifüj cihazı kullanılmıştır.

UV lamba: : Çalışmamızda kullanılan polimer karışımın sertleştirilerek polimerik film haline getirilmesi için OSRAM marka (300 W $\lambda_{\max}=365$ nm) UV lamba kullanılmıştır.

Vakum etüvü: Hazırlanan polimerik membranın kurutma işlemini gerçekleştirmek için vakum etüvü kullanılmıştır.

ATR-FTIR Spektrofotometre: Çalışmamız için hazırlanan polimerik esaslı filmlerin fonksiyonel gruplarının karakterizasyon çalışması için Perkin- Elmer marka ATR- FTIR Spektrofotometre kullanılmıştır.

SEM: Çalışmamız için hazırlanan polimerik filmlerin morfolojik özelliklerinin belirlemek için Philips XL30 ESEM-FEG/EDAX cihazı kullanılmıştır.

2. 2. YÖNTEM

2. 2 .1. Çözeltilerin Hazırlanması

2. 2. 1. 1. Tampon çözeltilerin hazırlığı

Çalışmamızda pH değerlerinin ayarlanması için pH 1 ile 9 arasındaki değerleri sağlayacak tampon çözelti sistemleri Britton Robinson tampon sistemine göre hazırlanarak kullanılmıştır. pH: 1-2 için KCl/ HCl çözelti sistemi, pH: 3-6 için asetik asit/ sodyum asetat ve pH: 7-9 için ise fosfat tampon çözelti sistemleri kullanılmıştır

2. 2. 1. 2. Klorpirifos stok, çalışma ve standart çözeltilerinin hazırlanması

0,0010 g klorpirifos bir beher içerisinde tartıldıktan sonra bir miktar saf su ilave edilerek ultrasonik banyo yardımıyla tamamen çözünmesi sağlanmış ve son hacme saf su ile 100 mL olacak şekilde tamamlanmıştır. Hazırlanmış olan $2,85 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ (10 mg L⁻¹) konsantrasyonundaki stok çözeltilerden uygun hacimlerde alınarak saf su ile son hacme

tamamlanmak suretiyle de çalışma ve standart klorpirifos çözeltileri hazırlanmıştır. Hazırlanmış olan çözeltiler buzdolabında +4°C’de saklanmış olup çalışma sırasında oda sıcaklığına getirilen çözeltilerin içinde bulunduğu cam malzemeler alüminyum folyo ile kaplanarak çözeltiler ışıktan korunmuşlardır.

2. 2. 1. 3. Yabancı tür etkisinin araştırılması için hazırlanan çözeltiler

Klorpirifos tayini üzerine yabancı tür etkisini belirleyebilmek için malation, mevinfos, azinfos metil, cadusafos, fenamifos, jodfenfos, fenklorfos, heptenfos ve siyanofenfos pestisitleri kullanılarak 1 mg L⁻¹ konsantrasyonlarında stok çözeltiler hazırlanmıştır. Bu çözeltilerden alınan uygun hacimler pH:2 tamponu ile seyreltilerek her bir pestisit 2×10⁻³ mg L⁻¹ konsantrasyonunda ara çözeltileri ve klorpirifos tayinine yabancı türlerin etkisinin incelenmesi amacıyla da ortamda bulunan klorpirifos mol miktarının en fazla 250 katı olacak şekilde seyreltilerek çalışma çözeltileri hazırlanmıştır. Çözeltilerin saklanması ve ışıktan korunması için, analiz öncesinde ve devam ederken klorpirifos çözeltisine uygulanan işlemler yapılmıştır.

2. 2 .2. Polimer Esaslı Sensör Membranın Hazırlanması

2. 2. 2. 1. Akrilol β-siklodekstrin monomerinin hazırlanması

Akrilol β-siklodekstrin’ in hazırlanmasında “*Poly (NIPAAm-co-β-cyclodextrin) microgels with drug hosting and temperature-dependent delivery propertie*” isimli makalede belirtilen yöntem kullanılmıştır [52].

11,38 g β- siklodekstrinin üç boyunlu reaksiyon balonuna tartılıp üzerine 30 mL DMF eklendikten sonra 50° C sıcaklıkta magnetik karıştırıcıda çözüldükten sonra bu çözelti üzerine 12 g TEA eklenmiştir. Daha sonra 10,8 g AC’nin 50 mL DMF içersinde çözünmesiyle elde edilen çözelti reaksiyon balonundaki çözeltiye damla damla eklenerek β- siklodekstrinin akrillemesi sağlanmıştır. Yaklaşık 2 saat sonunda reaksiyon durdurulmuş ve adi süzgeç kağıdından süzülerek oluşan tuzun ayrılması sağlanmıştır. Sonrasında tüm süzöntü aseton üzerine damla damla ilave edilerek beyaz bir çökelti elde edilmiştir. Ardından, elde edilen çökelti vakum etüvünde kurutulmak üzere bir gece bekletilmiştir. Kurutulan maddenin FTIR spektrumu alınmış ve oluşan piklerden akrilleme işleminin gerçekleşmiş olduğunu görülmüştür.

2. 2 .3. Polimerik Floresans Sensörün Hazırlanması

Sensörünün hazırlanması için ;

(% 1) akrillenmiş β -siklodekstrin, (% 49) 2-Hidroksietil metakrilat (HEMA), (%50) Hekzandioldiakrilat (HDDA) her biri hassas terazide bir beher içine tartıldıktan sonra karıştırılarak homojen hale gelene kadar karıştırma işlemine devam edilmiştir. Bu karışıma karanlık ortamda fotobaşlatıcı olarak (% 3) 2-hidroksi-2-metil propiyofenon ilave edilmiştir. Beher içeriği genişliği 1,2 cm, uzunluğu 4,0 cm ve kalınlığı 0,2 cm olan teflon bir kalıba dökülmüştür. Daha sonra UV (OSRAM 300 W, $\lambda_{max} = 365$ nm) ışığı altında 3 dakika bekletilerek sertleşmesi sağlanmıştır ve böylece polimerik membran elde edilmiştir. Bu membranlar başlangıç maddelerinin uzaklaştırılması amacıyla bir gece saf su içinde bekletildikten sonra vakum etüvünde kurutulmuştur. Elde edilen membranların şeffaf, homojen, kırksız, çatlaksız ve gözeneksiz bir yapıda olduğu gözlemlenmiştir.

2. 2 .4. Polimerik Sensör Membranın Karakterizasyonu

2. 2. 4. 1. FTIR analizi

Hazırlanmış olan polimerik membrana ait FTIR spektrumu, ATR-FTIR spektrofotometre cihazında $4000\text{ cm}^{-1} - 400\text{ cm}^{-1}$ aralığında tarama yapılarak elde edilmiştir. İlgili FTIR spektrumu Şekil 3.1’de verilmektedir.

2.2.4.2. Yüzey morfolojisi

Klorpirifos tayininde kullanılacak olan polimerik sensörün yüzey morfolojisi taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak belirlenmiştir. Sensöre ait SEM görüntüleri, Şekil 3.2’de verilmektedir.

2.2.5. Polimer Esaslı Sensörün Klorpirifos Tayininde Kullanıma Uygunluğunun Araştırılması

2.2.5.1. Spektral karakterizasyon çalışmaları

Hazırlanan polimerik membrana ait floresans şiddeti ölçümleri spektrofotometre cihazı (Varian Cary Eclipse) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan polimerik membranın klorpirifosa karşı vereceği cevap spektrofotometrik olarak ölçülmüş olup bir uyarma dalga boyuna karşılık gelen emisyon dalga boyunda floresans şiddetinde meydana gelen değişimin (artma ya da azalma) belirlenmesiyle yapılmıştır. En uygun şartlara karar vermek amacıyla yapılan floresans ölçümleri farklı

slit aralıkları ve farklı fotoçoğaltıcı tüp (PMT) voltajlarında gerçekleştirilmiştir. Yapılmış olan-ölçüm sonuçlarına göre belirlenen en uygun dalga boylarını gösteren grafik Şekil 3.4' te yer almaktadır.

2.2.5.2. pH etkisinin araştırılması

Fluoresans şiddeti üzerine pH etkisini incelemek amacıyla pH 1,0- 9,0 aralığında tampon çözeltiler kullanılarak $5,70 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹ (2 µg L⁻¹) konsantrasyonundaki klorpirifos çözeltilerinin belirlenmiş olan uyarma ve emisyon dalgaboyları, slit ve fotoçoğaltıcı tüp voltajlarında hazırlanmış olduğumuz membran kullanılarak yapılan ölçümleri sonucunda en uygun pH değeri belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda pH'ın floresans üzerindeki etkisini gösteren grafik Şekil 3.5'te verilmiştir.

2.2.5.3. Sensörün cevap verme süresi

Membranın $5,70 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹ (2 µg L⁻¹) klorpirifos varlığında vermiş olduğu floresans şiddetindeki değişim 10 saniye aralıklar ile 5 dakika boyunca ölçüm yapılarak gözlenmiştir. Bu ölçümler doğrultusunda floresans şiddeti / süre grafiği çizilmiş ve sensör için en uygun analiz süresi belirlenmiştir. İlgili grafik Şekil 3.6'da görülmektedir.

2.2.5.4. Sensörün Rejenerasyonu ve Yeniden Kullanılabilirliği

Yaptığımız çalışmalar doğrultusunda belirlenen en uygun şartlar kullanılarak sensörün rejenerasyonu için gerekli olan çözücüye karar verilmiş ve tekrar kullanılabilirliği incelenmiştir.

2.2.5.5. Kalibrasyon aralığı, tespit ve tayin sınırı

Belirlenen en uygun pH'ta hazırlanmış olan $2,85 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ (10 mg L⁻¹) klorpirifos stok çözeltisinden $1,43 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹ – $7,13 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹ (0,5 µg L⁻¹ – 2,5 µg L⁻¹) arasındaki konsantrasyonlarda 5 adet standart çözelti hazırlanmıştır. Bu çözeltilerin daha önce belirlenmiş olan çalışma şartlarında floresans şiddetleri ölçülmüştür. Elde edilen kalibrasyon grafiği Şekil 3.6'da yer almaktadır.

2.2.5.6. Sensörün Ömrü, Kararlılığı, Tekrarlanabilirliği

Sensörün kararlılığını belirlemek amacıyla karanlık bir ortamda 6 ay boyunca desikatör içerisinde bekletilen sensör membranın belirli zaman aralıklarıyla klorpirifos çözeltisi varlığında floresans şiddetlerindeki değişiklikler incelenenerek sensörün ömrü tespit edilmiştir. Ayrıca aynı formülasyona sahip olan beş adet polimerik membran

kullanılarak $5,70 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹ (2 µg L⁻¹) klorpirifos varlığında floresans şiddetleri ölçülerek de sensörün tekrarlanabilirliği belirlenmiştir.

