**T.C.**

**DİCLE ÜNİVERSİTESİ**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

# PESTİSİT TAYİNİ İÇİN MOLEKÜLER BASKILAMA TEMELLİ YÜZEY PLAZMON REZONANS VE KUVARS KRİSTAL MİKROTERAZİ SENSÖRLERİN HAZIRLANMASI

**Oğuz ÇAKIR**

**DOKTORA TEZİ**

**KİMYA ANABİLİM DALI**

**DİYARBAKIR**

**ŞUBAT-2017**

T.C.

DİCLE ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

DİYARBAKIR

Oğuz ÇAKIR tarafından yapılan "Pestisit Tayini İçin Moleküler Baskılama Temelli Yüzey Plazmon Rezonans (SPR) ve Kuvars Kristal Mikroterazi (QCM) Sensörlerin Hazırlanması" konulu bu çalışma, jürimiz tarafından Kimya Anabilim Dalında DOKTORA tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyesinin

| Ünvanı | Adı Soyadı |
|---|---|
| Başkan | : Prof. Dr. Çetin AYTEKİN |
| Üye | : Prof. Dr. Zübeyde BAYSAL (Danışman) |
| Üye | : Prof. Dr. Sinan AKGÖL |
| Üye | : Prof. Dr. Fikret UYAR |
| Üye | : Yrd. Doç. Dr. Nurullah AKCAN |

Tez Savunma Sınavı Tarihi: 20/02/2017

Yukarıdaki bilgilerin doğruluğunu onaylarım.

.../...../2017

Doç. Dr. Sevtap SÜMER EKER

ENSTİTÜ MÜDÜRÜ V.

( MÜHÜR )

## TEŞEKKÜR

Bu tezin planlanmasında ve gerçekleştirilmesinde teorik bilgi birikiminden pratik uygulamalara dek bütün süreçlerde bilgi ve tecrübesinden yararlandığım, bana büyük anlayış, sabırla yaklaşan, yardım elini hiçbir zaman esirgemeyen değerli danışman hocam Prof. Dr. Zübeyde BAYSAL'a teşekkür ederim.

Tez çalışmam sırasında her konuda fikir ve yardımlarını esirgemeyen, ikinci tez danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Fatma YILMAZ'a teşekkür ederim.

Bu tezin planlanmasında ve gerçekleştirilmesinde bilgi ve tecrübesinden yararlandığım Hacettepe Üniversitesi öğretim üyesi değerli hocam Prof. Dr. Adil Denizli'ye yol göstericiliği ve değerli katkılarından dolayı ve özellikle biyokimya araştırma grubuna dahil olmama imkan verdiği için teşekkürü bir borç bilirim.

Doktora eğitimim süresince araştırma laboratuvarı imkanlarından faydalanmamda desteğini esirgemeyen Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı değerli hocam Prof. Dr. Çetin AYTEKİN'e teşekkür ederim.

Kromatografi çalışmalarında yardımlarını ve desteğini esirgemeyen değerli arkadaşlarım Yrd. Doç. Dr. Mustafa Abdullah YILMAZ ve Uzman İsmail YENER'e, teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım sırasında fikir ve yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Dr. Murat YAVUZ'a teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında her zaman beni destekleyen, sorunları ve sıkıntılı süreçleri paylaşan, çalışmalarımda yardımını esirgemeyen arkadaşım Monireh BAKHSPOUR'a, teşekkür ederim.

Tez çalışmam sırasında sık sık ayrı kaldığım ve her zaman her koşulda yanımda olan, desteğini esirgemeyen sevgili Ailem'e, teşekkür ederim.

Tez çalışmalarımın bir kısmını yürüttüğüm Dicle Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (DÜBTAM)'ne teşekkür ederim.

Bu çalışma, TÜBİTAK 3001 Başlangıç Ar-Ge projeleri Destekleme Programı tarafından desteklenmiştir (Proje No: 115Z126). Destek sağlayan TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

# İÇİNDEKİLER


| | | Sayfa |
|---|---|---|
| **TEŞEKKÜR** | | I |
| **İÇİNDEKİLER** | | II |
| **ÖZET** | | VIII |
| **ABSTRACT** | | X |
| **ÇİZELGE LİSTESİ** | | XII |
| **ŞEKİL LİSTESİ** | | XIV |
| **KISALTMA VE SİMGELER** | | XIX |
| **1.** | **GİRİŞ** | 1 |
| **2.** | **KAYNAK ÖZETLERİ** | 5 |
| 2.1. | Pestisitler…….. | 5 |
| 2.1.1. | Pestisitlerin Tarihçesi | 5 |
| 2.1.2. | Pestisitlerin Genel Özellikleri | 6 |
| 2.1.3. | Pestisitlerin Sınıflandırılması | 7 |
| | - Klorlandırılmış hidrokarbonlar | 8 |
| | - Organik fosforlu pestisitler…. | 8 |
| | - Karbamatlı insektisitler…. | 9 |
| 2.1.4. | Pestisitlerin Yayılımı | 11 |
| 2.1.4.1. | Hava Yolu ile Yayılım | 11 |
| 2.1.4.2. | Su Yolu ile Yayılım | 12 |
| 2.1.4.3. | Yiyecekler Aracılığı ile Yayılım | 12 |
| 2.1.4.4. | Toprak Aracılığıyla Yayılım | 12 |
| 2.1.5. | Pestisitlerin Kullanım Alanları | 13 |
| 2.1.6. | Metabolizması | 13 |
| | - Asetilkolin esteraz (AChE) | 14 |
| | - Sitokrom $P_{450}$ redüktaz | 14 |

- Glutatyon-S-transferaz (GST)..... 14
2.1.7. Pestisitlerin İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri..... 14
2.1.7.1. Pestisitlerin Sağlık Üzerine Akut Etkileri..... 15
2.1.7.2. Pestisitlerin Sağlık Üzerine Kronik Etkileri..... 15
- Kanser..... 15
- Doğum defektleri..... 15
- Nörotoksisite..... 16
- Nörodavranışsal bozukluklar..... 16
2.1.8. Çalışmalarda Kullanılan Pestisitler…..... 16
2.1.8.1. Dimetoat……..... 16
2.1.8.2. Karbofuran……..... 17
2.2. Moleküler Baskılama Teknolojisi..... 18
2.2.1. Moleküler Baskılama Tekniği..... 19
- Ön-kompleksleşme..... 19
- Polimerizasyon..... 19
- Hedef (Kalıp) molekülün uzaklaştırılması..... 19
2.2.1.1. Hedef (Kalıp) Molekül..... 20
2.2.1.2. Fonsiyonel Monomerler..... 21
2.2.1.3. Çapraz Bağlayıcılar..... 21
2.2.1.4. Başlatıcılar..... 22
2.2.2. Moleküler Baskılama Yöntemleri..... 22
2.2.2.1. Kovalent Baskılama..... 22
2.2.2.2. Kovalent Olmayan Baskılama..... 23
2.2.3. Baskılama İşleminin Kontrolü..... 23
2.2.4. Moleküler Baskılanmış Polimerlerin Uygulama Alanları..... 24
2.3. Kuvars Kristal Mikroterazi (QCM)..... 25

| | | |
|---|---|---|
| 2.3.1. | Sensörler..... | 25 |
| 2.3.1.1. | Piezoelektrik Kristalli Biyosensörler (Kütle Duyarlı Biyosensörler)…….. | 26 |
| 2.4. | Yüzey Plazmon Rezonans (SPR)..... | 32 |
| 2.4.1. | Yüzey Plazmon Rezonans Teorisi..... | 33 |
| 2.4.2. | Yüzey Plazmon Rezonans (SPR) Biyosensörler..... | 37 |
| 2.5. | Pestisit Kalıntılarının Analizinde Kullanılan Önemli Analitik Teknikler..... | 38 |
| 2.5.1. | Gaz Kromatografisi (GC)..... | 39 |
| 2.5.2. | HPLC Teknikleri..... | 40 |
| 2.5.2.1. | HPLC ile Beraber Kullanılan Dedektörler..... | 42 |
| 2.5.3. | LC-MS Teknikleri..... | 42 |
| 2.5.3.1. | LC-MS/MS (Sıvı Kromatografisi Tandem Kütle Spektrometresi)..... | 43 |
| 2.5.3.2. | LCMSIT-TOF Hibrit Cihaz Sistemi..... | 44 |
| 2.6. | Yapılan Literatür Çalışmaları…….. | 45 |
| **3.** | **MATERYAL VE METOT**..... | 53 |
| 3.1. | Kullanılan Kimyasallar..... | 53 |
| 3.2. | Cihazlar ve Diğer Gereçler..... | 53 |
| 3.3. | QCM ve SPR Sensör Sistemleri için Fonksiyonel Monomer (MATrp)'in Sentezi ve Karekterizasyonu..... | 54 |
| 3.3.1. | N-metakriloil-(L)-triptofan metil ester (MATrp) Monomerinin Sentezi..... | 54 |
| 3.3.2. | MATrp Monomerinin Karakterizasyonu..... | 54 |
| | - FTIR-ATR Analizi..... | 54 |
| 3.4. | QCM ve SPR Sensör Çiplerinin Allil Merkaptan ile Yüzey Modifikasyonu..... | 54 |
| 3.5. | Moleküler Baskılanmış ve Baskılanmamış QCM -SPR Sensör Yüzeylerinin Hazırlanması..... | 55 |
| 3.6. | Kalıp Molekül Olarak Kullanılacak Pestisit-Monomer Oranının Optimizasyonu……..... | 58 |
| 3.7. | QCM ve SPR Sensör Çip Yüzeylerine Tutturulan Baskılanmış ve Baskılanmamış Nanofilmlerin Karakterizasyonu..... | 58 |

| | | |
|---|---|---|
| 3.7.1. | FTIR-ATR Spektrofotometre Analizi..... | 58 |
| 3.7.2. | Atomik Kuvvet Mikroskopisi…..... | 58 |
| 3.7.3. | Elipsometre..... | 59 |
| 3.7.4. | Temas Açısı Ölçümleri..... | 59 |
| 3.8. | QCM ve SPR Sensörleri için Kalıp Molekülün Baskılanmış Polimerden Desorpsiyonu..... | 59 |
| 3.9. | QCM ve SPR Sensörlerle Kinetik Analizler..... | 60 |
| 3.9.1. | QCM Sensörle Kinetik Analizler..... | 60 |
| 3.9.2. | SPR Sensörle Kinetik Analizler..... | 60 |
| 3.10. | QCM ve SPR Sensörlerle Yarışmalı Kinetik Analizler..... | 61 |
| 3.11 | QCM ve SPR Sensörler ile Tekrar Kullanılabilirlik Analizleri……... | 62 |
| 3.12. | QCM ve SPR Sensörler ile Doğal Kaynaktan Kinetik Analizler..... | 62 |
| 3.13. | LC-MS/MS ve LC-MS-IT-TOF Çalışmaları..... | 62 |
| 3.13.1. | Örneklerin Hazırlanışı..... | 62 |
| 3.13.2. | LC-MS/MS Cihazı ve Kromatografik Şartlar..... | 62 |
| 3.13.3. | LCMS IT-TOF Cihazı ve Kromatografik Şartlar..... | 63 |
| **4.** | **BULGULAR VE TARTIŞMA**..... | 65 |
| 4.1. | MATrp Monomerinin Sentezi ve Karakterizasyonu..... | 65 |
| 4.2. | Polimerlerin FTIR-ATR Spektrumları..... | 66 |
| 4.3. | QCM Sensör Yüzeylerinin Karakterizasyonu..…….…….…..... | 68 |
| 4.3.1. | Temas Açısı Ölçümleri ……..... | 68 |
| 4.3.2. | Atomik Kuvvet Mikroskop Analizleri ……..... | 70 |
| 4.3.3. | Elipsometre Analizleri…….…..... | 72 |
| 4.4. | Dimetoat Baskılı QCM Sensörle Kinetik Analizler..... | 73 |
| 4.4.1. | Denge ve Bağlanma Kinetik Analizi..... | 81 |
| 4.4.2. | Denge İzoterm Modelleri..... | 83 |

| | | |
|---|---|---|
| 4.4.3. | Yarışmalı Kinetik Analizler ve Baskılama Seçiciliğinin Belirlenmesi..... | 86 |
| 4.4.4. | Dimetoat Baskılı QCM Sensör ile Tekrar Kullanılabilirlik Analizi……..….. | 90 |
| 4.5. | Karbofuran Baskılı QCM Sensörle Kinetik Analizler..... | 90 |
| 4.5.1. | Denge ve Bağlanma Kinetik Analizi..... | 98 |
| 4.5.2. | Denge İzoterm Modelleri ……..... | 100 |
| 4.5.3. | Yarışmalı Kinetik Analizler ve Baskılama Seçiciliğinin Belirlenmesi..... | 102 |
| 4.5.4. | Karbofuran Baskılı QCM Sensör ile Tekrar Kullanılabilirlik Analizi……...….. | 105 |
| 4.6. | QCM Sensörler ile Doğal Kaynaktan Kinetik Analizler..... | 105 |
| 4.7. | SPR Sensör Yüzeylerinin Karakterizasyonu..... | 106 |
| 4.7.1. | Temas Açısı Ölçümleri……..... | 106 |
| 4.7.2. | Atomik Kuvvet Mikroskop Analizleri..... | 108 |
| 4.7.3. | Elipsometre Analizleri……..….…..... | 109 |
| 4.8. | Dimetoat Baskılı SPR Sensörle Kinetik Analizler..... | 110 |
| 4.8.1. | Denge ve Bağlanma Kinetik Analizi..... | 118 |
| 4.8.2. | Denge İzoterm Modelleri..... | 120 |
| 4.8.3. | Yarışmalı Kinetik Analizler ve Baskılama Seçiciliğinin Belirlenmesi..... | 122 |
| 4.8.4. | Dimetoat Baskılı SPR Sensör ile Tekrar Kullanılabilirlik Analizi……. | 125 |
| 4.9. | Karbofuran Baskılı SPR Sensörle Kinetik Analizler..... | 125 |
| 4.9.1. | Denge Analizi ve Bağlanma Kinetik Analizi..... | 132 |
| 4.9.2. | Denge İzoterm Modelleri ……..... | 133 |
| 4.9.3. | Yarışmalı Kinetik Analizler ve Baskılama Seçiciliğinin Belirlenmesi..... | 135 |
| 4.9.4. | Karbofuran Baskılı SPR Sensör ile Tekrar Kullanılabilirlik Analizi…… | 138 |
| 4.10. | SPR Sensörler ile Doğal Kaynaktan Kinetik Analizler..... | 138 |
| 4.11. | LC-MS IT-TOF ile Dimetoat ve Karbofuran'nın Taranması..... | 139 |
| 4.12. | LC-MS/MS ile Dimetoat ve Karbofuran'ın Kalitatif ve Kantitatif Analizi……...…… | 143 |
| 4.12.1. | LC-MS/MS Metod Validasyon Parametreleri..... | 145 |

4.12.2. Doğrusallık (Lineerite)..... 145
4.12.3. Gerçeklik (Geri Kazanım) ve Kesinlik (Tekrarlanabilirlik)..... 145
4.12.4. Belirleme ve Tayin Alt Sınırları (LOD/LOQ)..... 146
4.12.5. Bağıl Standart Belirsizlik ($U^{95}$)..... 148
4.12.6. LC-MS/MS Metodundaki Analitlerin Kalibrasyon Grafikleri..... 148
4.12.7. LC-MS/MS Metot Validasyon Çalışmaları…….. 150
4.12.8. LC-MS/MS Analizine İlişkin Standart ve Numune Kromatogramları ……..... 155
4.12.9. LC-MS/MS ile QCM-SPR Sensör Sistemleri'nin Doğrulama ve Kıyaslama Çalışmaları..... 159

**5. SONUÇ VE ÖNERİLER**..... 163
**6. KAYNAKLAR**..... 171
**ÖZGEÇMİŞ**..... 185

# ÖZET

## PESTİSİT TAYİNİ İÇİN MOLEKÜLER BASKILAMA TEMELLİ YÜZEY PLAZMON REZONANS VE KUVARS KRİSTAL MİKROTERAZİ SENSÖRLERİN HAZIRLANMASI

DOKTORA TEZİ

OĞUZ ÇAKIR

DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

2017

Sunulan çalışmanın amacı, çevre sularında eser miktarda bulunan organik fosforlu insektisit dimetoat ve karbamatlı insektisit karbofuranın tayinine yönelik, moleküler baskılama yöntemi kullanılarak kuvars kristal mikroterazi (QCM) ve yüzey plazmon rezonans (SPR) sensörlerinin hazırlanmasıdır. Hazırlanan QCM ve SPR sensörlerin yüksek seçiciliği, doğruluğu, hassasiyeti, daha düşük tayin limitlerine inilmesi ve çevre suyu örnekleri üzerindeki uygulamaları sıvı kromatografisi üçlü kuadrupol (tandem) kütle spektrometresi (LC-MS/MS) tekniği ile karşılaştırmalı olarak yapılmıştır.

Çalışmanın ilk aşamasında, hedef molekülle etkileşmesi için uygun yapıda fonksiyonel monomer olarak seçilen N-metakriloil-L-triptofan metil ester (MATrp) FTIR-ATR çalışmaları ile karakterize edildi. QCM ve SPR sensör çiplerinin altın yüzeylerine pestisit baskılanmış (MIP) poli(etilenglikol dimetakrilat-N-metakriloil-(L)-triptofan metil ester) (poly(EGDMA-MATrp)) nanofilmler tutturuldu. Ayrıca baskılanmamış (NIP) nanofilmler aynı yöntemle sadece ortama hedef molekül eklenmeksizin sentezlendi. Hazırlanan QCM ve SPR sensör çipleri, atomik kuvvet mikroskobu (AFM), elipsometre, FTIR-ATR ve temas açısı ölçümleri ile karakterize edildi. Kalınlık ölçümleri ve AFM görüntüleri, nanofilmlerin homojen ve hemen hemen tek tabakalı olduğunu göstermektedir. Karakterizasyon çalışmalarının ardından elde edilen pestisit baskılanmış ve baskılanmamış sensör çipleri QCM ve SPR sensör sistemlerine bağlanarak hedef moleküle ait kinetik ve afinite bağlanma çalışmaları yapıldı. Dimetoat ve karbofuran için belirleme alt limitleri (LOD) sırasıyla QCM için 5.35 ng/L ve 4.89 ng/L, SPR için 8.37 ng/L ve 7.11 ng/L olarak hesaplandı. Baskılanmış nanofilmlerin, baskılanmamış nanofilmlere göre hedef moleküle daha fazla duyarlılık gösterdiği belirlendi. Adsorpsiyon kinetikleri farklı derişimlerdeki pestisit çözeltilerinin QCM ve SPR sensör sisteminden geçirilmesiyle belirlendi. Langmuir adsorpsiyon modeli, bu afinite sistemleri için en uygun model olarak bulundu. Pestisit baskılanmış nanofilmlerin seçiciliğini göstermek için yarışmalı adsorpsiyon deneyleri yapıldı. Sensörlerin tekrar kullanılabilirlikleri birer hafta arayla altı tekrar ile yapıldı. Örnek çalışma olarak dört farklı çevre suyu örneğine her bir pestisit için 10 ng/L standart eklenmesi (spike) yapılarak analizler gerçekleştirildi.

Çalışmanın ikinci aşamasında, sıvı kromatografisi iyon tuzaklı/uçuş zamanlı kütle spektrometresi (LC-MS IT-TOF) cihazında hazırlanan metot ile pestisitlerin parçalanma iyonları ve virgülden sonra dört haneye kadar tam kütleleri (exact mass) belirlendi. Belirlenen tam kütleler ve parçalanma iyonları doğrultusunda LC-MS/MS cihazı ile kalitatif ve kantitatif analiz için pestisitlere özgü kapsamlı bir metot hazırlanarak validasyon çalışmaları yapıldı. Dimetoat ve karbofuran için belirleme alt limitleri (LOD) sırasıyla 16.92 ng/L ($R^2$=0.999) ve 20.47 ng/L ($R^2$=0.999) olarak hesaplandı. LC-MS/MS sisteminde, örnek çalışma olarak dört

farklı çevre suyu örneğine her bir pestisit için 500 ng/L standart eklenmesi (spike) yapılarak analizler gerçekleştirildi. QCM ve SPR sensör sistemlerinin farklı derişimlerdeki bağlanma doğruluğunu belirlemek için sensör sistemlerinde çalışılan standart çözeltiler arasında üç farklı derişim (10-100-1000 ng/L) belirlendi. Bu derişimlerin sensör sistemlerindeki adsorpsiyon öncesi ve adsorpsiyon sonrası örnekleri alındı ve LC-MS/MS cihazı ile analizler yapıldı. Analiz sonucunda, sensör sistemlerinin yüksek seçiciliği ve doğruluğu LC-MS/MS ile doğrulandı.

Sonuç olarak; Moleküler baskılama temelli QCM ve SPR sensörlerin, hem sulu çözeltilerden hem de doğal kaynaktan pestisit tayini için LC-MS/MS tekniği ile karşılaştırma deneyleri yapılarak hazırlanan sensör çiplerinin yüksek seçiciliği, doğruluğu, hassasiyeti ve daha düşük tayin limitlerine inilebildiği belirlendi.

**Anahtar Kelimeler:** Moleküler baskılama, kuvars kristal mikroterazi, yüzey plazmon rezonans, LC-MS/MS, LC-MS IT-TOF, pestisit.

# ABSTRACT

PREPARATION OF MOLECULAR IMPRINTING BASED SURFACE PLASMON RESONANCE AND QUARTZ CRYSTAL MICROBALANCE SENSORS FOR PESTICIDE DETERMINATION

PhD THESIS

OĞUZ ÇAKIR

DICLE UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF CHEMISTRY

2017

The aim of this study is preparation of quartz crystal microbalance (QCM) and surface plasmon resonance (SPR) sensors using molecular imprinting method for determination of organic phosphorous insecticide dimetoate and carbamated insecticide carbofuran, which are present in trace amount in environmental waters. High selectivity, accuracy, sensitivity, lower detection limits and application in environmental water samples of QCM and SPR sensors were carried out comparatively by liquid chromatography triple quadruple (tandem) mass spectrometer (LC-MS/MS).

In the first stage of this study, N-metacryloyl-L-tryptophan methyl ester (MATrp), which was selected as a proper functional monomer to interact with a target molecule was characterized by FTIR-ATR. Pesticide imprinted (MIP) poly(ethylenglycol dimethacrylate-N-methacryloyl-(L)-tryptophan methyl ester) (poly(EGDMA-MATrp)) nanofilms were attached to gold surfaces of QCM and SPR sensor chips. Furthermore, non-imprinted (NIP) nanofilms were synthesized by the same method except without addition of target molecule to medium. The QCM and SPR sensor chips were characterized by atomic force microscope (AFM), elipsometer, FTIR-ATR and contact angle measurements. Thickness measurements and AFM images show that almost all nanofilms are monolayered. Then, kinetic and affinity binding of the target molecule were investigated by binding the pesticide imprinted and non-imprinted sensor chips to QCM and SPR sensor chips. The limit of detection (LOD) for dimethoate and carbofuran was calculated to be 5.35 ng/L and 4.89 ng/L for QCM, 8.37 ng/L and 7.11 ng/L for SPR, respectively. Imprinted nanofilms were found to show high sensitivity towards the target molecule than non-imprinted ones. Adsorption kinetics was determined by passing pesticide solutions at different concentrations through QCM and SPR sensor systems. Langmuir adsorption model was found as the most proper model for these affinity systems. Competitive adsorption experiments were performed to display selectivity of pesticide imprinted nanofilms. The reusability of the sensors was done by repeating once time in a week for a six week. As a case study, four different environmental waters were analyzed by adding standard 10 ng/L (spike) for each pesticide.

In the second part, fragmentation ions and exact mass of the pesticides until four digits after decimal points were determined by a method prepared at a liquid chromatography mass spectroscopy ion trap / time of flight (LC-MS IT-TOF) instrument. According to these exact masses and fragmentation ions, a comprehensive method was prepared by LC-MS/MS for qualitative and quantitative analysis of the pesticides to perform validation. The limit of detection (LOD) were found to be 16.92 ng/L ($R^2$=0.999) and 20.47 ng/L ($R^2$=0.999) for dimetoate and carbofuran, respectively. As a case study, four different environmental waters were analyzed by adding standard 500 ng/L (spike) for each pesticide in LC-MS/MS system. To

determine binding accuracy of QCM and SPR sensor systems at different concentrations, three different concentrations (10-100-1000 ng/L) were selected out of the standard solutions in the sensor systems. The samples at these concentrations were taken from the sensor systems before and after adsorption, which were then analyzed by LC-MS/MS. As a result of the analysis, the high selectivity and accuracy of the sensor systems was confirmed by LC-MS/MS.

As a conclusion; the sensor chips were found to have high selectivity, accuracy, sensitivity and lower detection limits obtained from comparison experiments of molecular imprinted QCM and SPR sensors to determine pesticide in both aqueous solutions and natural source by LC-MS/MS.

**Keywords:** Molecular imprinting, quartz crystal microbalance, surface plasmon resonance, LC-MS/MS, LC-MS IT-TOF, pesticide.

# ÇİZELGE LİSTESİ


| Çizelge No | | Sayfa |
|---|---|---|
| **Çizelge 4.1.** | QCM sensör yüzeyleri temas açısı ölçüm değerleri | 69 |
| **Çizelge 4.2.** | QCM sensör yüzeyleri atomik kuvvet mikroskop (AFM) değerleri | 70 |
| **Çizelge 4.3.** | QCM sensör yüzeyleri elipsometre değerleri | 72 |
| **Çizelge 4.4.** | Dt-MIP/QCM sensör için kinetik hız sabitleri | 82 |
| **Çizelge 4.5.** | Dt-MIP/QCM sensör için Langmuir, Freundlich ve Langmuir-Freundlich parametreleri | 84 |
| **Çizelge 4.6.** | Dimetoat'a göre paration ve monokrotofos için seçicilik ve bağıl seçicilik katsayıları | 87 |
| **Çizelge 4.7.** | Kf-MIP/QCM sensör için kinetik hız sabitleri | 98 |
| **Çizelge 4.8.** | Kf-MIP/QCM sensör için Langmuir, Freundlich ve Langmuir-Freundlich parametreleri | 100 |
| **Çizelge 4.9.** | Karbofuran'a göre bendiokarb ve karbaril için seçicilik ve bağıl seçicilik katsayıları | 103 |
| **Çizelge 4.10.** | SPR sensör yüzeyleri temas açısı ölçüm değerleri | 106 |
| **Çizelge 4.11.** | SPR sensör yüzeyleri atomik kuvvet mikroskop değerleri | 108 |
| **Çizelge 4.12.** | SPR sensör yüzeyleri elipsometre değerleri | 109 |
| **Çizelge 4.13.** | Dt-MIP/SPR sensör için kinetik hız sabitleri | 119 |
| **Çizelge 4.14.** | Dt-MIP/SPR sensör için Langmuir, Freundlich ve Langmuir-Freundlich parametreleri | 122 |
| **Çizelge 4.15.** | Dimetoat'a göre paration ve monokrotofos için seçicilik ve bağıl seçicilik katsayıları | 122 |
| **Çizelge 4.16.** | Kf-MIP/SPR sensör için kinetik hız sabitleri | 132 |
| **Çizelge 4.17.** | Kf-MIP/SPR sensör için Langmuir, Freundlich ve Langmuir-Freundlich parametreleri | 133 |
| **Çizelge 4.18.** | Karbofuran'a göre bendiokarb ve karbaril için seçicilik ve bağıl seçicilik katsayıları | 135 |
| **Çizelge 4.19.** | Dimetoat ve karbofuran'ın LC-MS IT-TOF ile kalitatif analizi sonucu molekül formülleri, alıkonma zamanı (RT), ölçülen (m/z) değerler, beklenen (m/z) değerler | 139 |

| | | |
|---|---|---|
| **Çizelge 4.20.** | LC-MS/MS analiz metoduna ait analitik parametreler ([a]RT: Alıkonma zamanı, [b]Ana iyon(*m/z)*:Standard bileşiklerin moleküler iyonları (m/z oranı), [c]$R^2$: Belirleme katsayısı, [d]RSD: Bağıl standart sapma, [e]LOD/LOQ (ng/L): Belirleme sınırı/Tayin sınırı, [f] U (%): %95 güven seviyesinde bağıl standart belirsizlik (k=2)) | 144 |
| **Çizelge 4.21.** | Standart maddeler için kullanılan kalibrasyon noktalarının derişimleri (ng/L) | 145 |
| **Çizelge 4.22.** | LC-MS/MS metodunda kullanılan standartların belirleme (LOD) ve tayin (LOQ) alt sınırlarının belirlenmesi çalışması | 147 |
| **Çizelge 4.23.** | Dimetoat için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları (RSD: bağıl standart sapma, Ort.:ortalama, Std.:standart sapma) | 152 |
| **Çizelge 4.24.** | Dimetoat için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları | 153 |
| **Çizelge 4.25.** | Dimetoat için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması | 153 |
| **Çizelge 4.26.** | Karbofuran için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları (RSD: bağıl standart sapma, Ort.:ortalama, Std.:standart sapma) | 154 |
| **Çizelge 4.27.** | Karbofuran için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları | 155 |
| **Çizelge 4.28.** | Karbofuran için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması | 155 |
| **Çizelge 4.29.** | Çevre suyu örneklerinin standart eklenmiş (Spike-500 ng/L) LC-MS/MS sonuçları | 158 |
| **Çizelge 4.30.** | Dimetoat QCM çalışmasının adsorpsiyon öncesi ve adsorpsiyon sonrası LC-MS/MS analiz sonuçları | 160 |
| **Çizelge 4.31.** | Karbofuran QCM çalışmasının adsorpsiyon öncesi ve adsorpsiyon sonrası LC-MS/MS analiz sonuçları sonuçları | 160 |
| **Çizelge 4.32.** | Dimetoat SPR çalışmasının adsorpsiyon öncesi ve adsorpsiyon sonrası LC-MS/MS analiz sonuçları | 160 |
| **Çizelge 4.33.** | Karbofuran SPR çalışmasının adsorpsiyon öncesi ve adsorpsiyon sonrası LC-MS/MS analiz sonuçları | 161 |

# ŞEKİL LİSTESİ

**Şekil No**


| | | |
|---|---|---|
| **Şekil 2.1.** | Pestisit gruplarına göre Dünya'da tarım ilacı kullanımı | 9 |
| **Şekil 2.2.** | Pestisit gruplarına göre Türkiye'de tarım ilacı kullanımı | 10 |
| **Şekil 2.3.** | Pestisitlerin doğadaki hareketleri | 11 |
| **Şekil 2.4.** | Dimetoat'ın molekül yapısı | 17 |
| **Şekil 2.5.** | Karbofuran'ın molekül yapısı | 17 |
| **Şekil 2.6.** | Moleküler baskılama yönteminin şematik gösterimi | 20 |
| **Şekil 2.7.** | Bir biyosensörün konfigürasyonu | 26 |
| **Şekil 2.8.** | Piezoelektrik etkinin şematik gösterimi | 27 |
| **Şekil 2.9.** | Kuvars kristal | 27 |
| **Şekil 2.10.** | (a) Piezoelektrik kristalinin şematik görünümü, (b) QCM kristalin üst yüzey görüntüsü, (c) QCM kristalin alt yüzey görüntüsü | 28 |
| **Şekil 2.11.** | AT- BT kesim kuvars kristal düzlemi | 28 |
| **Şekil 2.12.** | Kayma deformasyonu (Yüzey hareketi) | 29 |
| **Şekil 2.13.** | Akustik dalga yayılma modu | 29 |
| **Şekil 2.14.** | Akış kanalında QCM algılamasının şematik gösterimi | 31 |
| **Şekil 2.15.** | Dielektrik sınırlarda gerçekleşen toplam iç kırınım | 33 |
| **Şekil 2.16.** | Hava, cam ve yüzey plazmonları için dağılma eğrileri | 35 |
| **Şekil 2.17.** | Gümüş ve altına ait yüzey plazmon eğrileri | 36 |
| **Şekil 2.18.** | SPR biyosensör sensorgramının şematik gösterimi | 38 |
| **Şekil 2.19.** | Gaz kromatografi cihazının şematik gösterimi | 40 |
| **Şekil 2.20.** | Dolgulu ve kapiler kolon tipleri | 40 |
| **Şekil 2.21.** | Temel HPLC ekipman şeması | 41 |
| **Şekil 2.22.** | Kütle spektrometre cihazlarının şematik diyagramı | 43 |
| **Şekil 2.23.** | a) Tekli kuadrupol (LC-MS) ve b) üçlü kuadrupol (LC-MS/MS) cihaz şemaları | 44 |
| **Şekil 2.24.** | Hibrit IT-TOF/MS kütle spektrometresinin iç dizayn şeması | 45 |

| | | |
|---|---|---|
| **Şekil 3.1.** | Molekül yapıları; a) AIBN, b) EGDMA, c) MATrp ve d) p(EGDMA-MATrp) | 56 |
| **Şekil 3.2.** | QCM sensör yüzeyine nanofilm oluşumu (a) allil merkaptan ile yıkanmış (b) pestisit baskılanmış QCM sensörün üst yüzey görüntüsü, (c) pestisit baskılanmış QCM sensörün yan yüzey görüntüsü | 57 |
| **Şekil 3.3.** | SPR sensör yüzeyine nanofilm tutturulması | 57 |
| **Şekil 4.1.** | MATrp monomerinin reaksiyon denklemi | 65 |
| **Şekil 4.2.** | MATrp monomerinin FTIR-ATR spektrumu | 65 |
| **Şekil 4.3.** | p(EGDMA-MATrp)'in FTIR-ATR spektrumu | 66 |
| **Şekil 4.4.** | Dimetoat baskılı p(EGDMA-MATrp) FTIR-ATR spektrumu | 67 |
| **Şekil 4.5.** | Karbofuran baskılı p(EGDMA-MATrp) FTIR-ATR spektrumu | 68 |
| **Şekil 4.6.** | Temas açısı ölçümleri. a) modifiye edilmemiş QCM sensör yüzeyi; b) P-NIP/QCM sensör yüzeyi; c) dimetoat baskılanmış; d) karbofuran baskılanmış QCM sensör yüzeyi | 70 |
| **Şekil 4.7.** | Atomik Kuvvet Mikroskobu ölçümleri. a) P-NIP/QCM sensör yüzeyi; b) dimetoat baskılanmış; c) karbofuran baskılanmış QCM sensör yüzeyi | 71 |
| **Şekil 4.8.** | Elipsometre ölçümleri. a) P-NIP/QCM sensör yüzeyi; b) dimetoat baskılanmış; c) karbofuran baskılanmış QCM sensör yüzeyi | 73 |
| **Şekil 4.9.** | Dimetoat çözeltileri ile QCM sensör arasındaki etkileşimlere ait zamana karşı Δf değerini gösteren sensorgramlar. a) 0.043 nM; b) 0.109 nM; c) 0.218 nM; d) 0.436 nM; e) 1.09 nM; f) 2.18 nM; g) 4.36 nM | 74 |
| **Şekil 4.10.** | Dimetoat çözeltileri ile QCM sensör arasındaki etkileşimlere ait zamana karşı Δm değerini gösteren sensorgramlar. a) 0.043 nM; b) 0.109 nM; c) 0.218 nM; d) 0.436 nM; e) 1.09 nM; f) 2.18 nM; g) 4.36 nM | 76 |
| **Şekil 4.11.** | Dimetoat çözeltileri ile QCM sensör arasındaki etkileşimlere ait sensorgramlar. a) zamana karşı Δf değerini gösteren sensorgram; b) zamana karşı Δm değerini gösteren sensorgram | 79 |
| **Şekil 4.12.** | Dt-MIP/QCM sensöre ait derişim ($C_{Dt}$) ile Δm arasındaki ilişki | 80 |
| **Şekil 4.13.** | Dt-MIP/QCM sensör için kinetik hız sabitlerinin belirlenmesi. a) Denge analiz yaklaşımı (Scatchard); b) Bağlanma kinetik yaklaşımı | 83 |
| **Şekil 4.14.** | Dt-MIP/QCM sensör için adsorpsiyon modelleri. a) Langmuir; b) Freundlich; c) Langmuir- Freundlich | 85 |
| **Şekil 4.15.** | Molekül yapıları a) dimetoat b) paration ve c) monokrotofos | 86 |
| **Şekil 4.16.** | 4.36 nM derişiminde a) dimetoat; b) paration; c) monokrotofos ve d) dimetoat, paration, monokrotofos çözeltilerinin birlikte verildiği Dt- | 88 |

MIP/QCM sensör arasındaki etkileşimlere ait zamana karşı Δm değerlerini gösteren sensorgram

**Şekil 4.17.** 4.36 nM derişiminde a) dimetoat; b) paration; c) monokrotofos ve d) dimetoat, paration ve monokrotofos çözeltilerinin birlikte verildiği Dt-NIP/QCM sensör arasındaki etkileşimlere ait zamana karşı Δm değerlerini gösteren sensorgramlar 89

**Şekil 4.18.** Dt-MIP/QCM sensöre ait tekrar kullanılabilirlik sensorgramı 90

**Şekil 4.19.** Karbofuran çözeltileri ile QCM sensör arasındaki etkileşimlere ait zamana karşı Δf değerini gösteren sensorgramlar a) 0.045 nM; b) 0.113 nM; c) 0.225 nM; d) 0.45 nM; e) 1.35 nM; f) 2.25 nM; g) 4.5 nM 91

**Şekil 4.20.** Karbofuran çözeltileri ile QCM sensör arasındaki etkileşimlere ait zamana karşı Δm değerini gösteren sensorgramlar. a) 0.045 nM; b) 0.113 nM; c) 0.225 nM; d) 0.45 nM; e) 1.35 nM; f) 2.25 nM; g) 4.5 nM 93

**Şekil 4.21.** Karbofuran çözeltileri ile QCM sensör arasındaki etkileşimlere ait sensorgramlar. a) zamana karşı Δf değerini gösteren sensorgram; b) zamana karşı Δm değerini gösteren sensorgram 95

**Şekil 4.22.** Kf-MIP/QCM sensöre ait derişim ($C_{Kf}$) ile Δm arasındaki ilişki 97

**Şekil 4.23.** Kf-MIP/QCM sensör için kinetik hız sabitlerinin belirlenmesi. a) Denge analiz yaklaşımı (Scatchard); b) Bağlanma kinetik yaklaşımı 99

**Şekil 4.24.** Kf-MIP/QCM sensör için adsorpsiyon modelleri. a) Langmuir; b) Freundlich; c) Langmuir- Freundlich 101

**Şekil 4.25.** Molekül yapıları a) karbofuran b) bendiokarb ve c) karbaril 102

**Şekil 4.26.** 4.5 nM derişiminde a) karbofuran; b) bendiokarb; c) karbaril ve d) karbofuran, bendiokarb ve karbaril çözeltilerinin birlikte verildiği Kf-MIP/QCM sensör arasındaki etkileşimlere ait zamana karşı Δm değerlerini gösteren sensorgramlar 103

**Şekil 4.27.** 4.5 nM derişiminde a) karbofuran; b) bendiokarb; c) karbaril ve d) karbofuran, bendiokarb ve karbaril çözeltilerinin birlikte verildiği Kf-NIP/QCM sensör arasındaki etkileşimlere ait zamana karşı Δm değerlerini gösteren sensorgramlar 104

**Şekil 4.28.** Kf-MIP/QCM sensöre ait tekrar kullanılabilirlik sensorgramı 105

**Şekil 4.29.** Çevre suyu örnekleri ile P-MIP/QCM sensör arasındaki etkileşimlere ait Δm/zaman sensogramı. a) dimetoat; b) karbofuran 106

**Şekil 4.30.** Temas açısı ölçümleri. a) modifiye edilmemiş SPR sensör yüzeyi; b: P-NIP/SPR sensör yüzeyi; c: dimetoat baskılanmış; d) karbofuran baskılanmış SPR sensör yüzeyi 107

**Şekil 4.31.** Atomik Kuvvet Mikroskobu ölçümleri. a: P-NIP/SPR sensör yüzeyi; b) dimetoat baskılanmış; c) karbofuran baskılanmış SPR sensör yüzeyi 108

**Şekil 4.32.** Elipsometre ölçümleri. a) P-NIP/SPR sensör yüzeyi; b) dimetoat baskılanmış; c) karbofuran baskılanmış SPR sensör yüzeyi 110

**Şekil 4.33.** Dimetoat çözeltileri ile SPR sensör arasındaki etkileşimlere ait zamana karşı % kırılma değerlerini gösteren sensorgramlar. a) 0.043 nM; b) 0.109 nM; c) 0.218 nM; d) 0.436 nM; e) 1.09 nM; f) 2.18 nM; g) 4.36 nM 111

**Şekil 4.34.** Dimetoat çözeltileri ile SPR sensör arasındaki etkileşimlere ait zamana karşı ΔR değerlerini gösteren sensorgramlar. a) 0.043 nM; b) 0.109 nM; c) 0.218 nM; d) 0.436 nM; e) 1.09 nM; f) 2.18 nM; g) 4.36 nM 113

**Şekil 4.35.** Dimetoat çözeltileri ile SPR sensör arasındaki etkileşimlere ait sensorgramlar. a) zamana karşı % kırılma değerini gösteren sensorgram; b) zamana karşı ΔR değerini gösteren sensorgram 116

**Şekil 4.36.** Dt-MIP/SPR sensöre ait derişim ($C_{Dt}$) ile ΔR arasındaki ilişki 117

**Şekil 4.37.** Dt-MIP/SPR sensör için kinetik hız sabitlerinin belirlenmesi. a) Denge analiz yaklaşımı (Scatchard); b) Bağlanma kinetik yaklaşımı 120

**Şekil 4.38.** Dt-MIP/SPR sensöre ait adsorpsiyon modelleri. a) Langmuir; b) Freundlich; c) Langmuir- Freundlich 121

**Şekil 4.39.** 4.36 nM derişiminde a) dimetoat; b) paration; c) monokrotofos ve d) dimetoat, paration, monokrotofos çözeltilerinin birlikte verildiği Dt-MIP/SPR sensör arasındaki etkileşimlere ait zamana karşı ΔR değerlerini gösteren sensorgramlar 123

**Şekil 4.40.** 4.36 nM derişiminde a) dimetoat; b) paration; c) monokrotofos ve d) dimetoat, paration ve monokrotofos çözeltilerinin birlikte verildiği Dt-NIP/SPR sensör arasındaki etkileşimlere ait zamana karşı ΔR değerlerini gösteren sensorgramlar 124

**Şekil 4.41.** Dt-MIP/SPR sensöre ait tekrar kullanılabilirlik sensorgramı 125

**Şekil 4.42.** Karbofuran çözeltileri ile SPR sensör arasındaki etkileşimlere ait zamana karşı % kırılma değerini gösteren sensorgramlar. a) 0.045 nM; b) 0.113 nM; c) 0.225 nM; d) 0.45 nM; e) 1.35 nM; f) 2.25 nM; g) 3.39 nM; h) 4.5 nM 126

**Şekil 4.43.** Karbofuran çözeltileri ile SPR sensör arasındaki etkileşimlere ait zamana karşı ΔR değerini gösteren sensorgramlar. a) 0.045 nM; b) 0.113 nM; c) 0.225 nM; d) 0.45 nM; e) 1.35 nM; f) 2.25 nM; g) 3.39 nM; h) 4.5 nM 128

**Şekil 4.44.** Karbofuran çözeltileri ile SPR sensör arasındaki etkileşimlere ait sensorgramlar. a) zamana karşı % kırılma değerini gösteren sensorgram; b) zamana karşı ΔR değerini gösteren sensorgram 130

**Şekil 4.45.** Kf-MIP/SPR sensöre ait derişim ($C_{Kf}$) ile ΔR arasındaki ilişki 131

**Şekil 4.46.** Kf-MIP/SPR sensör için kinetik hız sabitlerinin belirlenmesi. a) Denge analiz yaklaşımı (Scatchard); b) Bağlanma kinetik yaklaşımı 132

**Şekil 4.47.** Kf-MIP/SPR sensöre ait adsorpsiyon modelleri. a) Langmuir; b) Freundlich; c) Langmuir- Freundlich 134

**Şekil 4.48.** 4.5 nM derişiminde a) karbofuran; b) bendiokarb; c) karbaril ve d) karbofuran, bendiokarb ve karbaril çözeltilerinin birlikte verildiği Kf-MIP/SPR sensör arasındaki etkileşimlere ait zamana karşı ΔR değerlerini gösteren sensorgramlar 136

**Şekil 4.49.** 4.5 nM derişiminde a) karbofuran; b) bendiokarb; c) karbaril ve d) karbofuran, bendiokarb ve karbaril çözeltilerinin birlikte verildiği Kf-NIP/SPR sensör arasındaki etkileşimlere ait zamana karşı ΔR değerlerini gösteren sensorgramlar 137

**Şekil 4.50.** Kf-MIP/SPR sensöre ait tekrar kullanılabilirlik sensorgramı 138

**Şekil 4.51.** Çevre suyu örnekleri ile P-MIP/SPR sensör arasındaki etkileşimlere ait Δm/zaman sensogramı. a) dimetoat; b) karbofuran 139

**Şekil 4.52.** Dimetoat'ın LC-MS IT-TOF kromatogramları 141

**Şekil 4.53.** Karbofuran'ın LC-MS IT-TOF kromatogramları 142

**Şekil 4.54.** LC-MS/MS metodundaki analitlerin kalibrasyon grafikleri; a) dimetoat b) karbofuran 148

**Şekil 4.55.** LC-MS/MS metodundaki analitlerin kalibrasyon kromatogramları (50 ng/L) 149

**Şekil 4.56.** LC-MS/MS metodundaki analitlerin kalibrasyon kromatogramları (100 ng/L) 149

**Şekil 4.57.** LC-MS/MS metodundaki analitlerin kalibrasyon kromatogramları (250 ng/L) 149

**Şekil 4.58.** LC-MS/MS metodundaki analitlerin kalibrasyon kromatogramları (500 ng/L) 150

**Şekil 4.59.** LC-MS/MS metodundaki analitlerin kalibrasyon kromatogramları (1000 ng/L) 150

**Şekil 4.60.** Çevre suyu örneklerinin kromatogramları 156

**Şekil 4.61.** Standart eklenen (Spike-500 ng/L) örnek bir çevre suyu kromatogramı 157

# KISALTMA VE SİMGELER

| | | |
|---|---|---|
| μg | : | Mikrogram |
| μL | : | Mikrolitre |
| $\overline{x}$ | : | Ortalama |
| $[B]_0$ | : | Toplam ligand miktarı |
| [M+H]+ | : | Moleküler iyonun pozitif hidrojen katılma |
| 1/n | : | Freundlich yüzey heterojenite indeksi |
| 1-VRMS | : | Titreşim genliği |
| 2,4-D | : | 2,4-Diklorfenoksiasetik asit |
| 2-VP | : | 2-vinil piridin |
| 2-VRMS | : | Boş titreşim genliği |
| 3:1$NH_4OH/H_2O_2$ | : | Pirana çözeltisi |
| 4-VP | : | 4-vinil piridin |
| AA. | : | Akrilik asit |
| ABD | : | Amerika Birleşik Devletleri |
| AChE | : | Asetilkolin esteraz |
| ADVN | : | 2,2'-azobis (2,4-dimetil valeronitril) |
| Ael | : | Kristal rezonatörün elektrot boyutu |
| AFM | : | Atonik kuvvet mikroskobu |
| AIBN | : | 2,2'-azobis(izobütironitril) |
| AMPSA | : | Akriloamido-(2-metil)-propan sülfonik asit |
| AN | : | Akrilonitril |
| APCI | : | Atmosferik-basınç kimyasal iyonlaştırma |
| ATZ | : | Atrazin |
| BPO | : | Benzoil peroksit |

| | | |
|---|---|---|
| C | : | Analit derişimi |
| c | : | Işık hızı |
| CDs | : | Carbon-Dots |
| $C_f$ | : | Sonuç derişimi |
| $C_i$ | : | Başlangıç derişimi |
| CID | : | Collision Induced Dissociation |
| CPF | : | Klorpirifos |
| Da | : | Dalton |
| DAD | : | Diod-arraydedektör |
| DC | : | Doğru akım |
| DDT | : | 2,2-bis(p-chlorophenyl)-1,1,1- trichloroethane |
| DEAEM | : | N,N´-dietil aminoetil metakrilamit |
| DL | : | Dissolvationline |
| DNA | : | Deoksiribonükleik asit |
| dq | : | Kristalin kalınlığı |
| DSÖ | : | Dünya Sağlık Örgütü |
| Dt | : | Dimetoat |
| Dt-MIP | : | Dimetoat baskılanmış |
| Dt-MIP/QCM | : | Dimetoat baskılanmış kuvars kristal mikroterazi sensör |
| Dt-MIP/SPR | : | Dimetoat baskılanmış yüzey plazmon rezonans sensör |
| Dt-NIP | : | Dimetoat baskılanmamış |
| Dt-NIP/QCM | : | Dimetoat baskılanmamış kuvars kristal mikroterazi sensör |
| Dt-NIP/SPR | : | Dimetoat baskılanmamış yüzey plazmon rezonans sensör |
| DVB | : | Divinilbenzen |
| E2 | : | 17β-östradiol |
| EC/EM | : | Emülsüyon konsantre ilaçlar |
| EDTA | : | Etilendiamintetra asetik asit |

| | | |
|---|---|---|
| EGDMA | : | Etilen glikol dimetakrilat |
| ELSD | : | Buharlaştırmalı ışık saçılımlı dedektör |
| EPN | : | Entomopatojen Nematod |
| ESI | : | Elektrosprey iyonlaştırma |
| EtOH | : | Etanol |
| F.G.Ort. | : | Farklı Günlerde Ortalama |
| FAB | : | Hızlı atom bombardımanı |
| FC | : | Akıcı konsantreler |
| fo (Hz) | : | Rezonans frekansı |
| Fq | : | Kristalin frekans sabiti |
| FT-ICR | : | Fourier transform ion cyclotron resonance |
| G | : | Granüller |
| G.K.Çal. Son.St.Sap. | : | Geri Kazanım Çalışması Sonrası Standart Sapma |
| g/kg | : | Gram/Kilogram |
| GC | : | Gaz kromatografisi |
| GC-MS | : | Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi |
| Gen.Ort. | : | Genel Ortalama |
| Gen.RSD | : | Genel Bağıl Standart Sapma |
| Gen.Std. | : | Genel Standart |
| GSH | : | Glutatyon |
| GST | : | Glutatyon-S-transferaz |
| HEMA | : | 2-hidroksietil metakrilat |
| HIV | : | Human Immunodeficiency Virus |
| HPLC | : | Yüksek performanslı sıvı kromatografisi |
| HPLC-PAD | : | Yüksek performanslı sıvı kromatografisi fotodiyot dedektörü |
| IgG | : | Immünglobulin G |
| IT | : | İyon tuzağı |

| | | |
|---|---|---|
| IUPAC | : | Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği |
| $k_a$ | : | Bağlanma hız sabiti |
| $K_A$ | : | Bağlanma sabiti |
| Ka | : | Işığın havadaki dağılma eğrisi |
| $k_d$ | : | Ayrılma hız sabiti |
| $K_D$ | : | Ayrılma sabiti |
| Kf | : | Karbofuran |
| Kf-MIP | : | Karbofuran baskılanmış |
| Kf-MIP/QCM | : | Karbofuran baskılanmış kuvars kristal mikroterazi sensör |
| Kf-MIP/SPR | : | Karbofuran baskılanmış yüzey plazmon rezonans sensör |
| Kf-NIP | : | Karbofuran baskılanmamış |
| Kf-NIP/QCM | : | Karbofuran baskılanmamış kuvars kristal mikroterazi sensör |
| Kf-NIP/SPR | : | Karbofuran baskılanmamış yüzey plazmon rezonans sensör |
| Kg | : | Işığın cam yüzeyin dağılma eğrisi |
| $k^1$ | : | Bağıl dağılım katsayısı |
| kpa | : | Kilopaskal |
| Ksp | : | Dalga vektörü |
| kV | : | Kilovolt |
| LC | : | Sıvı kromatografisi |
| LC-MS | : | Sıvı kromatografisi kütle spektrometresi |
| LC-MS IT-TOF | : | Yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile birleşik hibrit iyon tuzaklı/uçuş zamanlı kütle spektrometresi |
| LC-MS/MS | : | Sıvı kromatografisi üçlü kuadrupol kütle spektrometresi |
| $LD_{50}$ | : | Ortalama öldürücü doz |
| LF | : | Langmuir-Freundlich |
| LOD | : | Belirleme alt sınırı (Limit of Detection) |
| LOQ | : | Tayin alt sınırı (Limit of Quantification) |

| | | |
|---|---|---|
| m | : | Metre |
| M.Ö. | : | Milattan önce |
| M.S. | : | Milattan sonra |
| m/z | : | Kütle/yük |
| M+ | : | Pozitif moleküler iyon |
| MAA | : | Metakrilik asit |
| MAGA | : | N-metakriloil-L-glutamik asit metil ester |
| MAH | : | Metakriloilamido histidin |
| MALDI | : | Matris-destekli lazer-desorpsiyon |
| MAPA | : | N-metakriloil-L-fenilalanin metil ester |
| MATrp | : | N-metakriloil-(L)-triptofan metil ester |
| MBAAm | : | N-N-metilen bisakril amid |
| MeOH | : | Metanol |
| MHz | : | Megahertz |
| MIP | : | Moleküler baskılanmış polimerler |
| mL | : | Mililitre |
| mM | : | Milimolar |
| mm | : | Milimetre |
| MMA | : | Metilmetakrilat |
| MRM | : | Çoklu Reaksiyon Görüntüleme |
| MS | : | Kütle spektrometresi |
| $MS^n$ | : | Çoklu MS |
| η1 | : | Sıvının viskositesi |
| ng/L | : | Nanogram/Litre |
| NIP | : | Non-impringted polimerler |
| Ort. | : | Ortalama |
| P | : | Pestisit |

| | | |
|---|---|---|
| Pa | : | Paskal |
| P-MIP | : | Pestisit baskılanmış |
| P-NIP | : | Pestisit baskılanmamış |
| ppm | : | Partspermillion |
| pq | : | Kristalin yoğunluğu |
| PQC | : | Piezoelektrik kuvars kristali |
| PSA | : | Prostat spesifik antijen |
| QCM | : | Kuvars kristal mikroterazi |
| ql | : | Yoğunluğu |
| $R^2$ | : | Belirleme katsayısı |
| RF | : | Radyo frekans |
| RID | : | Refraktif indeks dedektörü |
| RNA | : | Ribonükleik asit |
| RSD | : | Bağıl standart sapma |
| RT | : | Alıkonma zamanı |
| S | : | Eğim değeri |
| SC | : | Solüsyon konsantre ilaçlar |
| SIM | : | Seçilmiş iyon görüntüleme |
| SMZ | : | Simazin |
| SNZ | : | Siyanazin |
| SP | : | Suda çözünebilir toz ilaçlar |
| SPE | : | Katı faz ekstraksiyonu |
| SPR | : | Yüzey plazmon rezonans |
| Std. | : | Standart |
| TE | : | Transvers elektrik |
| TFMAA | : | 2-(triflorometil)-akrilik asit |
| TM | : | Transvers manyetik |

| | | |
|---|---|---|
| TOF | : | Uçuş zamanlı |
| TSM | : | Ters yönde sıyırma modu |
| $u(P_{op})/P_{op}$ | : | Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik |
| $U^{95}$ | : | Birleştirilmiş belirsizlik |
| UDP | : | Üridin difosfat |
| UHPLC | : | Ultra yüksek performanslı sıvı kromatografisi |
| UHPLCIT-TOF-MS | : | Yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile birleşik hibrit iyon tuzaklı/uçuş zamanlı kütle spektrometresi |
| UV | : | Ultraviyole |
| V | : | Çözelti hacmi |
| W | : | Watt |
| WHO | : | World health organization |
| WP | : | Islanabilir toz ilaçlar |
| $\Delta f$ | : | Kuvars kristal rezonatörün frekansındaki değişim |
| $\Delta m$ | : | Mutlak kütle değişimi |
| $\Delta m_{denge}$ | : | Denge halindeki QCM sinyal kayması |
| $\Delta m_{maks}$ | : | Maksimum QCM sinyal kayması |
| $\Delta R_{denge}$ | : | Denge halindeki SPR sinyal kayması |
| $\Delta R_{maks}$ | : | Maksimum SPR sinyal kayması |
| $\varepsilon m$ | : | Metalin dielektrik fonksiyonu |
| $\varepsilon s$ | : | Metal yüzeyine temas eden örnek ortamının dielektrik fonksiyonu |
| $\eta 1$ | : | Birinci ortamın kırınım açısı indeksi |
| $\eta 2$ | : | İkinci ortamın kırınım açısı indeksi |
| $\eta m$ | : | Metalin kırınım indeksi |
| $\eta p$ | : | Prizmanın kırınım açısı |
| $\eta s$ | : | Örneğin kırınım indeksi |
| $\theta$ | : | Işığın metal yüzeye geliş açısı |

| | | |
|---|---|---|
| θr | : | Kırınım açısı |
| µL | : | Mikrolitre |
| µM | : | Mikromolar |
| ρ1 | : | Sıvının yoğunluğu |
| ω | : | Salınım frekansı |
| б | : | Standart sapma |

## 1. GİRİŞ

Günümüzde dünyanın en önemli problemlerinden biri açlıktır. 150 milyon $km^{2'}$lik toplam dünya topraklarının %10'u ekilebilir tarım arazisidir. Bu toprakların %55'i mera, çayır ve ormanlarla kaplıdır. Geri kalan topraklar ise tarıma elverişli değildir. Tarımsal üretimin Avrupa, Asya, Amerika ve Avustralya'da hızlıca artmasına rağmen, Afrika'nın toplam verimi çetin kuraklık, sivil huzursuzluk, toprakların bozulması, zayıf zirai metotlar ve elverişsiz toprak yapısı yüzünden düşmeye devam etmektedir. Artan nüfusun taleplerini karşılayamayan gıda sektörü bu durum karşısında birim alandan elde edilen ürün miktarını arttırmaya çalışmaktadır. Özellikle tarımda zararlılara karşı kullanılan mekanik, fiziksel, biyolojik, biyoteknik, kimyasal ve entegre yöntemler zaten dünyada çok az bulunan ekilebilir tarım arazilerinden elde edilen ürün miktarını arttırmaya yönelik uygulanmaktadır (Gregor ve Michael 2007).

Kimyasal yöntemler dünyada en fazla kullanılan tarımsal mücadele yöntemleridir. Çünkü kimyasal mücadele yüksek etkiye sahiptir, hızlı sonuç verir, bilinçli ve kontrollü kullanıldığında ekonomiktir. Kimyasal mücadelenin temelinde pestisit denilen yapay zirai ilaçlar vardır (De Waard ve ark. 1993).

Pestisit kavramı yeni olmayıp tarih öncesi zamanlardan günümüze kadar çeşitli maddeler bu amaçla kullanılmıştır. M.Ö. 1550 yılında Eski Mısır'da Ebers papirüslerinde tarif edilen 800'ün üzerinde reçetede zehir ve pestisit olarak kullanılan ceşitli bileşikler tanımlanmıştır. Antik Yunanistan'da M.Ö. 1000 yıllarında kükürdün fumigasyon olarak ev ve bahçelerde böceklerin kontrolü amacı için kullanıldığı bildirilmiştir (Taylor ve ark. 2007). Arseniğin M.S. 900 yıllarında Çinliler tarafından böceklere karşı ve mineral yağının 1300 yıllarında develerde uyuz hastalığına karşı kullanıldığı bildirilmiştir (Ağar ve ark. 1991). Modern anlamda pestisitlerin tarımsal üretim ve halk sağlığı alanında kullanımı 19. yüzyılla birlikte başlamaktadır. Birinci nesil olarak nitelendirilebilecek kalsiyum arsenat ve kurşun arsenat gibi bileşikler son derece zehirli özellikler taşımaktadırlar. Bunların yanı sıra mantar, böcek ve bakterilerin kontrolü amacı ile hidrojen siyanür 1860'lı yıllarda fumigant olarak kullanılmıştır. Daha sonra ilk önemli sentetik organik pestisit olan diklordifeniltrikloretan (DDT), Alman bilim adamı Ziedler tarafından 1873 yılında sentezlenmiş ve İsveçli bilim adamı Paul Muller tarafından 1939 yılında insektisit etkisi ortaya konulmuştur (Zacharia 2011). Fransa'da 1932 yılında metilbromid fumigant olarak kullanılmaya başlanmıştır.

Pentaklorfenol 1936 yılında ağaç zararlılarına karşı koruyucu amaçla kullanıma girmiştir. Fenoksi asetik asidin 1942 yılında yabani otlara karşı etkili olduğu gösterilmiştir. İkinci dünya savaşından sonra 1946 yılında organik fosforlu insektisitler Almanya'da keşfedilmiş ve ABD'de kullanıma sunulmuştur. Amerikan Cevre Koruma Ajansı (Environmental Protection Agency, EPA) tarafından 1972 yılında DDT'nin kullanımı yasaklanmıştır. Işığa dirençli bir sentetik piretroid insektisit olan permetrin 1973 yılında geliştirilmiştir. EPA tarafından çoğu organik klorlu insektisitlerin kullanımı 1980'li yıllarda yasaklanmıştır (Fishel 2016).

Dünya'da çok fazla kullanılan pestisitler tarımsal verimin arttırılmasında önemli bir yere sahiptir. Ancak, pestisitlerin bilinçsiz ve kontrolsüz kullanımı sonucu, zararlı organizmalarda dayanıklılık oluşturabilme riskleri ve kalıntılar yoluyla insan sağlığına ve çevreye olumsuz etkileri kesinlikle göz ardı edilmemelidir (Delen ve ark. 2005). Bilinçsiz pestisit kullanımı sonucunda insan, hava, su, toprak ve yabani hayat olumsuz etkilenmekte, hedef alınan canlılarda direnç oluşmakta, yararlı canlılar ve doğal hayatın öldürülmesiyle doğal denge bozulmakta ve bitkilerde fitotoksisite görülmektedir (Yıldırım 2008). Yoğun tarım, hava ve yüzey sularının kirlenmesine, su sistemlerinin ötrifikasyonuna, sera gazları emisyonlarına ve asit yağmurlarına neden olmaktadır (Gregor ve Michael 2007).

Tarım arazilerinde kullanılan pestisitler, ilaçlanmış bitki ve toprak yüzeylerinden ilaçların yağmur sularıyla yıkanması ve sulama için kullanılan suyun yanlış sulama yöntemleri yüzünden temiz su kaynaklarına ulaşır. Zamanı geçmiş ve kullanılamaz pestisitlerin ambalaj ve torbalarının temiz su kaynaklarında yıkanarak çevreye atılması diğer bir kirlenme sebebidir. Ayrıca ilaçla bulaşan atmosferdeki katı ve sıvı ilaç taneciklerinin su kaynaklarına taşınması sonucunda da sular kirlenmektedir (Boateng ve Amuzu 2006, Cengiz 2006).

Hemen hemen tün pestisitler spesifik olmadıkları için sadece hedef organizmaları öldürmez, omurgalı ve omurgasız diğer organizmaları da etkilerler. Zararlı etkilerin şiddeti, pestisitin ve formülasyonun tipine, uygulama şekline ve tarımsal arazinin tipine bağlı olarak değişmektedir.

Bu maddelerin, tarımsal ürünün arttırılmasına yönelik katkılarının olmasına karşın, ürüne kontaminasyonu sonucunda sağlık üzerine birçok olumsuz etkileri de bulunmaktadır. İnsanlar ve diğer canlılar için potansiyel toksisitelerinden dolayı kanser,

doğum defektleri, nörotoksisite ve nörodavranışsal bozukluklar gibi çok ciddi kronik sağlık etkilerine neden olmaktadır.

Toprakta, yer altı ve yeryüzü sularında, meyve/sebzelerde ve tahıl ürünlerinde gözlenen pestisit kirliliği, günümüzde tüm dünyanın dikkatini çeken başlıca güncel konulardan birisidir, çünkü bu bileşikler insan yaşamı ve çevre açısından son derece zararlıdır. Bu nedenle, bu kimyasalların çevreye yayılmalarını mümkün olduğunca sınırlamak zorunludur. Aynı zamanda gerek çevre, gerekse sağlık üzerine toksik etkilerinden dolayı tarımsal ürünlerdeki kontaminasyonun çok düşük derişimlerdeki potansiyel toksik bileşikler için yeni tayin ve uzaklaştırma yöntemleri ile kalitatif ve kantitatif olarak tayin edilmesi büyük bir önem taşımaktadır.

Bu doğrultuda son zamanlarda oldukça popüler olan moleküler baskılama tekniği; moleküler bir kalıbın kullanılması ile makromoleküler bir matris içerisinde tanıma bölgelerinin oluşturulması temeline dayanan ve gelişmekte olan bir teknolojidir. Hazırlanan makromolekül, hedef molekülün tanıma ve ayrılması amacıyla kullanılmaktadır. Bu yöntem ışığında pestisit ile hedef moleküller ve bu hedef moleküllere özgü kaviteler oluşturularak hedef molekülün maksimum düzeyde ayrılması sağlanmaktadır.

Kuvars kristal mikroterazi (QCM) ve yüzey plazmon rezonans (SPR) sensörler, antibadi/antijen, protein/DNA, analitik polimerik malzeme etkileşimlerinin incelenmesi ve pestisit kalıntı analizleri için kullanılabilecek yeni nesil piezoelektrik ve optik sensörlerdir. QCM ve SPR sensör sistemleri, analizin ve tayinin gerçek zamanlı yapılabilmesi, analit molekülün işaretlenmesine gerek duyulmaması, yüksek yüzey duyarlılığı ve anlık tayin kolaylığının yanı sıra tekrar tekrar kullanım potansiyeli, hızlı cevap süresi ve aynı anda birçok analiti analiz etme olanağı sunan oldukça yüksek avantajlara sahiptir. Bu sensör sistemleri birçok alanda yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır.

Pestisitler için geliştirilen pestisit baskılanmış poli[etilen glikol dimetakrilat-N-metakriloil-(*L*)-triptofan metil ester (p(EGDMA-MATrp)] film temelli yeni nesil sensör sistemleri kullanılarak nehir/akarsu kaynaklarından alınan su örneklerinin içerdiği pestisit (karbofuran ve dimetoat) kalıntılarının analizlerinin gerçekleştirilebilmesi için son dönemlerde çok ilgi çekici araştırma alanlardan olan moleküler baskılama yöntemi

kullanılmıştır. Her bir pestisit için ayrı ayrı hazırlanan QCM ve SPR sensör çiplerinin çevre suyu örnekleri üzerindeki uygulamalarının hassasiyeti literatürlerde de var olan sıvı kromatografisi üçlü kuadrupol (tandem) kütle spektrometresi (LC-MS/MS) tekniği ile karşılaştırmalı olarak yapılmıştır. Hazırlanan bu sensör çipleri düşük maliyetli, pratik, yüksek hassasiyetli ve seçimli, hızlı cevap süresi ve örneklerin herhangi bir ön işleme gereksinim duyulmadan ölçüm alınabilecek olmasının yanında, kromatografi sistemlerine (LC-MS/MS) nazaran çok daha düşük dedeksiyon limitlerine kadar tayin etme olanağı sağladığı belirlenmiştir. Başta zirai mücadele olmak üzere birçok alanda yaygın olarak kullanılan, çevre ve insan sağlığını çok ciddi tehdit eden bu pestisit kalıntılarının anlık analizini sağlayarak bilinçsiz ve kontrolsüz kullanımının önüne geçilmesi de hedeflenmektedir. Yaptığımız araştırmalar boyunca bilimsel veri tabanında kullanmış olduğumuz bu pestisitlerin moleküler baskılama temelli QCM ve SPR sensör sistemlerindeki uygulamaları ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

# 2. KAYNAK ÖZETLERİ

## 2.1. Pestisitler

Dünya nüfusu, çok hızlı ve kontrolsüz bir şekilde artmaktadır. Bununla birlikte bu artışı karşılayacak oranda ürün sağlanamamakta ve gıda ihtiyacı giderek artmaktadır. Bu sorunun önlenmesi için birim alanda verimi yüksek ve kaliteli ürünlerin elde edilebilmesi, düşük maliyetli, en önemlisi de çevre kirliliğine neden olmayacak önlemlerin alınması gerekmektedir. Tarımsal üretimi olumsuz yönde etkileyen haşereler, kemiriciler, mantarlar ve yabani otlar gibi zararlılara karşı kullanılan fiziksel, kimyasal veya biyolojik ajanlara pestisit denir. Bugün tüm dünyada ürün artışını sağlayabilmek için çeşitli zararlılarla mücadelede "pestisit" adı verilen kimyasal maddeler kullanılmaktadır. Bu maddelerin kullanılmasıyla ciddi anlamda ürün miktarında artışlar gözlenmektedir. Ancak bu tarım ilaçları uzun süre bozulmadan suda, toprakta, meyve ve sebzeler üzerinde kalarak çevre kirliliğine neden olmaktadır. (Klaassen 2001).

Pestisitler, su içindeki veya kenarındaki bitkilerle ya da böceklerle savaş sırasında ilaçların doğrudan doğruya uygulanması, ilaçlanmış bitki ve toprak yüzeylerinden ilaçların yağmur suları ile yıkanması, ilaç endüstri artıklarının akar ve durgun sulara ya da toprağa boşaltılması halinde bunların topraktaki hareketleri, uygulama aletlerinin, boş ambalaj kaplarının su kaynaklarında yıkanması suretiyle sulara erişir. Ayrıca ilaçla bulaşan atmosferdeki katı ve sıvı ilaç zerrelerinin su kaynaklarına taşınması sonucunda da sular etkilenir. Pestisitlerin su kütlelerine karışmasının kaçınılmaz olmasından dolayı, bu kimyasallar diğer kirleticiler arasında, su ekosistemlerine giriş bakımından, birinci sırada yer almaktadır (Klaassen 2001).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO, 1989) Dünya'da her yıl 20 000 insanın pestisit etkisine bağlı olarak ortaya çıkan hastalıklardan öldüğünü bildirmiştir.

### 2.1.1. Pestisitlerin Tarihçesi

Günümüzde kullanılan pestisitlerden birçoğunun ilk kullanılışı yüzyıllar öncesine kadar dayanmaktadır. Örneğin kükürtün, fungusit ve insektisit özelliğine sahip olduğu 3 000 yıl öncesinde bilinmekteydi. DDT (Diklorfeniltrikloretan) Amerikada ilk kez 1943'te antimalaryal kampanya sırasında pestisit olarak insanlığın hizmetine

girmiştir (Falck ve ark. 1992, Hunter ve Kelsey 1993, Wolff ve ark. 1993). Bu tarihten itibaren diğer pestisitler art arda bulunmuş ve pestisit endüstrisindeki yerlerini almışlardır. Krieger ve ark. (1994), 1945'te DDT'nin hayvan sütünde bulunduğunu, 1948 ve 1951 yıllarında ise meme sütünde ve insan adipoz dokusunda saptandığını bildirmişlerdir. Sıçan ve farelerde DDT'nin akciğer, karaciğer ve lenf kanserine yol açtığı belirlenmiştir (Kolayanova ve Tarkowski 1981). DDT'nin meme kanseri riskini arttırdığı yönündeki çalışmalar 1993-1995 yıllarında ortaya konmuştur. DDT ve izomerleri östrojenik etkiye sahip oldukları için östrojen reseptörüne bağlanma yeteneğine sahiptirler (Hunter ve Kelsey 1993, Wolff ve ark. 1993, Safe 1995).

### 2.1.2. Pestisitlerin Genel Özellikleri

Zirai ilaç yapımında kullanılan aktif maddelerin bazı yardımcı maddeler ile karıştırılması ve kullanılmasına formülasyon adı verilir. Formülasyon uygulamasının nedeni çok daha güvenli, çevre ve insan sağlığı açısından çok daha az zararlı ve mümkün oldukça ekonomik kullanım sağlamaktır (Erdoğan 2010).

Toksik özelliğe sahip bir maddenin pestisit olarak kullanılabilmesi için bazı özellikleri taşıması gerekir. Bunlar;

- Biyolojik olarak aktif
- Etkili
- Ucuz
- Güvenilir
- Kolay uygulanabilen
- Yeteri kadar kararlı (stabil)
- Kullanıcılar, tüketiciler ve besi hayvanları açısından güvenilir
- Hedef canlıya spesifik olarak toksik
- Çevre için kabul edilebilir
- Yanıcı, korozif, patlayıcı, boyayıcı etkisi, yaban hayatına ve faydalı organizmalara zararlı olmamalıdır
- Kolayca toksik olmayan maddelere dönüşebilmelidir (Erdoğan 2010).

### 2.1.3. Pestisitlerin Sınıflandırılması

Pestisitler değişik özellikleri dikkate alınarak çeşitli şekillerde sınıflandırılabilirler:

- **Formülasyon şekillerine göre:**
  - Toz ilaçlar (Dust)
  - Islanabilir toz ilaçlar (WP)
  - Emülsiyon ve solüsyon konsantre ilaçlar (EC-SC)
  - Suda çözünen toz ilaçlar (SP)
  - Yağlar (GS)
  - Granüller (G)
  - Peletler
  - Tabletler
  - Toz ve sıvı tohum ilaçları
  - Aerosoller (AE)
  - Zehirli yemler (RB)
  - Kapsül formülasyonları
  - Akıcı konsantre ilaçlar (FC)
- **Etkiledikleri zararlı gruplarına göre:**
  - Böcek öldürücüler (İnsektisit)
  - Mantar öldürücüler (Fungusit)
  - Fungusların faaliyetini durduranlar (Fungustatik)
  - Yabancı ot öldürücüler (Herbisit)
  - Örümcek öldürücüler (Akarisit)
  - Bakteri öldürücüler (Bakterisit)
  - Yaprak biti öldürücüler (Afisit)
  - Kemirgen öldürücüler (Rodentisit)
  - Nematod öldürücüler (Nematosit)
  - Salyangoz öldürücüler (Mollussisit)
  - Alg öldürücüler (Algisit)
  - Kuş öldürücü veya kaçıranlar (Auensit)
  - Kaçırıcılar (Repellent)
  - Çekiciler (Atrakant)

- **Etki şekillerine göre:**
  - Bitkide
    - Sistemikler
    - Yarı sistemikler
    - Sistemik olmayanlar
  - Zararlıda
    - Mide zehiri
    - Değme (temas) zehiri
    - Solunum zehiri

Tarım ilaçları, bu sınıflandırmaların dışında etkili madde grubuna göre de sınıflandırılır (Erdoğan 2010).

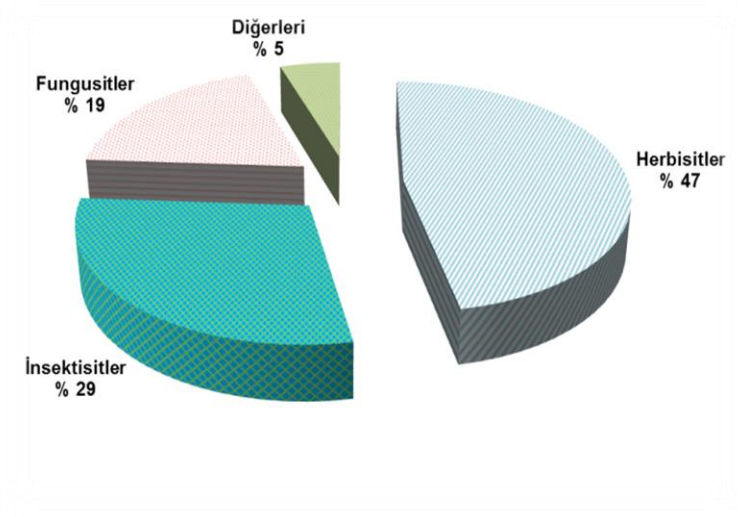
- **Bileşimindeki etkili madde grubuna göre sınıflandırma**

**- Klorlandırılmış hidrokarbonlar:** Yapılarında, karbon, klor ve hidrojen atomlarını bulunduran basit bir kimyasal sınıf teşkil ederler. 1940'lı yıllarda böcek öldürücü olarak kullanılan bu ilaçlar günümüzde önemini kaybetmiştir. Bu grup üyelerinin mide zehiri ve çok güçlü temas etkileri yanı sıra solunum organlarına da etkileri söz konusu olabilir (Daş ve Aksoy 2016).

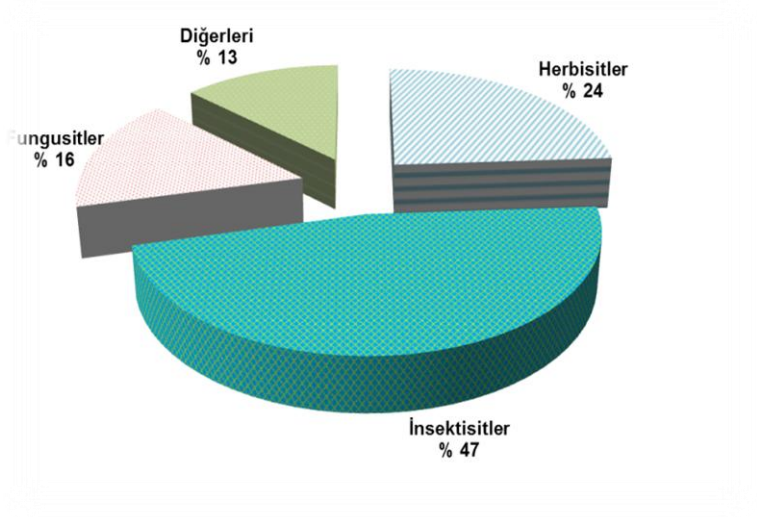
**- Organik fosforlu pestisitler:** Dünyada pestisit tüketiminin yaklaşık %45'ini oluşturan bu grup üyelerinin kolay sentezlenmesinden dolayı organik fosforlu bileşiklerin çeşitliliği artmıştır. Grup içersindeki etken maddelerin suda çözünmesi, sıcakkanlılara zehirlilikleri, buharlaşması ve kalıcılığı gibi fizikokimyasal özellikleri önemli derecede farklılık gösterir. Bundan dolayı da neredeyse her zararlıya uygun özellikte organik fosforlu bir etken madde bulunabilir. Organik fosforlu pestisitler solunum, sindirim ve deri yoluyla etkili olurlar aynı zamanda etki mekanizmaları ve kalıcılığı genel olarak fosfor atomuna bağlanan kimyasal yapının özelliğine bağlıdır. Bu grup hidroliz ve oksidasyon gibi kimyasal reaksiyonlardan büyük ölçüde etkilenir (Daş ve Aksoy 2016).

**- Karbamatlı insektisitler:** Karbamik asit esterleri olan bu grup insektisitler organik fosforlu insektisitlere nazaran daha küçük bir sınıf teşkil ederler. Calabar fasulyesinden sentezi yapılarak Neostigmine ya da kimyasal olarak N,N-dimetil karbamat olarak isimlendirilir. Kimyasal olarak asetilkolinesteraz enzimine bağlanır ve bu enzimi inhibe ederler, bunu ise organik fosforlu insektisitlere göre farklı bir şekilde yaparlar. Karbamat grubu bileşikler temas yoluyla etkili olabildikleri gibi sistemik olarakta etkili olabilirler. İnsanlar üzerindeki zehir etkileri organik fosforlularla aynı olmakla beraber, enzim düzeylerinin normale dönmesi daha kısa sürede olmaktadır (Daş ve Aksoy 2016).

Şekil 2.1 ve 2.2'de pestisit sınıflarının hem dünyada hem de Türkiye'deki kullanım oranları verilmektedir. Kullanılan bu tarım ilacı üretimi Dünya'da 3.5 milyon ton/yıl ve satış tutarı 44 milyar dolar iken Türkiye'de 50 bin ton/yıl üretim ve satış tutarı 600 milyon dolardır (Durmuşoğlu ve ark. 2010).