2.2.5.7. Yabancı tür etkisinin incelenmesi

Sensörün floresans şiddeti üzerine girişim yapabilecek olan farklı organofosforlu pestisitlerin etkisini incelemek amacıyla hazırlanmış olan organofosforlu pestisitler (malation, mevinfos, azinfos metil, cadusafos, fenamifos, jodfenfos, fenklorfos, heptenfos ve siyanofenfos) kullanılmıştır. $5,70 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹ (2 µg L⁻¹) konsantrasyonundaki klorpirifos varlığında mol katı olarak her bir yabancı türü klorpirifosun 250 katından başlanarak bu değerden daha az mol katına doğru olacak şekilde farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış olan çözeltilerin floresans şiddetleri ölçülmüştür. Ölçüm sonuçları değerlendirilmesi sırasında müsaade edilen maksimum yabancı tür konsantrasyonuna karar verilirken; ortamda sadece klorpirifos varken sensörün vermiş olduğu floresans şiddetinde yabancı tür ilavesiyle $\pm 5\%$ 'lik bir değişimin olmaması kriteri göz önünde bulundurulmuştur[53]. Bu kritere göre klorpirifosun 250 katı olacak şekilde yabancı tür ilavesiyle başlanan ölçümlerde, 5% 'lik bir değişim görüldüğünde ilgili türün miktarı azaltılarak ölçümlere devam edilmiş ve tolere edilebilir miktarlara karar verilmiştir. Yabancı tür etkisinin incelenmesi amacıyla yapılan çalışmaya ait ölçüm sonuçları Tablo 3.1'de verilmektedir.

2.2.5.8. Sensörün analitik uygulamaları

Çalışmamızda hazırlamış olduğumuz polimer esaslı floresans sensöre ait gerçek örnek uygulaması kapsamında polen numunesi ve musluk suyu numunesi kullanılmış olup polen numunesinin içerdiği klorpirifos miktarı hem UPLC-MS/MS sistemi ile hem de geliştirdiğimiz yöntem ile tayin edilmiştir.

Polen numunesinin analize hazırlanması aşağıdaki şekilde yapılmıştır:

- Yaklaşık 5 gram homojenize edilmiş polen numunesi santrifüj tüpüne tartılır ve 10 mL saf su ilavesinden sonra girdaplı karıştırıcı kullanılarak tamamen çözülür.
- Üzerine asetonitril-su (99:1) içeren çözeltiden 15 mL katılır ve yaklaşık 2 dakika çalkalanır, ardından elde edilen çözeltiliye 6 gram magnezyum sülfat ve 1,5 gram sodyum asetat eklendikten sonra 60 saniye çalkalanır ve çözelti 5 dakika dakikada 6000 devir hızında (rpm) santrifüj edilir.

- Santrifüj sonunda elde edilen çözeltiden alınan 5 mL'lik hacim, dispersif katı faz ekstraksiyon karışımına ilave edilir.
- 60 saniye girdaplı karıştırıcıda tutulduktan sonra 5 dakika süreyle dakikada 6000 devir hızında santrifüjlenir.
- Elde edilen çözeltinin üst fazından alınan 5 mL'lik hacim 1,5 gram magnezyum sülfat ve 0,5 gram sodyum klorür karışımı üzerine aktarılır ve 60 saniye girdaplı karıştırıcıda karıştırılır ve yine 5 dakika süreyle dakikada 6000 devir hızında santrifüjlenerek fazların ayrılması sağlanır.
- Üst fazdan alınan uygun hacmin saf su ile iki katına seyreltilmesiyle numune analize hazır hale getirilir.

Bu şekilde çözeltiye alınmış olan polen numunesi içindeki klorpirifos miktarı UPLC-MS/MS sistemi kullanılarak ve geliştirdiğimiz spektrofotometrik yöntemle göre analiz edilmiştir. Ayrıca aynı numune içine üç farklı son konsantrasyonda olacak şekilde klorpirifos çözeltisi ilave edilerek zenginleştirme (spike) işlemi yapılarak geri kazanım çalışması yapılmıştır.

Geliştirdiğimiz yöntemle yapılan analiz için daha önce belirlenmiş olan en uygun analiz şartları kullanılmıştır. UPLC/MS/MS ile yapılan analiz için ise enjeksiyon hacmi 10 µL olup akış hızı dakikada 0,35 mL olarak ayarlanmıştır. Analiz süresi 10 dakika olup pompa programı olarak gradient sistemle analiz yapılmıştır. Bu amaçla %0,05 (h/h) formik asit içeren saf su içinde hazırlanmış 2mM amonyum formiyat çözeltisinden oluşan mobil faz A ve %0,05 (h/h) Formik Asit içeren %100'lük metanol içinde hazırlanmış 2mM amonyum formiyat çözeltisinden oluşan mobil faz B kullanılmıştır. Akış hızı dakikada 0,35 mL olacak şekilde mobil faz A: mobil faz B oranları 0-30 saniye süresince 95:5; sonrasında 8 dakika boyunca 0:100; 10 saniye sonrasında itibaren 10.dakikaya kadar tekrar 95:5 olarak ayarlanmıştır. Elektrospray iyonlaşma iyon kaynağı olarak, pozitif mod iyon modu olarak ve kapiler voltajı 1000 volt olarak seçilmiştir. Kolon ve otomatik örnekleyici sıcaklıkları, yeniden buharlaştırma (desolvatasyon) sıcaklığı ve akışı hızı sırasıyla 40 °C, 20 °C, 450 °C ve dakikada 0,15 mL olarak belirlenmiştir. Klorpirifosa ait ana iyon (m/z) 350,0; ana iyonun parçalanma ürünleri (m/z) 97,0 ve 198,0 olup ana iyonun ve parçalanmış iyonun belirlenmesi için 20 voltluk bir voltaj kullanılmıştır.

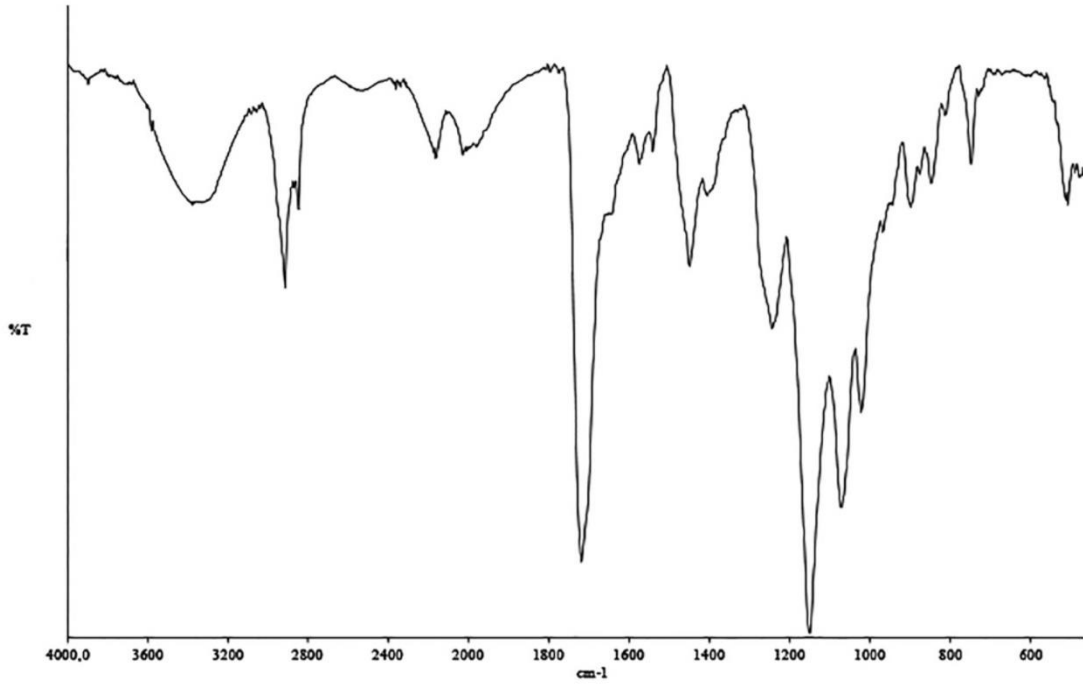
BÖLÜM 3

BULGULAR VE TARTIŞMA

3. 1. POLİMERİK SENSÖR MEMBRANIN KARAKTERİZASYONU

3. 1. 1. FTIR Analiz Sonuçları

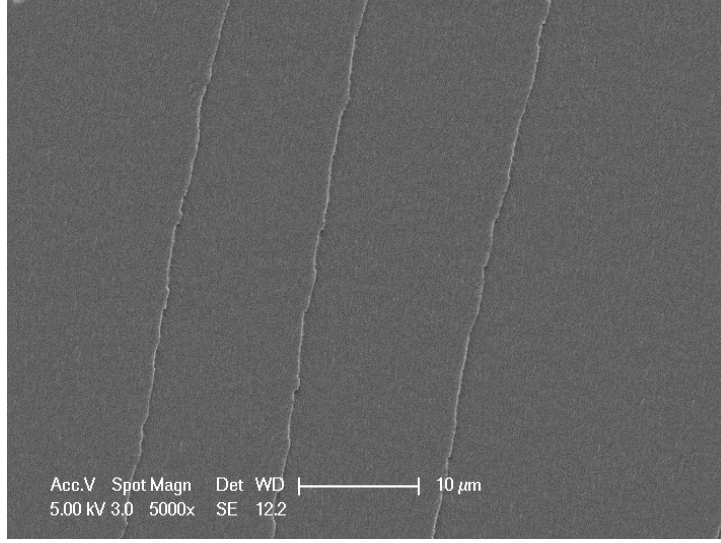
400-4000 cm^{-1} dalga boyu aralıklarınca yapılmış olan taramalar sonucu elde edilen polimerik membranın ATR-FTIR spektrumu Şekil 3.1'de gösterilmektedir. β -CD ve HEMA yapılarında bulunan O-H titreşimleri spektrumda 3384 cm^{-1} 'de gözlenmektedir. C-O gerilme titreşimine karşılık gelen pikler, sırasıyla 1023 cm^{-1} , 1072 cm^{-1} , 1151 cm^{-1} , 1245 cm^{-1} 'de görülür. 2918 cm^{-1} 'de görülen pik asimetrik $-\text{CH}_2$ -titreşimi göstermektedir. C = O bağlarının titreşimi 1719 cm^{-1} 'de gözlenmektedir. [54].



Şekil 3.1. Polimerik membranın ATR- FTIR spektrumu.

3.1.2. SEM Görüntüleri Sonuçları

Polimerik membrana ait yüzey morfolojisinin belirlenmesi amacıyla yapılan SEM ölçümüne ait görüntünün 5000 kat büyütüldüğü durum Şekil 3.2’de yer almaktadır. Ölçüm sonucunda membranın herhangi bir faz ayrılmaksızın, pürüzsüz, homojen, çatlaksız, kırıklı ve gözeneksiz bir yapıda olduğu görülmüştür.