**Şekil 2.1.** Pestisit gruplarına göre Dünya'da tarım ilacı kullanımı (Durmuşoğlu ve ark. 2010)



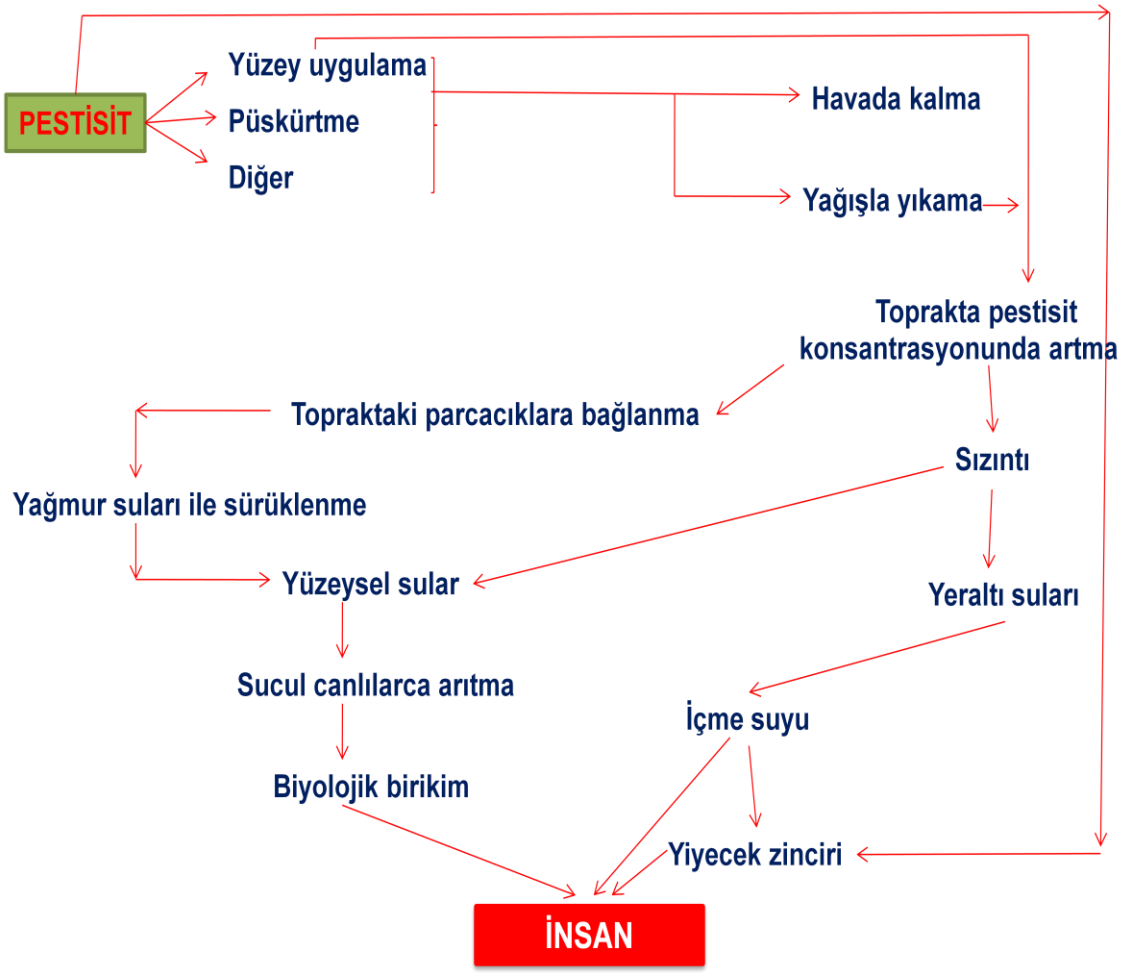

**Şekil 2.2.** Pestisit gruplarına göre Türkiye'de tarım ilacı kullanımı (Durmuşoğlu ve ark. 2010)

Dünya'da tarım ilaçları içinde herbisitler %47 ile birinci sırayı alırken bunu %29 ile insektisitler takip etmekte, fungusitlerin ise %19'luk bir payı bulunmaktadır. Şekil 2.1'de de görüldüğü gibi herbisitler ve insektisitler %70'den fazla bir bölümünü kapsarken diğer gruplar %5'lik bir kısmı oluşturur. Türkiye'de ise insektisitler tarım ilaçları içinde %47'lik bir payla birinci sırayı almaktadır. Bunu %24 ile herbisitler izlemekte, fungusitlerin ise %16'lık bir payı bulunmaktadır. İnsektisit ve herbisitler, kullanımın %70'den fazla bir bölümünü kapsamaktadır. Diğer pestisit grupları ise %13'lük bir paya sahiptir (Dağ ve ark. 2000, Durmuşoğlu ve ark. 2010).

Eldeki verilere göre Türkiye'de yıllık pestisit tüketiminin %40'ı Adana, Mersin ve Antalya olmak üzere 3 ilde yoğunlaşmaktadır. İzmir ve yöresi de bu değerlere ilave edildiğinde bu oran %65'i aşmaktadır. Yetiştirilen ürün bazında ilaç kullanımı ele alındığında bu pazarın %40'nın pamuk ve hububatta, genel olarak insektisitlerde yer aldığı görülmektedir. Turunçgil ve üzümün de yer aldığı meyvelerde %27, sebzelerde ise %16 tarım ilacı kullanılmaktadır (Kantarcı 2007, Özmen 2007, Durmuşoğlu ve ark. 2010).

### 2.1.4. Pestisitlerin Yayılımı

Pestisitler çeşitli yollarla ortama yayılırlar (Şekil 2.3).




**Şekil 2.3.** Pestisitlerin doğadaki hareketleri (Yazgan 1997)

#### 2.1.4.1. Hava Yolu ile Yayılım

Pestisitler; püskürtme, sis, duman makineleri ve basınçlı kutulardan bireylerin püskürtmesi yoluyla havaya karışır. Havanın sıcaklığına, hava akımının hızına, parçacıkların büyüklüğüne, dağılan hacme vb. faktörlerle belirli bir alanda kalabildikleri gibi istenmeyen bölgelere de kayabilirler. Solunum yolu, deriden emilim, yiyecek ve su ile vucüda alınmasıyla, havadaki toz partiküllerine tutunarak ve havadaki diğer kimyasallarla etkileşerek insanlarda etki gösterebilir. Böylece tüm canlıların etkilenmesine neden olurlar (Yazgan 1997).

#### 2.1.4.2. Su Yolu ile Yayılım

Pestisitler, toprak yüzeyinden akıntılar ile, evlerden, bitkilerden ve tarım alanlarından yayılarak su birikintilerine karışırken bazı durumlarda ise su akımı, toprağa enjekte edilmeleriyle, yağmur ve kar suları ile taşınarak yer altı sularına sızabilir. Aynı zamanda evlerde ve tarım alanlarında haddinden fazla kullanılan gübre, yağmur suyu olukları aracılığı ile yer altı suyu kaynaklarına ulaşır. Arazi çalışmalarında pestisitlerin sulandırılmalarının ve kaba doldurulmalarının kuyuların yanında yapılması ve pestisitle kirlenmiş kapların yıkanması kuyu çevresinde pestisit birikimine sebep olur. Bu sebeple pestisit kullanımı, kullanım alanları, kullanım koşulları, su birikintilerinin kontrolü, yeryüzü ve yer altı su birikintileri ve göller dikkatle denetlenmelidir. Aksi takdirde pestisitler sağladıkları yarardan çok zarar meydana getirebilir (Yazgan 1997).

#### 2.1.4.3. Yiyecekler Aracılığı ile Yayılım

Pestisit ile muamele edilmiş kapların yiyecekler ile birlikte taşınması ve depolanması oldukça tehlikelidir. Bu nedenle ortaya çıkan birçok kirlilik ve kitlesel etkilenme açığa çıkar. Dünyada birçok ülkede pestisitlerin yiyecekler ile birlikte saklanmasını ve taşınmasını önleyici birçok yasa bulunmaktadır. Yiyeceklerde kullanılan pestisitler, genellikle insana zarar vermeyecek boyutta olup böceklere etkili olmalıdır. Yiyeceklerin işlenmesi uygulamalarında gerekli bilgiye sahip olunmaması, sulandırma oranındaki hatalar ve denetiminin düzenli olarak yapılmaması büyük problemlere neden olabilir. İlaçlanan tohum tanelerinin yiyeceklerde kullanılması da bir diğer riski ortaya çıkarır. Ayrıca pestisit uygulanmasının ardından beklenmesi gereken süre dikkate alınmadan ürünlerin temini ve piyasaya sürülmeleri ciddi problemler arasındadır (Yazgan 1997).

#### 2.1.4.4. Toprak Aracılığı ile Yayılım

Toprak kirliliği, sadece toprağın kirliliği ile kalmamakla birlikte pestisitler topraktan havaya buharlaşabilecekleri yanı sıra yer altı ve yeryüzü sularına sızarak akıntı yolu ile de risk oluşturabilir. Aynı zamanda bitkilere geçebilir ve bazı kültür bitkilerinde birikebilir. Bütün canlılar doğrudan toprak kirliliği yolu ile pestisitlere maruz kalabilirler. Bu yüzden, toprak alanda kullanılan pestisitlerin kalıcı olmaması, kolayca parçalanarak zararsız hale dönüşmesi gerekir. Ayrıca pestisitleri vücutlarında ve

dokularında barındıran bitkiler ve hayvanlar gözlenerek belirlenmeli, bunların yiyecek ve hayvan yemi olarak kullanılmaları engellenmelidir (Yazgan 1997).

### 2.1.5. Pestisitlerin Kullanım Alanları

Pestisitlerin başlıca kullanım alanları şunlardır:

- Tarımsal üretim
- Bahçecilik
- Balık yetiştiriciliği
- Ormancılık
- Süs amaçlı bölgelerde (parklar, bahçeler, oyun alanları)
- Tütsüleme ve kereste korumacılığı
- Endüstriyel böcek kontrolü
- İnşaat (duvar kâğıdı yapıştırıcıları, boyalar, sıvacılık vb)
- Ev ve bahçeler
- Deniz böcek kontrolü
- Sucul böcek kontrolü
- Gıda saklanması
- Hayvancılık
- Toplum hijyeni, böcek kontrolü (Yazgan 1997)

### 2.1.6. Metabolizması

Pestisitler, diğer ksenobiyotikler gibi vücutta bazı enzimatik olaylara katılmaktadır. Enzimatik olaylar, kimyasal değişime bağlı olarak dört ana grupta toplanır. Bunlar; redüksiyon, oksidasyon, kopma ve konjugasyondur. Bunlardan; konjugasyon faz II, diğerleri ise faz I aşamasıdır. Pestisitler, faz I aşamasında karaciğerde sitokrom $P_{450}$ monooksijenazlar ile oksidasyona uğrar ve yarı ömrü kısa polar bileşiklere dönüşürken faz II aşamasında, sudaki polariteleri yüksek olan glukuronik asit ile veya glutatyon (GSH) ile konjuge edilir. Pestisit biyotransformasyonu sonucunda biyoaktivasyona uğrayan pestisit metabolitleri DNA ve protein gibi doku makromoleküllerine kovalent bağlanarak biyolojik yarı ömürlerini uzatırlar. Pestisit metabolitlerinin hücresel makromoleküle veya nörolojik öneme sahip esterazlara tutulması, onkojenik ya da nörotoksik gibi oldukça önemli anormallikleri

giderek hızlandırmaktadır. Pestisit toksikolojisinde biyotransformasyonun öneminini artıran üç önemli enzim yer almaktadır (Kitchin 1984). Bunlar;

**- Asetilkolin esteraz:** Dokularda serbest halde ya da fosfolipidlerle bileşik halde bulunan asetilkolini hidrolize eden nonspesifik bir enzimdir. Asetilkolin, sinir uçlarında etkilediği organa veya sinir ucunda ikinci bir sinir hücresine sinir implusu taşıma görevinin yanında sinir ve kas lifleri boyunca biyoelektriksel akımın ortaya çıkmasına da neden olan biyolojik önemi büyük bir esterdir. Dış çevre ile lifin iç kısmı arasında konsantrasyon farklarının oluşması neticesinde $Na^+$ iyonunun geçişi ve elektrik akımının meydana gelmesi asetilkolin esteri sayesinde olmaktadır (Kitchin 1984).

**- Sitokrom $P_{450}$ redüktaz:** Birçok memeli ve böcekte bulunan hemoprotein ailesi üyesidir. Hepatositlerde özelliklede santrlobüler bölgedeki hücrelerde çok yoğun şekilde bulunmaktadır. Sitokrom $P_{450}$ redüktaz pestisit ve poliaromatik hidrokarbonlar gibi kimyasal ve ilaç maddelerin biyotransformasyonunda ve reaktif oksijen türlerinin üretiminde kaynak oluşturmasıyla da önemli role sahiptir. Birçok pestisit sınıfı (DDT, aldrin/dieldrin, toksafen, heptaklor, lindan, endosulfan ve mireks) sitokrom $P_{450}$'yi indükler (Kitchin 1984).

**- Glutatyon-S-transferaz (GST):** Sitotoksik ve karsinojenik ajanlara karşı hücreyi korumada önemli rol oynayan bir izoenzim ailesidir. Pestisit metabolitleri, gulutatyon ile konjuge edilerek inaktif hale getirilir (Kitchin 1984).

### 2.1.7. Pestisitlerin İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri

İnsanlar çevrede yaygın olarak bulunan kimyasallara farklı yollarla maruz kalabilir. Pestisitler de içinde bulunduğu bütün kimyasalların insan vücuduna girişi üç yolla olmaktadır:

- **Ağız yolu:** Genellikle kaza, dikkatsizlik, kirlenmiş ortamda yeme içme sonucu ortaya çıkar. Bu yolla zehirlenmenin derecesi etken maddenin özelliğine ve alınan miktara göre değişiklik gösterir.
- **Solumun yolu:** Sıvı ve toz ilaçların imalatı ya da kullanımı sırasında ortama yayılan toz ve buharların solunması ile olur.
- **Deri yolu:** Pestisitlerin vücuda girişinde en yaygın yoldur. Bu yolla maruziyet, bir pestisitin deriden emilme özelliğinin olup olmadığı ile ilişkilidir. Sıvı

ilaçların deriden geçişi genellikle hızlıdır. Vücudun farklı kısımlarında deriden emilme ciddi değişiklikler ortaya koyar. Ön kolda (bilekdirsek) emilme, kasık bölgesindeki emilime göre onbir kat daha hızlı olur. Deri yoluyla zehirlenmenin derecesi özellikle ilacın deri yoluyla olan toksik etkisine, deriden emilme miktarına, bulaşık deri alanının boyutuna, ilacın deride kalma zamanına, deri üzerindeki pestisit miktarına ve deride bulunan kesik, yara v.b gibi özel durumlara göre değişiklik gösterir (Adams 1983).

#### 2.1.7.1. Pestisitlerin Sağlık Üzerine Akut Etkileri

Pestisitlerin akut etkileri tahriş edici etken nedeniyle deri veya mukozada meydana gelen hasar, egzema ve sistemik emilime bağlı olarak ölüme kadar değişmektedir. Belirtiler nonspesifik olup soğuk algınlığı, nezle vb. gibi hastalıklar ile karıştırılabilir.

Mesleki nedenli ölümlerin büyük bir kısmı toksisitesi oldukça yüksek pestisitlere bağlıdır. Tarımsal alanda çalışanlar diğer endüstriyel sektörlerde çalışanlara göre daha yüksek risk altındadır. Solunum, astım, şiddetli alerji ve kalp-damar sistemi hastalığı taşıyan kişilerde pestisitlerden etkilenme çok daha fazladır (Sharp ve ark. 1986).

#### 2.1.7.2. Pestisitlerin Sağlık Üzerine Kronik Etkileri

Kronik etkiler, daha önceden ortaya çıkan herhangi bir sağlık problemi söz konusu olmaksızın ortaya çıkabilir. Pestisite yaşam boyu maruz kalmış birçok işçinin kronik etkilenme riski ile karşı karşıya kaldığı söylenebilir. Bu yüzden pestisite maruz kalan kişilerde doğum defektleri, nörotoksisite, nörodavranışsal bozukluklar gibi birçok hastalık oluşmaktadır.

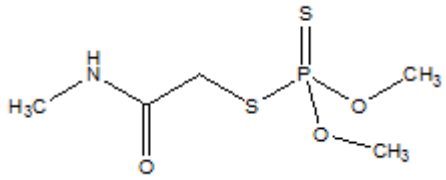
- **Kanser:** Mesleki ve çevresel olarak pestisite maruz kalan kişilerde kanser olma riskinde önemli artış olduğu görülmüştür. Bu doğrultuda kan kanseri, karaciğer kanseri, testis kanseri ve akciğer kanserine yakalanma riskinde istatistiksel olarak önemli bir artış söz konusudur (Moses 1989).
- **Doğum defektleri:** Gebeliğin ilk üç ayında pestisitlere mesleki olarak maruz kalma, sorunun büyümesine neden olur. Bunun nedeninin pestisitin embriyotoksisitesi veya fetotoksisitesi olabileceği ileri sürülmüştür (Rita ve ark. 1987).

- **Nörotoksisite:** Bazı organik fosforlu pestisitler uzun ve geniş çaplı lifleri tutan sinir hastalığına neden olabilir. Bu durum, sinir liflerinin etrafını saran miyelin tabakasının kaybına bağlı olarak kas zayıflaması veya alt ekstremitelerin felci ile sonuçlanabilir (Sharp ve ark. 1986).
- **Nörodavranışsal bozukluklar:** Uzun yıllar pestisit ile çalışanların birçoğunda organik fosforlu pestisitlerin, ağır ruhsal ve psikolojik problemlere sebep olduğu görülmektedir. Mental hastaların, düşük dozda pestisite maruz bırakılması sonucu psikoz semptomlarında ağır alevlenmeler ortaya çıkmıştır. Bununla ilgili olarak yapılan çalışmalarda, ağır psikolojik bozuklukların görüldüğü belirlenmiştir. Zehirlenen kişilerde bellek, psikolojik durum ve düşünme yeteneğinde önemli azalmaların olduğu görülmüştür (Sharp ve ark. 1986).

### 2.1.8. Çalışmalarda Kullanılan Pestisitler

#### 2.1.8.1. Dimetoat

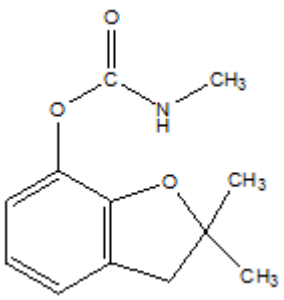
Dimetoat [*O*,*O*-dimetil *S*- 2-(metilamino)-2-oksoetil] ditiyofosfat], tarım ve kentsel alanlarda dünya çapında en yaygın kullanılan organik fosforlu insektisittir (Şekil 2.4). Beyaz kristal bir yapıya sahip olup molekül formülü $C_5H_{12}NO_3PS_2$'dir. Molekül ağırlığı 222 g/mol ve sudaki çözünürlüğü 25.000-40.000 mg/kg'dır. Çoğu organik çözücülerde kolaylıkla çözünürken (alkoller, ketonlar, benzen, toluen, kloroform, diklormetan) su'da -1.5 $^0$C ve +20 $^0$C aralığında 5.000 mg/L'den çok daha fazla çözünür. Parçalanmaya kadar ısıtıldığında azot, fosfor ve kükürt oksit gazları yayar. Memelilerde akut $LD_{50}$ değeri 245 mg/kg'dır. Meyve, sebze, tahıl, tütün ve süs bitkilerinde; akarlar, sinekler, yaprak bitleri, bitki pireleri gibi bir dizi böcek öldürücü olarak kullanılır. Ayrıca hayvancılık konaklama yerlerinin kontrolünde, ev bahçeleri ve yiyecek depolama alanındaki sinekler için de kullanılabilir. Dimetoat tüm organik fosforlular gibi böceklerin ve insanların sinir sisteminin düzgün çalışması için gerekli bir enzim olan kolinesteraz aktivitelerine müdahale ederek inhibe eder ve akut toksisiteye sebep olur (Mirajkar ve Pope, 2005).




**Şekil 2.4.** Dimetoat'ın molekül yapısı

### 2.1.8.2. Karbofuran

Karbofuran (2,2-Dimetil-2,3-dihidro-1-enzofuran-7-il metilkarbamat) çilek, buğday, mısır, yonca, üzüm ve soya fasülyesi gibi birçok üründe çok yaygın bir şekilde kullanılan geniş spektrumlu en toksik karbamat insektisitler arasında yer alır (Şekil 2.5). Beyaz kristal kokusuz bir katıdır ve molekül formülü $C_{12}H_{15}NO_3$ olup kaynama noktası 254 $^{o}$C'dir. Molekül ağırlığı 221.105 g/mol olup 25 $^{o}$C'de sudaki çözünürlüğü 351 mg/L'dir. Cilt ile teması deriyi ve gözleri yakabilir. Isı veya aleve maruz kaldığında zehirli azot oksitleri açığa çıkabilir. Çoğu organik çözücülerde kolaylıkla çözünür (alkoller, asetonitril, aseton, benzen, toluen, siklohekzan, diklormetan). Akut $LD_{50}$ değerlerinin sıçanlarda 8-14 mg/kg ve köpeklerde 19 mg/kg olması karbofuranın omurgalılar için oldukça zehirli olduğunu göstermektedir. Mısır kök kurdu, kabuk kurtları, sivrisinekler, yaprak bitleri ve beyaz kurtlar gibi toprakta yaşayan ve yaprakla beslenen böcekleri kontrol etmek için kullanılır. Su ve topraktan hızlıca bitkiler tarafından emilir ve oradanda yapraklara ulaşarak birikir. Karbofuran tüm karbamat insektisitler gibi böceklerin ve insanların sinir sisteminin düzgün çalışması için gerekli bir enzim olan asetilkolinesterazı inhibe eder ve akut toksisiteye neden olur (DPR 2002).




**Şekil 2.5.** Karbofuran'nın molekül yapısı

### 2.2. Moleküler Baskılama Teknolojisi

Moleküler Baskılama, ilgilenilen analit için seçici tanıma bölgelerine sahip polimerlerin hazırlanmasında kullanılan bir tekniktir (Mosbach ve Ramström 1996). İlk defa 1972'de Günter Wulff ve çalışma grubu tarafından tanımlanmış ve polimerlerde fonksiyonel grupların üç boyutlu yapılarının düzenlenmesiyle oldukça seçici bağlanma bölgeleri elde etmek amacıyla kullanılmıştır. Daha sonraki çalışmalar, istenilen enzim tepkimelerinin substratlarını, ürünlerini veya geçiş analoglarını hedef/kalıp molekül olarak kullanarak "yapay enzim" elde edilebileceğini göstermiştir (Wulff ve ark. 1977). Moleküler tanıma temeline dayalı bu yöntemde, hedef molekül (kalıp molekül) çevresinde gerçekleşen polimerizasyonla spesifik tanıma bölgelerine sahip çapraz bağlı polimer matriksler elde edilir. Hedef molekülün polimer matriksten uzaklaştırılmasıyla oluşan kavite (boşluk) hedef moleküle büyüklük, şekil ve fonksiyonel grupların yerleşimi olarak tamamlayıcıdır. Bu şekilde hedef molekülü seçicilikle tekrardan bağlayabilen seçici tanıma bölgelerine sahip polimerler elde edilir (Pichon ve Chapuis-Hugon 2008, Şener ve ark. 2010).

Doğal reseptörlere benzer nitelikte yüksek afinite ve seçicilik, doğal biyomoleküllere nazaran gösterdikleri üstün kararlılık, kolay hazırlanma ve farklı pratik uygulamalara kolay adaptasyon gibi özellikleri moleküler baskılanmış polimerlere olan ilgiyi yoğunlaştırmıştır (Şener ve ark. 2010). Ayrıca moleküler baskılanmış polimerler, yüksek mekanik özellikleri, ısıya ve basınca olan dirençleri, fiziksel dayanıklılıkları, asitler, bazlar, metal iyonları ve organik çözücüler gibi ortamlardaki yüksek kararlılıklarından dolayı tercih edilmektedirler. Birkaç yıl performansında değişim olmaksızın saklanabilirler (Piletsky ve ark. 2001, Haupt ve Ye 2004, Rao ve ark. 2004). Moleküler baskılanmış polimerlerin bu nitelikleri, yaşam, farmasötik ve çevre bilimleri gibi geniş bir alanda tanıma ve ayırma amaçlı kullanılmasına olanak sağlamaktadır (Ersöz ve ark. 2005, Spivak 2005, Yavuz ve ark. 2006, Şener ve ark. 2010).

Moleküler baskılanmış polimerlerin; yüksek kararlılığı, düşük maliyeti ve polimerizasyon basamaklarının sensör teknolojisinde kullanılan mikro üretime tamamen uyumlu olması pek çok pratik uygulamada sentetik tanıma elemanı olarak kullanılabilmesine olanak sağlamaktadır (Yılmaz ve ark. 2015). Bundan dolayı kimyasal biyosensörlerin geliştirilmesinde giderek artan bir şekilde kullanılmaya

başlanmıştır. Pestisitler, şekerler, nükleik asit ve amino asit türevleri, ilaçlar, toksinler ve çözücüler için moleküler baskılanmış polimer temelli sensörler geliştirilerek rapor edilmiştir (Guan ve ark. 2008, Özkütük ve ark. 2013b, Saylan ve ark. 2017). Bu yönüyle moleküler baskılanmış polimer temelli sensörler son yıllarda araştırmacıların ilgisini çeken bir araştırma konusu haline gelmiştir (Stephenson ve Shimizu 2007, Uzun ve ark. 2009, Yola ve ark. 2014).

### 2.2.1. Moleküler Baskılama Tekniği

Moleküler baskılama yöntemi temelde üç basamaktan oluşmaktadır (Şekil 2.6);

**- Ön-kompleksleşme**

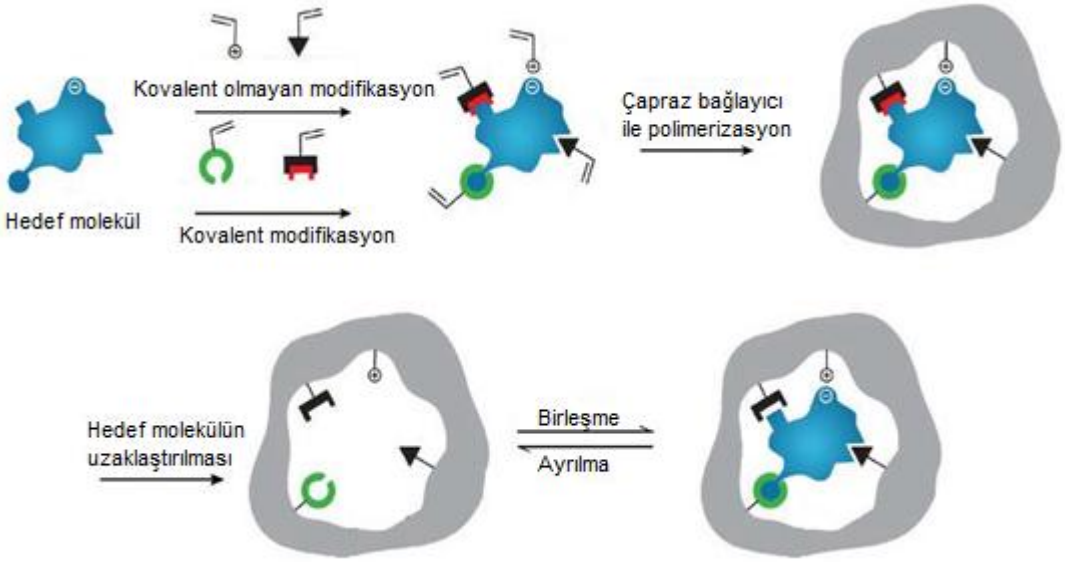
Fonksiyonel monomerler, hem seçici etkileşime girebilecek fonksiyonel gruplara hem de polimerleşebilecek doymamış bağlara (C=C bağları gibi) sahip moleküllerdir. Bu monomerler hedef moleküle kovalent veya non-kovalent etkileşimler ile bağlanarak bir ön polimerizasyon kompleksi oluşturulur. Bu aşamada hedef molekül etrafında fonksiyonel monomerin bağlandığı bir yapı oluşur. Bu etkileşimde hedef molekülün üç boyutlu yapısı ve kimyasal özellikleri önemlidir (Denizli ve Küfrevioğlu 2010).

**- Polimerizasyon**

Fonksiyonel monomer-hedef molekül kompleksi uygun bir çapraz bağlayıcı ve başlatıcı kullanılarak fonksiyonel monomer üzerinden polimerleştirilir (Denizli ve Küfrevioğlu 2010).

**- Hedef (Kalıp) molekülün uzaklaştırılması**

Uygun çözücü ve çözücü karışımları kullanılarak polimerik yapıdan hedef molekül uzaklaştırılır. Baskılanan molekülün polimerden uzaklaştırılması sonucunda polimerde baskılanan moleküle kimyasal ve fiziksel (şekil, büyüklük ve üç boyutlu yapı) uygun seçici kaviteler elde edilir ve bir karışımda baskılanan molekül polimere seçici olarak tekrar bağlanabilir (Komiyama ve ark. 2003, Denizli ve Küfrevioğlu 2010). Şekil 2.6'da moleküler baskılama yönteminin şematik gösterimi verilmiştir.




**Şekil 2.6.** Moleküler baskılama yönteminin şematik gösterimi (Alexander ve ark. 2006).

Moleküler baskılama işleminde; polimerizasyon için fonksiyonel monomer, hedef molekül, çapraz bağlayıcı, çözücü ve başlatıcı kullanılır. Etkili bir baskılama elde edebilmek için bu parametrelerin optimizasyonu oldukça önemlidir.

#### 2.2.1.1. Hedef (Kalıp) Molekül

Baskılanan hedef molekülün, fonsiyonel monomer ile kompleks oluşturacak fonksiyonel gruplar içermesi önemli bir parametredir. Hedef molekülün kompleks yapabilmesi için hidrojen bağı ve karboksil, amino, hidroksil ve amid grupları gibi elektrostatik etkileşim yapabilecek bölgeleri içermesi oldukça önemlidir. Ayrıca, hedef molekül kimyasal reaksiyonun gerçekleştiği koşullarda kararlı olmalıdır. Örneğin, ısıl bir başlatıcı seçildiğinde hedef molekülün ve/veya ön-polimerizasyon kompleksinin yüksek sıcaklıklarda yapısında parçalanma olmaması ya da UV ile başlatılan polimerizasyon koşulları altında oluşturulan ön organizasyonun kararlılığı göz önüne alınmalıdır. Hedef molekülün konformasyonundaki küçük farklılıklar bile baskılama işleminin başarı ölçütünü etkilemektedir (Davies ve ark. 2004). Baskılanacak molekül olarak pestisitler, ilaçlar, aminoasitler, karbonhidratlar, proteinler ve hormonlar kullanılabilir (Cormack ve Mosbach 1999, Ye ve Hauput 2004, Bereli ve ark. 2008, Ertürk ve ark. 2016, Saylan ve ark. 2017).

#### 2.2.1.2. Fonsiyonel Monomerler

Fonksiyonel monomerler, baskılanmış bağlanma bölgelerindeki bağlanma etkileşimlerinden sorumludur. Kompleks oluşumu ve baskılama etkisini arttırmak için fonksiyonel monomer ile bağlanacak molekül veya iyonun uyuşması çok önemlidir. Fonksiyonel monomer ile baskılanacak molekül arasındaki kompleksleşme monomerin sterik ve elektronik etkisine bağlıdır. Asidik (metakrilik asit (MAA), p-vinilbenzoik asit, akrilik asit (AA), 2-(triflorometil)-akrilik asit (TFMAA), akriloamido-(2-metil)-propan sülfonik asit (AMPSA)), bazik (4-vinil piridin (4-VP), 2-vinil piridin (2-VP), 4-(5)-vinilimidazol, 1-vinil imidazol, allilamin, N,N´-dietil aminoetil metakrilamit (DEAEM)) ve nötral (akrilamit, metakrilamit, 2-hidroksietil metakrilat (HEMA), akrilonitril (AN), metilmetakrilat (MMA), stiren, etilstiren) özelliklere sahip yaygın olarak kullanılan fonksiyonel monomerlerin yanı sıra metal-şelat etkileşimini ön plana çıkaran monomerler de son zamanlarda sıklıkla kullanılmaktadır (Komiyama ve ark. 2003).

#### 2.2.1.3. Çapraz Bağlayıcılar

Çapraz bağlayıcı; kalıp molekül çevresinde sabit bir yapı oluşturmak, yapının morfolojisini kontrol etmek, baskılanmış kalıp moleküle özgü bağlanma bölgelerinin kararlı olmasını sağlamak, polimer matrikse mekanik kararlılık kazandırmak için kullanılmaktadır (Komiyama ve ark. 2003). Çapraz bağlayıcıların ve/veya çapraz bağlanma miktarı polimerik matriksin çözücüde çözünmesini engeller (Cormack ve Elorza 2004). Baskılama işleminin uygunluğu için, fonksiyonel monomerlere uyumlu çapraz bağlayıcılar belirlenmelidir. Aksi takdirde fonksiyonel monomer ya da çarpaz bağlayıcı ajan baskın olduğunda polimerizasyon etkili bir şekilde gerçekleşmez. Çapraz bağlayıcı ajanın fonksiyonel monomere mol oranı da önemlidir (Dickert ve Hayden 1999). Bu oran çok düşük ise, konuk bağlanma bölümleri birbirine çok yakın tutulursa bunlar bağımsız olarak çalışamazlar. Bir taraftaki konuk bağlanma komşusundaki konuk bağlanmayı engeller. Yüksek mol oranlarında ise özellikle çapraz bağlayıcının fonksiyonel monomerlerle veya kalıp molekülle kovalent olmayan etkileşimleri sonucunda baskılama etkisi zarar görür. Fazla miktarda çapraz bağlayıcı olduğunda polimerizasyon baskılanacak hedef molekül etrafında gerçekleşir (Komiyama ve ark. 2003, Cormack ve Elorza 2004). Bundan dolayı; çapraz bağlayıcı/monomer oranları

optimize edilmelidir. Literatürde *N,N'*- metilen bisakril amid (MBAAm), etilen glikol dimetakrilat (EGDMA) ve divinilbenzen (DVB) en sık kullanılan çapraz bağlayıcılardır.

#### 2.2.1.4. Başlatıcılar

Radikalik polimerizasyon, serbest radikal oluşturan başlatıcıların ısıl bozunmasıyla başlatılabilir. Genellikle 2,2'-azobis(izobütironitril) (AIBN), 2,2'-azobis (2,4-dimetil valeronitril) (ADVN) ve benzoil peroksit (BPO) kullanılır. Monomer ile hedef molekül arasındaki kovalent olmayan etkileşimlerin zayıf olduğu durumlarda çok yüksek sıcaklıklara çıkılmamalı ve bu durumlarda, ısıl bozunma yerine UV bozunma tercih edilir (Denizli ve Küfrevioğlu 2010).

### 2.2.2. Moleküler Baskılama Yöntemleri

Moleküler baskılama yöntemi temel olarak, foksiyonel monomer ile hedef molekül arasında oluşan bağın çeşidine göre ikiye ayrılır.

#### 2.2.2.1. Kovalent Baskılama

Hedef molekül ve fonksiyonel monomer birbirine polimerizasyon işleminden önce kovalent bağlar ile bağlanır ve polimerizasyondan sonra kovalent bağlar kırılır. Hedef molekül, katı polimerik yapı içersinde seçici boşluklar oluşturmak amacıyla polimerden uzaklaştırılır. Böylelikle hedef molekül, baskılanmış polimerlerle etkileşime sokulduğunda aynı kovalent bağlar yeniden ortaya çıkar (Alexander ve ark. 2006). Bu yöntem ilk olarak 1977 yılında rapor edilmiştir (Wulff ve ark. 1977). Kovalent baskılamada baskılama işleminden önce kararlı hedef-monomer kompleksi oluşturulduğu için bağlanma bölgelerinde eşit dağılım elde edilir (Lasakova ve Jandera 2009). Konjugatlar kovalent bağlarla oluşturulduğu için polimerizasyon koşulları (yüksek sıcaklık, yüksek ya da düşük pH gibi) istenildiği gibi uygulanabilir. Ancak sınırlı sayıda bileşik bu yöntemle baskılanabilir (alkoller, aldehitler, ketonlar, aminler, karboksilik asitler) (Alexander ve ark. 2006). Kovalent baskılama, dezavantajlarının çokluğundan dolayı kullanımı sınırlıdır. Kovalent yaklaşımda polimerik yapının içindeki monomer ile hedef molekül arasındaki kovalent bağların kırılması ve kalıbın polimerden uzaklaştırılması işlemi oldukça zordur (Sellergren ve ark. 1988, Kriz ve ark. 1997). Ayrıca kalıp tanıma basamağında hedef molekül ile polimer arasında kovalent bağ oluşumu yavaş gerçekleştiği için ve kromatografik ayırmalarda polimer sabit fazı ve

analit arasında hızlı bir etkileşim olduğundan zayıf sonuçlar elde edilir (Caro ve ark. 2002).

#### 2.2.2.2. Kovalent Olmayan Baskılama

Fonksiyonel monomer ile hedef molekülün bağlanması hidrojen bağı, elektrostatik etkileşimler ve koordinasyon bağ oluşumu gibi kovalent olmayan etkileşimlerle gerçekleşir. Polimerizasyonun ardından uygun çözücüler ile hedef molekül polimerden uzaklaştırılır. Hedef molekül, baskılanmış polimerlere kovalent olmayan etkileşimlerle bağlanır. Kovalent olmayan baskılama, polimerizasyondan önce kovalent olmayan yaklaşımlarla hedef molekül etrafında fonksiyonel monomerlerin düzenlenmesine olanak sağladığından basit ve sorunsuzdur (Mosbach and Arshady 1981). Kovalent bağlanmayla kıyaslandığı zaman kovalent olmayan bağlanma kinetiği, enzim-substrat bağlanmaları gibi hız ve etkileşim kuvvetine sahiptir (Sellergren ve ark. 1988). Baskılanmış polimerler, hedef molekülün yapısı ve reaktivitesi hakkında spesifik bilgiye ihtiyaç duyulmaksızın hazırlanabilir. Aynı zamanda kovalent olmayan baskılamada hedef molekül ve fonksiyonel monomerler arasındaki etkileşimler özgül değildir. Kovalent olmayan polimerlerde bağlanma bölgelerindeki dağılım heterojen olup non-spesifik bağlanmalara ve hedef molekülün zayıf moleküler tanınmasını ortaya çıkarır (Katz ve Davis 1999, Dong ve ark. 2002).

### 2.2.3. Baskılama İşleminin Kontrolü

Moleküler baskılanmış polimerlerin seçiciliği, hedef molekül için tasarlanmış spesifik kavitelerden (boşluk) kaynaklanmaktadır. Yapılan çalışmalar baskılanmamış polimer (hedef molekülün yokluğunda aynı polimerizasyon işleminin uygulanması) ile karşılaştırmalı olarak yürütülür. Baskılanmış ve baskılanmamış polimerler spesifik boşluklar dışında aynı kimyasal özelliklere sahiptirler. Eğer polimerizasyon sırasında kaviteler iyi oluşturulmuş ise baskılanmış polimerdeki etkileşimler daha kuvvetlidir. Etkileşimdeki bu hassasiyet, hedef molekülün üç boyutlu yapısının polimerik hafızaya alınmasından kaynaklanmaktadır. Oluşturulan kavitelerin fiziksel yapısı bağlanma çalışmaları ve kromatografik ölçümler gibi farklı yöntemlerle gözlemlenebilir. Polimerlerin seçicilikleri, baskılanmış ve baskılanmamış polimerlerle olan etkileşimleri; hedef molekül baskılanmış ve baskılanmamış polimerlere ait dağılım katsayılarının (k)

ve baskılama faktörü olarak değerlendirilen bağıl dağılım katsayısının (k´) hesaplanmasıyla gösterilir (Pichon ve Chapuis-Hugon 2008).

### 2.2.4. Moleküler Baskılanmış Polimerlerin Uygulama Alanları

Moleküler baskılanmış polimerlerin ticari olarak kullanıldığı alanlar şunlardır:

(1) ayırma; (2) sensör; (3) kataliz.

Kimya sanayisi ve ilaç endüstrisindeki artan pazar talepleri doğrultusunda moleküler baskılanmış polimerlerin su saflaştırma ve atık malzeme değerlendirme işlemleri gibi ayırma alanındaki uygulamaları giderek genişlemektedir. Sadece kromatografi kolonlarının satışının 500 milyon/yıl ABD dolarına ulaştığı ve membran ayırma teknolojisi pazarında 1 milyar/yıl ABD doları civarında büyüme olduğu tahmin edilmektedir. Moleküler baskılanmış malzemelerin afinite ayırma, katı faz ekstraksiyonu ve organik ortamlar, toksik ortamlar, düşük ya da yüksek pH'lar, yüksek sıcaklıklar ve basınç gibi sert şartlar altında bu pazarda %1-3 oranda yer alması beklenmektedir (Piletsky ve ark. 2001).

Rekombinant protein ve monoklonal antibadileri içeren biyofarmasötik sektörü en dinamik pazardır. Moleküler baskılamaya dayalı sorbentlerle protein ayırma çalışmaları zaten gösterilmiştir (Bereli ve ark. 2008). Moleküler baskılamaya dayalı bu malzemeler amino asitlerin, DNA ve RNA moleküllerinin, peptitlerin, hormonların, karbonhidratların saflaştırılmasında ve ilaçların katı faz ekstraksiyon uygulamalarında kullanılabilir. Diğer uygulama alanları da temel araştırmalar, ilaç dizaynı, optik ve polimer kimyasında önemli yeri olan kiral bileşiklerin ayrılmasındaki kullanımlarıdır (Uzun ve ark. 2013).

Moleküler baskılanmış polimerler; pestisitlerin, endokrin bozucu bileşiklerin, ağır metallerin atık ve içme sularından uzaklaştırılmasına olanak sunmaktadır. Ters osmos membranların kullanımı ile yapılan arıtma tüm iyonları uzaklaştırmakta ve bu da arıtma işleminin etkisini azaltabilmektedir. Moleküler baskılanmış polimerler ağır metalleri, radyoizotopları yüksek seçicilik ile uzaklaştırabilir (Andaç ve ark. 2004).

Bir diğer uygulama alanı ise sensörlerde tanıma elemanı olarak kullanımlarıdır (Özkütük ve ark. 2013b). Prensip olarak, elektrokimyasal voltametri, floresan, piezoelektrik ve yüzey plazmon rezonans gibi fiziksel ölçümler moleküler baskılamaya

dayalı sensörlerde sinyal tayini için kullanılabilir (Uzun ve ark. 2009, Saylan ve ark. 2017). Çünkü sentetik tanıma elemanları olarak pek çok pratik uygulamada yüksek kararlılık, ucuz maliyet ve kolay hazırlanabilme gibi avantajlara sahiptirler (Holthoff ve Bright 2007, Sarı ve ark. 2016). Moleküler baskılanmış polimerler sahip oldukları yüksek kararlıklarıyla biyolojik reseptörlerin alternatifi olarak sensör uygulamalarında kullanılmaya başlanmıştır (Osman ve ark. 2013).

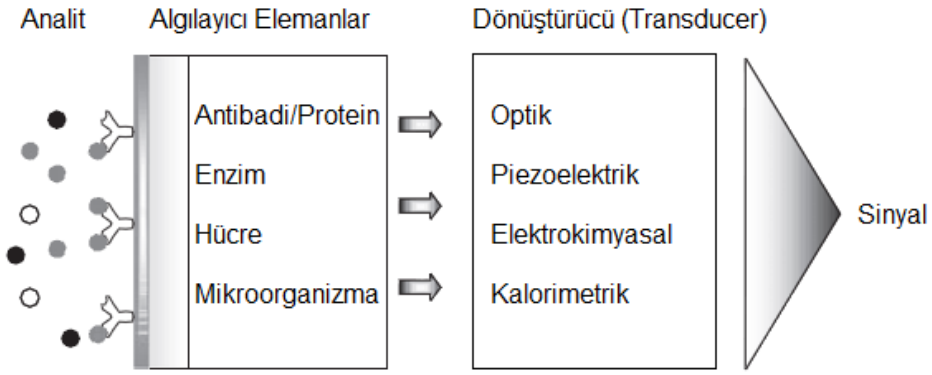
Son yıllarda moleküler baskılama temelli elektrokimyasal ve optik sensörler hakkındaki yayınların sayısı artmaktadır (Uzun ve ark. 2009, Osman ve ark. 2013, Saylan ve ark. 2017). Aynı zamanda kütle duyarlı dönüştürücülerin (Özkütük ve ark. 2013b) geniş aralıkta analit (amino asit türevleri, ilaçlar ve şeker türevlerinin kiral ayrımı için, antibadi-reseptör benzeri olarak steroidler, proteinler ve protein analogları için, organik reaksiyonlarda enzim benzeri olarak, iyon seçici absorbanlar olarak) çeşidine uygulanabilmesinden dolayı popülerliği giderek artmaktadır (Özkütük ve ark. 2013b).

### 2.3. Kuvars Kristal Mikroterazi (QCM)

#### 2.3.1. Sensörler

Sensörler, kimya, biyoloji, fizik, mühendislik gibi birçok bilim alanından yararlanıp analit ile seçimli bir şekilde etkileşime girebilecek şekilde tasarlanan ve etkileşim sonucunda oluşan değişimleri çevirici bir sistem ile yorumlanabilir sinyaller haline getiren analitik cihazlardır (Wang 1997).

Sensörler, çalışma prensiplerine ve dönüştürücü adı verilen yapılarına göre sınıflandırılır. Isıl, mekanik, kimyasal, akustik, radyoaktif sensörler ve biyosensörler bunlardan bazılarıdır (Bunde ve ark. 1998). İlgi alanımıza giren biyosensörler Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği (The International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC) tarafından, biyolojik olarak aktif bileşenlerin bir fizikokimyasal çevirici ile birleştirilmesiyle oluşan kompakt analitik cihazlar olarak tanımlanmıştır (Guilherme ve ark. 2009) (Şekil 2.7).




**Şekil 2.7.** Bir biyosensörün konfigürasyonu (Uludağ ve ark. 2007).

### 2.3.1.1. Piezoelektrik Kristalli Biyosensörler (Kütle Duyarlı Biyosensörler)

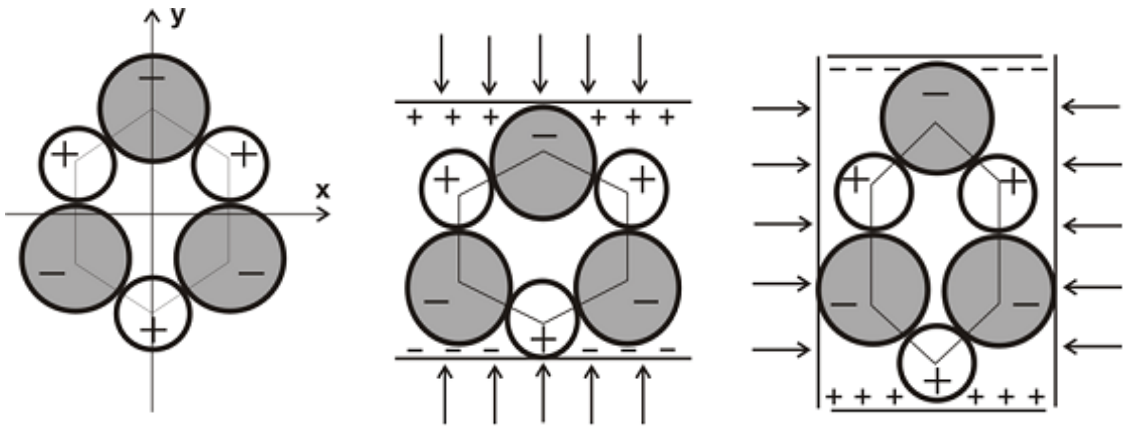
Piezoelektrik etki ilk olarak 1880 yılında Jaques ve Pierre Curie tarafından gözlenmiştir. Bazı kristallerin yüzeylerine mekanik gerilim uygulandıktan sonra kristal yüzeyleri arasında uygulanan bu gerilimin şiddeti ile doğru orantılı bir elektriksel potansiyel farkı oluşur. Bu etki "piezoelektrik etki" olarak adlandırılmıştır.

Sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda, elektriksel potansiyel farkının, uygulanan mekanik gerilim sonucu kristaldeki boyut değişimi ile ilgili olduğu anlaşılmıştır. Piezoelektrik kristalinin iki yüzeyi arasına uygulanan elektriksel gerilim farkının kristallerde boyut değişimine ve gerinime yol açtığı belirlenmiştir. Bu özellikteki bir kristal, uygun bir elektrik devresine bağlanması kristalin şekline ve kütlesine bağlı olarak sabit bir frekansta titreşim yapar (Guilherme ve ark. 2009). Kütle duyarlı sensörlerin çalışma prensibi asimetrik kristallerin sahip oldukları piezoelektrik etki özelliğine dayanır (Şener ve ark. 2010, Yılmaz ve ark. 2015).

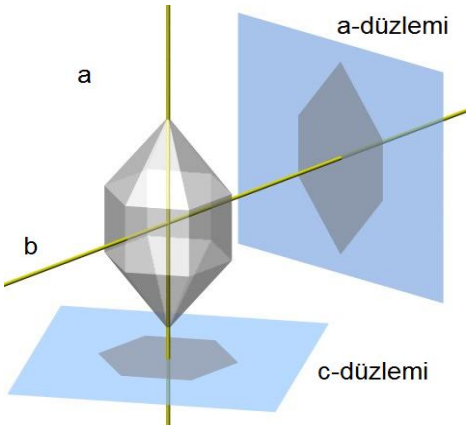
Şekil 2.8'de piezoelektrik etkiye sahip kuvars kristalinin x-ekseni doğrultusunda uygulanan çekme veya itme kuvvetleri ile deformasyonu ve y-ekseninde oluşan yük değişimi gösterilmektedir (Özgür 2011). Kuvars kristallerin bu özelliğinden faydalanılarak birçok doğru ve hassas analitik cihazlar yapılmaktadır. Piezoelektrik sensörlerin en önemli uygulaması, kütleye bağlı ölçüm yapan ve oldukça hassas olan Kuvars Kristal Mikroterazi (QCM) sensör sistemidir.

Kuvars, üç boyutlu simetrik bir eksene sahipken merkezi bir simetriye sahip olmayan kristal yapıdaki silika ($SiO_2$)'dır. Kuvars kristalin gerilimden yoksun olması, oksijen ve silisyum atomlarının hareketine olanak sağlar. Bu deformasyon, yük

merkezlerinin ve elektrik polarizasyonunun ayrılması ile sonuçlanır. Kuvars kristalin kimyasal, mekanik ve elektriksel özelliklerinden dolayı ticari piezoelektrik malzemelerin en kullanışlı olanıdır (Lu ve Czanderna 1984) (Şekil 2.9).




**Şekil 2.8.** Piezoelektrik etkinin şematik gösterimi (Özgür 2011)




**Şekil 2.9.** Kuvars kristal (Özgür 2011)

Kuvars kristal, kimyasal doğasına, şekline, boyutuna ve kütlesine bağlı olan doğal bir titreşim frekansına sahiptir. Kristalin kırılması rezonans frekansı üzerinde bir etkiye sahiptir (Heising 1946). Temel olarak bir frekans sayacı, gerilim kaynağı ve bir osilatör devreden oluşan QCM, temel rezonans frekansları genellikle 5-30 MHz aralığındaki kuvars plakalar temeline dayanır (Janshoff ve ark. 2000). Altın, gümüş, aluminyum veya nikel olabilen iki metal elektrot arasındaki bu kuvars plakalar ters yönde sıyırma modu (TSM) rezonatörler olarak adlandırılır (Smith 2008). Piezoelektrik

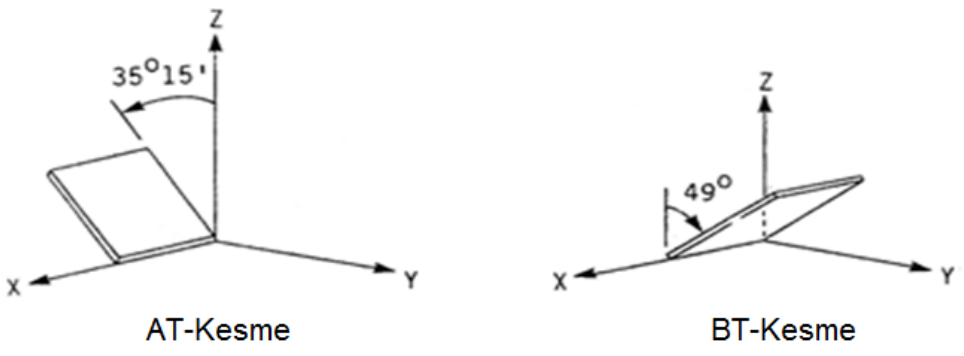
uygulamalarında kullanılan kristaller, disk, kare veya dikdörtgen şeklinde, 10-16 mm boyutlarında, ortalama 0.15 mm kalınlığında olabilirler. Rezonans frekansları çoğu zaman 5, 9 veya 10 MHz olan kuvars kristaller kullanılır (Richard ve Jerome 1996) (Şekil 2.10).




(a) (b) (c)

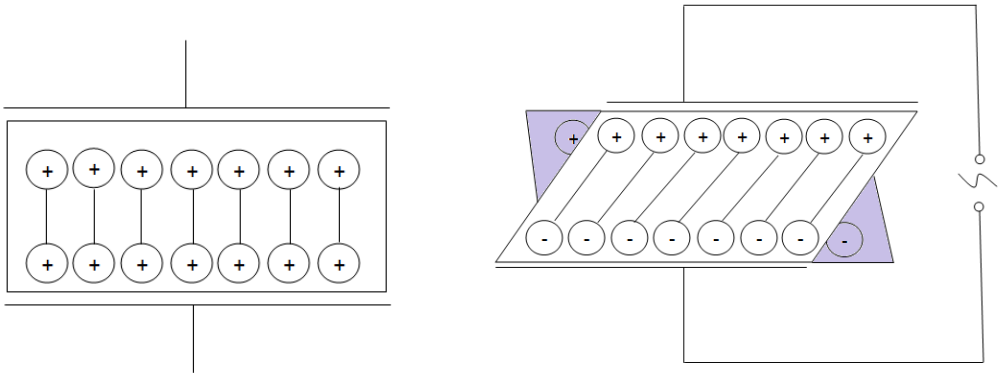
**Şekil 2.10.** (a) Piezoelektrik kristalinin şematik görünümü, (b) QCM kristalin üst yüzey görüntüsü, (c) QCM kristalin alt yüzey görüntüsü (Özgür 2011)

Kuvars kristaller, piezoelektrik dedektör özelliğinin ortaya çıkması için belli bir açıyla kesilir. Kristal yapının karakteristik düzlemi ile kesme tabakasının arasındaki açı AT ve BT kesmelerde sırasıyla 35°15' ve -49°00'dir (O'Sullivan ve Guilbault 1999) (Şekil 2.11). QCM sensörleri sıyırma mod'da kütle değişimine en duyarlı olmalarından dolayı bu oryantasyonda kesilirler (Guilbault ve Jordan 1988). Piezoelektrik uygulamalarında çoğunlukla $\Delta f/f \sim 10\text{-}8$ gibi yüksek frekans kararlılığı ve 0-50 °C aralığında sıfıra yakın sıcaklık katsayısına sahip AT-kesme kristaller tercih edilir. Bu özelliğinden dolayı da AT-kesme kristalleri birçok elektronik cihaz için vazgeçilmez olmaktadır (Janshoff ve ark. 2000).

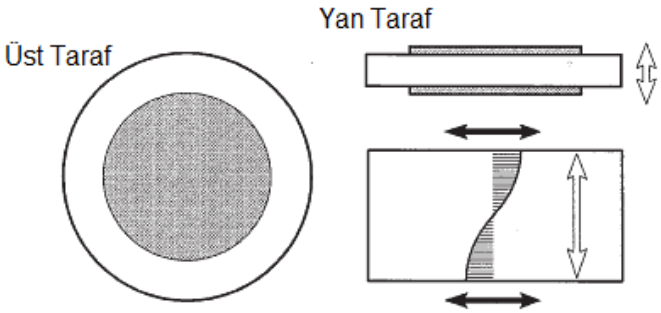



**Şekil 2.11.** AT-BT kesim kuvars kristal düzlemi (Marx 2003).

Kuvars kristal mikroterazi, piezoelektrik etkiye sahip doğal ya da sentetik kuvars kristalden belli açıyla kesilmiş kuvars kristal rezonatörler içerir. Kuvars kristalin iki yüzeyi birbirine paralel yönlerde hareket ederek alternatif bir elektrik alan uygulanması kristal yığın yapısında mekanik strese yol açmıştır. Salınan elektrik alan, kristal boyunca yayılan akustik bir dalga ortaya çıkarır, bununla birlikte oluşan akustik dalga kristal yüzeyine dik bir şekilde yayılır ve rezonatörün kalınlığının akustik dalganın dalga boyunun yarım katları olmasından dolayı düşük direnç ile karşılaşırlar (Guilherme ve ark. 2009) (Şekil 2.12-2.13).



**Şekil 2.12.** Kayma deformasyonu (Yüzey hareketi) (Özgür 2011)




**Şekil 2.13.** Akustik dalga yayılma modu (Kaspar ve ark. 2000)

Uygun titreşim frekanslarına ulaşılabilmesi için, kuvars kristal plaka belli bir oryantasyonda ve düzgün kesilmelidir (AT-kesme ya da BT-kesme). Kristal yüzeyindeki biriken filmin kütlesi ile orantılı olarak rezonatörün frekansı azalır. Bir rezonans salınımına, elektrik ve mekanik salınımının kristal temel frekansına yakın olduğu salınım (osilasyon) devresine kristalin eklenmesiyle ulaşılır. Temel frekans

rezonatörün kalınlığına, kimyasal yapısına, şekline ve kütlesine bağlıdır. Ortamın da (sıvı ya da gaz faz olması) salınım frekansı üzerinde etkisi vardır (O'Sullivan ve ark. 1999).

Kuvars kristal rezonatörün frekansındaki değişimin (Δf), mutlak kütle değişiminin (Δm) doğrusal bir fonksiyonu olduğunu Sauerbrey (1959) tarafından gösterilmiştir.

$$\Delta f_m = - \frac{f_o^2}{F_q \rho_q} m_s = - \frac{f_o^2}{F_q \rho_q} \frac{\Delta m_s}{A_{el}} \qquad 1$$

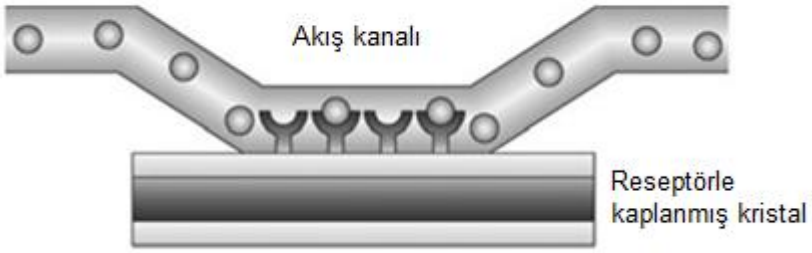
Rezonatör üzerinde biriken ince katı tabakalar Eşitlik 1'deki gibi hesaplanır. QCM ölçümleri ilk olarak katı faz ölçümler için kullanılmıştır. Ancak daha sonrasında uygun salınım devrelerinin geliştirilmesiyle sıvı fazda da ölçümler yapılmaya başlanmıştır (Nomura ve Okuhara 1982). Kanazawa (1997) tarafından türetilen Eşitlik 2, sıvının yoğunluğu ($\rho_1$), viskositesi ($\eta_1$) ve kuvars kristal rezonatörün frekansı arasındaki ilişkiyi açıklar.

$$\Delta f = - f_o^{3/2} \sqrt{\frac{\rho 1 \eta 1}{\pi \rho q \mu q}} \qquad 2$$

İki tabakalı bir sistemde frekans değişimi, tüm değişimlerin toplanması ile hesaplanır.

$$\Delta f = \Delta f_m + \Delta f_1 = - f_o^2 \left( \frac{\Delta ms}{Fq \rho q \; Ael} + \sqrt{\frac{\rho 1 \eta 1}{fo \pi \rho q \mu q}} \right) \qquad 3$$

fo (Hz), rezonans frekansı; $F_q$, ($F_q$= ¼ $f_o.d_q$) (Hz.cm$^2$/ng), kristalin frekans sabiti; dq (mm), kristalin kalınlığı; $p_q$ (g/cm$^3$), yoğunluğu; $A_{el}$ (mm$^2$), kristal rezonatörün elektrot boyutu; $q_l$ (g/cm$^3$), sıvının yoğunluğu; $\eta_1$ (kg/m/s), sıvının viskositesi.




**Şekil 2.14.** Akış kanalında QCM algılamasının şematik gösterimi (Özgür 2011)

Eşitlik 2'den anlaşılacağı üzere kuvars kristal rezonatör sadece kütle değişimine hassas olmayıp, ayrıca rezonatör yüzeyinde viskosite ve yoğunluk değişimlerine de hassasiyet gösterir (Uludağ ve ark. 2007). Kütle hassasiyetine dayanan ölçüm yöntemiyle sinyal dönüştürme mekanizmasının bir kısmı olan işaretleme basamağına gerek duyulmamaktadır. Piezoelektrik mekanizma üzerinden sinyal iletimi kompleks, optikçe opak karışım ortamında iyi sonuç vermektedir. Çözeltideki yoğunluk-vizkosite değişimlerinden, bağlanan ara yüzey malzemedeki vizkoelastik değişimlerinden ve yüzeydeki serbest enerji değişimlerinden dolayı bu teknik çözelti-yüzey ara yüzeyindeki algılanması zor olan değişiklikler tayin edebilir. Elektrokimyasal kuvars kristal mikroterazi türleri, metal elektrodun üst kısmına potansiyel uygulamasıyla araştırmacılara olanak sağlar. Böylece bir elektrokimyasal hücre ortaya çıkar aynı zamanda elektrokimyasal reaksiyonların ve elektron transfer süreçlerinin incelenmesi mümkün hale gelir (Şekil 2.14). Kullanımı oldukça kolay olan bu tekniğin temel ekipmanlarının pahalı olmaması avantajları arasındadır (Marx 2003).

Piezoelektrik kristallerin ilk analitik uygulaması King (1964) tarafından rapor edilmiştir. Sonraki yıllarda yoğun çalışmalar sonucunda organik buharların (Guilbault 1983, Guilbault ve Jordan 1988), çevre kirleticilerinin (Guilbault ve Jordan 1988) analizi için birçok gaz faz dedektörleri ve kromatografi dedektörleri (Konash ve Bastiaans 1980) literatürdeki yerlerini almıştır. İlk piezoelektrik immünosensör Shons ve ark. (1972) tarafından geliştirilmiştir. Sensör yüzeyine immobilizasyonu yapılmış antibadilerin kullanıldığı QCM immünosensörler, HIV virüsünün de içlerinde bulunduğu birçok analitin tayini için kullanılmıştır (Kösslinger ve ark. 1992, Carter ve ark. 1995, Yun ve ark. 1998). Antibadi immobilizasyonu ile birlikte Protein-A kaplı kristal yüzeyler de pestisitlerin, bakterilerin, virüslerin vb. birçok analitin tespitinde

kullanılmıştır (O'Sullivan ve ark. 1999). Fawcett ve ark. (1988)'ı ilk olarak hibridizasyon sonucunda kütle artışını algılayan piezoelektrik DNA sensörü geliştirdiklerini ileri sürmüşlerdir. Bu kapsamda, ilk rapor edilmesinin (1964) ardından 50 yıllık bir zaman sürecinde QCM temelli sensörler araştırmacılar için önemli konularından biri haline gelmiştir. Bu bağlamda; pek çok analit için farklı yaklaşımlar uygulanarak sensörler geliştirilmiş ve konuyla ilgili çalışmalar giderek artmıştır.

### 2.4. Yüzey Plazmon Rezonans (SPR)

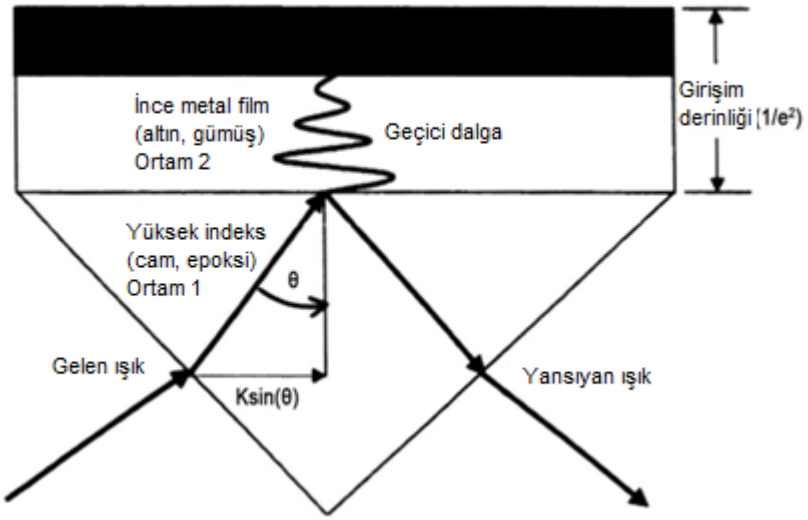
Yüzey plazmon olgusu ilk olarak Wood (1902) tarafından polarize ışığın bir kırınım düzenleyici yüzeyinden bir aynaya yansıttığında aynada karanlık ve aydınlık bantlarının tespiti ile ortaya çıkmıştır. Daha sonra sırasıyla Lord Rayleigh ve Fano teorinin gelişimine katkı sağlamışlardır. Ancak yapılan bu çalışmalara rağmen yüzey plazmon rezonans (SPR) olgusu 1968 yılına kadar tam olarak anlaşılmamıştır. Bu tarihte yüzey plazmon rezonansların oluşumu rapor edilmiştir (Schasfoort ve Tudos 2008). Yapılan bu çalışmalar, SPR olgusuna dayalı yüksek seçicilikte sensörlerin geliştirilmesine imkân tanımıştır. Liedberg ve ark. (1983), SPR temelli ilk biyosensörü hazırlamışlardır. Bu tarihten sonra bu konuda yapılan çalışmaların sayısı giderek artmıştır (Nylander ve ark. 1982, Liedberg ve ark. 1983, Strong ve ark. 1999, Miura ve ark. 2003, Uzun ve ark. 2009, Ertürk ve ark. 2016).

Yüzey plazmon rezonans, metal yüzeye yakın kırılma indisindeki değişimi ölçerek basit ve doğrudan ölçüm yapan bir tekniktir (Homola 2008). SPR yönteminde geçirgen ve farklı kırılma indisli iki ortam arasında (cam prizma ve çözelti) ince bir metal film kullanılır. Metal film çoğunlukla altın veya gümüş olmaktadır. Kritik bir açının üzerinde düzlem polarize ışık, daha yüksek kırılma indisli bir ortama girdiğinde (cam prizma) toplam iç yansımaya uğrar. Bu durumda kendiliğinden sönümlü dalga (evanescent wave) adı verilen ışık, metal filmin içine doğru hareket eder. Belirli bir kırılma açısında bu dalga, metal yüzeyde serbest haldeki elektronların yüzey plazmonların oluşmasına sebep olarak yansıyan ışığın yoğunluğunu düşürmesi olayına yüzey plazmon rezonans denir ve sadece yüzeye analit eklenmesiyle değiştirilebilen rezonans açısı denilen belirli bir açıda gözlenir. Değişen rezonans açısı, yüzeyin hedef moleküle göre modifiye edilmesi ile seçici hale getirilebilir. Bu da SPR sensörlerin temelini oluşturmaktadır (Şener 2009).

### 2.4.1. Yüzey Plazmon Rezonans Teorisi

Yüzey plazmon rezonans teorisi, enerji taşıyan ışık fotonunun, metalin elektronları ile birleşmesi veya enerji transferi ilkesine dayanmaktadır. Birleşmenin (veya enerji transferinin) gerçekleştiği ışığın geliş açısı her metal ve metal yüzeyinin çevresine göre değişmektedir. Işık fotonları ve metal yüzeyindeki elektronlar arasında bir eşleşme ve/veya rezonans yakalandığında enerji transferi gerçekleşir. Bu enerji transferi, metal filmin alt yüzeyinden yansıyan ışığın miktarının ölçülmesiyle belirlenebilir. Her ışık birçok açıda yansırken, ışığın bir bölümü rezonans açısında absorplanmaktadır (Şener 2009).

Kretschmann prizma yapısı, yüzey plazmon rezonans prizmalarının hazırlanmasında en sık kullanılan tasarımdır. Şekil 2.15'te görüldüğü gibi, metal film yüzeyindeki yük yoğunluk salınımını uyaran ışık demetinin toplam iç kırılması ile oluşan kendiliğinden sönümlü dalganın kullanıldığı bir yaklaşıma sahiptir. Bu elektron salınımları yüzey plazmonları olarak adlandırılır. Geçici alanın girişim derinliği ışığın dalga boyuna, ışığın geldiği ortam ile çevresinin kırınım açısı indekslerinin birbirine oranına ve fotonun parlaklığına bağlıdır. Enerji alanının yüzeyden uzaklaşmasının üstel olarak azalmasıyla girişim derinliği aniden düşmektedir (Şener 2009).




**Şekil 2.15.** Dielektrik sınırlarda gerçekleşen iç kırınım (Şener 2009)

Girişim derinliği şu şekilde tanımlanmaktadır:

$$d_p = \frac{\lambda}{4\pi\sqrt{\eta_1^2 \sin^2\theta - \eta_2^2}}$$

Burada;

- $\eta_1$ ve $\eta_2$, birinci ve ikinci ortamın kırınım açısı indeksi,
- $\theta$, ışığın metal yüzeye geliş açısıdır.

Metal yüzeye uygun p-polarize ışık, metal film ile bir araya gelmek amacıyla prizmanın içerisine girer. Sadece p-polarize ışık plazmon oluşumuna sebep olmaktadır. Bunun nedeni ise sadece bu polarizasyonun metal film normaline uygun elektrik alan vektör salınımına sahip olmasıdır. Bu özellik, metal yüzeyindeki elektron plazmalarının transvers manyetik (TM) dalgası olarak adlandırılır (Szentirmay 1991, Welford 1991). Burada; s-polarize ışığın elektrik alan vektörü metal filme paralel olarak oluştuğundan dolayı s-polarize transvers elektrik (TE) polarizasyonu yüzey plazmonlarını oluşturamamaktadır. Salınımların dalga vektörü (Ksp) aşağıdaki eşitlikle tanımlanır:

$$K_{sp} = \frac{\omega}{c}\sqrt{\frac{\omega m\ \omega s}{\omega m + \omega s}}$$

Burada;

- c, ışık hızı
- ω, salınım frekansı
- $\varepsilon_s$, metal yüzeyine temas eden örnek ortamının dielektrik fonksiyonu
- $\varepsilon_m$, metalin dielektrik fonksiyonu'dur.

Gelen ışığın bir bileşenine ait dalga vektörü şu şekilde tanımlanır:

$$K_x = \frac{\omega}{c}\ \eta_p \sin\theta$$

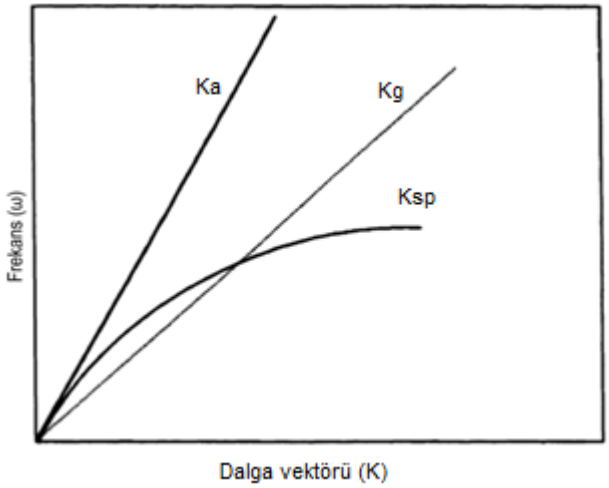
Burada;

- θ, ışığın metal film yüzeyine geliş açısı

- $\eta_p$, prizmanın kırınım açısı'dır.

Metal filmin üst kısmında salınan ve toplanan yüzey plazmonları, p-polarize ışığı absorplar ve toplam iç kırınımına uğrayan ışığın parlaklığını ($I_r$) değiştirir. Bu nedenle, $I_r$'e karşı geliş (veya kırınım) açısı ($\theta_r$) grafiğe geçirildiğinde açısal parlaklık profili elde edilir. Bu profile ait grafikte, rezonans açısında keskin bir azalma gözlenir.

Bu olayın gerçekleşmesi, yüksek kırınım indeksine sahip bir prizma gerektirmektedir. Bu tip bir prizmaya gereksinim, havadaki ışık yayılması ile yüzey plazmonların üretilememesinden kaynaklanmaktadır. Yüzey plazmon rezonans sırasında, gelen ışığın ve yüzey plazmonun dalga vektörleri eşit olmalıdır. Fakat Şekil 2.16'da görüldüğü gibi, ışığın havadaki ($K_a$: $\omega/c$) ve metalin plazmonundaki ($K_{sp}$) dağılma eğrisi kesişmemektedir. Bu nedenle, dalga vektörü ve frekansının eşit zamanlı çakıştırılması olası değildir. Bunun aksine; $K_{sp}$ ve cam yüzeyin ($K_g$) dağılma eğrileri kesişmektedir.




**Şekil 2.16.** Hava, cam ve yüzey plazmonları için dağılma eğrileri (Şener 2009)

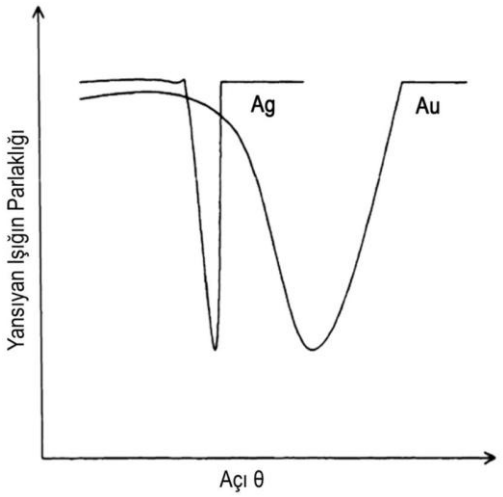
Yüzey plazmon dalga vektörü, metal filme civarındaki ortamın kırınma indeksi ile alakalıdır. Bu nedenle, $K_{sp}$ eşitliği aşağıdaki şekilde basitleştirilir:

$$K_{sp} = \frac{\omega}{c}\sqrt{\frac{\eta_m^2 \eta_s^2}{\eta_m^2 + \eta_s^2}}$$

Bu formülde;

- $\eta_m$, metalin kırınım indeksi
- $\eta_s$, örneğin kırınım indeksi'dir.

Yüzey plazmon rezonans, herbir metalin dielektrik geçirgenlik gibi farklı özel optik özelliklere sahip olmasından dolayı seçilen metale göre değişiklik göstermektedir. Şekil 2.17'de gümüş ve altın film için, yansıyan ışığın parlaklığına denk gelen ışığın açısını gösteren eğriler gösterilmiştir. Gümüş altına göre daha net bir rezonans pikine sahiptir. Bu rezonans piki, metal filmdeki yüzey plazmon salınımlarının kendiliğinden azalmasıyla oluşmaktadır. Bu bütün yüzey plazmon metalleri, uyarılma ışığının elektrik alanının saçılmasıyla bu salınımları en aza indirme eğilimindedir. Birçok metal yüzey plazmon üretebilir. Yüzey plazmon rezonans için kullanılacak olan metalin, uygun açıya sahip ışık ile rezonansa girebilecek iletkenlik bandı elektronlarına ve sensör olarak kullanılabilmesi için gerekli kimyasal modifikasyonlara uygun niteliklere sahip olması gerekir. Altın ise, belirtilen bu iki özelliği birden taşıyan ender metallerden biridir. Bu özelliklere sahip diğer metallere nazaran uygulaması basittir. Örneğin; sodyum gibi elementler oldukça reaktif, indiyum gibi bazı elementler çok pahalı, bakır ve alüminyum gibi elementlerin yüzey plazmon cevapları oldukça geniş veya gümüş gibi bazı elementler oksitlenmektedir (Earp ve Dessy 1996).




**Şekil 2.17.** Gümüş ve altın'a ait yüzey plazmon eğrileri (Earp ve Dessy 1996)

Yüzey plazmon rezonansın analitik bir cihaz olarak kullanılması, plazmon alanı aralığındaki çevrenin kimyasal bileşimindeki değişimin oluşturduğu ışığın rezonans

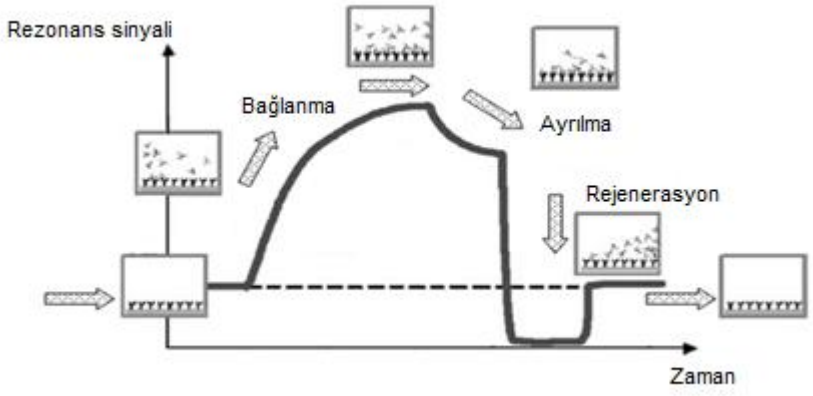
açısındaki kaymanın ölçülmesi ile açıklanır. Kimyasal bileşenlerdeki değişim absorplanan ışığın geliş açısında kaymaya neden olmaktadır. Açı kaymasının büyüklüğü, nicel olarak kimyasal değişimle ilişkilidir. Bir sensörde ince metal film, genel olarak cam ve plastik gibi substrat bağlı bir prizma üzerine uygulanır. Daha sonra hormon, ilaç, tümör belirteci vb. gibi özel bir analite özgü moleküller metal film üzerine non-spesifik olarak adsorplanır. Analit içeren örnek sensöre uygulandığında açığa çıkan etkileşim (antibadi ve analit bağlanması gibi), gelen ışığın rezonans açısındaki kaymanın ölçüldüğü metal yüzeyindeki kimyasal bileşen değişimine neden olur. Rezonans açısındaki kaymanın büyüklüğü örnek içerisindeki analitin miktarı ile doğru orantılıdır. Moleküller arasındaki ilişki oldukça özgül olduğu için diğer moleküller sensör tarafından ölçülememekte ve çapraz-reaktivite gözlenmemektedir (Denizli 2016).

### 2.4.2. Yüzey Plazmon Rezonans (SPR) Biyosensörler

SPR temelli biyosensörler, herhangi bir işaretleme yöntemi kullanılmadan moleküler etkileşimlerin eş zamanlı olarak incelenebildiği bir yöntemdir. Bu özellikleri sayesinde, moleküler etkileşimlerin anlaşılmasına yönelik SPR sensör cihazlarının önemi artmaktadır. Moleküler etkileşimleri eş zamanlı ve doğrudan ölçebilmek; kinetik-termodinamik parametrelerin, derişimin veya ligandlarla analitler arasındaki etkileşimlerin ortaya çıkmasını sağlamaktadır. SPR biyosensörler, hızlı cevap süresine ve yüksek seçiciliğe sahiptir. SPR biyosensörler enzim veya radyo işaretleme yöntemleri gibi diğer tekniklerle karşılaştırıldığında, sahip oldukları bu özellikler sayesinde protein/protein, antibadi/antijen, reseptör/ligand etkileşimlerinden düşük molekül ağırlıklı bileşiklerin tanımlanmasına kadar çok çeşitli biyomoleküler mekanizmaların anlaşılmasında kullanılabilir (Homola 2008).

SPR biyosensörler, metal yüzeyinde biyo-tanımayı sağlayacak bölgelerin oluşturulması ile elde edilir. Hedef molekülü içeren çözelti biyosensörle etkileştirildiğinde hedef molekül sensör yüzeyine bağlanarak yüzeydeki yoğunluğun artmasına sebep olur. Yüzeydeki yoğunluğun artması yüzeyin kırılma indisinin de artmasına neden olurken kırılma indisindeki bu artış rezonans açısının kayması ile sonuçlanır. Bu etkileşimin zamana bağlı olarak incelenmesi Şekil 2.18‘de ki gibi bir sensorgram ortaya çıkarır. Şekil 2.18‘de görüldüğü üzere, yüzeye analit tutulması ile rezonans açısı artar. Desorpsiyon çözeltisinin sisteme verilmesinin ardından hedef

molekül yüzeyden kopmaya başlar ve belirli bir süre sonra sinyal tekrar eski seviyesine döner.




**Şekil 2.18.** SPR biyosensör sensorgramının şematik gösterimi (Şener 2009)

Yaşam bilimlerinde ve farmasötik çalışmalarda makromoleküllerin ve makromolekül etkileşimlerinin incelenmesine yönelik SPR biyosensörlere başvurulmuştur. Bunun yanı sıra SPR biyosensörler gıda teknolojisinde (Oh ve ark. 2002, Lotierzo ve ark. 2004, Taylor ve ark. 2006), çevresel kirleticilerin tespitinde (Strong ve ark. 1999, Miura ve ark. 2003, Nakamura ve ark. 2003) ve hastalıkların teşhisinde (Stigter ve ark. 2005, Uzun ve ark. 2009, Ertürk ve ark. 2016) kullanılmaktadır.

### 2.5. Pestisit Kalıntılarının Analizinde Kullanılan Önemli Analitik Teknikler

Pestisitler, başta zirai mücadele olmak üzere birçok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu maddelerin, tarımsal ürünün arttırılmasına yönelik katkılarının olmasına karşın, ürüne kontaminasyonu sonucunda sağlık üzerine birçok olumsuz etkileri de bulunmaktadır. Pestisitler üretildikleri tesislerden ve kullanıldıkları alanlardan farklı yollarla doğal ortamlara (hava, toprak, yer altı ve yeryüzü suları) ulaşarak, ekolojik problemlere yol açmaktadır. İnsanlar ve diğer canlılar için olası toksisitelerinden dolayı başta kanser olmak üzere, doğum defektleri, nörotoksisite ve nörodavranışsal bozukluklar gibi çok ciddi kronik sağlık etkilerine neden olmaktadır.

Toprakta, yer altı ve yeryüzü sularında, meyve/sebzelerde ve tahıl ürünlerinde gözlenen pestisit kirliliği, insan yaşamı ve çevre açısından son derece zararlı olmasından dolayı son yıllarda tüm dünyanın dikkatini çeken güncel konulardan biri haline

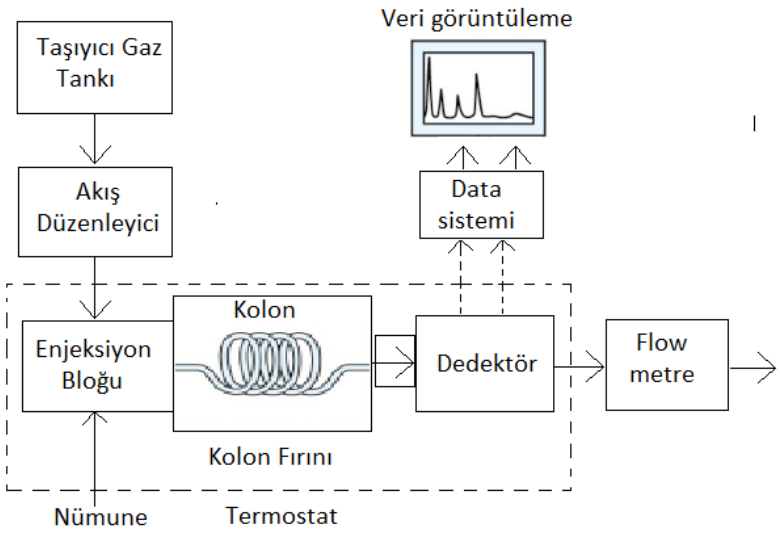
gelmiştir. Bu nedenle, bu kimyasalların çevreye yayılmalarını mümkün olduğunca sınırlamak zorunludur. Aynı zamanda gerek çevre, gerekse sağlık üzerine toksik etkilerinden dolayı tarımsal ürünlerdeki kontaminasyonun kalitatif ve kantitatif olarak tayin edilmesi büyük bir önem taşımaktadır. Bu yöntemlerden biri kromatografik sistemlerdir.