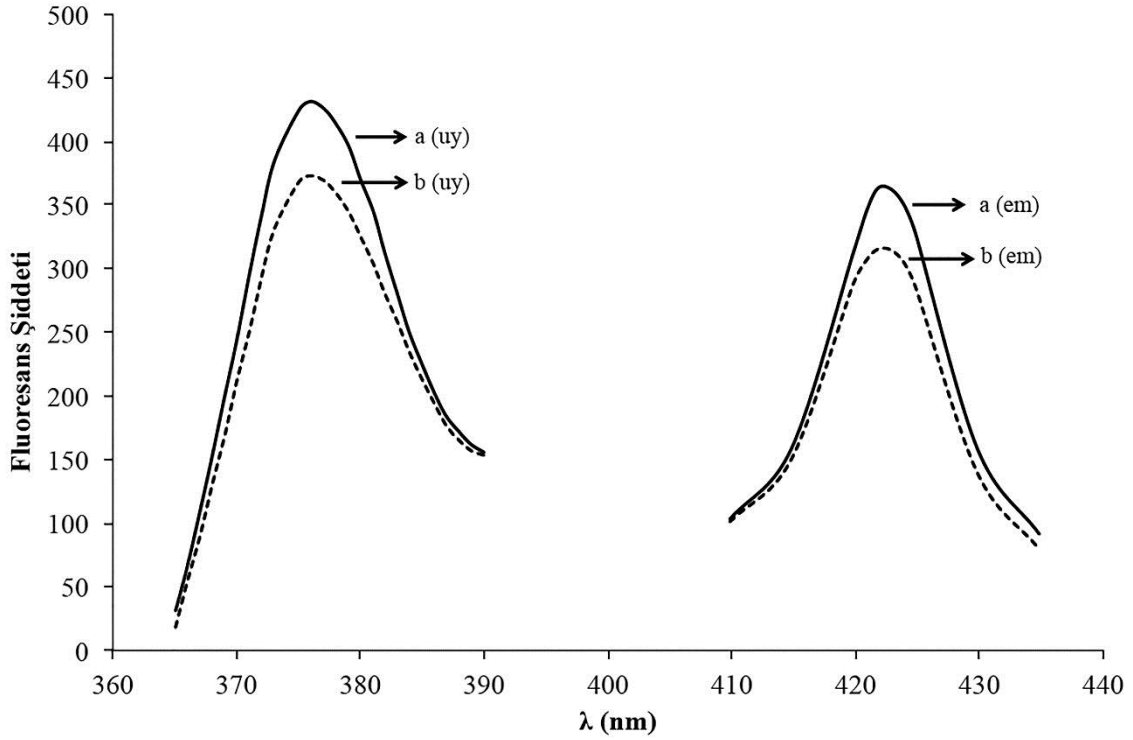


Şekil 3.2. Klorpirifos tayini için hazırlanan sensör membrana ait 5000 kat büyütülmüş SEM görüntüsü.

3. 2. POLİMER ESASLI SENSÖRÜN KLORPİRİFOS ANALİZİNDE KULLANIMINA UYGUNLUĞUNUN ARAŞTIRILMASI

3. 2 .1. Spektral Karakterizasyon Çalışmaları

Polimerik membranın $5,70 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹ klorpirifos varlığında uyarma ve emisyon dalgaboylarına karar vermek için spektrum taraması yapılmış ve Şekil 3.3’te verilen spektrum elde edilmiştir. Spektrum taraması yapılırken aynı zamanda farklı slit aralıkları ve farklı fotoçoğaltıcı tüp voltajları da denenmiş olup, ölçüm sonucunda uyarma ve emisyon dalgaboyları sırasıyla 376 nm ve 422 nm, slit aralığı 5 nm ve fotoçoğaltıcı tüp voltajı da 600 V olarak tespit edilmiş ve klorpirifos varlığında floresans şiddetinin arttığı görülmüştür.

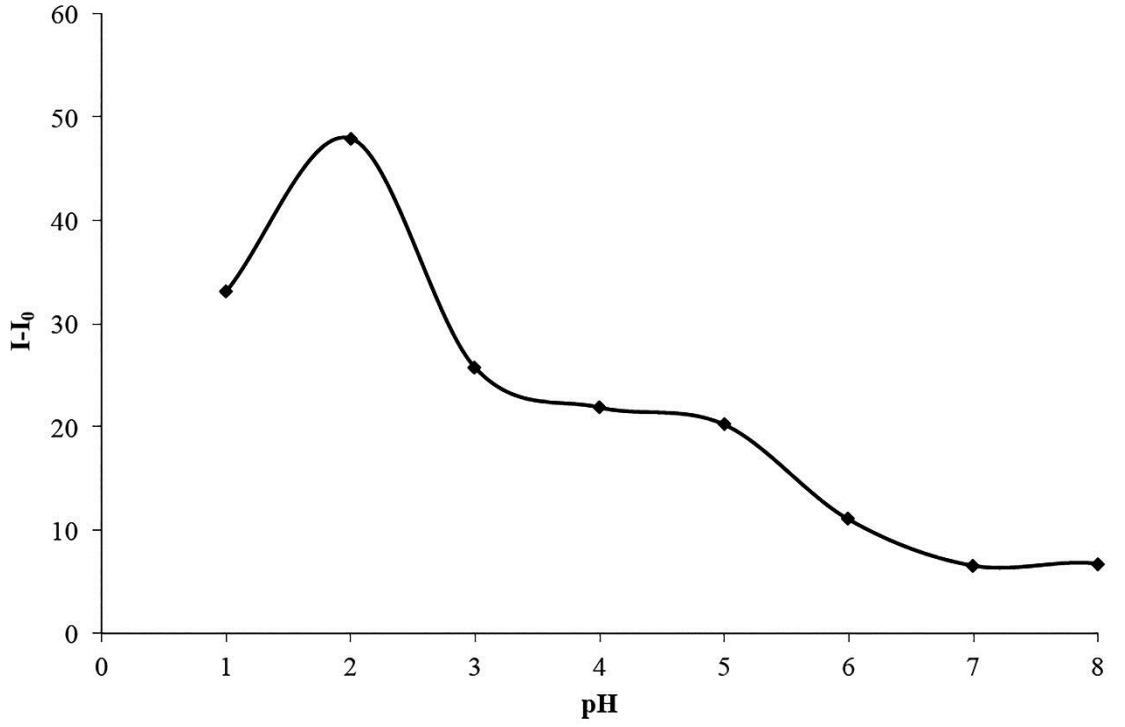


Şekil 3.3. $5,70 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹ klorpirifos varlığında (a) ve yokluğunda (b) sensörün uyarma ve emisyon şiddetlerini gösteren spektrumları ; ($\lambda_{uy} = 376$ nm, $\lambda_{em} = 422$ nm, slit aralıkları: 5 nm, fotoçoğaltıcı tüp voltajı: 600V)

3. 2 .2. Hazırlanan Sensör İçin En Uygun pH Değerinin Tespiti

Elde edilen polimerik sensöre pH etkisini incelemek amacıyla pH 1,0- 9,0 aralığında tampon çözeltiler kullanılarak ve $5,70 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹ klorpirifos çözeltisi yapılan ölçümler sonucunda 1,0 - 2,0 aralıklarındaki pH değerlerinde fluoressans şiddetinin artma gösterdiği ve maksimum şiddete Şekil 3.4'te görüldüğü gibi pH 2,0 değerinde ulaşıldığı ve bu değerden sonra ise azaldığı belirlenmiştir. Bu nedenle en uygun pH değerinin pH 2,0 olduğuna karar verilmiş ve daha sonraki çalışmalarda bu pH değeri esas alınmıştır.

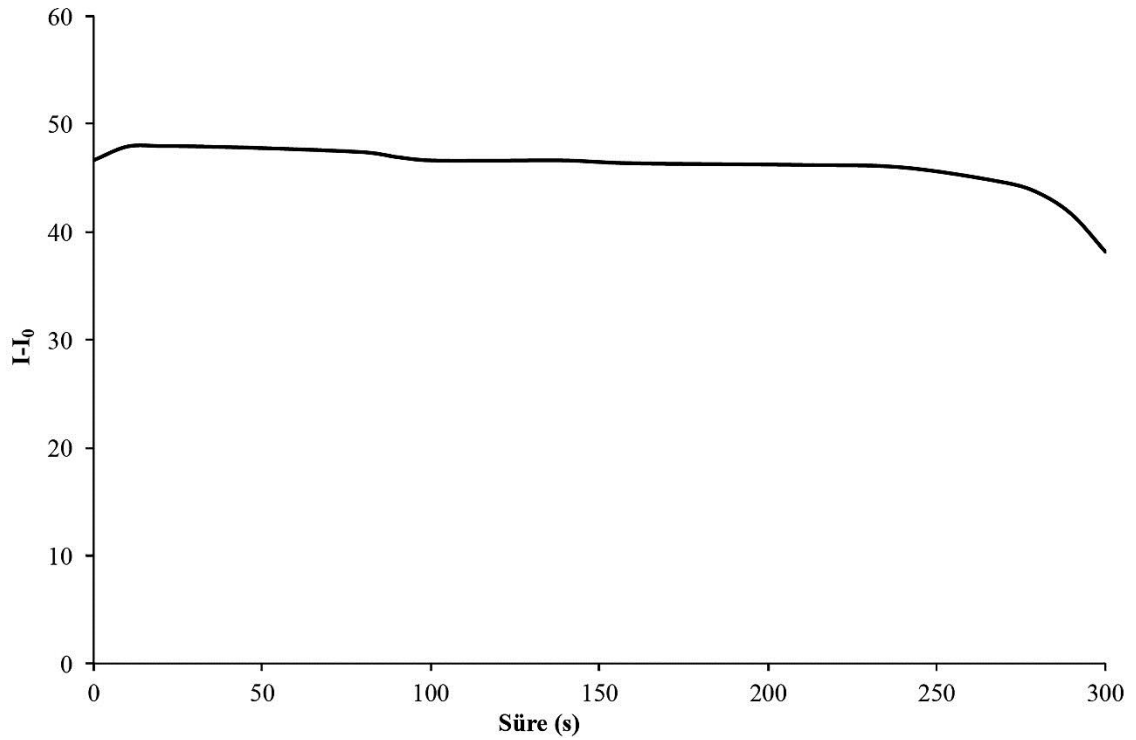
pH çalışması ile karar verilen pH:2 değeri, aynı zamanda klorpirifosun hidrolizinin çok yavaş, neredeyse hiç gerçekleşmediği bir pH olması sebebiyle de tayinin herhangi bir hidrolize mahal vermeyecek şekilde başarılı bir şekilde yapılmasına imkan sağlamaktadır.



Şekil 3.4. Floresans şiddeti üzerine pH etkisi.