Kromatografi, birbirine oldukça benzer özellikteki madde karışımlarını ayırmak için kullanılan etkili bir ayırma ve saflaştırma yöntemidir. Bir diğer deyişle kromatografi, sabit bir faz üzerinde bir karışımın, hareketli bir çözücü varlığında karışımı oluşturan bileşiklerin farklı hareketleri sonucu bileşenlerine ayrılması olarak tanımlanabilir. Kromatografi'de sabit ve hareketli olmak üzere iki faz vardır. Hareketli faz sıvı ve gaz, sabit faz ise katı ve sıvı olabilir. Ayrımı istenen karışım hareketli faz aracılığıyla sabit faz üzerinden geçirilir. Karışımı oluşturan bileşikler sabit faz yoluyla farklı ölçüde tutulmasından dolayı her bir bileşik farklı zamanlarda sistemden uzaklaşır. Böylelikle bileşikleri tanımak, birbirlerinden ayırmak ve ayrı ayrı elde etmek muhtemeldir.

Ayrım açısından, popüler kromatografik yöntemler su kaynakları ve doğal ürünlerin analizinde oldukça etkindirler. Pestisit kalıntı analizinde gaz kromatografisi (GC) ve yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC, UHPLC) cihaz sistemleri kullanılmaktadır.

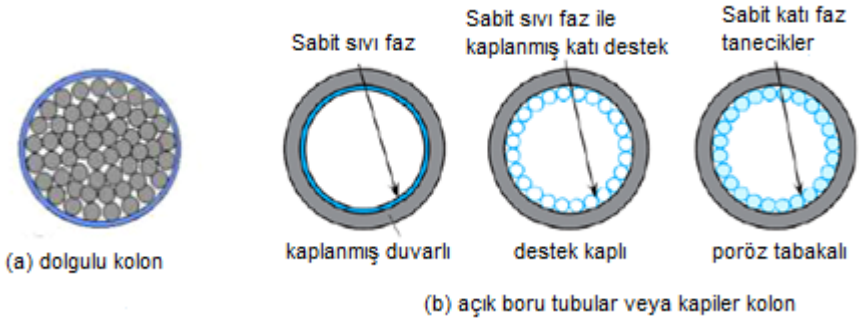
### 2.5.1. Gaz Kromatografisi (GC)

Gaz kromaografisi (GC) çoğunlukla uçucu ve termal olarak dayanıklı bileşenlerin analizinde kullanılan analitik bir ayırma yöntemidir. Gaz kromatografisinde diğer kromatografi türlerinde olduğu gibi ayrılmaları istenen maddelerle hareketli faz arasında herhangi bir etkileşim söz konusu değildir. Hareketli faz olarak He, Ar ve $N_2$ gibi inert gazlar kullanılır ve bu gazlar sayesinde ayrılmaları istenen maddeler sürüklenmektedir. Gaz halindeki analitler ise uçuculuk özelliklerine göre farklı hızlarda ilerleyerek dedektöre ulaşırlar. Pestisit kalıntılarının bir kısmı uçuculuk özellikleri göz önüne alınarak gaz kromatografisi yöntemleri kullanılarak analiz edilir. Bu konuda yapılan çalışmalar giderek artmaktadır. Şekil 2.19'da gaz kromatografi cihazının şematik gösterimi verilmiştir (Yılmaz 2015).




**Şekil 2.19.** Gaz kromatografi cihazının şematik gösterimi (Yılmaz 2015)

Gaz Kromatografi sisteminde iki tip kolon kullanılır. Bunlardan ilki açık boru (tabular) veya kapiler kolonlar ikincisi ise dolgulu (packed) kolonlardır (Şekil 2.20). Kapiler kolonlar, içi 1 µL kalınlıkta sıvı ile kaplanmış kapiler tüpten (0.3-0.5 mm iç çap) yapılmış kolonlardır. Kapiler kolonlardaki basınç azalışı gözardı edilebilir düzeyde olduğu için bu tip kolonlar oldukça uzundur (10-100 m veya daha fazla). Dolgulu kolonlar ise uzunlukları 2-20 m ve iç çapı 1-8 mm aralığındaki cam veya metal tüplerden yapılır. Bu kolonlar sarmal veya katlanmış şekilde olup termostat içine sığabilecek boyutlara getirilmişlerdir (Yılmaz 2015).




**Şekil 2.20.** Dolgulu ve kapiler kolon tipleri (Yılmaz 2015)

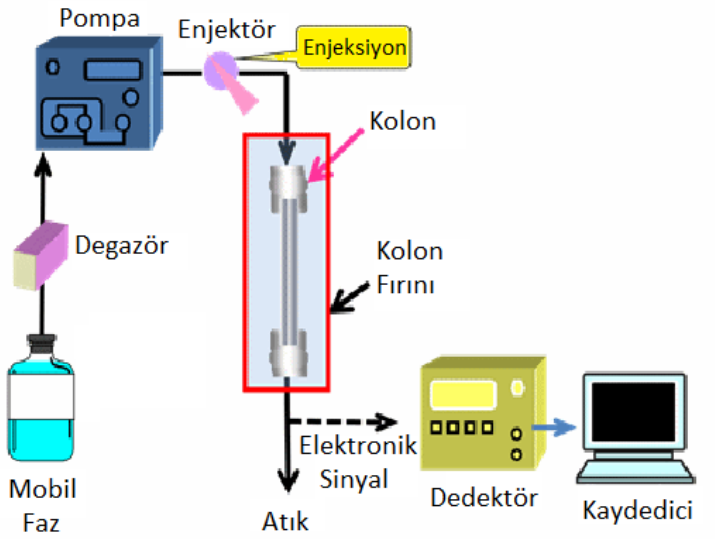
### 2.5.2. HPLC Teknikleri

Kromatografik analitik tekniklerin birçoğunda, numune içindeki farklı bileşenlerin fizikokimyasal özelliklerindeki farklılıklara göre ayrım gerçekleştirilir.

Genellikle, analitlerin ayrımdan hemen sonra (on-line) dedekte edildiği sürekli (continuous) teknikler kullanılır. Bu tekniklerin en çok kullanılanı HPLC (yüksek performanslı sıvı kromatografisi) tekniğidir.

Sıvı kromatografisi, numune bileşenlerinin bir sıvı mobil faz ve bir katı durgun faz (yüksek yüzey alanına sahip küçük gözenekli partiküller içeren) arasında dağıldığı bir ayrım tekniğidir. GC'nin aksine HPLC'de durgun faz ile güçlü bir şekilde etkileşen numune molekülleri kromatografik sistem boyunca daha uzun sürelerde dolaşır ve daha uzun alıkonma zamanına sahip olurlar. LC (sıvı kromatografi) ayrımında, hareketli (mobil) faz pompadan kromatografik kolona doğru aspire edilir. Numunenin kolona girmesiyle, analitler durgun fazda farklı oranlarda zaman geçirir ve iki faz arasında farklı oranlarda dağılım gösterirler. Kolonun sonundan elüe olan her bir analit dedektöre ulaşır ve bir şekilde ölçülebilir olan bir sinyal üretirler. Oluşan sinyalin yoğunluğu ve süresi analitin miktarı ve doğasıyla alakalıdır. Genel olarak, sinyal yükseltilir ve analiti tanımlayıp miktarını tayin etmek için kromatogram üreten bir bilgisayar tarafından kaydedilir.

HPLC ekipmanı marka ve modelden bağımsız olarak bir dizi önemli kısımları içerir: pompa, enjektör, kromatografik kolon, termostatlı kolon fırını, dedektör ve veri toplama sistemi. HPLC cihazının temel ekipman şeması Şekil 2.21'de gösterilmiştir (Yılmaz 2015).




**Şekil 2.21.** Temel HPLC ekipman şeması (Yılmaz 2015)

Geleneksel olarak, LC kolonlarının (durgun faz) oldukça polar (silika v.b.) ve hareketli fazın apolar (hegzan v.b.) olduğu moda "normal-faz" sıvı kromatografisi denir. Bu modda analitlerin polariteleri arttıkça alıkonma zamanları da artar. Eğer mobil fazın polaritesi artırılırsa alıkonma zamanı azalır. Bu kromatografik mod, apolar veya az polar pestisit kalıntılarının ayrımı için kullanışlı olabilir (Yılmaz 2015).

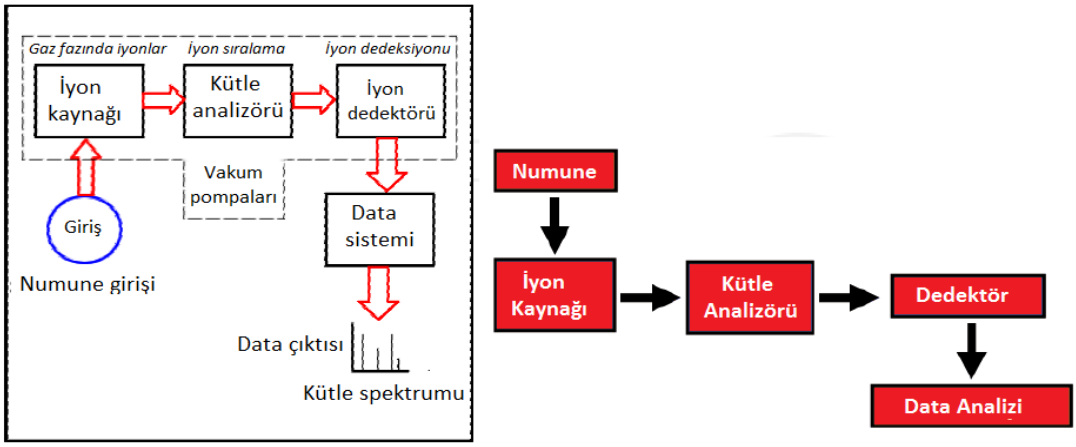
#### 2.5.2.1. HPLC ile Beraber Kullanılan Dedektörler

HPLC cihazına UV dedektör, Diod-array dedektör (DAD), refraktif indeks dedektörü (RID), floresan dedektör, elektirik iletkenlik dedektörü, elektrokimyasal dedektör, buharlaştırmalı ışık saçılımlı dedektör (ELSD), ve kütle spektrometre (MS) dedektörü gibi farklı tipte dedektörler bağlanıp kullanılmaktadır (Skoog ve ark. 1998). Bununla birlikte pestisitlerin kalitatif ve kantitatif analizlerinde MS dedeksiyon sistemleri günümüzde HPLC ile birlikte en çok kullanılanlardır (Yılmaz 2015).

### 2.5.3. LC-MS Teknikleri

Kütle spektrometresi (MS), yapı aydınlatılması, organik, biyoorganik ve organometalik bileşiklerin doğrulanması ve çevre, farmasötik, adli tıp, gıda ve diğer bilimlerde miktarsal analiz için sıklıkla kullanılmaktadır. MS dedektörleri bilinmeyen maddelerin yapısal tayini ve doğrulanması için geniş ölçüde kullanılırlar (Watson ve Sparkman 2007).

MS dedektörleri (Şekil 2.22) elektrik ve/veya manyetik kuvvet alanlarını kullanarak iyonları kütle/yük (m/z) oranlarına göre ayıran optik cihazlardır. MS mantığını özetlemek gerekirse; numuneden iyonları oluşturmak, iyonları m/z oranlarına göre ayrıştırmak ve iyonların bolluğunu ölçmektir. Kütle spektrometre dedektörleri nötr moleküllerin kütlesini doğrudan ölçemezler. Molekülü iyonlaştırarak iyonun kütle/yük (m/z) oranını ölçerler.

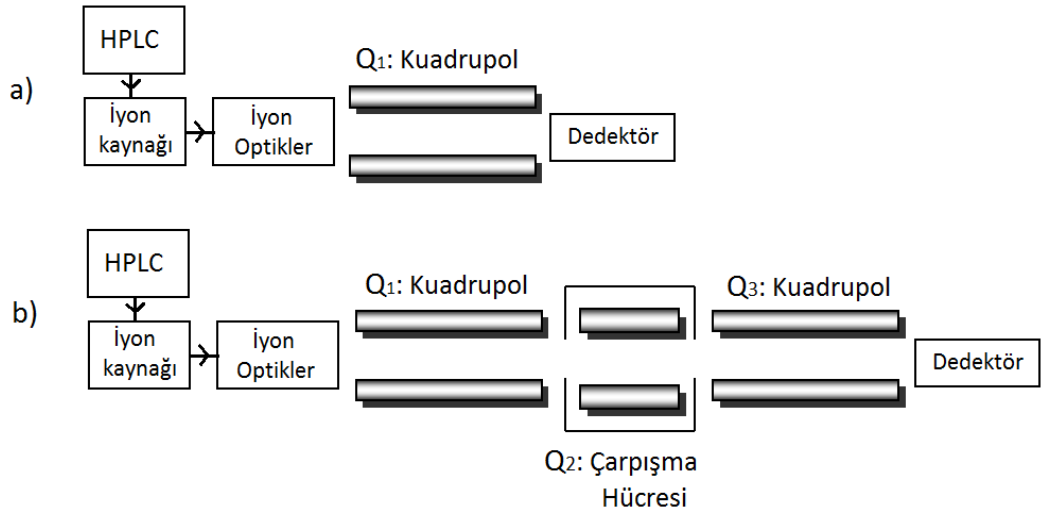



**Şekil 2.22.** Kütle spektrometre cihazlarının şematik diyagramı (Yılmaz 2015)

Kütle spektrometre cihazları üç temel birimden oluşur: numune moleküllerini gaz fazındaki iyonlara dönüştüren bir iyon kaynağı; iyonları elektromanyetik alan uygulayarak kütlelerine göre sıralayan kütle analizörü; ve her bir iyonun miktarını hesaplayan bir dedektör. Kütle spektrometre tekniği hem kalitatif hem de kantitatif amaçla kullanılabilir.

#### 2.5.3.1. LC-MS/MS (Sıvı Kromatografisi Tandem Kütle Spektrometresi)

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile birleşen LC-MS (tekli kuadrupol) ve özellikle de LC-MS/MS (üçlü kuadrupol) cihaz sistemleri (Şekil 2.23) bütün organik bileşikler gibi pestisit kalıntılarının kalitatif ve kantitatif analizlerinde en çok kullanılan tekniklerden biridir. LC-MS cihazı ile HPLC kolonunda belli bir ayrımdan geçen analitlerin ana iyon (parent ion) da denilen moleküler iyonlarını belirleyerek bileşenlerin nicel veya nitel analizleri yapılır. Ancak, birçok pestisit yakın molekül ağırlığına sahip olduğundan LC-MS cihazı tarafından belirlenen m/z oranları da yakın çıkmaktadır. Kromatografik olarak da ayrılamayan bazı moleküllerin tam olarak doğrulanması bu yöntemle mümkün olmamaktadır. Tekli kuadrupol LC-MS sistemine göre daha karmaşık cihaz tasarımlarından olan LC-MS/MS sistemleri bu sorunu ortadan kaldırarak molekül ağırlığı ve kromatografik alıkonma zamanı aynı/yakın olan moleküllerin dahi nicel ve nitel analizini mümkün kılmaktadır (Vogeser ve Kirchhoff 2011).

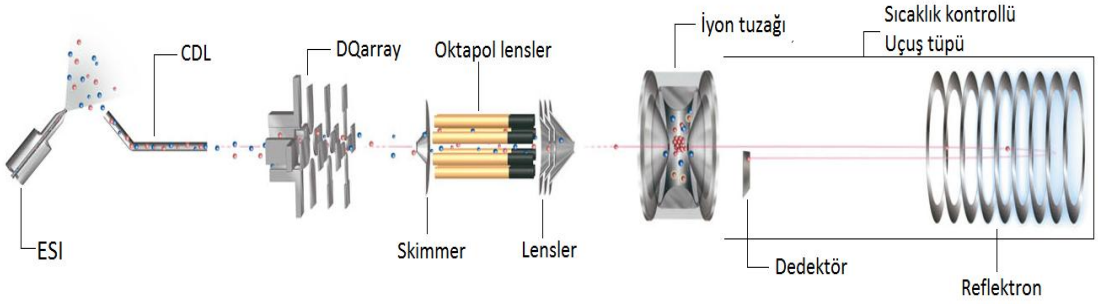



**Şekil 2.23.** a) Tekli kuadrupol (LC-MS) ve b) üçlü kuadrupol (LC-MS/MS) cihaz şemaları (Yılmaz 2015)

### 2.5.3.2. LCMS IT-TOF Hibrit Cihaz Sistemi

TOF-MS cihazlarının en önemli niteliklerinden biri bilinmeyen maddelerin tayininde kullanılabilen moleküler iyon ve parçalanma ürünlerinin elementel kompozisyonunu veren tam kütle ölçümüdür (molekül ağırlığının virgülden sonra dördüncü basamağa kadar doğru ölçümü). TOF-MS cihazları yüksek kütle çözünürlüğüne sahip olmakla birlikte yüksek hızda tarama da yapabilmektedir. TOF-MS cihazlarının çoklu fragmantasyon ($MS^n$) kabiliyetleri olmazken IT-MS cihazları $MS^n$ özelliğine sahiptirler. Bu sayede TOF-MS cihazları moleküllerin yapısal tayininde çok önemli bir rol oynarlarken IT-MS cihazları düşük çözünürlüğe sahiptirler (genellikle 1 Da).

Son yıllarda oldukça popüler olan LC-MS cihaz tasarımlarından biri olan UHPLCIT-TOF-MS (yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile birleşik hibrit iyon tuzaklı/uçuş zamanlı kütle spektrometresi) cihazı (Şekil 2.24), hem TOF-MS hem de IT-MS lerden çok daha yüksek hassasiyet ve doğruluğa sahiptir. Bu eşsiz özelliğinin nedeni doğal ürünlerin IT sayesinde $MS^n$ modunda çoklu taraması ile TOF sayesinde tam kütle ölçümlerinin eş zamanlı olarak yapılabilmesidir (Lacorte ve Fernandez-Alba 2006, Liang ve ark. 2010, Liu ve ark. 2011).




**Şekil 2.24.** Hibrit IT-TOF/MS kütle spektrometresinin iç dizayn şeması (Shimadzu 2009)

HPLC ile birlikte IT-MS ve TOF-MS cihaz sistemlerinin kullanılması pestisit kalıntıları analizleri gibi birçok alanda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. LCMSIT-TOF sisteminin bu alanda kullanımı son yıllarda dünyada hızla artış göstermekte olup gıdalardaki kalıntı analizlerinde gelecek zamanlarda etkin bir rol üstleneceğini söyleyebiliriz.

### 2.6. Yapılan Literatür Çalışmaları

Bobeldijk ve ark. (2001), sıvı kromatografisi ve tandem kütle spektrometresi (LC-MS/MS) ile sularda amitrol tayinini gerçekleştirmişlerdir. Tandem kütle spektrometresi ayırma hassasiyetinden dolayı, yeraltı, yeryüzü ve içme sularında dedeksiyon limitinin 0.025 mg/L'ye kadar inilmesine olanak sağlamaktadır. Bu metoda göre, gerikazanımların yeryüzü sularında %75 ve içme sularında %95 olduğu belirlenmiştir. Bu yöntemle başarılı bir şekilde yeraltı ve yeryüzü sularında 1.1 mg/L'ye kadar ölçüm alınabildiği belirtilmiştir

Mena ve ark. (2002), su örneklerinin karbamat insektisiti olan pirimikarb'ın ön deriştirilmesi için seçici bir katı faz ekstraksiyonu olarak moleküler baskılanmış polimerler (MIP) sentezlenerek civa elektrodu ile voltametrik ölçümler yapmışlardır. Çalışmada dedeksiyon limiti 4.1 µg/L olarak belirlenmiştir. MIP seçiciliğini ise pirimikabdan farklı ve aynı molekül yapıya sahip pestisitlerle analizleri yapılarak yüksek düzeyde hassasiyet gösterdiği belirlenmiştir.

Say ve ark. (2005), moleküler baskılanmış polimerlerle organofosfat grubundan paraoksonun biyomimetik kataliz çalışmalarını yapmışlardır. Paraokson tayini için moleküler baskılanma tekniği kullanılarak sentetik seçici bir polimer hazırlamışlardır. Fosfotriesterazın aktif merkezini oluşturmak için mikro tanecik yüzeyler üzerine şelat metal iyonları aracılığıyla histidin ile MIP' i birleştirmişlerdir. Metakriloil-histidin-bakır

(II) ve Metakriloil-histidin-bakır(II)-paraokson metal şelat monomerleri sentezlenmiştir. Paraokson hidrolitik aktivite sonuçlarının, paraokson baskılı taneciklerin baskılanmamış taneciklere nazaran çok daha yüksek olduğunu gözlemlemişlerdir.

Sun ve Fung (2006), moleküler baskılama tekniğini kullanarak kontamine olmuş sebzelerde pirimikarbın belirlenmesi üzerine piezoelektrik kuvars kristali (PQC) sensör sistemlerinde çalışmışlardır. Diğer çalışmalarda da olduğu gibi pirimikarb'a benzer molekül yapıya sahip atrazin, karbamil, karbofuran ve aldikarb molekülleri kullanılarak MIP'lerin ve PQC sensör sistemlerinin yüksek seçiciliğe sahip olduğunu göstermişlerdir.

Hsu ve ark. (2006) tarafından yapılan çalışmada, Ribonükleaz A tanınmasına yönelik yüksek seçicilik ve kararlılıkta, düşük maliyetli moleküler baskılanmış polimer hazırlanmıştır. Fonksiyonel monomer olarak stiren ve çapraz bağlayıcı olarak etilenglikol dimetakrilat kullanılmıştır. Baskılama işlemi; düz bir cam yüzeye önce van de Waals etkileşimleriyle protein tutturulmuştur. Lizozim, immünoglobulin G ve sığır serum albumini gibi diğer proteinlerin varlığında hazırlanan moleküler baskılı polimerlerin Ribonükleaz A'ya yüksek seçicicilik gösterdiği, izotermal kalorimetre ölçümleri ile tespit edilmiştir.

Gobi ve ark. (2007), SPR teknolojisiyle 2,4-diklorofenoksiasetik asit gibi düşük molekül ağırlıklı analitlerin tayinine yönelik hızlı ve basit optik immünsensörler geliştirmişlerdir. Bu sensörün yüzey hassasiyeti, ince film olarak bir altın SPR çipi üzerine basit ve fiziksel olarak adsorplanan 2,4-diklorofenoksiasetik asit'in bir ovalbümin konjugatının immobilizasyonu ile gerçekleştirilmiştir. Yapılan denemeler sonucunda, 2,4-diklorofenoksiasetik asit için hazırlanan sensör çipinin en düşük dedeksiyon limitinin 0.1 ng/mL olduğunu gözlemlemişlerdir.

Kim ve ark. (2007), kuvars kristal mikrobalans (QCM) sensör sistemi ile organofosforlu ve karbamatlı pestisitler için yüksek hassasiyetli seçicilik çalışmaları yapmışlardır. QCM sensör, yüzeyi tiyollenmiş asetilkolin esteraz (AChE) kemisorpsiyonuyla geliştirilmiştir. Geliştirilen sensörlerle ilgili inhibisyon çalışmaları organofosforlu pestisit olan Entomopatojen Nematod (EPN) ve karbamat pestisiti karbofura'nın çeşitli konsantrasyonlara sahip asetilkolinesteraz immobilizasyonu ile optimize edilerek gerçekleştirildiği zaman bu pestisitler için seçicilik hassasiyetleri

sırasıyla $1.55x10^{-8}$ ve $1.3x10^{-9}$ M dedeksiyon limitleri ile mümkün olmuştur. Aynı zamanda meyve ve sebzeler gibi çeşitli tarımsal ürünlerde pestisit tayinine yönelik çalışmaların yapılabileceği belirtilmiştir.

Yongqin ve ark. (2007), moleküler baskılama tekniği ile dimetoat'ı çay yapraklarında katı faz ekstraksiyonu ile zenginleştirerek kromatoğrafik sistemler ile analizini gerçekleştirmişlerdir. Algılama mekanizması, etkileşim enerjisi ve aktif bölge grupları tahmini doğrultusunda altı farklı monomer denenmiş olup metakrilik asidi monomer olarak belirlemişlerdir. Dimetoat'ın diğer organofosforlu insektisitlerle karşılaştırılması sonucu çok daha seçici etkiye sahip olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Kim ve ark. (2008), endokrin bozucu bir herbisit olan 2,4-diklorofenoksiasetik asit'in doğal su kaynaklarından tayininin gerçekleştirilmesi için SPR immünosensörler hazırlamışlardır. Çevreden alınan su örneklerinde 2,4-diklorofenoksiasetik asit'in dedeksiyon limitinin 10 ppt (pg/mL)'ye kadar düştüğü tespit edilmiştir.

Jiang ve ark. (2009), 15 nm (ortalama) boyutundaki nanopartiküllerle (kolloid altın) desteklenmiş SPR biyosensör ile 7.5 dakika gibi kısa bir sürede 14 pg/mL konsantrasyonunda estrol-16-glusuronit tespitine ulaşmışlardır.

Zhou ve ark. (2010), domates ve armut örneklerinden pirimikarb tayini için yüksek performanslı sıvı kromatografisi fotodiyot dedektörü (HPLC-PAD) kullanılarak moleküler baskılama (MIP) temelli basit, hızlı ve hassas polimer monolit mikroekstraksiyon yöntemi geliştirmişlerdir. Hazırlamış oldukları MIP monolitin pirimikarb tayini için yüksek seçiciliğe sahip olduğunu gözlemleyerek her iki örnekte de 0.6 g/kg dedeksiyon limitine ulaşılmıştır.

Ertürk ve ark. (2011), IgG'nin eş zamanlı tayini için moleküler baskılama temelli SPR nanosensör hazırlamıştır. Polimerizasyonun SPR altın çip yüzeyinde gerçekleşmesi için çip yüzeyi alil merkaptan ile modifiye edilmiştir. IgG moleküllerinin $F_{ab}$ bölgeleri papain ile enzimatik hidroliz sonucu kesilerek molekül ağırlığı IgG'ye göre 1/3 oranında azaltılmıştır. Kesilen $F_{ab}$ ve $F_c$, FPLC sistemi ile birbirinden ayrılmıştır. Polimerde kalıp molekül olarak $F_{ab}$ ve fonksiyonel monomer olarak metakriloilamido histidin (MAH) kullanılmıştır. Hazırlanan SPR sensörün tayin sınırı 56 ng/mL olarak bulunmuştur. İnsan plazmasında IgG tayini gerçekleştirilmiş ve elde edilen sonuçlar

ELİZA testi ile karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçların ELİZA ile %99 oranında uyuştuğu belirlenmiştir.

Özgür (2011), yapılan çalışmada çevre sularında eser miktarda bulunan 17β-östradiol'ün (E2) tayinine yönelik kuvars kristal mikroterazi (QCM) biyosensör hazırlanmıştır. Hazırlanan QCM sensörler, atomik kuvvet mikroskobu (AFM), elipsometre, FTIR-ATR ve temas açısı ölçümleri ile karakterize edilmiştir. Karakterizasyon çalışmalarından sonra elde edilen baskılanmamış ve baskılanmış sensörler QCM sistemine gönderilerek hedef moleküle ait kinetik ve afinite bağlanma çalışmaları yapılmıştır. Baskılanmış partiküller, baskılanmamış partiküllere göre hedef moleküle (E2) daha fazla duyarlılık göstermiştir.

Wei ve ark. (2011), asefat pestisiti tayinine yönelik moleküler baskılama temelli SPR sensörlerle ince polimerik film hazırlamışlardır. Asefat için baskılama bölgelerine bağlanma denge sabiti $7.7x10^{12}$ $M^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Baskılanmış filmin tayin sınırı elma için $1.14x10^{-13}$ M ve lahana örnekleri için $4.29x10^{-14}$ M bulunmuştur. Hazırlanan sensör ile asefat eklenen lahana ve elma örnekleri için geri kazanım kesinlik değerleri yüksek çıkmıştır. Sonuç olarak, MIP sensörün organofosfat bileşiklerinin tayini için gelecek vaat eden bir teknik olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Maldaner ve Jardim (2012), katı faz ekstraksiyon yoluyla içme sularında karbofuran'ın da içinde bulunduğu çevresel kirliliğe sebep olan bir grup pestisitin sıvı kromatoğrafisi tandem kütle spektrometresi (LC-MS/MS) ile metod geliştirip metod validasyonu yapmışlardır. Tüm bileşikler için geri kazanım çalışmalarının %70-120 aralığında olduğunu bulmuşlardır. Tayin alt sınırları 0.006-0.208 μg/L olarak belirtilmiş ve geliştirilen metod'un içme sularındaki pestisit kalıntıları için başarılı sonuç verdiğini ileri sürmüşlerdir.

Dong ve ark. (2012), yaptıkları çalışmada, su örneklerinden profenofos tespiti için, SPR temelli moleküler baskılanmış ince bir film, tanıma elemanı olarak kullanılmıştır.

Gao ve ark. (2012), profenofos (*O*-(4-brom-2-klorfenil)-*O*-etil-*S*-propil) yaygın olarak kullanılan organik fosforlu pestisittir. Profenofos tayini için moleküler baskılı ultra-ince film temelli QCM sensör geliştirilmiştir. $1.0x10^{-8}$-$1.0x10^{-5}$ mg/mL derişim aralığında %99.60, $1.0x10^{-5}$-$1.0x10^{-3}$ mg/mL derişim aralığında ise %99.59

doğrusallıkla ölçüm yapılmıştır. Bu QCM sensörler musluk suyunda profenofos tayininde başarıyla kullanılmıştır.

Kouzayha ve ark. (2012), gaz kromatoğrafisi kütle spektrometresi (GC-MS) ile katı faz ekstraksiyon yöntemini kullanarak su örneklerinde 67 pestisit kalıntı tayinine yönelik metod geliştirmişlerdir. Tayin alt limitini tüm pestisitler için 2-20 ng/L olarak belirlemişlerdir. Bu metod sayesinde sayısız örnekteki 67 pestisitin rutin bir şekilde analizini az organik çözücü kullanarak, kısa sürede analiz gerçekleştirerek, iyi sonuçlar alabildiklerini ileri şürmüşlerdir.

Bakas ve ark. (2013), yaptıkları çalışmada, zeytinyağından dimetoat ve onun metaboliti olan ometoat'ın seçici ekstraksiyonu için moleküler baskılı polimerler kullanmışlardır. Zeytinyağı ekstrelerini temizlemek için moleküler baskılı katı faz ekstraksiyonu metodu geliştirilerek yapılan analizler sonucunda zeytinyağından %94 oranında geri kazanımla dimetoat başarılı bir şekilde elde edilmiştir. Dedeksiyon limiti ise 0.012-0.05 μg/g olarak bulunmuştur.

Jia ve ark. (2013), tek bir mikro yapılı altın kuvars kristal mikrobalans (QCM) kullanarak herbisit grubundan atrazin ve insektisit grubundan karbofuran için seçicilik çalışmaları yapmışlardır. Bu çalışmada, QCM odaklı mikro immünosensörler geliştirilmiştir. Kristal elektrot yüzeyinde iki farklı bölgede monoklonal anti-karbofuran ile veya anti-atrazin immünglobulin G (IgG) antikorları ile işlevsevleştirilmiştir. Tekrarlanan kontrol deneylerinde 4.5 μM karbofuran ve 4.6 μM atrazinin spesifik tayinini gerçekleştirmişlerdir.

Özkütük ve ark. (2013b), paraokson baskılı QCM sensör odaklı ligand değişim çalışmaları yapmışlardır. Paraokson baskılı QCM sensör, moleküler baskılama tekniğinin kullanılmasıyla bir kuvars kristal üzerine paraokson baskılı film modifikasyonu sonucu geliştirilmiştir. Paraokson için dedeksiyon limiti ve afinite sabiti sırasıyla 0.06 μM ve $2.25x10^4$ $M^{-1}$ olarak bulunmuştur. Aynı zamanda hazırlanmış olan bu sensörün seçiciliği, benzer kimyasal yapıya sahip bir başka pestisit olan paration ile karşılaştırıldığında çok daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Yao ve ark. (2013), klorpirifos (CPF) pestisiti hedef molekül olarak kullanarak $Fe_3O_4$ polidopamin manyetik nanopartiküller hazırlamış ve SPR çip yüzeyine

baskılamışlardır. Moleküler baskılı SPR sensörün cevabı 0.001-10 μM derişim aralığında doğrusal olup, tayin limiti 0.76 nM olarak bulunmuştur.

Ding ve ark. (2014), insan vücudunda kolaylıkla birikebilen ve ciddi toksik etkiye sahip olan 2,4-diklorofenoksiasetik asit tayini için yarışmalı immün reaksiyon tekniği ile nanopartiküllerle arttırılmış altın yüzeye sahip QCM sensör çipleri hazırlamışlardır. Elde edilen sonuçlara göre, hazırladıkları sensör çipler ile 13.3-666.7 ng/mL aralığında ölçüm alınabildiği tespit edilmiştir. Çalışmacılar çiplerin hassasiyet kaybı olmaksızın en az dokuz kez kullanılabildiğini ileri sürmüşlerdir.

Yola ve ark. (2014), çalışmada ilaç ve gıdalardaki tobramisinin belirlenmesi için moleküler baskılanmış nanosensörler geliştirilmiştir. Tobramisin baskılanmış ve baskılanmamış yüzeyler AFM, FTIR, elipsometre ve temas açısı ölçümleri ile karakterize edilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda dedeksiyon limiti $5.7x10^{-12}$ M olarak bulunmuştur. Geliştirilen bu metod, ilaç uygulamalarında, beyaz tavuk yumurtası ve süt gibi gıda örneklerinde uygulanmıştır

Luzardo ve ark. (2015), insan kanında dimetoat ve karbofuran'ın da içinde bulunduğu 109 pestisit için GC-MS ve LC-MS/MS gibi analitik sistemlerde metod geliştirerek, eş zamanlı tayin gerçekleştirmişlerdir. Analizi yapılan 109 pestisit için 0.5-500 μg/mL aralığında tayin limiti belirlemişlerdir.

Yılmaz ve ark. (2015) *Escerichia coli* baskılanmış QCM ve SPR sensörlerle kinetik çalışmalar yapmışlardır. Geliştirilen sensörler ile farklı derişimlerdeki *Escerichia coli* örnekleri QCM ve SPR sensör sistemleri ile etkileştirilmiştir. QCM ile 0.5-3.0 derişim aralığında %95.6 doğrusallıkta ölçüm yapılmışken SPR ile bu değerler sırası ile 0.5-4.0 ve %98.8'dir. Ölçüm süreleri QCM için 56 saniye ve SPR için 113 saniye olup geleneksel analiz yöntemlerine göre oldukça kısadır.

Gabrieli ve ark. (2016), GC-MS/MS ve UHPLC-MS/MS ile düşük sıcaklıkta çökeltme ile asetonitril ekstraksiyonu kullanarak 13 farklı tütün örneğinde 55 adet pestisit kalıntısı belirlenmesi için metod geliştirip validasyonunu yapmışlardır. Pestisitlerin tayin alt sınırlarını 25-75 g/kg aralığında belirlemişlerdir. Bu yöntemin on üç farklı tütün örneğinin analizinde başarılı bir şekilde uygulandığını ve rutin analiz için sağlam bir prosedür sağlandığını ileri sürmüşlerdir.

Jamal ve Ahmad (2016) yapmış oldukları çalışmada, Suudi Arabistan'ın doğusundan dört farklı il'den 18-30 yaşları arasındaki insanlardan toplanan insan sütü örneklerinde organoklorlu pestisit kalıntılarının GC-MS cihazı ile analizini gerçekleştirmişlerdir. Analizi yapılan pestisitler arasında DDT'nin 0.37-0.46 μg/L aralığındaki seviyelerde olduğunu ortaya koymuşlardır ve bu değerlerin Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün belirlemiş olduğu değerlerin çok altında olduğunu belirtmişlerdir.

Saylan ve ark. (2017), moleküler baskılama tekniği kullanılarak siyanazin, simazin ve atrazin'e özgü hassas, seçici, hızlı ve gerçek zamanlı algılama için SPR temelli sensörler hazırlamışlardır. SPR sensör sisteminde gerçek zamanlı ölçümler alınarak bu pestisitlerin analizleri gerçekleştirilmiştir. Pestisit baskılı SPR sensörlerin son derece seçici ve hassas olduklarını tespit etmişlerdir. Aynı zamanda bu sensörlerin tekrar kullanılabilirliklerini, hızlı yanıt ve kullanım kolaylığı özelliği nedeniyle pestisit tayini için alternatif bir yöntem olduğunu ileri sürmüşlerdir.

# 3. MATERYAL VE METOT

## 3.1. Kullanılan Kimyasallar

Dimetoat (Dr.Ehrenstorfer), karbofuran (Dr.Ehrenstorfer), karbaril (Dr.Ehrenstorfer), bendiokarb (Dr.Ehrenstorfer), monokrotofos (Dr.Ehrenstorfer), paration (Dr.Ehrenstorfer), L-triptofan metil ester, metakriloil klorür (Sigma-Aldrich), sodyum bikarbonat (Sigma-Aldrich), sodyum hidroksit (Sigma-Aldrich), etilendiamintetraasetik asit (EDTA) (Sigma-Aldrich), etilenglikol dimetakrilat (EGDMA) (Fluka A.G), azobisizobutironitril (AIBN) (Fluka A.G), metanol (Sigma-Aldrich), kalsiyum klorür (Sigma-Aldrich), glisin (Sigma-Aldrich), hidroklorik asit (Sigma-Aldrich), amonyum format (Sigma-Aldrich), metanol (Sigma-Aldrich), etanol (Sigma-Aldrich) ve ultrasaf su.

## 3.2. Cihazlar ve Diğer Gereçler

- SPRimager II (GWC Technolo-gies, WI, USA)
- RQCM (INFICON Acquires Maxtek Inc., New York, USA).
- LC-MS/MS (Shimadzu LCMS 8040 model)
- LC-MS-IT-TOF (Shimadzu)
- FTIR-ATR spektrofotometresi (Thermo Fisher Scientific, Nicolet iS10, Waltham, MA, ABD)
- Atomik Kuvvet Mikroskobu (Nanomagnetics Instruments, Oxford, İngiltere)
- EP3-Nulling Elipsometre (Göttingen, Almanya)
- Temas açısı ölçüm cihazı (KRÜSS DSA100, Hamburg, Almanya)
- Hassas terazi (GEC Avery marka VA 304 model)
- pH metre (Metler Toledo marka 8603 model)
- Otomatik pipetler (10-100 µL, 100-1000 µL, 500-5000 µL) (Eppendorf, Almanya)
- Jeio-Tech ultrasonik banyo (Kore)
- Vortex (IKA MS3 Besic marka)
- Ultra saf su cihazı (Sartorious, Arium Pro, Almanya)

- 0.22 µm şırınga ucu filtre

## 3.3. QCM ve SPR Sensör Sistemleri için Fonksiyonel Monomer (MATrp)'in Sentezi ve Karekterizasyonu

### 3.3.1. N-metakriloil-(L)-triptofan metil ester (MATrp) Monomerinin Sentezi

N-metakriloil-(L)-triptofan metil ester (MATrp) monomerinin sentezi için uygulanan yöntem şu şekildedir:

5.0 g L-triptofan metil ester ve 0.2 g hidrokinon, 100 mL diklorometan ($CH_2Cl_2$) içerisinde çözündü. Çözelti 0 ºC'de soğutulduktan sonra üzerine 12.7 g trietilamin çözeltiye eklendi. 5.0 mL metakroil klorür yavaş bir şekilde bu çözeltinin üzerine ilave edildi, karışım azot atmosferi altında manyetik karıştırıcı ile 2 saat oda sıcaklığında karıştırıldı. Kimyasal reaksiyon sonucunda, reaksiyona girmeyen metakriloil klorür, %10'luk NaOH çözeltisi ile ekstrakte edildi. Sulu faz, döner buharlaştırıcıda uzaklaştırılıp kalan katı kısım etanolde çözündü.

### 3.3.2. MATrp Monomerinin Karakterizasyonu

**-FTIR-ATR Analizi**

MATrp monomerinin FTIR-ATR spektrumu, FTIR-ATR spektrofotometresi (Thermo Fisher Scientific, Nicolet iS10, Waltham, MA, ABD) ile alındı. FTIR-ATR spektrofotometresinin ölçüm yapılacak olan örnek haznesinden 5 dakika boyunca azot gazı geçirilerek havadan kaynaklanan nem ve karbondioksit ortamdan uzaklaştırıldı. Bu sensör çipleri cihazın örnek yuvasına yerleştirilerek 400-4000 $cm^{-1}$ dalga sayısı aralığında altın yüzeyde oluşan toplam yansıma miktarı ölçülüp spektrumlar elde edildi.

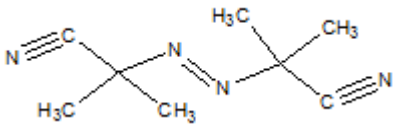
## 3.4. QCM ve SPR Sensör Çiplerinin Allil Merkaptan ile Yüzey Modifikasyonu

Allil merkaptan ($CH_2CHCH_2SH$) ile çiplerin altın yüzeylerinin modifikasyonu için öncelikle çipler alkalin pirana çözeltisi (3:1$H_2SO_4/H_2O_2$, v/v) ile yıkandı. SPR ve QCM çipleri 10 mL temizleme çözeltisinde 5 dakika bekletildikten sonra etil alkol ile yıkanıp 2 saat vakumlu etüvde (200 mmHg, 35 $^0$C) kurutuldu. Altın yüzeylerindeki tiyol gruplarını oluşturmak için çipler 3.0 M allil merkaptan içeren etanol/su (4:1,v/v)

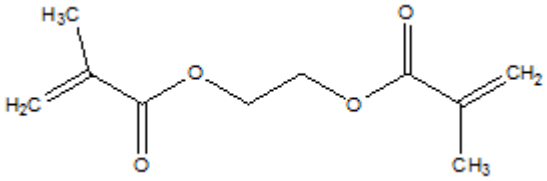
çözeltisine batırılarak 24 saat beklemeye bırakıldı. Daha sonra etil alkol ile temizlenip azot gazı altında kurutuldu.

### 3.5. Moleküler Baskılanmış ve Baskılanmamış QCM-SPR Sensör Yüzeylerinin Hazırlanması

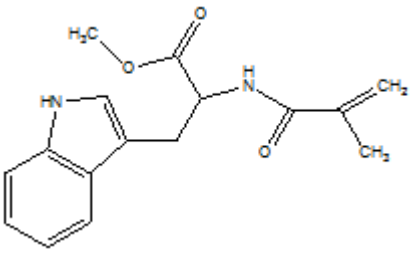
Allil merkaptan ile modifiye edilmiş QCM ve SPR sensör çip yüzeyine baskılanacak pestisitler (Dimetoat ve Karbofuran) için ilk olarak, MATrp monomeri (100 μmol) ile pestisitin (10 μmol) uygun molar oranlarının belirlenmesi spektrofotometrik (UV-VIS) olarak yapıldı. En uygun oranı belirlenmiş pestisit-MATrp monomeri (10:100 μmol) oda sıcaklığında 2 saat karıştırılarak ön kompleksin oluşması sağlandı. Daha sonra çapraz bağlayıcı olarak etilen glikol dimetakrilat (EGDMA) (100 μmol), başlatıcı olarak 2,2'-azobis(izobutironitril) (AIBN) (2-3 mg) ve pestisit-MATrp ön kompleksi ile karıştırılıp 15 dakika azot gazından geçirildi. Ardından elde edilecek bu karışımdan 20 μL alınıp "spin coating" metodu kullanılarak QCM ve SPR sensör çip yüzeylerine damlatıldı ve 10 saat bekletildi. Bu metot çiplerin yüzeyine homojen olarak ince film kaplanması için kullanıldı. Bekleme süresinin ardından çipler alınarak karanlık ortamda UV ışığı (100 W, 365 nm) altında polimerizasyon gerçekleştirildi. Reaksiyona girmeyen monomer çözeltisi etanol ile yıkandı ve vakum etüvünde kurutuldu. Moleküler baskılamanın olmadığı (NIP) yüzeyler ise pestisit kullanılmaksızın aynı işlemler uygulanarak hazırlandı. Şekil 3.1'de AIBN, EGDMA, MATrp, molekül yapıları ve poli(EGDMA-MATrp) arasındaki etkileşimler gösterilmiştir. QCM ve SPR sensör çip yüzeylerine nanofilm tutturulması Şekil 3.2 ve Şekil 3.3'te gösterilmiştir.



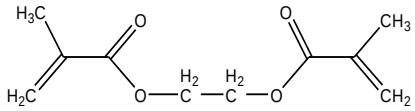
(a)



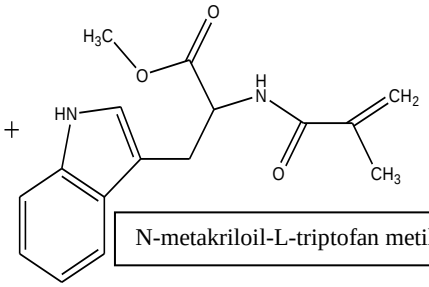
(b)



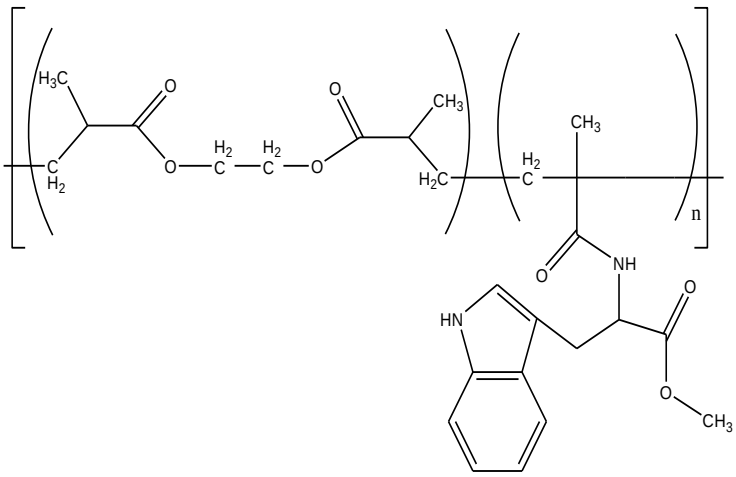
(c)



Etilen glikol dimetakrilat (EGDMA)



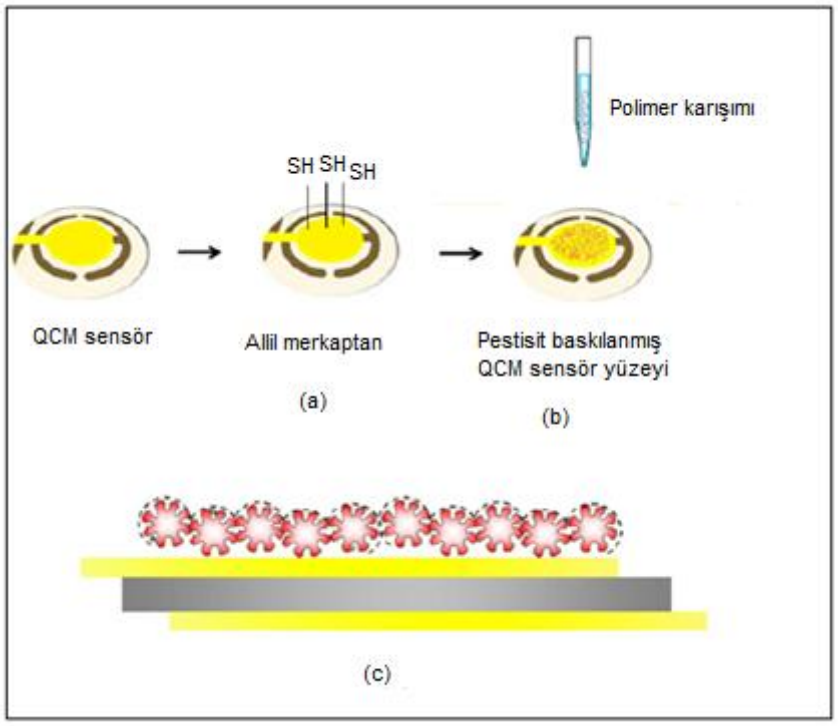
N-metakriloil-L-triptofan metil ester (MATrp)



p(EGDMA-MATrp)

(d)

**Şekil 3.1.** Molekül yapıları; a) AIBN, b) EGDMA, c) MATrp ve d) p(EGDMA-MATrp)




**Şekil 3.2.** QCM sensör yüzeyinde nanofilm oluşumu (a) allil merkaptan ile yıkanmış (b) pestisit baskılanmış QCM sensörün üst yüzey görüntüsü, (c) pestisit baskılanmış QCM sensörün yan yüzey görüntüsü




**Şekil 3.3.** SPR sensör yüzeyine nanofilm tutturulması

### 3.6. Kalıp Molekül Olarak Kullanılacak Pestisit-Monomer Oranının Optimizasyonu

İlk aşamada, hazırlanan triptofan içeren fonsiyonel monomer (MATrp), kalıp molekül oranlarında pestisit ile etkileştirilip optimum koşullar belirlendi. Ardından alkalin pirana çözeltisi (3:1 $NH_4OH/H_2O_2$, v/v) ile temizlenip hidroksile edildi, QCM ve SPR sensör çiplerinin altın yüzeyinde polimerizasyonu gerçekleştirildi. Karekterizasyon çalışmalarının ardından elde edilen sensörler ayrı ayrı QCM ve SPR sistemlerine bağlanarak analit moleküllere ait kinetik ve afinite bağlanma çalışmaları yapıldı, tayin limitleri belirlendi.

### 3.7. QCM ve SPR Sensör Çip Yüzeylerine Tutturulan Baskılanmış ve Baskılanmamış Nanofilmlerin Karakterizasyonu

#### 3.7.1. FTIR-ATR Spektrofotometre Analizi

Sensör çiplerin yüzeyindeki nanofilmlerin karakterizasyonu için FTIR-ATR spektrofotometresi (Thermo Fisher Scientific, Nicolet iS10, Waltham, MA, ABD) kullanıldı. FTIR-ATR spektrofotometresinin ölçüm yapılacak olan örnek haznesinden 5 dakika boyunca azot gazı geçirilerek havadan kaynaklanan nem ve karbondioksit ortamdan uzaklaştırıldı. Bu sensör çipleri cihazın örnek yuvasına yerleştirilerek 400-4000 $cm^{-1}$ dalga sayısı aralığında altın yüzeyde oluşan toplam yansıma miktarı ölçülüp spektrumlar elde edildi.

#### 3.7.2. Atomik Kuvvet Mikroskopisi

Sensör çip altın yüzeylerinin karakterizasyonu yarı değen modda atomik kuvvet mikroskobu (Nanomagnetics Instruments, Oxford, İngiltere) kullanılarak gerçekleştirildi. Serbest kantileverli interferometre özelliğine sahip atomik kuvvet mikroskobu ile 4096 x 4096 piksel ile oldukça yüksek çözünürlükte ölçüm alınabilmektedir. Bu sensör çipleri çift yüzlü karbon bant aracılığıyla örnek tutucuya yerleştirildi. Atomik kuvvet mikroskobu ile görüntüleme hava ortamında yarı değen modda gerçekleştirildi. 341.30 kHz salınım rezonans frekansı uygulandı. Titreşim genliği 1 VRMS ve boş titreşim genliği ise 2 VRMS'dir. Örnekler 2 μm/s tarama hızında, 256 x 256 piksel çözünürlükte, 1 x 1 μm'lik bir alanın görüntüsü olarak alındı.

### 3.7.3. Elipsometre

Hazırlanan sensör çip yüzeylerindeki kalınlık ölçümleri elipsometre (Nanofilm EP3-Nulling Elipsometre-Göttingen, Almanya) cihazı kullanılarak karakterize edildi. Kalınlık ölçümleri 62°'lik bir geliş açısında ve 532 nm dalga boyunda ölçüldü. Lazer ışık kaynağı altına yerleştirilen QCM ve SPR sensör çiplerinin yüzey kalınlıklarını hesaplama programı için veri olarak BK7 + 50 nm altın + 70 nm polimer katmanı öngörülmüştür. Alınan ölçümler sensör çip yüzeylerinin altı farklı noktasından üç tekrar ile alındı ve sonuçlar bu değerlerin ortalaması hesaplanarak rapor edildi.

### 3.7.4. Temas Açısı Ölçümleri

Temas açısı ölçümleri için KRÜSS DSA100 (Hamburg-Almanya) cihazı kullanıldı. Sensör çip yüzeylerine 1 damla su damlatılarak yapışık damla (Sessile Drop) yöntemiyle temas açısı belirlendi. Çip yüzeylerinin farklı bölgelerine su damlatılmasıyla on ayrı fotoğraf çekildi ve her biri için ayrı temas açısı belirlendi. Belirlenen bu temas açı değerleri damlacığın sağ temas noktasından alınan sağdan temas açısı; katı ile sol temas noktasından alınan soldan temas açısı olarak belirlendi. Aynı zamanda her iki noktanın ortalaması olan ortalama temas açısı değerleri de belirlendi. Modifiye edilmemiş ve edilmiş sensör çip yüzeyleri için temas açısı değerleri alınan 10 ölçümün ortalama değerleri hesaplanarak belirlendi.

## 3.8. QCM ve SPR Sensörleri için Kalıp Molekülün Baskılanmış Polimerden Desorpsiyonu

MATrp monomeri ve pestisit arasında ikincil kuvvetlerden kaynaklanan benzer bir etkileşim vardır. Ancak temel etkileşimler, pestisit ile MATrp monomeri arasındaki hidrojen bağlarından veya aromatik halkadan kaynaklanan olası hidrofobik etkileşimlerdir. Hedef molekül olan pestisiti polimerik yapıdan uzaklaştırmak için yukarıda bahsedilen etkileşimleri kırabilen bir desorpsiyon ajanının kullanılması gerekmektedir. Bu sensör çiplerin yüzeylerine tutturulan pestisit baskılanmış polimerler üzerine uygun desorpsiyon çözeltisi (karbofuran: 0.01 M $CaCI_2$, dimetoat: 2 M Glisin-HCI pH:2) ilave edildi. Çalkalamalı inkübatörde oda sıcaklığında 2 saat süre ile 200 rpm'de çalkalandı. Desorbe edilen sensör çipleri, saf su ile yıkandı ve vakum etüvünde (200 mmHg, 25 °C) kurutuldu.

### 3.9. QCM ve SPR Sensörlerle Kinetik Analizler

#### 3.9.1. QCM Sensörle Kinetik Analizler

Pestisit baskılanmış poli(EGDMA-MATrp) QCM sensörünün hazırlanmasından sonra kinetik çalışmalara geçildi. Kinetik çalışmalar, farklı derişimlerdeki (her bir pestisit için 10-1000 ng/L) pestisit çözeltileri ile gerçekleştirildi. Bu çözeltiler metanolde seyreltilip saf su ile farklı derişimlerde hazırlanarak QCM sistemine verildi. QCM sistemi; frekans sayacı, gerilim kaynağı, osilator devre, peristaltik pompa, yalıtım kabini ve bilgisayardan oluşmaktadır. Yüzeyine pestisit baskılanmış ve baskılanmamış nanofilm tutturulan QCM sensör çipleri, kinetik analiz çalışmalarında kullanıldı. Bu başlık altında uygulanan deneysel işlem şu şekildedir:

QCM sensör çip yüzeyi saf su (25 mL) ile yıkandı. Ardından pestisit baskılanmış sensör çip, metanol:saf su karışımı ile oda sıcaklığında dengeye getirilip rezonans frekansı (fo) belirlendi. Rezonans frekansı belirlendikten sonra QCM sisteminden 5 dakika süreyle çözelti karışımı geçirildi. Bu dengeleme basamağının ardından farklı derişimlerde pestisit çözeltileri düşükten yüksek derişime doğru dakikada 1.0 mL akış hızı ile sisteme verildi. Rezonans frekansındaki kayma değerleri anlık olarak gözlenip sistem denge durumuna geldiğinde (yaklaşık 15 dakika) sisteme uygun desorpsiyon çözeltisi (1.0 mL/dakika akış hızı) verilerek desorpsiyon işlemi gerçekleştirildi. Desorpsiyon işleminin ardından, QCM sensör çip tekrar yıkanarak dengeye gelmesi sağlandı. Hazırlanmış farklı derişimlerdeki pestisit çözeltileri sisteme verilmeden önce desorpsiyon ve temizleme aşamaları tekrarlandı. RQCM (Maxtek) yazılımı ile elde edilen kinetik verilerin analizi gerçekleştirildi.

#### 3.9.2. SPR Sensörle Kinetik Analizler

Pestisit baskılanmış poli(EGDMA-MATrp) SPR sensörün hazırlanmasının ardından kinetik çalışmalara geçildi. Kinetik çalışmalar, farklı derişimlerdeki pestisit çözeltileri ile gerçekleştirildi. Bu çözeltiler metonolde seyreltilip saf su ile farklı derişimlerde (10-1000 ng/L) hazırlanarak SPR sistemine verildi. SPRimager II sistemi, lazer kaynağı, ayna sistemi, CCD kamera sistemi, peristaltik pompa ve bilgisayardan oluşmaktadır. Yüzeyine pestisit baskılı nanofilmler tutturulan SPR sensör çip, kinetik analiz çalışmalarında kullanıldı. Bu başlık altında uygulanacak deneysel işlem aşağıda belirtilmektedir:

SPR sensör çip yüzeyi saf su (50 mL) ile yıkandı. Sistemden metanol:saf su karışım çözeltisi geçerken yüzey plazmon eğrileri alınıp, yüzeyde rezonans kırılma açısı (ΔR) belirlendi. Cihaz bu kırılma açısına ayarlanmış ve kinetik çalışmalar bu açı değerinde gerçekleştirildi. Kinetik analiz çalışmalarında SPRimager II yazılımının kinetik görüntüleme programı kullanıldı. Bu program, dakikada yaklaşık %150 kırılma miktarı değerini ölçmekte ve anlık olarak % kırılma miktarı değişiminin gözlenmesini sağlamaktadır. Plazmon eğrileri alınması ve aynanın rezonans açısı değerine ayarlanmasının ardından, SPR sisteminden beş (5) dakika süreyle metanol:saf su çözeltisi geçirilmeye devam edildi. Bu dengeleme basamağından sonra, farklı derişimlerdeki pestisit çözeltileri teker teker (10 mL, 2.0 mL/dakika akış hızı) sisteme verildi. % kırılma değerini ölçmekte ve anlık olarak % kırılma değerinin değişimi gözlendi ve denge durumuna geldiğinde (yaklaşık 15 dakika) sisteme uygun desorpsiyon çözeltisi (10 mL, 2.0 mL/dakika akış hızı) verilerek desorpsiyon işlemi gerçekleştirildi. Desorpsiyon işleminden sonra, SPR sensör çip tekrar yıkandı. Farklı derişimlerdeki pestisit çözeltileri sisteme verilmeden önce desorpsiyon-temizleme aşamaları tekrarlandı.

QCM ve SPR sensörlerle farklı derişimlerdeki pestisit çözeltileri ile kinetik analizler yapıldıktan sonra Güneydoğu Anadolu Bölgesi Diyarbakır ili sınırları içerisinde Dicle Nehri'nden alınan dört (4) farklı çevre suyu numuneleri ile örnek uygulama çalışmaları yapıldı.

Bu çalışmaların ardından, dimetoat baskılı QCM ve SPR sensör sistemleri için 0.043-0.436-4.36 nM, karbofuran baskılı QCM ve SPR sensör sistemleri için ise 0.045-0.450-4.5 nM (düşük, orta ve yüksek) olmak üzere üçer farklı konsantrasyonda adsorpsiyon öncesi ve sonrası çözelti örnekleri alınarak LC-MS/MS sisteminde doğrulama çalışmaları yapıldı.

### 3.10. QCM ve SPR Sensörlerle Yarışmalı Kinetik Analizler

QCM ve SPR sensör yüzeylerine tutturulmuş pestisit baskılanmış poli(EGDMA-MATrp) nanofilmlerin seçiciliğini göstermek için çalışmamızda kullanmış olduğumuz pestisitler ve bu pestisitlerle benzer yapılara sahip (karbofuran için karbaril ve bendiokarb, dimetoat için paration ve monokrotofos) diğer moleküllere özgü çözeltiler hazırlanıp QCM ve SPR sistemlerine gönderilerek yarışmalı adsorpsiyon çalışmaları

yapıldı. Bu çözeltiler, metanol:saf su çözeltisi içerisinde farklı derişimlerde (dimetoat: 4.36 nM, karbofuran: 4.5 nM) hazırlandı. Çözeltiler QCM ve SPR sensörlerle etkileştirildi ve kinetik veriler alınarak RQCM (Maxtek) ve SPRimager II yazılımları ile analiz edildi.

### 3.11. QCM ve SPR Sensörler ile Tekrar Kullanılabilirlik Analizleri

Pestisit baskılanmış QCM ve SPR sensörlerin tekrar kullanılabilirliğini incelemek amacıyla pestisit içeren çözeltiler sensör sistemleriyle birer hafta arayla tekrarlı (6 kez) bir şekilde etkileştirildi ve kinetik veriler alınarak RQCM (Maxtek) ve SPRimager II yazılımları ile analiz edildi.

### 3.12. QCM ve SPR Sensörler ile Doğal Kaynaktan Kinetik Analizler

Doğal kaynaktan kinetik analizler, Güneydoğu Anadolu Bölgesi Diyarbakır ili sınırları içerisinde Dicle Nehri'nden alınan dört (4) farklı çevre suyu örneği kullanılarak gerçekleştirildi. Bu kapsamda; örnekler 0.22 µm şırınga ucu filtrelerden geçirilerek ayrı ayrı QCM ve SPR sistemlerine gönderildi ve QCM/SPR sensorgramları alındı. Uygulanan yöntem için, sulu çözeltideki işlemler izlendi.

### 3.13. LC-MS/MS ve LC-MS-IT-TOF Çalışmaları

#### 3.13.1. Örneklerin Hazırlanışı

LC-MS/MS analizleri için Güneydoğu Anadolu Bölgesi Diyarbakır ili sınırları içerisinde Dicle Nehri'nden alınan dört farklı çevre suyu örnekleri cihazlara verilmeden önce 0.22 µm şırınga ucu filtrelerden geçirilerek HPLC viallerine aktarıldı.

#### 3.13.2. LC-MS/MS Cihazı ve Kromatografik Şartlar

Dimetoat ve karbofuranın kalitatif ve kantitatif analizinde kullanılan LC-MS/MS sistemi; Shimadzu Neexera model UHPLC cihazı ile Shimadzu LCMS 8040 model üçlü kuadrupol kütle spektrometre cihazının birleşiminden oluşmaktadır. Kullanılan sıvı kromatografi sistemi LC-30 AD model gradient pompa, DGU-20A3R model degazer, CTO-10ASvp model kolon fırını ve SIL-30AC model oto örnekleyiciden oluşmaktadır. Kromatografik ayrım, Inertsil ODS-4 model C18 (50 mm×2,1 mm, 3$\mu$m) kolonda gerçekleştirilmiştir. Analiz sırasında kolon fırını 30 ºC'ye ayarlanmıştır. Elüsyon gradiyentinde hareketli faz A için ultrasaf su ve hareketli faz B için metanol kullanıldı.

Ayrıca, daha iyi bir kromatografik ayrım ve iyonlaştırmayı kolaylaştırmak için su fazına 5 mM amonyum format eklendi. Analitlerin optimum ayrımının gerçekleşmesi için yapılan pek çok deneme sonucunda 3 dakika boyunca %60 B fazı kullanılarak 0,4 m/dak akış hızıyla izokratik elüsyon yapıldı. Enjeksiyon hacmi 2 µL olarak belirlendi.

Üçlü kuadrupol kütle spektrometresi hem negatif hem de pozitif modda çalışan bir ESI (elektrosprey iyonlaştırma) kaynağı ile donanımlıdır. LC-ESI-MS/MS verileri cihazda kayıtlı olan by LabSolutions (Shimadzu, Kyoto, Japonya) yazılımı ile toplanarak işlendi. Analitlerin miktarsal tayini için cihaz ile MRM (multiple reaction monitoring) modunda çalışıldı ve moleküler (parent) iyonlar bir veya iki parçalanma ürünü (product ions) (ilki kantitatif amaçlı diğeri kalitatif amaçlı kullanılmıştır) ile kombine edildi. Kütle spektrometresinde optimize edilen diğer parametreler şunlardır:

Ara yüz (interface) sıcaklığı; 350 ºC, DL sıcaklığı; 250 ºC, heat block sıcaklığı; 400 ºC, nebulizer gaz ($N_2$) akışı; 3 L/dk ve kurutma gazı ($N_2$) sıcaklığı; 15 L/dk'dır.

### 3.13.3. LCMS IT-TOF Cihazı ve Kromatografik Şartlar

Çalışılan dimetoat ve karbofuran pestisitlerinin kalitatif olarak taranması için Shimadzu LCMS IT-TOF cihazı kullanıldı. Bu hibrit cihaz sistemi UHPLC ile yüksek çözünürlüklü bir kütle spektrometresi olan IT-TOF- MS sisteminden oluşmaktadır. Shimadzu marka UHPLC sistem donanımı, bir gradiyent pompa (LC-20AD), bir oto örnekleyici (SIL-20AC), bir gaz giderici (DGU-20A3), bir iletişim modülü (CBM-20A) ve bir kolon fırını (CTO-20AC) içermektedir.

Kromatografik ayrım Agilent eclipse XDB (150 mmx4.6 mm, 3.5 µm) kolon ile akış hızının 0.5 mL/dk ve kolon sıcaklığının 35 ºC olduğu şartlarda gerçekleştirildi. Enjeksiyon hacmi 5 µL olarak belirlendi. Ayrım gerçekleştirilirken A (5 mM Amonyum format ve ultra saf su) ve B (%100 metanol) hareketli fazlarıyla gradiyent elüsyon yapılmıştır. Uygulanan gradiyent, 0-15 dk (%40-90 B), 15-20 dk (%40 B) şeklinde belirlendi.

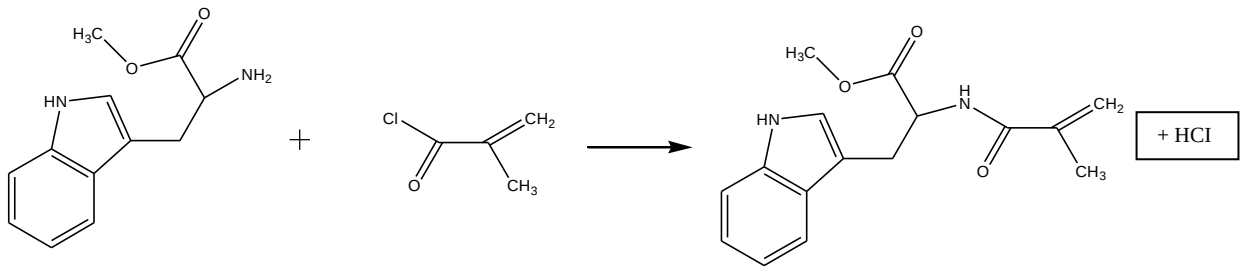
Hibrit IT-TOF-MS yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi hem pozitif hem de negatif modda çalışan ESI iyonlaştırma kaynağı ile donanmıştır. Optimize edilmiş MS şartları şöyledir: + ve - iyon modu; nebulizer gaz ($N_2$), 1.5 L/dk; kurutma gazı ($N_2$) basıncı, 100 kPa; CDL sıcaklığı, 200 ºC; heat block sıcaklığı, 200 ºC; dedektör voltajı, 1.63 kV; elektrosprey voltajı, -4.5 kV; kütle aralığı, *m/z* 50-450 (MS1); TOF bölme

basıncı, $1.4\times10^{-4}$ Pa; IT basıncı $1.8\times10^{-4}$ Pa ve iyon birikme zamanı 30 m/sn'dir. Data toplama ve analizler LCMS Solution Version 3.41 (Shimadzu, Japonya) yazılımı ile gerçekleştirildi.

# 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

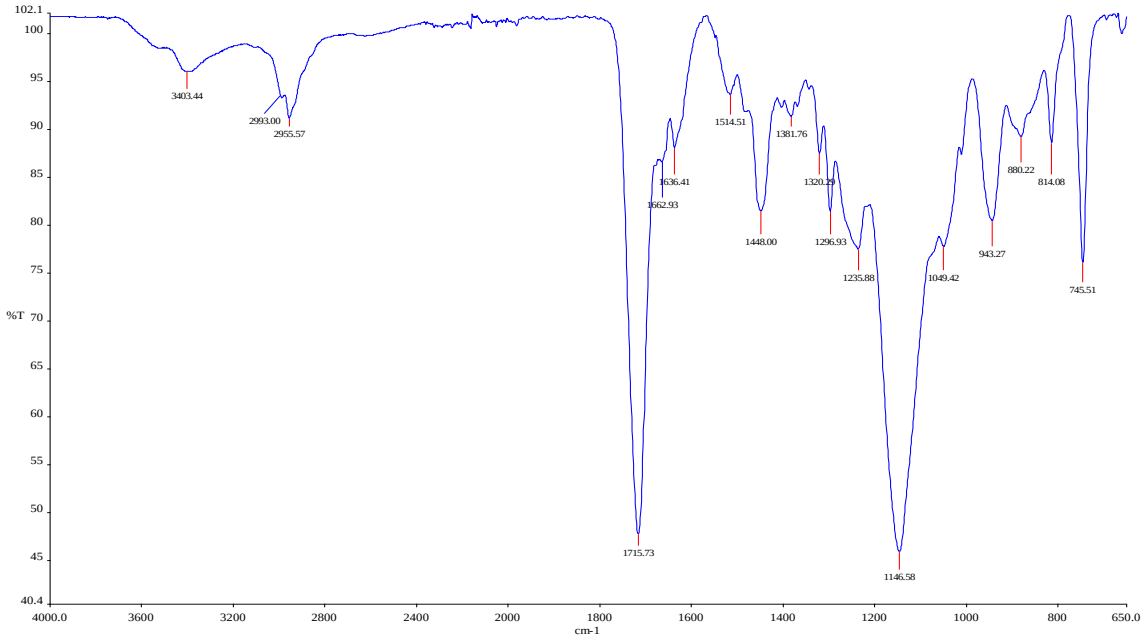
## 4.1. MATrp Monomerinin Sentezi ve Karakterizasyonu

MATrp fonksiyonel monomeri, L-triptofan metil ester ve metakroil klorür'den sentezlendi. Reaksiyon denklemi Şekil 4.1'de verilmektedir.




L-Triptofan metil ester Metakriloil klorür N-metakriloil-L-triptofan metil ester (MATrp)

**Şekil 4.1.** MATrp monomeri'nin reaksiyon denklemi



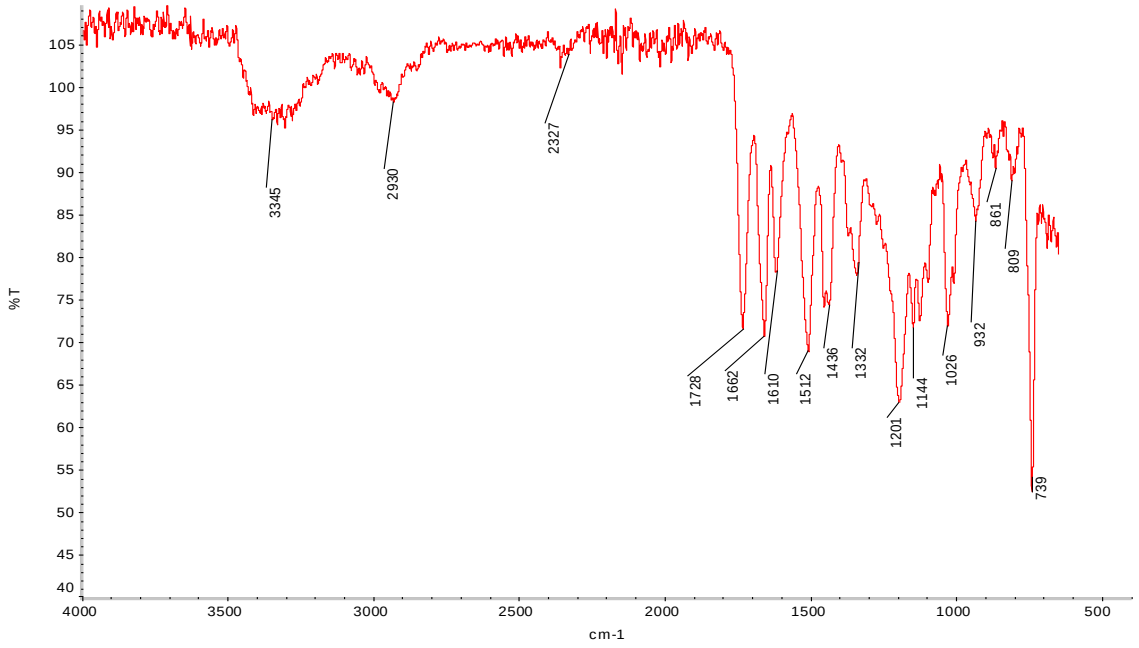

**Şekil 4.2.** MATrp monomerinin FTIR-ATR spektrumu

MATrp monomerinin FTIR-ATR spektrumu Şekil 4.2'de gösterilmiştir. 3403 $cm^{-1}$'de N-H gerilmesi, 2993 ve 2955 $cm^{-1}$'de sırasıyla aromatik ve alifatik C-H gerilme bandları, 1715 $cm^{-1}$'de karbonil C=O bandları görülmektedir. 1448 $cm^{-1}$, 1235 $cm^{-1}$ ve 1146 $cm^{-1}$'de görülen bandlar ise sırasıyla aromatik C-C, C-N ve C-O gerilmelerine

aittir. FTIR-ATR spektrumu MATrp monomerinin başarıyla sentezlendiğini göstermektedir.

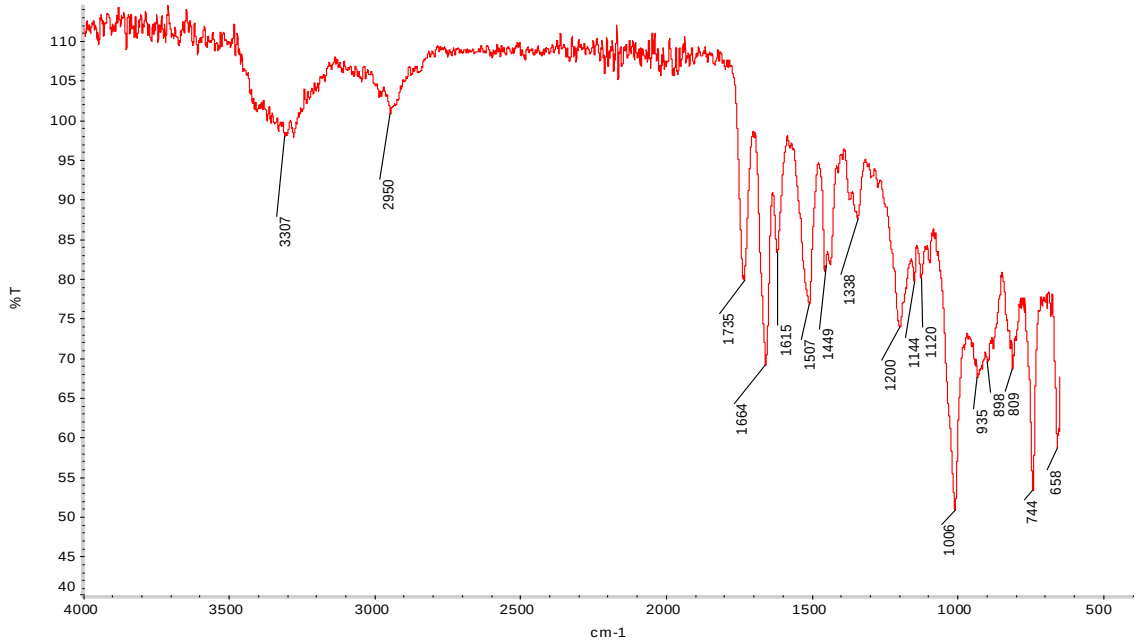
### 4.2. Polimerlerin FTIR-ATR Spektrumları

Çalışmada kullanılmış olan poli(EGDMA-MATrp) nanofilmlerin FTIR-ATR spektrum sonuçları aşağıda verilmektedir.



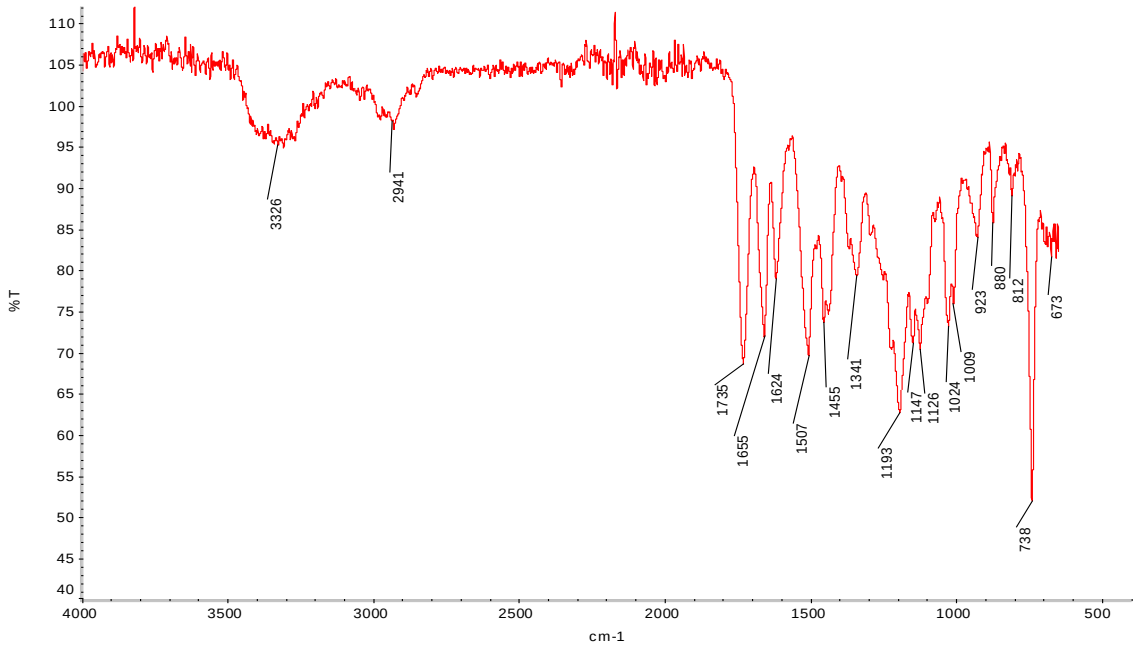

**Şekil 4.3.** p(EGDMA-MATrp) FTIR-ATR spektrumu

Şekil 4.3'te p(EGDMA-MATrp) için verilen spektrumda sırasıyla 3345 $cm^{-1}$'de N-H gerilmesi görülmekte olup, 1728 $cm^{-1}$, 1662 $cm^{-1}$ ve 1610 $cm^{-1}$'deki bandlar ise karbonil ve amid I, II grubuna aittir. 1201 ve 1144 $cm^{-1}$'de simetrik ve asimetrik C-O gerilmeleri mevcut olup, polimerin başarıyla sentezlendiğini söyleyebiliriz.




**Şekil 4.4.** Dimetoat baskılı p(EGDMA-MATrp) FTIR-ATR spektrumu

Dimetoat baskılanmış nanofilmin spektrumu incelendiğinde (Şekil 4.4); 3307 $cm^{-1}$'deki band N–H gerilmesine aittir. 2950 $cm^{-1}$'deki band C–H gruplarının gerilme titreşimlerinden kaynaklanırken, 1615 $cm^{-1}$ ve 1507 $cm^{-1}$'deki absorpsiyon bandlarının sırası ile amid I (C=O ve C–N gerilme titreşimlerine) ve amid II (N–H deformasyon ve C–N gerilme titreşimlerine) bandlarına ait olduğu görülmektedir. 935 $cm^{-1}$'deki band ise P=S gerilme bandına aittir.




**Şekil 4.5.** Karbofuran baskılı p(EGDMA-MATrp) FTIR-ATR spektrumu

Şekil 4.5'te karbofuran baskılanmış polimere ait spektrumda; 3326 $cm^{-1'}$deki bandın -N–H gerilme bandına, 2941 $cm^{-1'}$deki absorpsiyonun C-H gerilme bandına, 1736 $cm^{-1'}$deki pikin karbonil C=O gerilme bandına karşılık geldiği görülmektedir. 1455 $cm^{-1'}$deki pik aromatik C=C gerilme bandına, 1193-1126 $cm^{-1}$ ‘deki pikler ise C-N ve C-O gerilme bandlarına aittir.