3. 2 .3. Sensörün Cevap Verme Süresinin Tespit Edilmesi

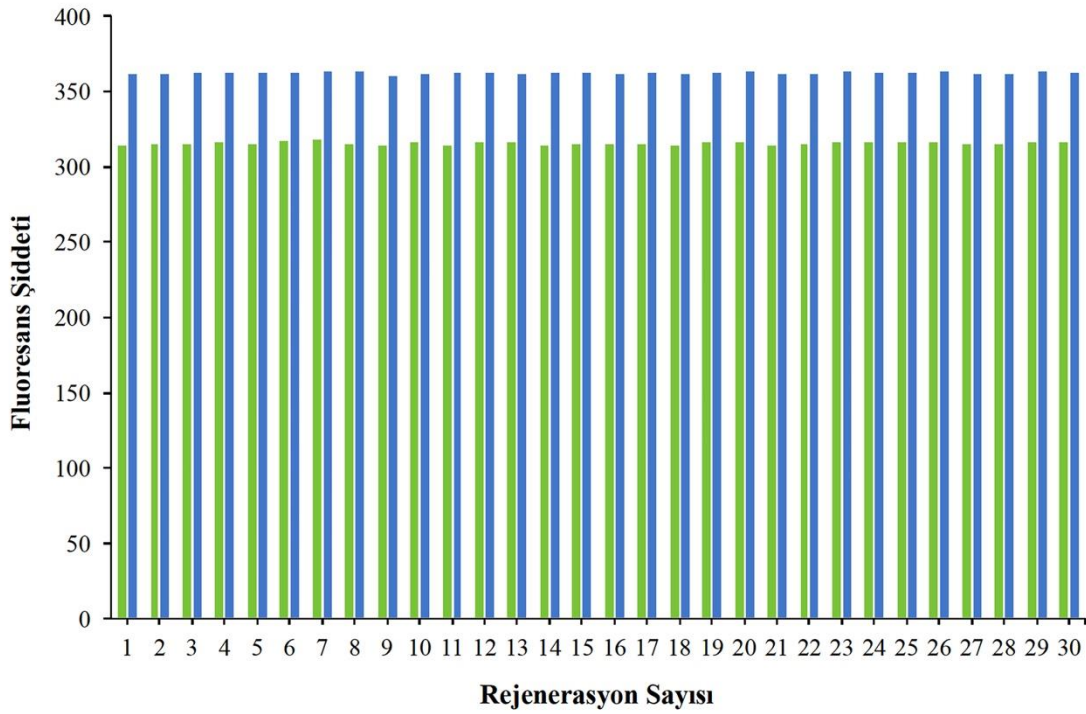
Polimerik membranın klorpirifosa karşı gösterdiği floresans şiddetindeki zamana karşı değişim 10 saniyelik zaman aralıklarıyla toplam 300 saniye süresince ölçülmüş olup; Şekil.3.5'teki grafikten de görülebileceği gibi floresans şiddetinin başlangıçtan 20. saniyeye kadar bir miktar arttığı, 20.saniyeden itibaren yaklaşık 280. saniyeye kadar floresans şiddetinde belirgin bir değişim olmadığı ve bu süre sonunda azalmaya başladığı görülmüştür. Floresans şiddetinin $5,70 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹ klorpirifos varlığında sabit kaldığı zaman aralığı olan 20-280 saniye aralığı analiz için en uygun süre olup bu aralığın başlangıcı olan 20.saniyeye yöntemimizde analiz için en az beklenilmesi gereken süre olarak karar verilmiştir.



Şekil 3.5. Sensörün floresans şiddetindeki zamana bağlı değişim grafiği (pH:2, $5,70 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹ klorpirifos varlığında)

3.2.4. Sensörün Rejenerasyonu ve Yeniden Kullanılabilirliği

Sensörün rejenerasyonu için sadece saf su ile 2 dakikalık bir yıkama yapılarak başlangıçtaki floresans şiddetinin elde edilebilir olduğu görülmüştür. Bu rejenerasyon işlemi sonucunda sensörün en az 100 defa kullanılabilir olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen rejenerasyon sonuçlarına ait sadece 30 rejenerasyon sonucunu gösteren grafik Şekil 3.6’da verilmiştir. Birinci ve 100. okunan değerler arasında membrana ait floresans şiddetlerinin standart sapması $\pm 1,57$ olarak hesap edilmiştir.



Şekil 3.6. Sensörün floresans şiddetinin $5,70 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ klorpirifosa maruz bırakıldıktan sonra saf su ile rejenerasyonu sonrası değişimi.

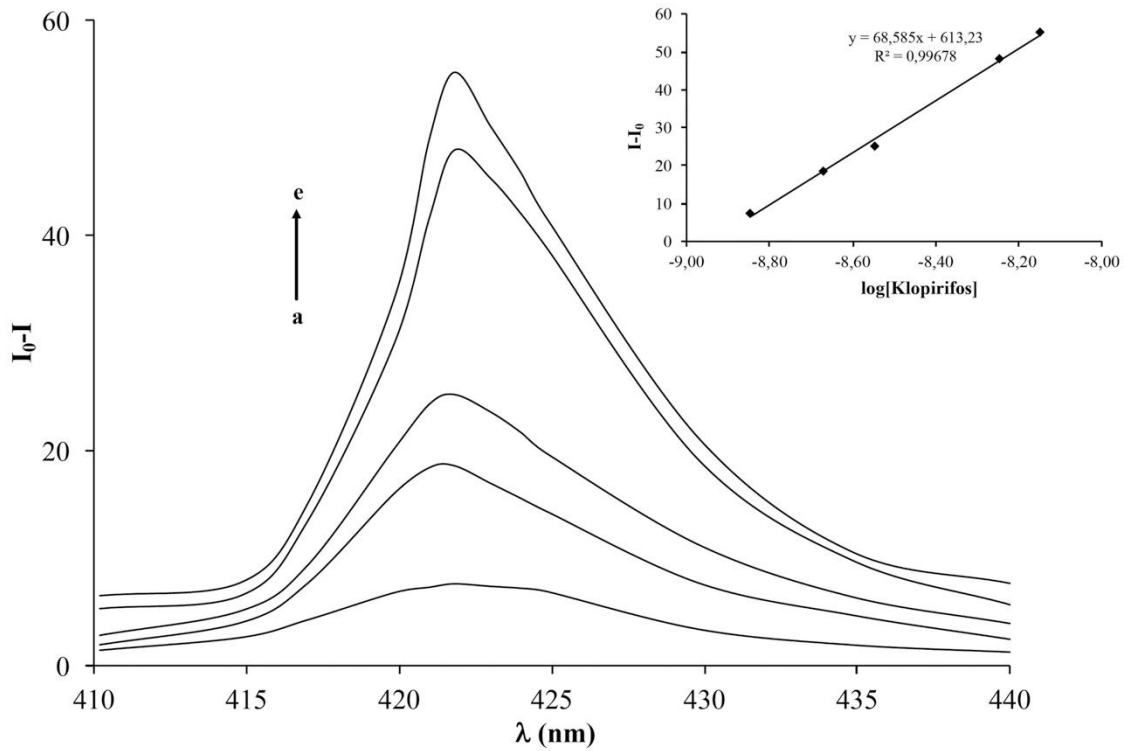
3.2.5. Kalibrasyon Aralığı , Tespit – Tayin Sınırları

Bu aşamaya kadar yürütülmüş olan çalışmalar sonucunda belirlenmiş olan uyarma ve emisyon dalgaboyları (376 nm/422 nm), en uygun pH ve süre değerleri (pH:2 ve 20 saniye) kullanılarak oluşturulan kalibrasyon grafiği ve kalibrasyon grafiği oluşturmak için kullanılan standart çözeltilere ait floresans spektrumları Şekil 3.7’de yer almaktadır.

İlgili grafikteki floresans spektrumları I_0 ve I , sırasıyla ortamda klorpirifos bulunmadığı ve farklı miktarlarda klorpirifos içeren (a → e) standart çözeltilerin bulunduğu durumlardaki floresans şiddetleri olmak üzere, 376 nm uyarma dalgaboyu kullanılarak elde edilen ait floresans spektrumları olmakla birlikte; küçük olarak gösterilen grafik bu standart çözeltiler kullanılarak hazırlanmış olan kalibrasyon grafiğini göstermektedir. Floresans spektrumlarından da görülebileceği gibi ortamdaki klorpirifos konsantrasyonu arttığında floresans şiddeti de artmaktadır. Kullanılan standart çözeltilerin harf kodlamalarına göre içerdiği klorpirifos konsantrasyonları: (a) $1,43 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ ($0,50 \mu\text{g L}^{-1}$) (b) $2,14 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ ($0,75 \mu\text{g L}^{-1}$) (c) $2,85 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ ($1,00 \mu\text{g L}^{-1}$) (d) $5,70 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ ($2,00 \mu\text{g L}^{-1}$) (e) $7,13 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ ($2,50 \mu\text{g L}^{-1}$) şeklindedir.

Kalibrasyon grafiği $1,43 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ - $7,13 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ ($0,5 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ - $2,5 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$) konsantrasyon aralığında doğrusal olmakla birlikte R^2 değeri 0,99678 olarak hesaplanmıştır. $7,13 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ değerinin üzerindeki konsantrasyonlar grafik doğrusallıktan saptığı için gösterilmemiştir.

Geliştirilen yönteme ait tespit ve tayin sınırı değerlerinin belirlenmesi için $1,43 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ ($0,5 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$) klorpirifos içeren ve pH:2 KCl/HCl zlti sistemi ile son hacme tamamlanan 7 farklı zltiyle ölçümler yapılmıştır. Tespit sınırı bu ölçüm sonuçlarından elde edilen standart sapma değerinin 3 katı (3ss), tayin sınırı ise 10 katı (10ss) olarak hesaplanmış olup değerler sırasıyla $4,44 \times 10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$ ($0,156 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$) ve $1,48 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ ($0,519 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$) olarak elde edilmiştir.



şekil 3.7. Ana grafik: 376 nm uyarma dalgaboyu kullanılarak elde edilen klorpirifos standart zltilerine ait floresans spektrumları (I_0 ve I , sırasıyla ortamda klorpirifos bulunmadığı ve bulunduğu durumlardaki floresans şiddetleri); İç kısımda yer alan grafik: Standart zltiler kullanılarak hazırlanmış kalibrasyon grafiği ($\lambda_{uy}/\lambda_{em}$: 376 nm/ 422 nm; pH:2; t :20 s).

3.2.6. Sensörün Ömrü, Kararlılığı, Tekrarlanabilirliği

Klorpirifos tayini için hazırlanan sensörün ömrü ve kararlılığını belirleyebilmek amacıyla, hazırlanan floresans sensör ışık görmeyen bir ortamda bekletilerek belirli zaman aralıklarında floresans şiddeti ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda klorpirifos tayininde kullanılan sensörün floresans şiddetinin 6 ay boyunca ilk ölçüm sonuçlarının $\pm\%$ 5'ini geçen bir değişim göstermediği görülmüştür.

Ayrıca sensörün kısa süreli kararlılığının belirlenmesi amacıyla karar verilmiş olan şartlar kullanılarak $5,70 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹ klorpirifos çözeltisi varlığında 10 saat süresince 15 dakikada bir floresans şiddeti ölçülmüş ve $\pm 1,43$ kadar düşük bir standart sapma değeri bulunmuştur.