### 4.3. QCM Sensör Yüzeylerinin Karakterizasyonu

#### 4.3.1. Temas Açısı Ölçümleri

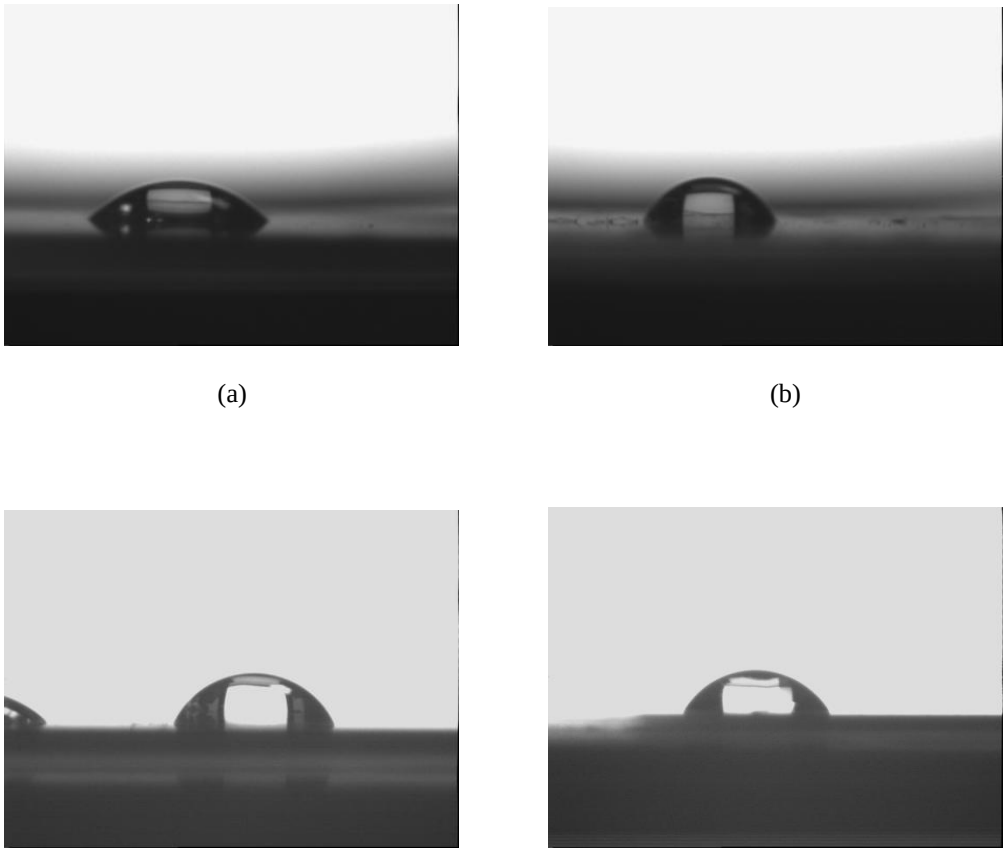
Modifiye edilmemiş, pestisit baskılanmış (P-MIP/QCM) ve pestisit baskılanmamış (P-NIP/QCM) sensör yüzeyleri için temas açıları Krüss DSA100 (Hamburg, Almanya) cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. Temas açısı değerleri DSA2 yazılımı kullanılarak hesaplandı. Çizelge 4.1’de modifiye edilmemiş, P-MIP/QCM ve P-NIP/QCM sensör yüzeyleri temas açısı ölçüm değerleri verilmiştir.

**Çizelge 4.1.** QCM sensör yüzeyleri temas açısı ölçüm değerleri

| **Yüzey** | **Temas Açısı, °** |
|---|---|
| Modifiye edilmemiş altın yüzey | 60.29 ± 0.24 |
| P-NIP/QCM | 68.33 ± 0.47 |
| Dimetoat baskılanmış QCM sensör | 74.40 ± 0.20 |
| Karbofuran baskılanmış QCM sensör | 76.75 ± 0.61 |

P-MIP içeren yüzeylerin temas açısı değerlerinin P-NIP içeren yüzeylere göre artış gösterdiği görüldü (Şekil 4.6). Yüzeylerin temas açılarının önemli miktarda artması, yüzeylerin hidrofobik özelliğinin arttığını göstermektedir. Bu durum, baskılanmış ve baskılanmamış nanofilmlerin sentezinde fonksiyonel monomer olarak kullanılan amino asit (Triptofan) temelli MATrp monomerinin hidrofobik karaktere sahip olması ile açıklanabilir. Bu sebeple, yüzeye hidrofobik bir polimerin tutturulması yüzey hidrofobisitesini arttırmış ve temas açısı değerini yükseltmiştir.

Yılmaz ve ark.'larının (2015) yaptığı çalışmada p(HEMA-MAH) monomeri kullanarak hazırlanan sensör çip yüzeylerinin temas açısı değerleri MIP yüzey için yüksek bulunurken, başka bir çalışmada p(HEMA-MATrp) monomeri ile hazırlanan sensör yüzeylerinin temas açısı değerlerinin NIP sensör yüzeyine göre daha düşük olduğu ifade edilmiştir. Çalışmacılar bu sonuçları baskılanmış biyolojik molekül ve monomer arasındaki etkileşim ile açıklamışlardır (Çiçek ve ark. 2016).



(a) (b)

(c) (d)

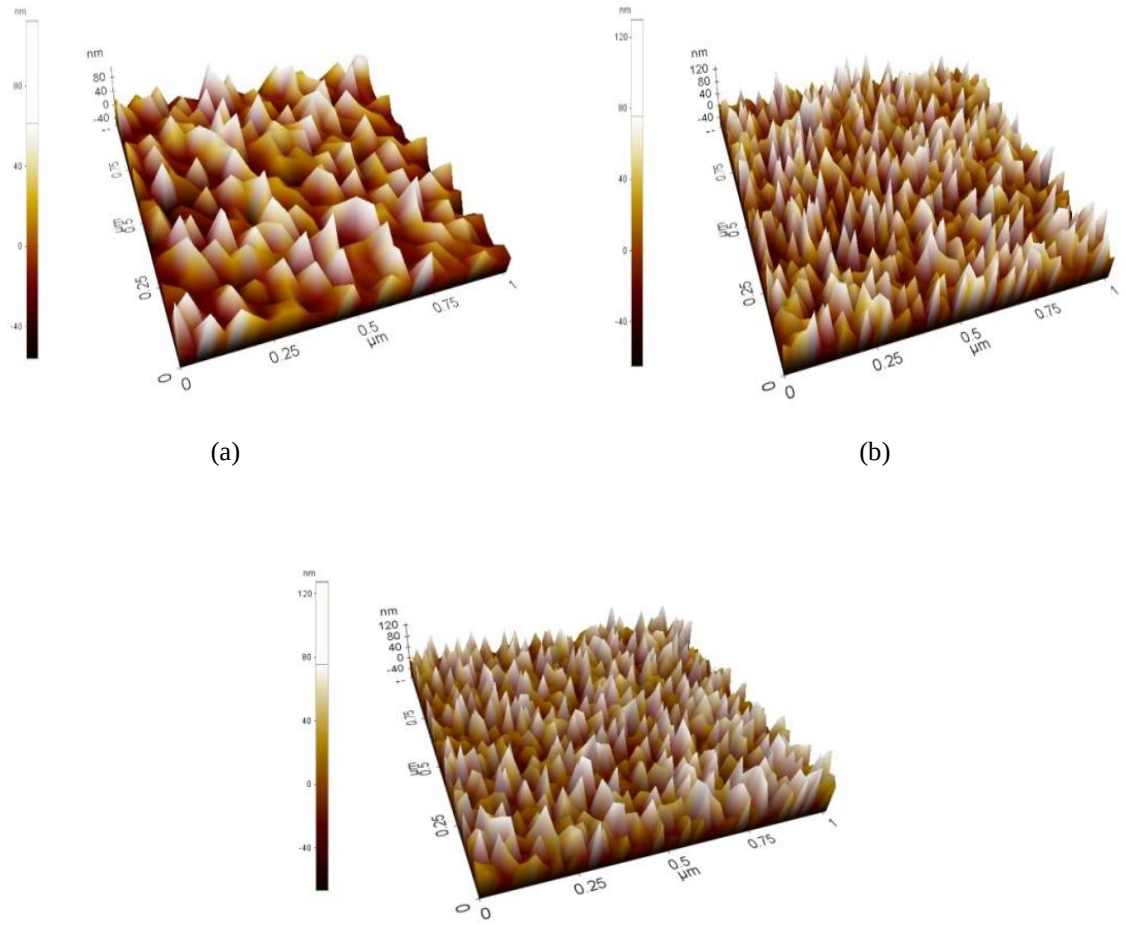
**Şekil 4.6.** Temas açısı ölçümleri. a) modifiye edilmemiş QCM sensör yüzeyi; b) P-NIP/QCM sensör yüzeyi; c) dimetoat baskılanmış; d) karbofuran baskılanmış QCM sensör yüzeyi

### 4.3.2. Atomik Kuvvet Mikroskop Analizleri

P-MIP ve P-NIP nanofilmlerin sensör yüzey morfolojisi yarı değen modda atomik kuvvet mikroskobu ile karakterize edildi (Şekil 4.7). Pestisit baskılanmış ve baskılanmamış nanofilmlerin yüzey derinlik değerleri Çizelge 4.2'de verilmiştir.

**Çizelge 4.2.** QCM sensör yüzeyleri atomik kuvvet mikroskop değerleri

| **Yüzey** | **AFM, nm** |
|---|---|
| P-NIP/QCM sensör | 80.31 ± 2.41 |
| Dimetoat baskılanmış QCM sensör | 120.93 ± 3.12 |
| Karbofuran baskılanmış QCM sensör | 120.17 ± 1.09 |




**Şekil 4.7.** Atomik Kuvvet Mikroskobu ölçümleri. a) P-NIP/QCM sensör yüzeyi; b) dimetoat baskılanmış; c) karbofuran baskılanmış QCM sensör yüzeyi

P-NIP nanofilmlerin yüzey derinliği 80.31 ± 2.41 nm iken dimetoat ve karbofuran baskılı nanofilmler için bu değer sırasıyla 120.93 ± 3.12 nm ve 120.17 ± 1.09 nm olarak bulundu. Bu sonuçlar; QCM sensör yüzeylerinde film oluşumunu onaylamakta ve baskılamanın homojen olarak gerçekleştiğini göstermektedir.

Metakriloil antipirin-Cu(II) kullanılarak paraokson tayinine yönelik yapılan bir çalışmada paraokson baskılı sensör yüzey için AFM sonucu 10 nm olarak bulunmuştur (Özkütük ve ark. 2013b).

Yola ve ark. (2014), QCM sensörle tobramisin baskılanmış p(2-hidroksietil metakrilat-metakriloilamidoglutamik asit)-(p(HEMA-MAGA)) ve baskılanmamış nanofilm derinliği sırasıyla 12.807 ve 2.48 nm olarak ölçmüşlerdir.

Her iki çalışmada da araştırmacılar elde ettikleri sonuçlara göre, hazırlanan sensör yüzeyinde homojen ve tek katmanlı bir film tabakasının oluştuğunu ileri sürmüşlerdir.

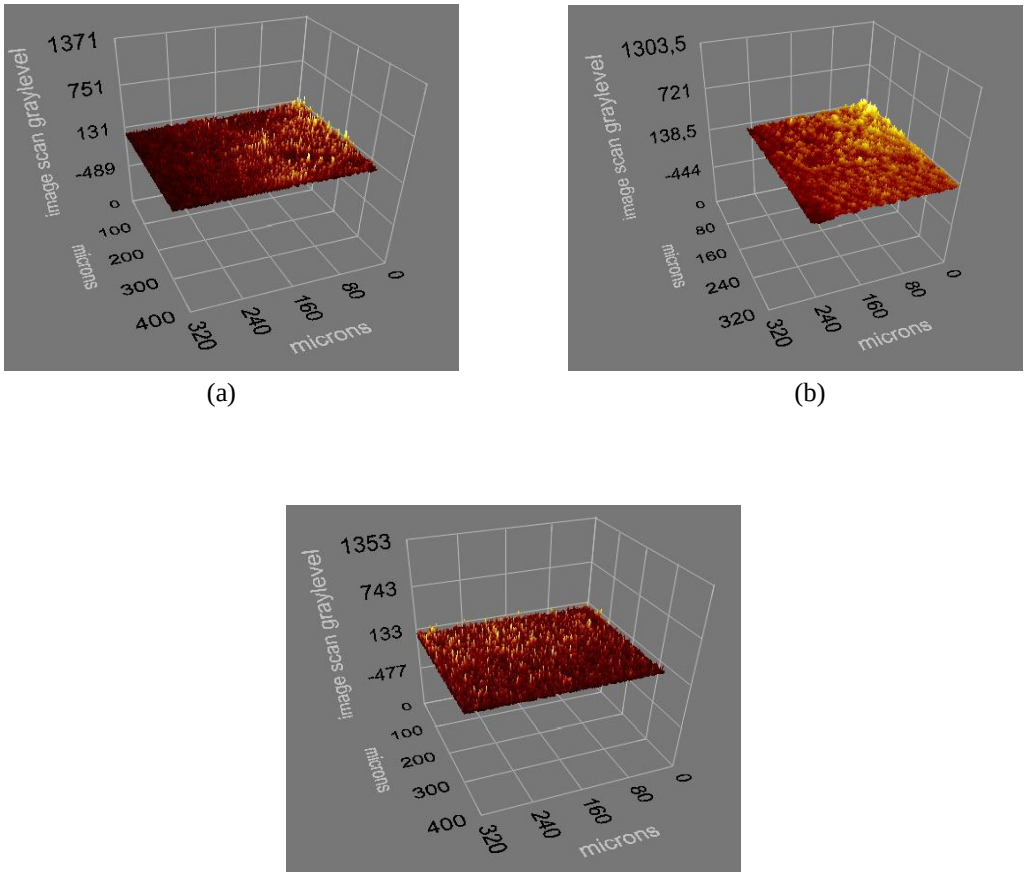
### 4.3.3. Elipsometre Analizleri

P-MIP ve P-NIP nanofilmlerin ortalama yüzey kalınlıkları elipsometre cihazı kullanılarak incelendi (Şekil 4.8). Çizelge 4.3'te görüldüğü gibi P-NIP/QCM sensör yüzeyi için yüzey kalınlığı 131.31 ± 3.74 nm, dimetoat ve karbofuran baskılanmış sensör yüzeyleri için sırasıyla 138.50 ± 1.12 nm ve 133.48 ± 2.86 nm olarak bulundu.

**Çizelge 4.3.** QCM sensör yüzeyleri elipsometre değerleri

| **Yüzey** | **Elipsometre, nm** |
|---|---|
| P-NIP/QCM | 131.31 ± 3.74 |
| Dimetoat baskılanmış QCM sensör | 138.50 ± 1.12 |
| Karbofuran baskılanmış QCM sensör | 133.48 ± 2.86 |

Kalınlıklardaki farklılıklar (MIP/NIP) moleküler baskılamanın başarıyla gerçekleştiğini göstermektedir. Bu sonuçlar, AFM sonuçları ile örtüşmekte olup nanofilmlerin yüzeye tek tabakaya yakın bir şekilde tutturulduğunu göstermektedir.




(a) (b)

(c)

**Şekil 4.8.** Elipsometre ölçümleri. a) P-NIP/QCM sensör yüzeyi; b) dimetoat baskılanmış; c) karbofuran baskılanmış QCM sensör yüzeyi

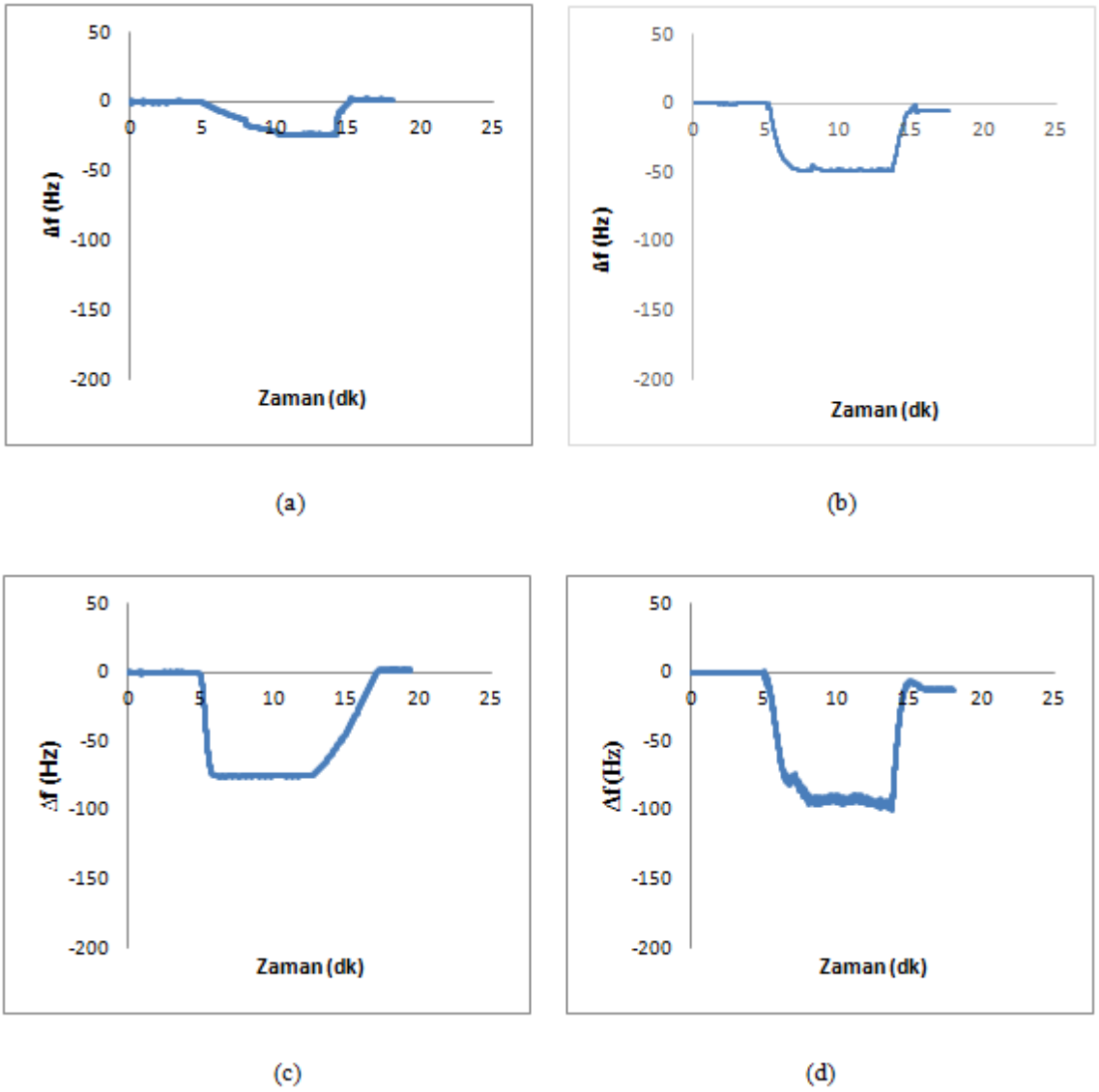
Şener ve ark. (2010), lizozim baskılı QCM sensörün yüzey derinliğini 44.04 ± 2.75 nm olarak belirlemişlerdir. Bu sonuç nanoparçacıkların yüzeye homojen ve tek tabakalı tutunduğunu göstermektedir.

### 4.4. Dimetoat Baskılı QCM Sensörle Kinetik Analizler

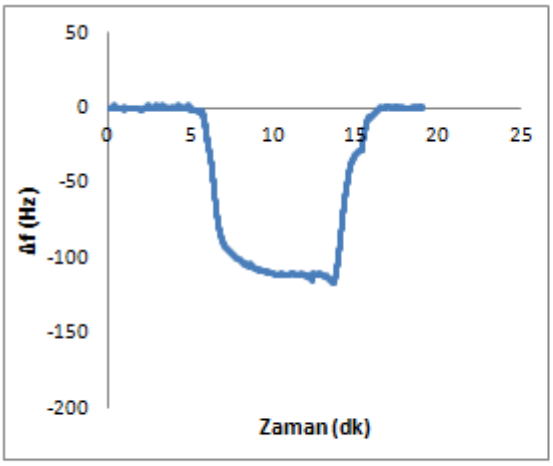
Bu çalışma kapsamında, farklı derişimlerde (0.043-4.36 nM) dimetoat içeren baskılanmış QCM (Dt-MIP/QCM) sensör çipleri hazırlandı. Çözeltiler peristaltik pompa aracılığıyla QCM sensörle etkileştirildi. RQCM (Maxtek) yazılımı ile elde edilen veriler eş zamanlı olarak izlendi ve kinetik veriler alındı.

Zamana bağlı olarak sensör frekansı (Δf) dimetoat çözeltisi ilavesinden sonra düşmektedir (Şekil 4.9). Verilerin daha duyarlı değerlendirilebilmesi için yaygın olarak anlık Δf değeri ile başlangıç Δf değeri arasındaki farkı gösteren Δm değerleri kullanılmaktadır. Bu amaçla Δm değerleri kullanıldığında, derişimdeki artışla birlikte

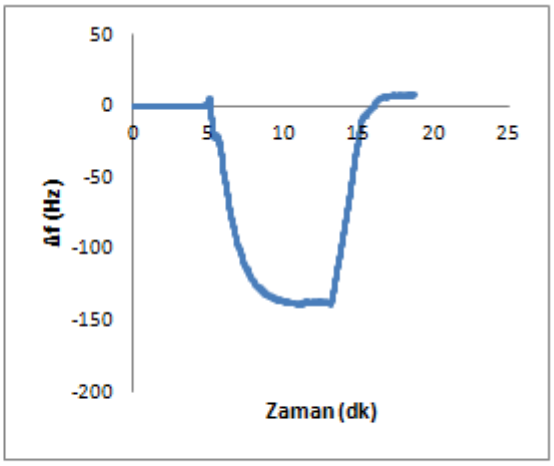
Δm değerindeki artışın daha fazla olduğu görülmektedir (Şekil 4.10). Bunun sebebi olarak çözelti ile yüzey arasındaki sürücü güç olan derişim farkının artması ve dimetoat'ın baskılı polimere bağlandığı söylenebilir.



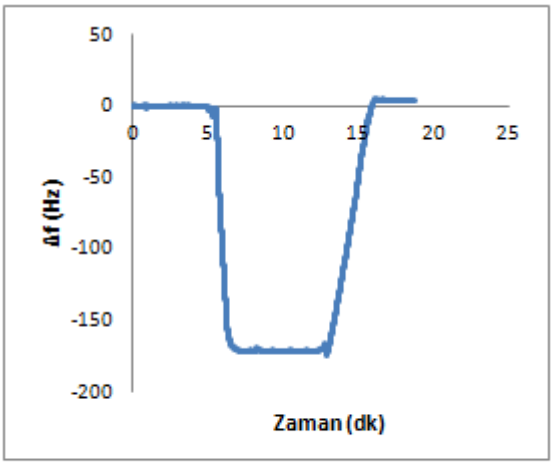

**Şekil 4.9.** Dimetoat çözeltileri ile QCM sensör arasındaki etkileşimlere ait zamana karşı Δf değerini gösteren sensorgramlar. a) 0.043 nM; b) 0.109 nM; c) 0.218 nM; d) 0.436 nM; e) 1.09 nM; f) 2.18 nM; g) 4.36 nM




(e)

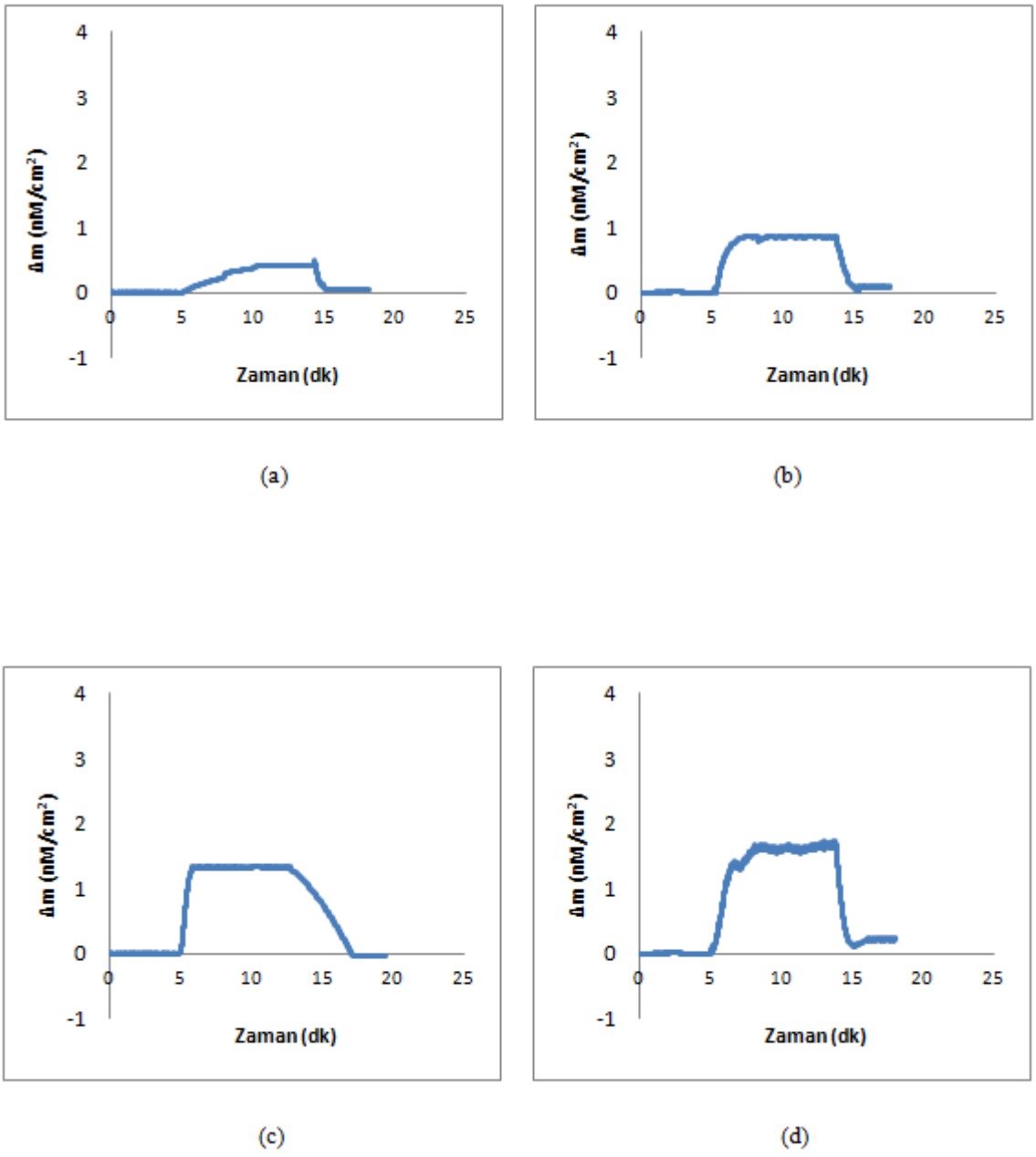



(f)

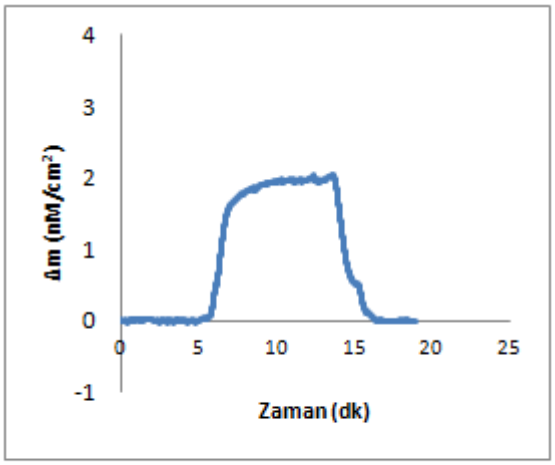



(g)

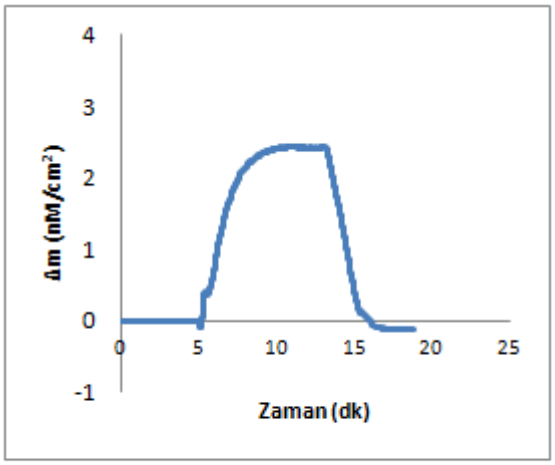
**Şekil 4.9. Devamı.** Dimetoat çözeltileri ile QCM sensör arasındaki etkileşimlere ait zamana karşı Δf değerini gösteren sensorgramlar. a) 0.043 nM; b) 0.109 nM; c) 0.218 nM; d) 0.436 nM; e) 1.09 nM; f) 2.18 nM; g) 4.36 nM



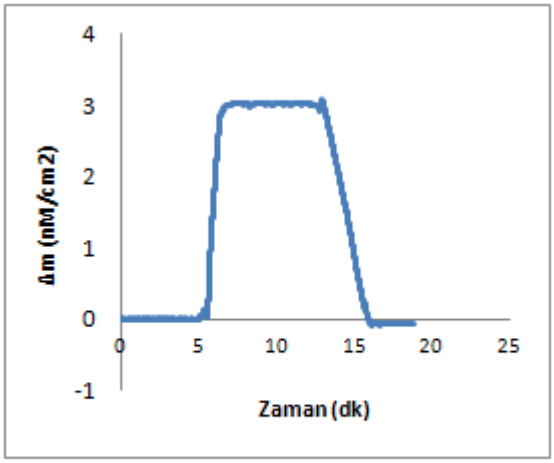

**Şekil 4.10.** Dimetoat çözeltileri ile QCM sensör arasındaki etkileşimlere ait zamana karşı Δm değerini gösteren sensorgramlar. a) 0.043 nM; b) 0.109 nM; c) 0.218 nM; d) 0.436 nM; e) 1.09 nM; f) 2.18 nM; g) 4.36 nM




(e)




(f)



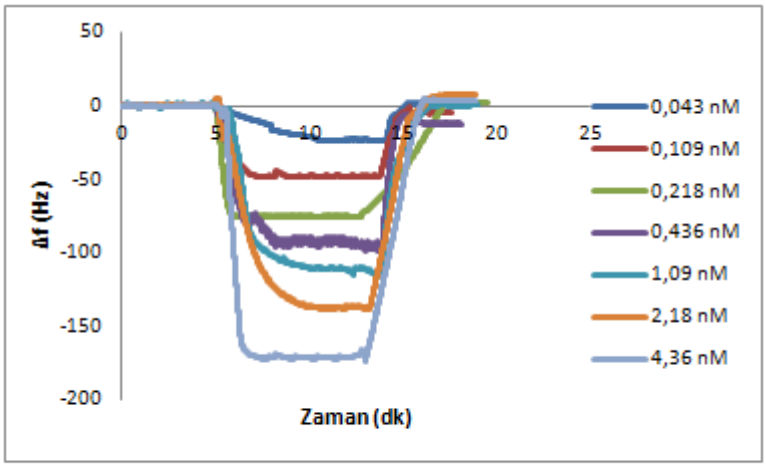

(g)

**Şekil 4.10. Devamı.** Dimetoat çözeltileri ile QCM sensör arasındaki etkileşimlere ait zamana karşı Δm değerini gösteren sensorgramlar. a) 0.043 nM; b) 0.109 nM; c) 0.218 nM; d) 0.436 nM; e) 1.09 nM; f) 2.18 nM; g) 4.36 nM

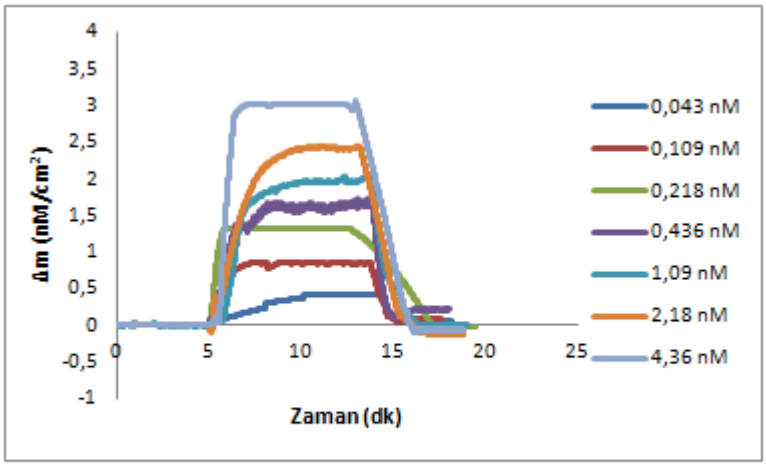
Dt-MIP/QCM sisteminde ilk 5 dakika denge çözeltisi (metanol:saf su) geçirildikten sonra farklı derişimlerdeki dimetoat çözeltileri (0.043-4.36 nM) sisteme verildi. Δm cevabı ortalama 3 dakika boyunca arttı. Moleküler baskılı polimerin dimetoat ile doygunluğa ulaşmasından sonra Δm cevabı 4-5 dakika sabit kaldı. Ardından desorpsiyon ajanı (2 M Glisin-HCI pH:2) sisteme enjekte edildi ve Δm cevabı ortalama 3 dakika boyunca azaldı. Son aşamada ise sistemin tekrar dengeye ulaşması için 5 dakika beklendi. Toplam ölçüm süresi ortalama 20 dakika olarak belirlendi (Şekil 4.11).

Özkütük ve ark. (2013b), paraokson baskılı QCM sensör kinetik çalışmalarında, 0.1-3.5 μM aralığında paraokson çözeltileri sensör sistemine gönderilerek paraoksonun bağlanması ve doygunluğa ulaşma süresini 30 dakika olarak belirlemişlerdir.

Özkütük ve ark. (2013c), silan odaklı paraokson baskılanmış QCM sensöre gönderilen farklı derişimlerdeki (0.1-5 μM) paraokson çözeltilerinin doygunluğa ulaşana kadar sensör sistemine bağlanma süresini 20 dakika olarak ifade etmişlerdir



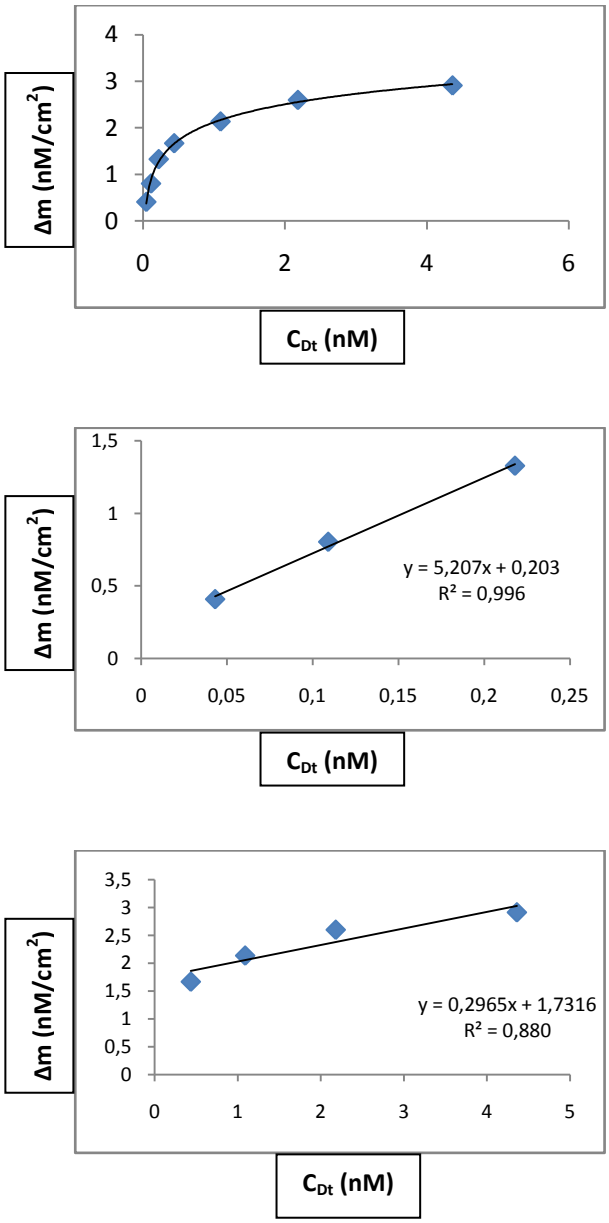

(a)




(b)

**Şekil 4.11.** Dimetoat çözeltileri ile QCM sensör arasındaki etkileşimlere ait sensorgramlar. a) zamana karşı Δf değerini gösteren sensorgram; b) zamana karşı Δm değerini gösteren sensorgram

Dt-MIP/QCM sensör, iki farklı derişim aralığında derişim-sinyal doğrusallığı göstermektedir. 0.043-0.218 nM aralığındaki veriler değerlendirildiğinde elde edilen doğruların denklemi (y=5.207x + 0.203) iken 0.436-4.36 nM aralığında (y=0.296x + 1.731) ve doğrusallıkları ($R^2$) sırasıyla 0.996 ve 0.880 olarak hesaplandı. Bu sonuçlara göre; dimetoat molekülleri iki farklı bölgeden yüksek afinite ile bağlanmaktadır (0.043-0.218 nM aralığında %99.6, 0.436-4.36 nM aralığında %88.0) (Şekil 4.12).




**Şekil 4.12.** Dt-MIP/QCM sensöre ait derişim ($C_{Dt}$) ile Δm arasındaki ilişki

### 4.4.1. Denge ve Bağlanma Kinetik Analizleri

Yüzeyin maksimum analit bağlama kapasitesi toplam ligand miktarı ($[B]_0$) olarak tanımlanır. Diğer tüm derişim değerleri ise QCM sinyali olarak ifade edilebilir. Bu şekilde kütlenin derişime dönüştürülmesine gerek duyulmayacaktır. Serbest haldeki analit derişiminin akış hücresinde sabit kaldığı yalancı/birinci derece koşullar altında bağlanma aşağıdaki eşitlikteki gibi ifade edilir:

$$d\Delta m/dt = k_a C\Delta m_{maks} - (k_a C + k_d)\Delta m \qquad 4.1$$

Burada, $d\Delta m/dt$, QCM sinyalinin değişim hızı; $m$ ve $\Delta m_{maks}$ bağlanma ile ölçülen ve kütle artışından kaynaklanan maksimum sinyal (nM/cm$^2$); $C$, analit derişimi (nM); $k_a$, bağlanma hız sabiti (1/nMxs) ve $k_d$, ayrılma hız sabiti ($1/s$)'ni ifade eder. $k_a$ ve $k_d$ sabitlerinin oranından bağlanma sabiti $K_A$ (nM$^{-1}$) hesaplanır ($K_A=k_a/k_d$). Denge durumunda, $d\Delta m/dt$=0 alınarak eşitlik basitleştirilir:

$$\Delta m_{denge}/C = K_A\Delta m_{maks} - K_A\Delta m_{denge} \qquad 4.2$$

Bundan dolayı, bağlanma sabiti $K_A$, $\Delta m_{denge}/C$'ye karşı $\Delta m_{denge}$ grafiğinden hesaplanır. Ayrılma sabiti $K_D$ ise; $1/K_A$ eşitliği ile hesaplanabilir.

Eşitlik 4.1 tekrar incelendiğinde;

$$d\Delta m/dt = k_a C\Delta m_{maks} - (k_a C + k_d)\Delta m \qquad 4.3$$

Buradan, etkileşim kontrollü kinetikler için çizilen $d\Delta m/dt$'ye karşı $\Delta m$ grafiğinin eğimi $-(k_a C + k_d)$ olan bir doğru verdiği görülmektedir. Başlangıç bağlanma hızı analit derişimiyle doğrusal bir ilişki içerisindedir ve kantitatif olarak derişim belirlenmesinde kullanılır. Eğer $\Delta m_{maks}$ değeri biliniyorsa, tek bir sensorgram kullanılarak $k_a$ ve $k_d$ değerleri hesaplanabilir. Yüzeyi tamamen doygunluğa eriştirmek için çok yüksek analit derişimlerine ihtiyaç olduğundan dolayı $\Delta m_{maks}$'un deneysel olarak belirlenmesi zordur. Tercih edilen yaklaşım, birçok farklı analit derişimlerinde bağlanma sensorgramlarının alınmasıdır. İleri ve geri yöndeki hızların analizi için çizilen $d\Delta m/dt$'ye karşı $\Delta m$ grafikleri, ileri ve geri yöndeki hız sabitleri ile ilişkili bir eğim değeri ($S$) vermektedir:

$$S = k_a C + k_d \qquad 4.4$$

*S*'ye karşı *C* grafiği, eğimi $k_a$ olan bir doğru vermektedir. Teorik olarak kesim noktası $k_d$ değerini vermektedir. Fakat $k_a C >> k_d$ olduğu durumlarda $k_d$ hesaplaması için bu yöntem çok güvenilir değildir. Daha güvenilir yöntem, ayrılma kinetiğinin incelenmesidir.