Sonuçların tekrarlanabilirliğini ortaya koymak amacıyla yapılan çalışmada; aynı şartlar ve aynı formülasyon kullanılarak hazırlanmış olan 5 adet polimerik membran kullanılmıştır. Yine karar verilmiş şartlar altında yapılan ölçüm sonuçlarına ait standart sapma değeri $\pm 3,14$ olarak hesap edilmiştir.

3.2.7. Yabancı tür etkisinin incelenmesi

Sensörün floresans şiddeti üzerine girişim yapabilecek olan farklı organofosforlu pestisitlerin etkisi araştırılmıştır. Sensörün seçiciliği kanıtlamak amacıyla klorpirifos ile aynı pestisit grubunda yer alan, kimyasal yapıları benzer diğer organofosforlu pestisitler (malation, mevinfos, azinfos metil, cadusafos, fenamifos, jodfenfos, fenklorfos, heptenfos ve siyanofenfos) seçilmiştir. Hazırlanan bu çözeltilerin uyarma ve emisyon dalga boyları ölçüldüğünde geliştirdiğimiz yöntemle ait uyarma ve emisyon dalga boylarıyla herhangi bir çakışma olmadığı görülmüştür. $5,70 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹ klorpirifos varlığında ve yokluğunda, klorpirifosun 250 katından başlamak üzere, herhangi bir girişimin olmadığı kabul edilen başlangıçtaki floresans şiddetinin en fazla %5 kadar değiştiği konsantrasyon katına kadar her bir yabancı tür için yöntemimizde karar vermiş olduğumuz şartlarda floresans ölçümleri yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar incelenirken $5,70 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹ konsantrasyonundaki klorpirifos çözeltisinin tek başına vermiş olduğu floresans şiddetini en fazla $\pm\%$ 5 kadar değiştiren yabancı tür konsantrasyonu müsaade edilen üst sınır olarak belirlenmiştir. Bu değişime sebebiyet veren yabancı tür konsantrasyonu ve dolayısıyla bu yabancı türlere ait müsaade edilen üst limit konsantrasyonları (mol L⁻¹) Tablo 3.1'de verilmektedir. Sonuçlardan da görülebileceği

gibi bir çok organofosforlu pestisitlerin klorpirifos ile birlikte bulunması durumunda bile, örneğin malationun 106, fenklorfosun 25, Fenamifos ve cadufosun yaklaşık 30, azinfos-metilin ise klorpirifosun mol olarak yaklaşık 15 katı olması durumunda bile geliştirdiğimiz yöntem ile seçimli bir şekilde analiz yapılabilmektedir.

Tablo 3.1. Geliştirilen yöntemde ölçümler için belirlenen optimum şartlarda girişim yapabilecek muhtemel türlerin müsaade edilen konsantrasyon sınırları ($C_{\text{klorpirifos}}: 5,70 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$).

Yabancı Tür	Müsaade edilen üst limit ^a (mol L ⁻¹)
Malation	$6,05 \times 10^{-7}$
Mevinfos	$4,46 \times 10^{-8}$
Fenklorfos	$1,55 \times 10^{-7}$
Azinfos metil	$7,88 \times 10^{-8}$
Cadufos	$1,85 \times 10^{-7}$
Fenamifos	$1,65 \times 10^{-7}$
Jodfenfos	$6,25 \times 10^{-8}$
Heptenfos	$2,00 \times 10^{-8}$
Siyanofenfos	$1,65 \times 10^{-8}$

3.2.8. Sensörün Analitik Uygulamaları

Polen numunesinin ve üç farklı konsantrasyonda klorpirifos standart çözeltisi ilavesiyle zenginleştirme (spike) yapılan numunelerin geliştirdiğimiz yöntem ile yapılan analiz sonuçlarının UPLC/MS/MS ile yapılan analiz sonuçlarıyla karşılaştırıldığında; bağlı hatalarının %5'in altında bir sonuçla birbirlerine yakın çıktığı görülmüştür. Ayrıca geri kazanım değerleri incelendiğinde, klorpirifos konsantrasyonlarının polen numunelerine klorpirifos ilave edildikten sonra elde edilen toplam miktarın $\%100 \pm 5$ 'ini geçmeyecek şekilde başarılı olarak ölçülebildiği görülmüştür. Bütün bu sonuçlar ışığında yöntemimizin hızlı ve pratik olmasının yanı sıra bu bakımdan da başta UPLC/MS/MS cihazını kullananlar olmak üzere mevcut klorpirifos tayin yöntemlerine iyi bir alternatif olabileceği beklenmektedir.

Tablo 3.2. Geliştirilen yöntem ve UPLC/MS/MS cihazı ile yapılan gerçek numune analiz sonuçları (n=6).

Numune	İlave edilen klorpirifos (mol L ⁻¹)	Bu çalışma (mol L ⁻¹)	UPLC-MS/MS (mol L ⁻¹)	Bağlı Hata (%)
Polen	-	$(5,92 \pm 0,17) \times 10^{-9}$	$(5,81 \pm 0,02) \times 10^{-9}$	1,80
	$1,43 \times 10^{-9}$	$(7,50 \pm 0,36) \times 10^{-9}$	$(7,26 \pm 0,14) \times 10^{-9}$	3,35
	$2,85 \times 10^{-9}$	$(8,87 \pm 0,26) \times 10^{-9}$	$(8,72 \pm 0,07) \times 10^{-9}$	1,76
	$4,28 \times 10^{-9}$	$(1,05 \pm 0,06) \times 10^{-8}$	$(1,03 \pm 0,03) \times 10^{-8}$	2,43

Tablo 3.3. Geri kazanım çalışması sonuçları (n=6).

Örnek	İlave edilen klorpirifos (mol L ⁻¹)	Bu çalışma (mol L ⁻¹)	Geri Kazanım (%)
1	$1,43 \times 10^{-9}$	$(7,50 \pm 0,36) \times 10^{-9}$	103,8
2	$2,85 \times 10^{-9}$	$(8,87 \pm 0,26) \times 10^{-9}$	102,6
3	$4,28 \times 10^{-9}$	$(1,05 \pm 0,06) \times 10^{-8}$	104,2

Tablo 3.4. Musluk suyu ile yapılan geri kazanım çalışması sonuçları (n=6).

Örnek	İlave edilen klorpirifos (mol L ⁻¹)	Bu çalışma (mol L ⁻¹)	Geri Kazanım (%)
1	$1,43 \times 10^{-9}$	$(1,48 \pm 0,07) \times 10^{-9}$	103,2
2	$2,85 \times 10^{-9}$	$(2,97 \pm 0,08) \times 10^{-9}$	104,1

BÖLÜM 4

SONUÇLAR

Organofosfor bileşiklerine duyarlılıkları nedeniyle siklodekstrinler, bu son derece zehirli olan maddelerin tayini veya uzaklaştırılması gibi uygulamalar için dikkat çekmiş ve çekmeye devam etmektedir. Siklodekstrinler polar hidrofilik özellikte bir dış yüzeye ve hidrofilik ortamlarda hidrofob bileşikler için ev sahipliği yapmalarını sağlayan hidrofobik bir iç yüzeye sahiptir. Siklodekstrinlerin içinde bulunan boşluğun bir başka molekül tarafından doldurulmasıyla oluşan kompleks yapıya inklüzyon kompleksi denilmektedir. Makrohalka şeklindeki yapılarından dolayı siklodekstrinler, organofosfor bileşikleriyle kovalent olmayan etkileşimler yoluyla etkileşebilmektedir. Birçok sentetik pestisit, siklodekstrinler ile çoğunlukla kimyasal ve fiziksel yapılarında modifikasyonlarla sonuçlanan inklüzyon kompleksleri oluşturabilmektedir.

Organofosforlu pestisitlerin tayini için siklodekstrin ile arasında gerçekleşen etkileşimi inceleyen birçok çalışma mevcuttur. Hedef pestisit ve siklodekstrin yapısındaki oligosakarit arasındaki kompleksin kararlılığı, hidrofobik etkileşimler, hidrojen bağı ve Van der Waals kuvvetleri gibi zayıf etkileşimlere dayanmaktadır [55-59].

Coly ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada [43] 378 nm uyarma dalgaboyuna karşılık 428 nm emisyon dalgaboyunda, 20 dakika ışınlama süresi sonunda β -siklodekstrin ile klorpirifos arasında bir inklüzyon kompleksinin meydana geldiği ve pH: 4'te maksimum floresans şiddetine ulaştığı, bu pH değerinden sonra ise floresans şiddetinin düştüğü ortaya konulmuştur. Siklodekstrinin iç boşluğuna giren klorpirifos, çevresindeki su moleküllerinden izole edilmekte ve böylece uyarılmış hali sönümlenme işlemlerine karşı korunmaktadır. Ancak klorpirifosun yapısındaki 3 adet klor atomundan dolayı gerçekleşen sterik etki sebebiyle siklodekstrin ile kompleksleşme az da olsa engellenebilmektedir [55-59].

Çalışmamızın ilk aşamasında bir organofosforlu pestisit olan klorpirifos tayini için sensör olarak kullanacağımız polimerik membranın hazırlanması yapılmıştır. Bu amaçla, öncelikle klorpirifos ile kompleks verdiği bilinen β -siklodekstrin türevlendirilerek polimerleştirilebilen farklı bir bileşiği olan β -siklodekstrin akrilat monomeri haline dönüştürülmüştür. Elde edilen bu monomer reaktif monomer olmak üzere, 2-Hidroksietil metakrilat (HEMA) ve Hekzandioldiakrilat (HDDA) çapraz bağlayıcıları kullanılarak 2-

hidroksi-2-metil propiyofenon fotobaşlatıcısı varlığında UV-ışınlanarak klorpirifos tayininde kullanılmak üzere polimerik bir film elde edilmiştir. Ancak membran filmlerde tam kurumama, şeklen düzgün durmayıp kıvrılma, aşırı hidrofilik olup sulu ortamda çok hızlı şişme ya da sulu çözeltiyle geç etkileşme, suda veya farklı pH' larda dağılma gibi bir takım istenmeyen durumlar ortaya çıkabildiği için, bu işlem farklı oranlarda monomer içeren formülasyonlar ile yapılmış ve istenmeyen durumların gerçekleşmediği en uygun formülasyona karar verilmiştir. Buna göre en uygun formülasyon %1 β -siklodekstin akrilat, %49 HEMA, %50 HDDA monomerleri ve %3 fotobaşlatıcı içermekte olup en uygun ışınlama süresi ise 3 dakika olarak tespit edilmiştir.

Hazırlanan membranın yapısı ATR-FTIR, yüzey morfolojisi ise SEM ile aydınlatılmıştır. Ardından membranın klorpirifosa karşı davranışı incelenmiş ve literatüre de uygun şekilde β -siklodekstrinin akrilat türevini içeren membran ile klorpirifosun bir inklüzyon kompleksi verdiği ve aynı zamanda yine literatürdeki değerlere benzer şekilde uyarma ve emisyon dalgaboylarının sırasıyla 376 nm ve 422 nm olduğu tespit edilmiş, artan klorpirifos miktarı ile de floresans şiddetinin arttığı gözlenmiştir [43, 55-59]. İlgili grafikler Şekil 3.3 ve Şekil 3.7'de verilmektedir.

Daha önce klorpirifosun sulu ortamda pH'ya bağlı hidrolizi ile ilgili yapılan çalışmalar pH:4 ve daha büyük pH değerlerinde hidrolizin olduğunu bildirmektedir [26-31]. Yaptığımız pH'ya bağlı çalışmada elde ettiğimiz sonuç da literatür ile uyumlu olarak pH:2'nin üzerindeki pH'larda floresans şiddetinin azaldığını göstermektedir. Ancak bu pH değerinin üzerinde floresans şiddetinde azalma dışında klorpirifosa ait floresans spektrumunda herhangi bir değişim gözlenmemiştir. Bu elde ettiğimiz sonuç, klorpirifosun yapısındaki 3 adet klor atomundan dolayı gerçekleşen sterik etkiden dolayı β -siklodekstrin ile kompleksleşmenin az da olsa engellenebilmesi sebebiyle hidrolizin başlamış olduğunu ve elde edilen hidroliz ürün veya ürünlerinin pH:2'nin üzerindeki pH'larda floresansta azalmaya sebep olduğu şeklinde yorumlanmıştır. Ayrıca, literatürde ışınlama süresi 20 dakikadan daha fazla olduğunda floresans şiddetinde oldukça fazla bir azalma gözlenmiş ve bu durum klorpirifosun fotoparçalanmasıyla oluşan yeni türlerin, klorpirifos ile yarışmalı bir şekilde siklodekstrine karşı göstermiş olduğu kompleksleşme kabiliyetleriyle açıklanmıştır [55-59].

Zamana bağılı yaptığımız çalışmada ise pH:2’de klorpirifos ile polimerik membran etkileştirildikten sonra 5 dakika süresince floresans şiddetindeki değişim incelenmiştir. 20.saniyeden sonra floresans şiddetinde neredeyse hiç değişim gözlenmemesi, literatüre de uygun şekilde, kompleks oluşumu neticesinde siklodekstrin yapısındaki halkalı yapı içerisine giren klorprifosun nispeten korunması sebebiyle ışınlanmaya rağmen fotobozunmaya çok az uğraması olarak düşünülmüştür [55-59].

Sensörün çalışma aralığı olarak $1,43 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹ - $7,13 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹ klorpirifos konsantrasyonu bulunmuş olup tespit sınırı $4,44 \times 10^{-10}$ mol L⁻¹ ve ($0,156 \mu\text{g L}^{-1}$) olarak, tayin sınırı ise $1,48 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹ ($0,519 \mu\text{g L}^{-1}$) olarak hesap edilmiştir.

Sensörün sadece saf su ile 2 dakikalık bir yıkama yapılarak rejenere edilebildiği ve tek bir polimerik membranın en az 100 defa kullanılabildiği gözlenmiştir.

Sensörün 6 ay süresince belirli zamanlarda klorpirifos varlığında yapılan floresans şiddeti ölçümlerinde başlangıçtaki floresans şiddetinin $\pm\%$ 5’ini geçen bir değişim göstermediği görülmüştür. Böylelikle hazırlanmış olan polimerik membranın sensör özelliklerini kaybetmeksizin 6 ay boyunca kullanılabildiğine karar verilmiştir.

Sensörün seçiciliği belirlemek amacıyla girişim yapabilecek türlerin kabul edilebilir üst limitleri belirlenmiştir. Bu limitler; malation için $6,05 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹, mevinfos için $4,46 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹, fenklorfos için $1,55 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹, azinfos metil için $7,88 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹, cadufos için $1,85 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹, fenamifos için $1,65 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹, jodfenfos için $6,25 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹, heptenfos için $7,98 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹ ve siyanofenfos için $6,59 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹ olup, hazırlanan polimerik sensörün benzer yapıya sahip organofosforlu pestisitlerin varlığında bile seçici bir şekilde klorpirifos tayinine imkan sağladığı tespit edilmiştir.

Geliştirilen sensörün gerçek örneklerle uygulanabilirliğinin araştırılması kapsamında polen ve musluk suyu numuneleri kullanılmıştır. Ayrıca bu numuneler üç farklı konsantrasyonda klorpirifos standart çözeltisi ilavesiyle kirletilmiştir. Elde edilen numunelerin geliştirdiğimiz yöntem ve UPLC/MS/MS ile yapılan analizi sonuçları karşılaştırıldığında polen numunesi için bağıl hata değeri %1,80 olarak hesaplanmıştır. Ayrıca klorpirifos çözeltisi ile kirletilmiş numunelere ait geri kazanım değerleri polen numunesi için %103,8-%104,2 ; musluk suyu numunesi için % 103,2-%104,1 arasında bulunmuştur.

Tablo 4.1 klorpirifos tayininde kullanılan bazı tayin yöntemlerine ait analiz parametrelerini göstermektedir.

Her ne kadar tabloda verilen yöntemlere ait çalışma aralıkları yeterli ve tespit sınırları düşük bir seviyede görülse de pahalı cihazların kullanılması, yetişmiş personele ihtiyaç duyulması, yöntemlerin uzun zahmetli ön işlem gerektirmesi, reaksiyon şartlarının dikkatle kontrolünün sağlanması gibi olumsuzluklar bu yöntemleri dezavantajlı bir konuma getirmektedir. Ayrıca bal ve bal ürünlerinde Avrupa Birliği mevzuatına göre kabul edilen maksimum klorpirifos kalıntı limiti 0,05 ppm, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Kanada Sağlık Bakanlığı Su ve Hava Kalitesi Bürosu tarafından kabul edilen içme sularında en fazla bulunabilecek klorpirifos konsantrasyonu sırasıyla 30 ppb ve 90 ppb'dir. Hazırladığımız polimerik sensörü kullanılarak geliştirmiş olduğumuz yöntem ile bu değerlerdeki klorpirifos içeren su ve polen örnekleri seçici bir şekilde analiz edilebilmektedir [60-62]. Dolayısıyla yöntemimiz hem sağlamış olduğu tespit sınırı ve hem de çalışma aralığı olarak su ve polen örneklerindeki klorpirifos tayini için yeterli olabilmektedir. Yöntemimizin avantajları arasında hazırlamış olduğumuz polimerik sensörün kısa sürede hazırlanması, 20 saniye kadar kısa bir sürede klorpirifosun tayinine imkan tanınması ve nispeten daha ucuz bir cihazlanma gerektirmesi üstün yönler olarak göze çarpmakta ve yöntemimizi mevcut yöntemlere nazaran tercih edilebilir yapmaktadır.

Bu avantajlarına ilave olarak tek bir polimerik sensörün en az 100 defa kullanılması ve sadece saf su ile kısa sürede rejenere edilebilmesi yöntemimizin mevcut yöntemlere karşı üstünlüğü olarak göze çarpmaktadır.

Tablo 4.1 incelendiğinde Jiao ve arkadaşları tarafından geliştirilen dönüşümsel voltametri/aptasensör kullanılan yöntemde sensör 30 defa [71]; Kumaravel ve arkadaşlarının geliştirdiği dönüşümsel voltametri kullanılan nano-TiO₂/ selüloz asetat kompozit ile modifiye edilmiş camı karbon elektrot 40 defa [72]; Tang ve arkadaşları tarafından hazırlanmış perde baskılı gümüş elektrot 10 defa kullanılabilmesine rağmen [74]; bu yöntemler gerek analiz süresi, gerekse tespit sınırı olarak yöntemimizin gerisinde kalmaktadır. Tablo 4.1'te verilen yöntemler arasında Wang ve arkadaşları tarafından geliştirilmiş olan [81] altın nanopartikül ve moleküler baskılanmış polimerik sensör kullanılan yöntem her ne kadar tespit sınırı değeri bakımından yöntemimize yaklaşmış olsa da hem ölçüm süresinin uzun olması hem de daha önce bahsedilen moleküler

baskılanmış polimerlerden kaynaklanan sorunlar sebebiyle de yöntemimizin gerisinde kalmaktadır.

Sonuç olarak geliştirmiş olduğumuz yöntem oldukça hızlı, tekrar kullanılabilen sensör materyaline sahip, kolay hazırlanabilir ve aynı zamanda mevcut cihazlanmalar düşünöldüğünde nispeten ekonomik olması, düşük tespit sınırına sahip olması ve seçici bir şekilde klorpirifos tayininin yapılabilmesi bakımından mevcut yöntemler iyi bir alternatif yöntem olarak göze çarpmaktadır. Ayrıca çalışmamız gelecekte yapılacak olan çalışmalara katkı sağlayarak bu alandaki eksikliği de giderecektir. Yapılan tüm bu değeriendirmeler neticesinde polimerik floresans sensörün gerçek numunelerde de klorpirifos analizi için uygun olduğu anlaşılmaktadır.

Tablo 4.1. Geliştirdiğimiz yöntem ile seçilmiş bazı klorpirifos tayin yöntemlerinin karşılaştırılması.

Referans	Yöntem	Örnek	LOD	Süre	Doğrusal aralık	Geri Kazanım
63	GC/NPD	Bal	2 µg L ⁻¹	26,3 dak.	-	% 90,3
64	HPLC	Lahana, Karnabahar, Beyaz hardal	0,44 mg L ⁻¹	3,5 dak.	0-25 mg L ⁻¹	%96-103
65	QuEchERS-HPLC-FD	Elma, Greyfurt, Ispanak, Maydanoz, Mandalina	0,062 mg L ⁻¹	7 dak.	0,1-10 mg L ⁻¹	% 85,7- 90,3
66	Efervesan-LPME/ HPLC-UV-Vis.	Kabak	1,39 g L ⁻¹	5,4 dk.	10-50 g L ⁻¹	%97,80-101,97
67	Akış sitometrisi/ moleküler baskılanmış polimer	Musluk suyu	0,01 mg L ⁻¹	120 dk.	0,02-0,2 mg L ⁻¹	%92,8
68	Amperometrik/ AChE	Su kaynağı, Süt	5,0×10 ⁻⁶ mol L ⁻¹	30 dk.	1,0×10 ⁻⁶ -5,0×10 ⁻² mol L ⁻¹	%79,72-82,82
69	Fluoroimmunoassay	İçme suyu	8,4 µg L ⁻¹	30 dk.	15,2-205,5 µg L ⁻¹	%90,9-108,2
70	QuEchERS-DLLME/ GC-MS	Sebze	0,003 mg kg ⁻¹	60 dk.	0,01-5,0 mg L ⁻¹	%88-123
71	Aptasensör / CV	Çin lahanası, Pırasa, Kabak	0,33 µg L ⁻¹	40 dk.	1-10 ⁵ µg L ⁻¹	%98,5-107,2
72	DPV	Su	3,5 × 10 ⁻⁶ mol L ⁻¹	-	20,0× 10 ⁻⁶ –110 × 10 ⁻⁶ mol L ⁻¹	%96,28

Tablo 4.1. Geliştirdiğimiz yöntem ile seçilmiş bazı klorpirifos tayin yöntemlerinin karşılaştırılması. (Devam)

73	Fotoelektrokimyasal	Yeşil sebzeler	$1,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$	10s.	$0,2-16 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$	-
74	CV	Elma, hıyar	$2,5 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$	15 dk.	$0-25 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$	%101,81-107,42
75	CV/ AChE	-	$3 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$	20 dk.	$5 \times 10^{-9} - 1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$	-
76	Spektrofluorimetrik	Musluk suyu, Maden suyu, Atık su	$4,7 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$	-	$1,65-22 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$	%100,16-105
77	DPV	İçme suyu, Nehir suyu	$2,6 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$	10 s.	$2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1} - 1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$	-
78	IL-DLLME-HPLC	Musluk, Kuyu, Yağmur ve Nehir Suyu	$5 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$	5 dk.	$27,2-1089,0 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$	%87,3-117,6
79	GC-MS	Patlıcan, Domates, Karnabahar, Lahana, Salatalık, Patates, Havuç, Soğan	$1,6 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$	13,3 dk.	$2,5-500 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$	%83-95
80	Spektrofluorimetrik	Kabak	$3,5 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$	40 s.	$10^{-2}-1,0 \text{ mg L}^{-1}$	%89-112
81	Fotoelektrokimyasal/ Moleküler baskılanmış polimer	Yeşil sebzeler	$9,6 \times 10^{-10}$	15 dk.	$5 \times 10^{-8} - 1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$	%96-101,2
82	GC-ECD	Karnabahar, Patlıcan	$0,02-1,00 \text{ mg kg}^{-1}$	12,97 dk.	$0,005 \text{ mg kg}^{-1}$	%90,8-91,5
Bu çalışma	Spektrofluorimetrik	Polen	$4,40 \times 10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$ ($0,156 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$)	20 s.	$1,43 \times 10^{-9} - 7,13 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ ($0,5- 2,5 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$)	% 102,6 - %104,2

KAYNAKLAR

- [1] Yıldız, M., Gurkan, O., Turgut, C., (2006), Tarımsal Savaşımında Kullanılan Pestisitlerin Yol Açtığı Çevre Sorunları, Ziraat Mühendisleri Odası, Ankara 6-8.
- [2] Çakır, Ş., Yamanel, Ş., Böceklerde insektisidlere direnç. (2005), Gazi Üniversitesi Kırşehir Eğitim Fakültesi, 6 (1), 21-29.
- [3] Sungur, Ş., Tunur, Ç. (2012), Investigation of pesticide residues in vegetables and fruits grown in various regions of Hatay, Turkey. Food Additives Contaminants, 5(4), 265.
- [4] Bedendo, G. C., Jardim, I. C. S. F., Carasek, E., (2012), Multiresidue determination of pesticides in industrial and fresh orange juice by hollow fiber microporous membrane liquid–liquid extraction and detection by liquid chromatography electrospray tandem mass spectrometry. Talanta, 88, 573.
- [5] Hossain, M. S., Fakhrudin, A. N. M., Chowdhury, M. A. Z., Alam, M. K., (2013), Degradation of chlorpyrifos an organophosphorus insecticide in aqueous solution with gamma irradiation and natural sunlight. J Chem Eng, 1, 270–274.
- [6] Yücel, Ü., (2006), Pestisitlerin İnsan ve Çevre Üzerine Etkileri. Ankara Nükleer Araştırma ve Eğitim Merkezi, Nükleer Kimya Bölümü.
- [7] Güdücü, H., E., (2010), Gaz Kromatografi İle Bazı Triazol Ve Organo Fosfor Grubu Pestisitlerin Çoklu Analizi İçin Yöntem Geliştirilmesi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- [8] Çimen Türel, F., (2007), Farklı Toprak Tiplerinde Chlorpyrifos ve Primer Metaboliti TCP'nin Adsorpsiyon ve Desorpsiyon Özelliklerinin Belirlenmesi. Ankara Üniversitesi, Fen Bil. Ens., Toprak Anabilim Dalı, Doktora Tezi
- [9] Karakaya, M., Boyraz, N., (1992), Gıda Kirlenmesinde Pestisitler ve Korunma Yolları, Çevre Ekoloji Dergisi 1(4), 11-15.
- [10] Ağar, S., Aydınoglu, H., Orhan, T., İkizunal, K., Ece, H., (1991), Pestisit kullanımının tarihçesi, bugünü ve geleceği. Türk Entomoloji Dergisi, 15(4), 247-256.

- [11] Güler, Ç., Çobanoğlu, Z., (1997), Pestisitler. Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi No:52, T.C. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Ankara,Türkiye.
- [12] Çubuk, S., (2008), Bal örneklerinde indoxacarb kalıntısının ve bozunma ürünlerinin tayini için yöntem geliştirilmesi. Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Danışman: Prof. Dr. Adnan AYDIN.
- [13] Greve, P., (1988), Analytical Methods for Residues of Pesticides, 5th ed., SDU Publishers, The Hague, The Netherlands, Ministry of Welfare, Health and Public Affairs.
- [14] Chen, L., Song, F., Liu, Z., Zheng, Z., Xing, J., Liu, S., (2012), Multi residue method for fast determination of pesticide residues in plants used in traditional chinese medicine by ultra high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography A, 1225, 132.
- [15] Alavanja, M. C. R., Hoppin J. A.,Kamel , F., (2004), Health effect of chronic pesticide exposure, cancer and neurotoxicity. Annual Review of Public Health, 25, 155.
- [16] Beard, J.,(2006), DDT and human health. Science of the total environment, 355, 78.
- [17] T.C. Milli Eğitim Bakanlığı , (2012) , Çevre Sağlığı, Pestisitler 850CK0054 Ankara.
- [18] Ölek, E., Arpacık Y., Aydın, U., (2010), Pestisitler ve Çevreye Etkileri. İstanbul Üniversitesi, Kimya Bölümü, Bitirme Projesi.
- [19] www.tisit.org.tr (05.03.2018)
- [20] Abellan, C. L., Hernandez, J. A. G., Penalva, J. S., Fortera, M. I., Delicado, E. N., (2008), Preparation and characterization of the inclusion complex of chlorpyrifos in cyclodextrins to improve insecticide formulations. Journal of agricultural and food chemistry, 56 (17), 8081–8085.
- [21] Çetinkaya Açar, Ö., Kırış, S., Diler F., (2013), Gelişen Analiz Tekniklerinin Pestisit Analizlerine Yansıması Nereden Nereye?. 1. Bitki Koruma Ürünleri ve Makineleri Kongresi, Antalya.
- [22] Aaron, J. J., Coly, A., (1998), Fluorimetric analysis of pesticides: Methods, recent developments and applications, Talanta, 46, 815-843.

- [23] M.T. Moore , R. Schulz , .M. Cooper , S. Smith , J.H. Rodgers (2002), Mitigation of chlorpyrifos run off using constructed wetlands. *Chemosphere* 46 827–835.
- [24] Sapahin, H.,A.,B., (2016), Determination of Organophosphorus Pesticide Residues in Several Local Vegetables Using Solid Phase Micro-Extraction Coupled with Gas Chromatography. University Sains Malaysia , Master of Science.
- [25] Ay, R., Yaşar, B., Demirözer, O., Aslan, B.,Yorulmaz, S.;Kaya, M.,Karaca, İ. 31 (2007), Isparta ili elma bahçelerinde yaygın kullanılan bazı ilaçların kalıntı düzeylerinin belirlenmesi. *Türk. entomol. derg.*, 297-306.
- [26] George, N., Chauhan, P.S., Sondhi, S., Saini, S., Puri, N., Gupta, N., (2014), Biodegradation and analytical methods for detection of organophosphorous pesticide: Chlorpyrifos. *Int. J. Pure Appl. Sci. Technol.*, 20(2), 79-94.
- [27] Hui, T.J., Ariffin, M.M., Tahir, N.M., (2010), Hydrolysis of chlorpyrifos in aqueous solutions at different temperatures and pH. *The Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 14(2), 50-55.
- [28] Blanchet, P.-F., St-George, A., (1982), Kinetics of chemical degradation of organophosphorus pesticides. Hydrolysis of chlorpyrifos and chlorpyrifos-methyl in the presence of copper(II). *Pestic. Sci.* 13, 85-91.
- [29] Duirk, S.E., Collette, T.W., (2006) Degradation of chlorpyrifos in aqueous chlorine solutions: Pathways, kinetics, and modeling. *Environ. Sci. Technol.* 40, 546-551.
- [30] Singh, B.K., Walker, A., (2006), Microbial degradation of organophosphorous compounds, *FEMS Microbiol Rev.*, 30(3), 428-471.
- [31] Coulet, P., R., (1991), "What is a Biosensor?" Chapter 1; Biosensor principles and applications. Ed: Blum, L. J., Coulet, P. R., Marcel Dekker Inc., 1-6, New York.
- [32] P. Edelman and J. Wang,(1991), Biosensor and Chemical Sensors., 1-13, Washington.
- [33] Sutter J, Morf WE, DE Rooij NF, et al., (2004), *J Electroanal Chem*, 571 (1), 27.

- [34] Stetter, J., R., Penrose, W., R., Yao, S., (2003), Sensors, Chemical Sensors, Electrochemical Sensors, and ECS Journal of The Electrochemical Society. 150 (2), S11-S16.
- [35] Wolfbeis, O. S. (Ed.), (1991), Fiber Optic Chemical Sensors and Biosensors. Vol. 1, CRC Press, 385, London.
- [36] Y. Liu, T. Yu, (1997), Polymers and Enzyme Biosensors. J.M.S-REV. Macromol-Chem. Phys., C37 (3), 459-500.
- [37] D.R. Thèvenot, K. Toth, R. A. Drust, G. S. Wilson, (2001) Electrochemical biosensors: recommended definition and classification, Biosens. & Bioelec. 16, 121-131.
- [38] D. A. Skoog, F. J. Holler, T. A. Nieman, (1997), Principles of Instrumental Analysis. , 656-657, U.S.A.
- [39] Telefoncu A., (1999), Biyosensörlere Genel Bakış Ders Notları. Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyokimya Lisansüstü Yaz Okulu, 1-11.
- [40] Dinçkaya, E. (1999), Enzim Sensörleri. Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyokimya Lisansüstü Yaz Okulu, 81-142
- [41] Newcombe, D.T., Cardwell, T.J., Cattrall, R.W., Koley, S.D., (1999), An optical redox chemical sensor based on ferroin immobilised in a nafion membrane, Analytica Chimica Acta, 401, 137-144.
- [42] Hulanicki, A., Glab S., Ingman F., (1991), Chemical Sensors Definitions and Classification. Pure and Applied Chemistry, 63, 1247-1250.
- [43] Coly, A., Aaron, J. J., (1998), Cyclodextrin-enhanced fluorescence and photochemically-induced fluorescence determination of five aromatic pesticides in water. Analytica Chimica Acta, 360, 129-141.
- [44] K. Helrich (Ed.), (1990), Official Methods of Analysis of the AOAC. 15, 291-298, Arlington, USA.
- [45] Hasson, S., Schechter, I., (2000), In situ fluorimetric determination of pesticides on vegetables. Analytica Chimica Acta, 405, 9-15.
- [46] Pacioni, N. L., Veglia A.L., (2003), Determination of carbaryl and carbofuran in fruits and tap water by β -cyclodextrin enhanced fluorimetric method. Analytica Chimica Acta, 488, 193-242.

- [47] Morales, T.V., Esponda, S.M., Rodriguez, J.J.S., Aaron, S.E.; Aaron, J.J., (2010), Luminescence methods for study and determination of pollutants in the environment. *Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, 29, 1-42.
- [48] Zhang, W., Asiri, A.M., Liu, D., Du, D., Lin, Y., (2014), Nanomaterial-based biosensors for environmental and biological monitoring of organophosphorus pesticides and nerve agents. *Trends in Analytical Chemistry*, 54, 1–10.
- [49] Maciej Tankiewicz, Jolanta Fenik, Marek Biziuk, Determination of organophosphorus and organonitrogen pesticides in water samples, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, Volume 29, Issue 9, October 2010, Pages 1050–1063.
- [50] Magdic, S., Boyd-Boland, A., Jinno, K., Pawliszyn, J.B., (1996), Analysis of organophosphorus insecticides from environmental samples using solid-phase microextraction. *Journal of Chromatography A*. 736 (1996) 219-228.
- [51] Andreu, V., Pico, Y., (2012), Determination of currently used pesticides in biota. *Anal Bioanal Chem*. 404, 2659–2681.
- [52] Constantin, M., Bucatariu, S., Ascenzi, P., Simionescu B., Gheorghe, C.F., (2014), Poly(NIPAAm-c24 α - β -cyclodextrin) microgels with drug hosting and temperature-dependent delivery properties. *Reactive & Functional Polymers*, 84, 1–9.
- [53] Ojeda, C.B., Torres, A.G., Rojas, F.S., Pavon J.M.C., (1987), Fluorimetric Determination of Trace Amounts of Gallium in Biological Tissues. *Analyst*, 112, 1499.
- [54] Demir, S., Kahraman, M.V., Bora, N., Kayaman Apohan, N., Ogan, A., (2008), Preparation, Characterization, and Drug Release Properties of Poly(2-hydroxyethyl methacrylate) Hydrogels having β -Cyclodextrin Functionality. *J. Appl. Polym. Sci.*, 109, 1360–1368.
- [55] Letort, S., Balieu, S., Erb, W., Gouhier, G., Estour, F., (2016), Interactions of cyclodextrins and their derivatives with toxic organophosphorus compounds. *Beilstein J. Org. Chem.*, 12, 204–228.

- [56] Kamiya, M., Nakamura, K., (1994), Studies on the Susceptibility to Alkaline Hydrolysis of Inclusion Complexes of Organophosphorothioate Pesticides with β -Cyclodextrins. *Pestic. Sci.*, 1994, 41, 305-309.
- [57] George, N., Chauhan, P.S., Sondhi, S., Saini, S., Puri, N., Gupta, N., (2014), Biodegradation and Analytical Methods for Detection of Organophosphorous Pesticide: Chlorpyrifos. *Int. J. Pure Appl. Sci. Technol.*, 20(2) ,79-94.
- [58] Shigemasa, I., Kamiya, M., (1999), Cyclodextrin inclusion: catalytic effects on the degradation of organophosphorus pesticides in neutral aqueous solution. *Chemosphere*, 39(10),1595-1600.
- [59] Kamiya, M., Nakamura, K., Sasaki, C., (1995), Inclusion effects of β -cyclodextrins on the hydrolysis of organophosphorus pesticides. *Chemosphere*, 30 (4), 653-660.
- [60] (COMMISSION REGULATION (EU) 2016/60 of 19 January 2016 amending Annexes II and III to Regulation (EC) No 396/2005 of the European Parliament and of the Council as regards maximum residue levels for chlorpyrifos in or on certain products)
- [61] Guidelines for drinking-water quality: fourth edition incorporating the first addendum. Geneva: World Health Organization; 2017. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- [62] Health Canada (2017). Guidelines for Canadian Drinking Water Quality—Summary Table. Water and Air Quality Bureau, Healthy Environments and Consumer Safety Branch, Health Canada, Ottawa, Ontario.
- [63] Seçilmiş, H. S., Ögüt, S., Yılmaz, M., Küçüköner, E., (2012), Seçilen Bazı Pestisitlerin Bal Örneklerinde Analizi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bil. Ens. Dergisi, 16(1), 1-15.
- [64] Panggabean, A., S., (2016), Analysis of chlorpyrifos residue in vegetables by using High Performance Liquid Chromatography (HPLC) technique. *Kimia FMIPA Unmul*, 13(2), 2476-9258.
- [65] Hazer, O., Akkik, M., Demir, D., Turhan, Y., (2017), Determination of Carbendazim and Chlorpyrifos in Selected Fruits and Vegetables Samples Using QuEChERS-HPLC-FD. *Eurasian Journal of Analytical Chemistry*, 12(2),17-30.

- [66] Handajani, U.S., Raharjo, Y., Wantoro, B., (2017), Determination of Chlorpyrifos Pesticide by Effervescence Liquid Phase Microextraction HPLC UV-VIS. *Journal of Chemical Technology and Metallurgy*, 52, 6, 1056-1061.
- [67] Zhang, H., Wang, P., Zhou, Q., Wang Y., (2017), Novel Method for the Detection of Chlorpyrifos by Combining a Quantum Dot Labeled Molecularly Imprinted Polymer with Flow Cytometry. *Analytical Letters*, 50(12)1-14.
- [68] Rodriguez, D.C., Carvajal, S., Penuela, G., (2013), Effect of chlorpyrifos on the inhibition of the enzyme acetylcholinesterase by cross-linking in water-supply samples and milk from dairy cattle. *Talanta*, 111, 1–7.
- [69] Chen, Y.P., Ning, B., Liu, N., Feng, Y., Liu, Z., Liu, X., Gao, Z.X., (2010) A rapid and sensitive fluoroimmunoassay based on quantum dot for the detection of chlorpyrifos residue in drinking water, *Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*. 45(6), 508-515.
- [70] Rai, S., Singh, A.K., Srivastava, A., Yadav, S., Siddiqui, M.H., Mudia, M.K.R., (2016), Comparative Evaluation of QuEChERS Method Coupled to DLLME Extraction for the Analysis of Multiresidue Pesticides in Vegetables and Fruits by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Food Analytical Methods*, 9(9), 2656–2669.
- [71] Jiao, Y., Jia, H., Guo, Y., Zhang, H., Wang, Z., Sun, X., Zhao, J.,(2016), An ultrasensitive aptasensor for chlorpyrifos based on ordered mesoporous carbon/ferrocene hybrid multiwalled carbon nanotubes. *RSC Adv.*, 6, 58541–58548.
- [72] Kumaravel, A., Chandrasekaran N., (2015), Electrochemical Determination of Chlorpyrifos on a Nano-TiO₂/ Cellulose Acetate Composite Modified Glassy Carbon Electrode. *J. Agric. Food Chem.*, 63, 6150–6156.
- [73] 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 Chlopyrifos. *Analytical Chemistry*, 83, 9681–9686.

- [74] Tang, W., Fan, K., Zhou, J., Wu, J., Ji F., (2015), Unmodified screen-printed silver electrode for facile detection of organophosphorus pesticide. *Ionics*, 21, 587–592.
- [75] Xia, N., Zhang, Y., Chang, K., Gai, X., Jing, Y., Li, S., Liu, L., Qu, G., (2015), Ferrocene-phenylalanine hydrogels for immobilization of acetylcholinesterase and detection of chlorpyrifos. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 746, 68–74 (asetilkolinesteraz temelli elektrokimyasal biyosensör)
- [76] Azab, H.A., Anwar, Z.M., Rizk, M.A., Khairy, G.M., El-Asfoury, G.M., (2015), Determination of organophosphorus pesticides in water samples by using a new sensitive luminescent probe of Eu(III) complex. *Journal of Luminescence*, 157, 371–382.
- [77] Fischer, J., Hajkova, A., Pereira, M., Krecek, M., Vyskocil, V., Barek, J., (2016), Investigation of Voltammetric Behaviour of Insecticide Chlorpyrifos on a Mercury Meniscus Modified Silver Solid Amalgam Electrode. *Electrochimica Acta*, 216, 510–516.
- [78] He, L., Luo, X., Xie, H., Wang, C., Jiang, X., Lu, K., (2009), Ionic liquid-based dispersive liquid–liquid microextraction followed high-performance liquid chromatography for the determination of organophosphorus pesticides in water sample. *Analytica Chimica Acta*, 655, 52–59.
- [79] Chowdhury, M.A.Z., Fakhruddin, A.N.M., Islam, Md. N., Moniruzzaman, M., Gan, S.H. Md., Alam, K., (2013), Detection of the residues of nineteen pesticides in fresh vegetable samples using gas chromatography-mass spectrometry. *Food Control*, 34, 457-465.
- [80] Aifang, L., , Xiaoyu, L. , Juan, K. , Rong, H., Chengmou, W., (2008) Chemiluminescence Determination of Organophosphorus Pesticides Chlorpyrifos in Vegetable. *Analytical Letters*, 41(8), 1375-1386.
- [81] Wang, P., Dai, W., Ge, L., Yan, M., Ge, S., Yu, J., (2013), Visible light photoelectrochemical sensor based on Au nanoparticles and molecularly imprinted poly(o-phenylenediamine)-modified TiO₂ nanotubes for specific and sensitive detection chlorpyrifos. *Analyst*, 138, 939–945.

- [82] Chandra, S., Mahindrakar, A.N., Shinde, L.P., (2010), Determination of Cypermethrin and Chlorpyrifos in Vegetables by GC-ECD. International Journal of ChemTech Research, 2(2), 908-911.

ÖZGEÇMİŞ

1989 yılında Gebze’de doğdu. İlköğretim ve lise eğitimini (Yabancı Dil Ağırlıklı Lise) Gebze’de tamamladı. 2007–2012 yılları arasında Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen / Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü’ nü bitirdi. 2013 yılında Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Programı, Analitik Kimya Anabilim Dalı’nda lisansüstü eğitimine başladı ve halen devam etmektedir.

Tezden Türetilen Sunum

ÇALIŞKAN A., ÇUBUK S., YETİMOĞLU E.K., KAHRAMAN M.V. (2016). *Klorpirifos Analizi İçin Polimer Esaslı Optik Sensör Geliştirilmesi*, IV. Eser Analiz Kongresi, Sakarya, Türkiye.

Aynur ÇALIŞKAN