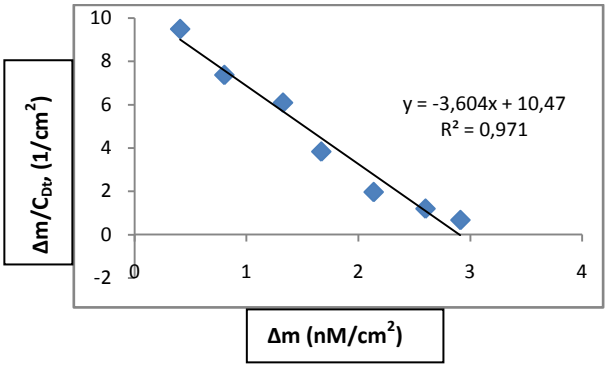
$$ln(\Delta m_o / \Delta m_t) = k_d (t - t_o) \qquad 4.5$$

Burada; $\Delta m_o$ ve $\Delta m_t$, ayrılma eğrisindeki $t_o$ ve $t$ anlarındaki QCM sinyal değerleridir.

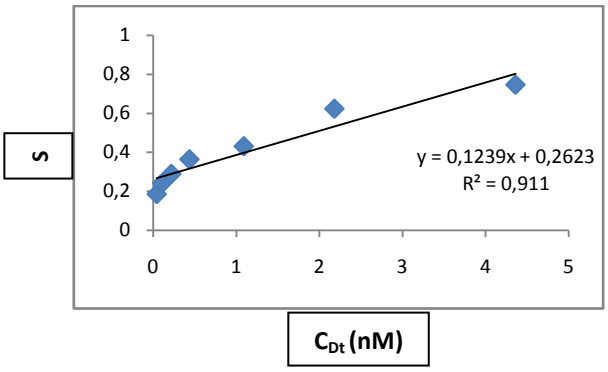
Dimetoat ve Dt-MIP arasındaki bağlanma etkileşimleri ve denge durumundaki bağlanma bölgelerini belirlemek için Scatchard hesaplaması yapıldı. Çizelge 4.4'e göre bağlanma sabiti $K_A$ ve $\Delta m_{maks}$ değerleri sırasıyla 3.604 $nM^{-1}$ ve 2.905 $nM/cm^2$ olarak hesaplandı. $K_A$ değeri bağlanma bölgelerinin ilgisinin yüksek olduğunu ifade etmektedir (Şekil 4.13).

**Çizelge 4.4.** Dt-MIP/QCM sensör için kinetik hız sabitleri

| **Denge Analiz (Scatchard)** | | **Bağlanma Kinetik Analizi** | |
|---|---|---|---|
| $\Delta m_{maks,}$ $nM/cm^2$ | 2.905 | $k_a$, $nM^{-1}.s^{-1}$ | 0.123 |
| $K_A$, $nM^{-1}$ | 3.604 | $k_d$, $s^{-1}$ | 0.262 |
| $K_D$, nM | 0.277 | $K_A$, $nM^{-1}$ | 0.469 |
| $R^2$ | 0.971 | $K_D$, nM | 2.130 |
| | | $R^2$ | 0.911 |




(a)




(b)

**Şekil 4.13.** Dt-MIP/QCM sensör için kinetik hız sabitlerinin belirlenmesi. a) Denge analiz yaklaşımı (Scatchard); b) Bağlanma kinetik yaklaşımı

### 4.4.2. Denge İzoterm Modelleri

Hem Dt-MIP/QCM hem de Kf-MIP/QCM sensör ile dimetoat ve karbofuran arasındaki etkileşim modelini belirlemek için üç farklı izoterm modeli uygulandı. Bunlar: Langmuir; Freundlich ve Langmuir-Freundlich (LF) modelleri.

| | | |
|---|---|---|
| Langmuir | $\Delta m=\{\Delta m_{maks}[C]/(K_D+[C])\}$ | 4.6 |
| Freundlich | $\Delta m=\Delta m_{maks}[C]^{1/n}$ | 4.7 |
| Langmuir-Freundlich | $\Delta m=\{\Delta m_{maks}[C]^{1/n}/K_D+[C]^{1/n}\}$ | 4.8 |

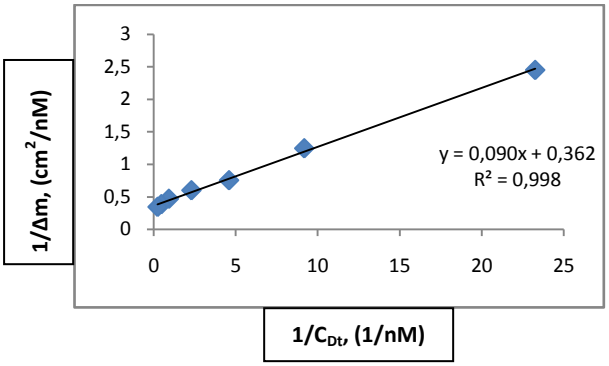
Burada; $\Delta m_{maks}$ (nM/cm$^2$), maksimum QCM sinyal kayması; [$C$], analit derişimi (nM); $K_A$ (1/nM), bağlanma denge sabiti; $K_D$ (nM), ayrılma denge sabiti; *1/n*, Freundlich yüzey heterojenite indeksi'dir (Özgür 2011).

Langmuir adsorpsiyon modeli homojen olup, moleküler baskılanmış polimerlerin kullanıldığı bağlanma izotermlerinde yaygın olarak kullanılmıştır (Li ve Husson 2006). Freundlich adsorpsiyon modeli ise heterojen bağlanma olup özellikle düşük derişimlerde moleküler baskılanmış polimer sistemlerinde uyumluluk göstermektedir (Umpleby ve ark. 2001). Aynı zamanda Freundlich adsorpsiyon modelinin moleküler baskılanmış polimerlerin heterojen bağlanma bölgelerini de kapsadığı rapor edilmiştir (Umpleby ve ark. 2001, Wei ve ark. 2005). Ancak bu model, yüksek derişim değerlerinde bazı sapmalar sergilemektedir. Bu sapmaları engellemek için Langmuir-Freundlich ikili modeli kullanılabilir. Bu model ise, heterojenite olduğu durumda çok düşük derişimlerden doygunluğa kadar moleküler baskılanmış polimer sistemleriyle uygunluk göstermektedir (Wei ve ark. 2005).

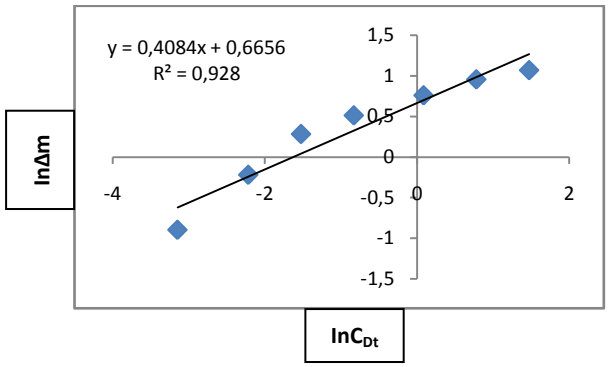
Dt-MIP/QCM sensörün tanıma kabiliyeti, etkileşim seçiciliği ve yüzey homojenliği adsorpsiyon modelleri kullanılarak belirlendi (Şekil 4.14). Çizelge 4.5'e göre korelasyon katsayılarına bakıldığında Langmuir adsorpsiyon modelinin dimetoat için en uygun olduğunu söyleyebiliriz ($R^2$=0.998). Buradan hesaplanan $\Delta m_{maks}$ değeri ($\Delta m_{maks}$=2.762 nM/cm$^2$) deneysel değere (2.912 nM) oldukça yakındır. Langmuir denkleminden hesaplanan $K_A$ ve $K_D$ değerleri sırasıyla 4.022 nM$^{-1}$ ve 0.249 nM olarak hesaplandı. Bu sonuçlar, baskılanmış QCM sensör üzerinde dimetoat bağlanmasının tek tabakalı ve homojen olduğunu göstermektedir.

**Çizelge 4.5.** Dt-MIP/QCM sensör için Langmuir, Freundlich ve Langmuir-Freundlich parametreleri

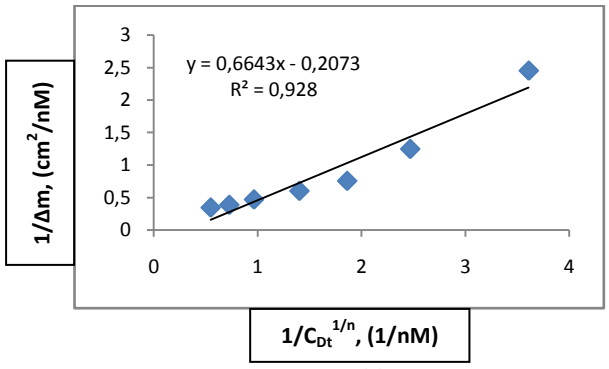
| **Langmuir** | | **Freundlich** | | **Langmuir- Freundlich** | |
|---|---|---|---|---|---|
| $\Delta m_{maks,}$ nM/cm$^2$ | 2.762 | $\Delta m_{maks}$, nM/cm$^2$ | 1.807 | $\Delta m_{maks}$, nM/cm$^2$ | 4.831 |
| $K_A$, nM$^{-1}$ | 4.022 | 1/n | 0.408 | 1/n | 0.408 |
| $K_D$, nM | 0.249 | $R^2$ | 0.928 | $K_A$, nM$^{-1}$ | 0.312 |
| $R^2$ | 0.998 | | | $K_D$, nM | 3.208 |
| | | | | $R^2$ | 0.928 |




(a)




(b)




(c)

**Şekil 4.14.** Dt-MIP/QCM sensör için adsorpsiyon modelleri. a) Langmuir; b) Freundlich; c) Langmuir- Freundlich

### 4.4.3. Yarışmalı Kinetik Analizler ve Baskılama Seçiciliğinin Belirlenmesi

Yarışmalı kinetik çalışmalarında dağılma ve seçicilik katsayıları aşağıdaki eşitliğe göre belirlendi:

$$K_d = [(C_i - C_f)/C_f] \text{ x } V/m \qquad (4.9)$$

Bu eşitlikte $K_d$, dağılma katsayısını (nM); $C_i$ ve $C_f$, moleküllerin başlangıç ve sonuç derişimlerini (nM); $V$, kullanılan çözelti hacmini (mL) ve $m$ ise, polimerin ağırlığını (g) ifade etmektedir. QCM sensör uygulamalarında, derişim ve kütle parametrelerinin dönüştürülme işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu yaklaşımdaki temel sebepler; başlangıç ve son derişimler arasında önemli bir fark gözlenememesi; polimerin kütlesinin kesin olarak belirlenememesi ve derişimin $\Delta m$ ile doğrusal ilişkide olmasıdır.

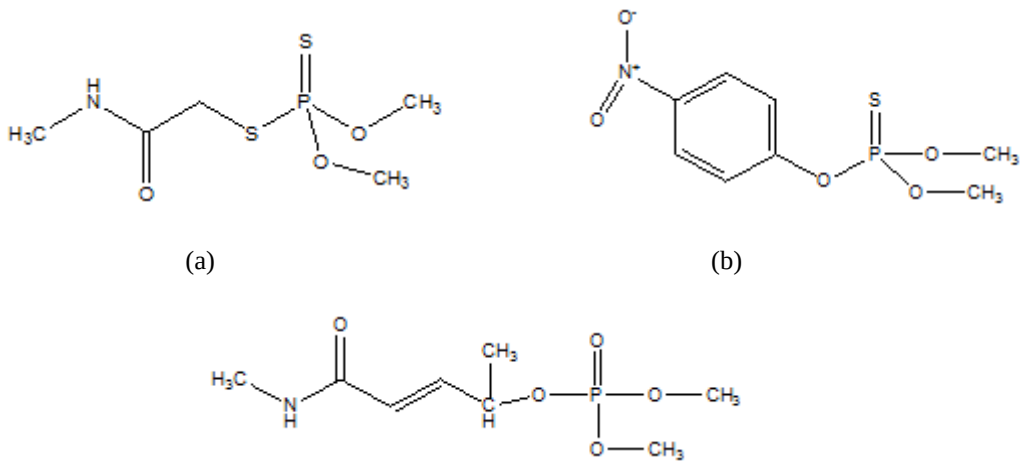
Bu durumda; seçicilik katsayısı,

$$k = \Delta m_{kalıp}/\Delta m_{yarışmacı} \qquad (4.10)$$

şeklinde kullanılabilir. Baskılama seçiciliğinin belirlenmesi için ise;

$$k' = k_{baskılanmış}/k_{baskılanmamış} \qquad (4.11)$$

şeklinde ifade edilebilir.



(a) (b)

(c)

**Şekil 4.15.** Molekül yapıları a) dimetoat b) paration ve c) monokrotofos

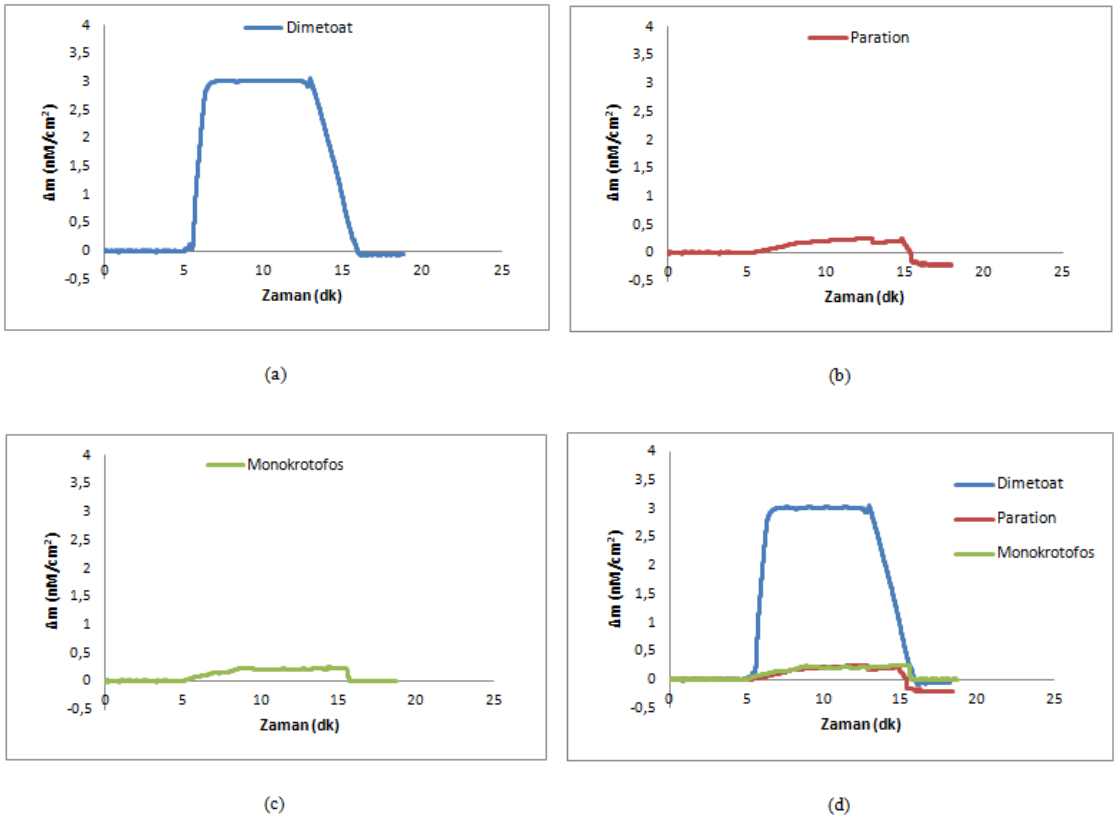
Dt-MIP/QCM sensörün dimetoat'a karşı seçiciliğinin belirlenmesi için yarışmalı adsorpsiyon deneylerinde paration ve monokrotofos kullanıldı. Şekil 4.15'te dimetoat ve yarışmacı pestisitler olan paration ve monokrotofos'un yapısı verilmiştir.

Dimetoat baskılanmış sensörün 4.36 nM derişimdeki paration ve monokrotofos'a verdiği sinyal değerleri (Δm) sırasıyla, 0.228 ve 0.231 olarak hesaplandı. Aynı derişimdeki dimetoat için elde edilen sinyal değeri ise 2.912 olarak bulundu. Bu sonuçlara göre baskılanmış sensör dimetoat'ı, paration'a göre 12.77 kat, monokrotofos'a göre 12.61 kat daha duyarlı tayin edebilmektedir (Çizelge 4.6).

**Çizelge 4.6.** Dimetoat'a göre paration ve monokrotofos için seçicilik ve bağıl seçicilik kat sayıları

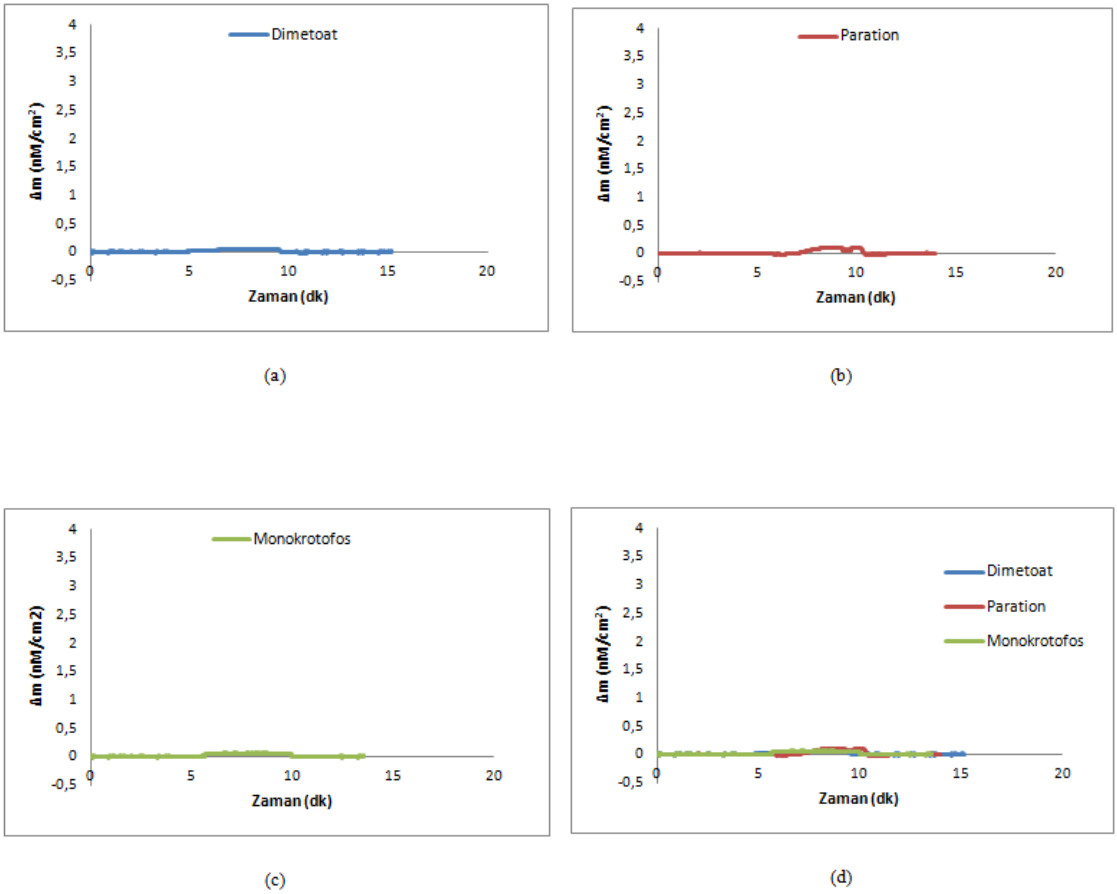
| | **MIP** | | **NIP** | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | **Δm** | **k** | **Δm** | **k** | **k'** |
| Dimetoat | 2.912 | | 0.061 | | |
| Paration | 0.228 | 12.77 | 0.069 | 0.88 | 14.45 |
| Monokrotofos | 0.231 | 12.61 | 0.081 | 0.75 | 16.74 |

Etkileşimdeki bu hassasiyet, hedef molekül olan dimetoat'ın üç boyutlu yapısının polimerik hafızaya alınmasından kaynaklanmakta ve böylece QCM sensörde pestisitin tanınma seçiciliğinin arttığını göstermektedir (Şekil 4.16).




**Şekil 4.16.** 4.36 nM derişiminde a) dimetoat; b) paration; c) monokrotofos ve d) dimetoat, paration, monokrotofos çözeltilerinin birlikte verildiği Dt-MIP/QCM sensör arasındaki etkileşimlere ait zamana karşı Δm değerlerini gösteren sensorgram

Dt-MIP/QCM sensörün seçicilik çalışmaları yapılırken NIP/QCM sensörle de ölçümler yapılarak sonuçlar karşılaştırıldı (Şekil 4.17). 4.36 nM derişimindeki dimetoat, paration ve monokrotofos çözeltileri QCM sistemine gönderildi. Dt-NIP/QCM sensörün aynı derişimdeki dimetoat, paration ve monokrotofos çözeltilerine verdiği sinyal değerinin oldukça düşük olduğu görülmektedir. MIP ve NIP sensörler karşılaştırıldığında dimetoat sinyal duyarlılığının 2.912'den 0.061'e düştüğü görüldü. Hesaplanan seçicilik katsayıları paration için 12.77 (baskılanmış), 0.88 (baskılanmamış) olarak ve monokrotofos için 12.61 (baskılanmış), 0.75 (baskılanmamış) olarak bulundu (Çizelge 4.6). Baskılama seçiciliğini gösteren bağıl seçicilik katsayısı ise 14.45 (dimetoat/paration) ve 16.74 (dimetoat/monokrotofos) olarak hesaplandı.



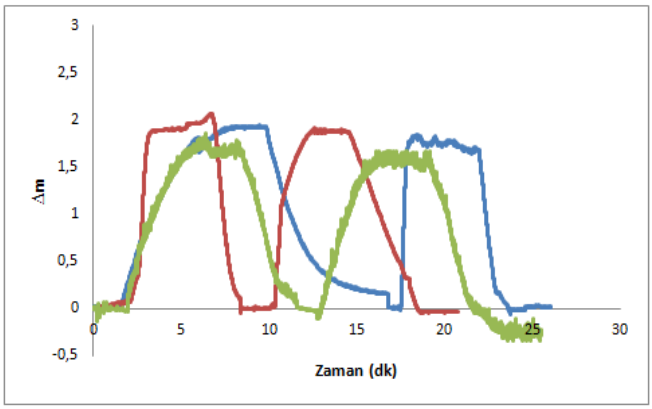

**Şekil 4.17.** 4.36 nM derişiminde a) dimetoat; b) paration; c) monokrotofos ve d) dimetoat, paration ve monokrotofos çözeltilerinin birlikte verildiği Dt-NIP/QCM sensör arasındaki etkileşimlere ait zamana karşı Δm değerlerini gösteren sensorgramlar

Özkütük ve ark. (2013b), ligand değişimine dayalı paraokson baskılı QCM sensörün seçicilik çalışmalarında yarışmalı pestisit olarak paration kullanmışlardır. Paraokson baskılı sensörün paraoksonu parationa göre 3.57 kat seçicilikle tanıdığını belirtmişlerdir.

Qian ve ark. (2016), metolkarb tayinine yönelik QCM sensör seçicilik çalışmalarında karbaril, isoprokarb ve fenobukarb kullanmışlardır. Metolkarb'ın seçicilik katsayısı karbaril'e göre 11.17 kat, isoprokarb'a göre 4.19 kat ve fenobukarb'a göre 6.36 kat daha yüksek bulunmuştur.

### 4.4.4. Dimetoat Baskılı QCM Sensörle Tekrar Kullanılabilirlik Analizi

Dt-MIP/QCM sensörün tekrar kullanılabilirliğini incelemek amacıyla dimetoat içeren 1.09 nM derişimindeki çözeltiler sensör sistemi ile analiz edildi (Şekil 4.18).

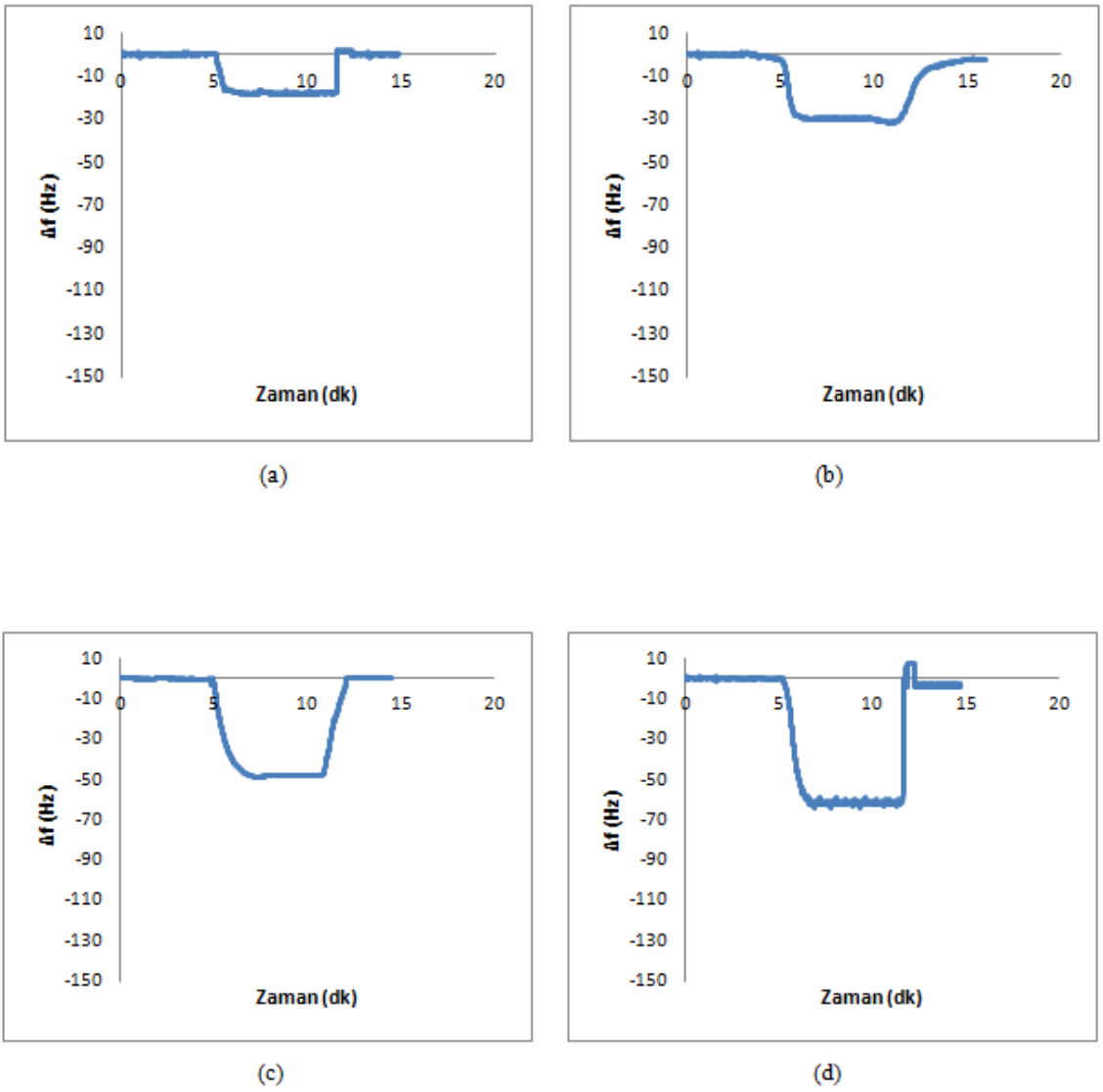



**Şekil 4.18.** Dt-MIP/QCM sensöre ait tekrar kullanılabilirlik sensorgramı

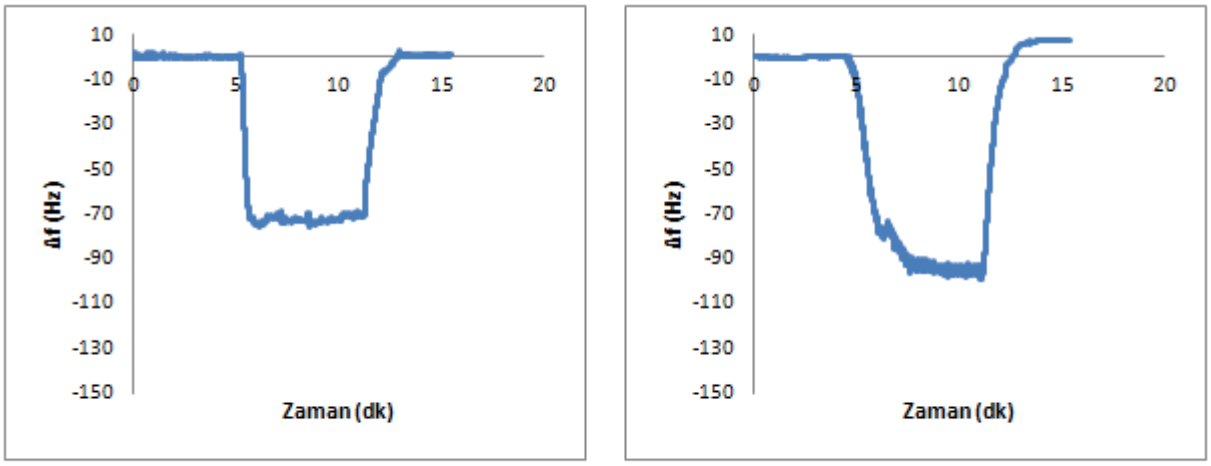
Dimetoat içeren çözeltinin eklenmesiyle sensör cevabı hızlı bir şekilde arttı daha sonra kısa sürede sabitlendi. Bu sayede dimetoat teşhis edilmiş oldu. Analiz sonunda dimetoatın yapıdan uzaklaştırılması ile sensör tekrar kullanılabilir hale geldi. Sensör sisteminde birer hafta arayla tekrarlı (6 kez) bir şekilde yapılan analizler sonucu çipin tekrar tekrar kullanılabildiği görüldü.

## 4.5. Karbofuran Baskılı QCM Sensörle Kinetik Analizler

0.045-4.5 nM aralıklarında karbofuran içeren baskılanmış Kf-MIP/QCM sensör çipleri ile yapılan çalışmada derişim arttıkça Δf sensör frekanslarında azalma, Δm değerinde ise artma gözlendi (Şekil 4.19-4.20).



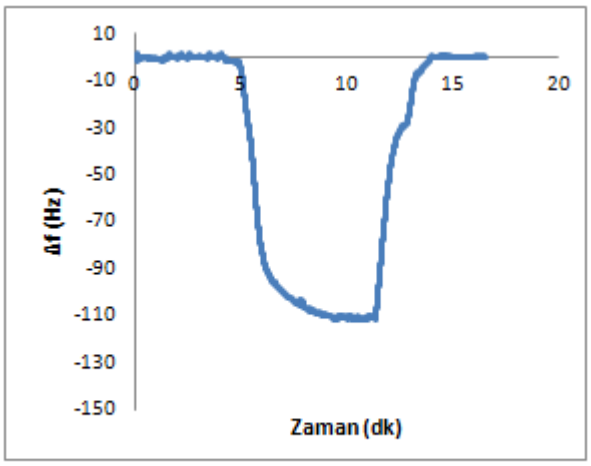

**Şekil 4.19.** Karbofuran çözeltileri ile QCM sensör arasındaki etkileşimlere ait zamana karşı Δf değerini gösteren sensorgramlar a) 0.045 nM; b) 0.113 nM; c) 0.225 nM; d) 0.45 nM; e) 1.35 nM; f) 2.25 nM; g) 4.5 nM




(e)

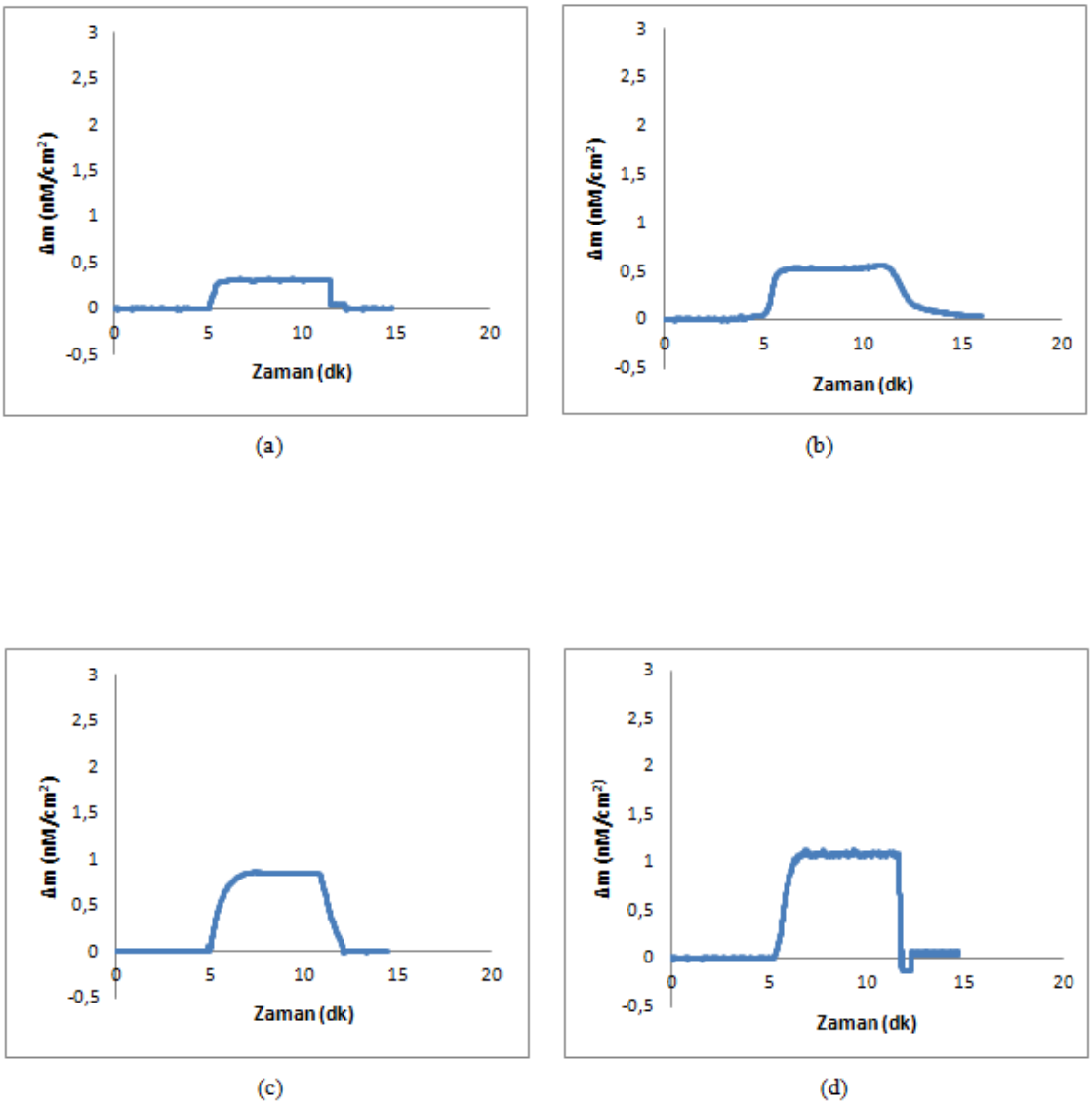



(f)

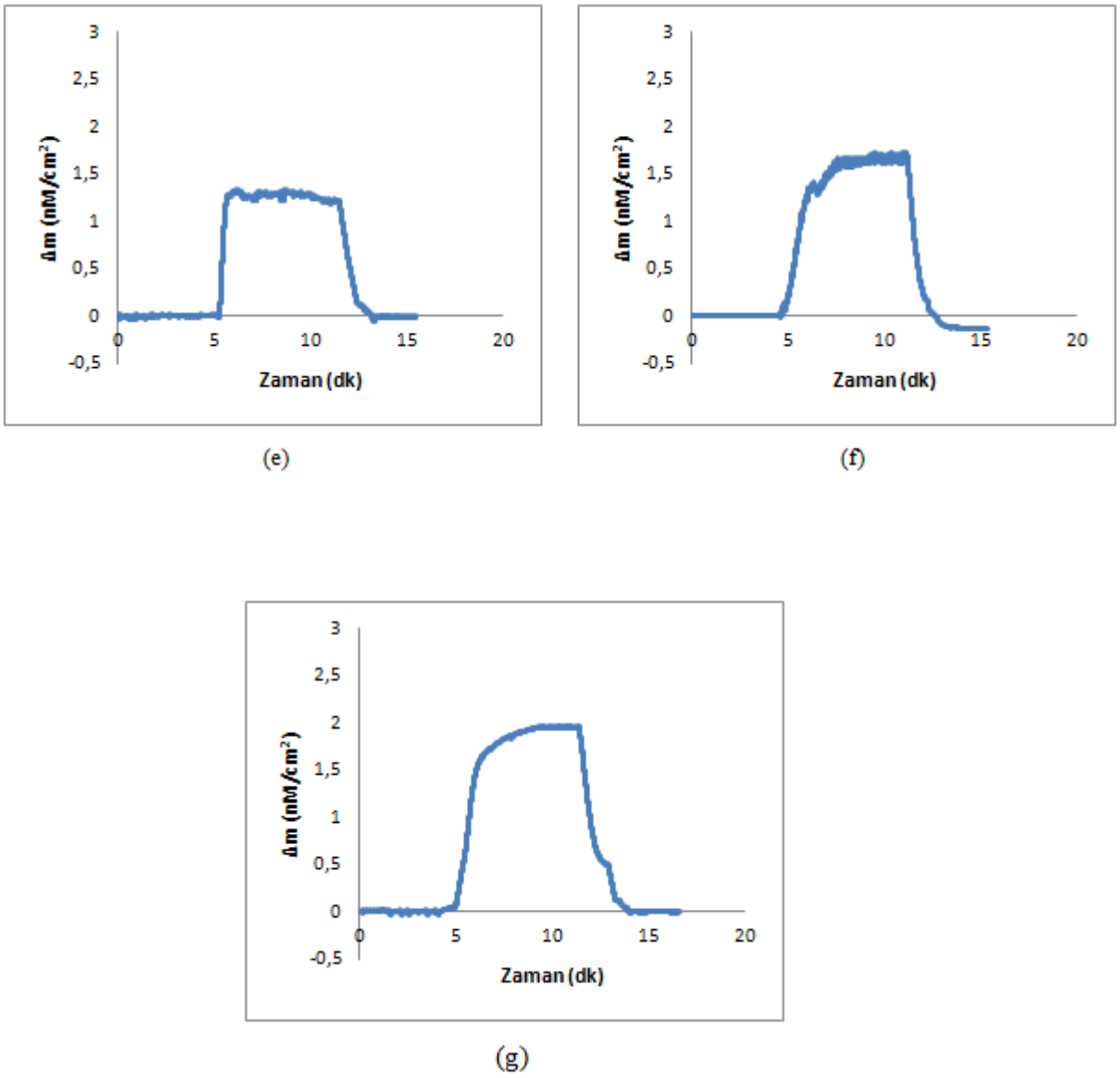



(g)

**Şekil 4.19. Devamı.** Karbofuran çözeltileri ile QCM sensör arasındaki etkileşimlere ait zamana karşı Δf değerini gösteren sensorgramlar a) 0.045 nM; b) 0.113 nM; c) 0.225 nM; d) 0.45 nM; e) 1.35 nM; f) 2.25 nM; g) 4.5 nM

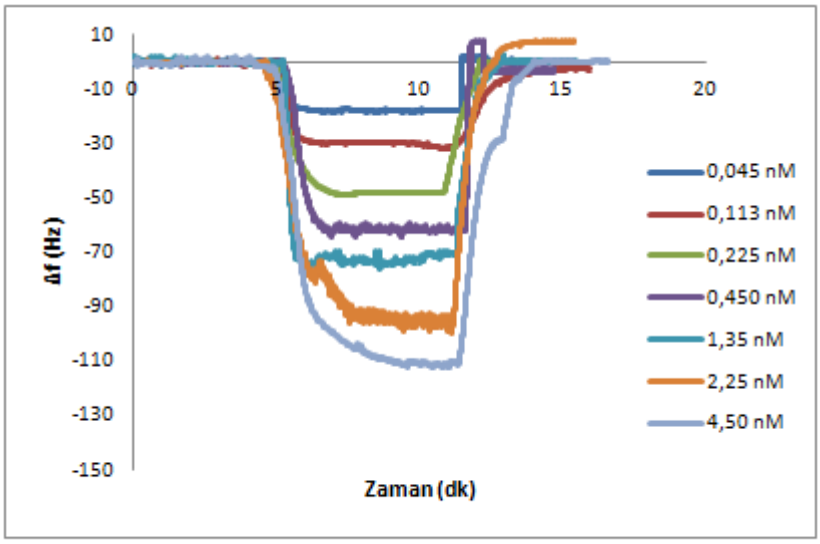



**Şekil 4.20.** Karbofuran çözeltileri ile QCM sensör arasındaki etkileşimlere ait zamana karşı Δm değerini gösteren sensorgramlar. a) 0.045 nM; b) 0.113 nM; c) 0.225 nM; d) 0.45 nM; e) 1.35 nM; f) 2.25 nM; g) 4.5 nM

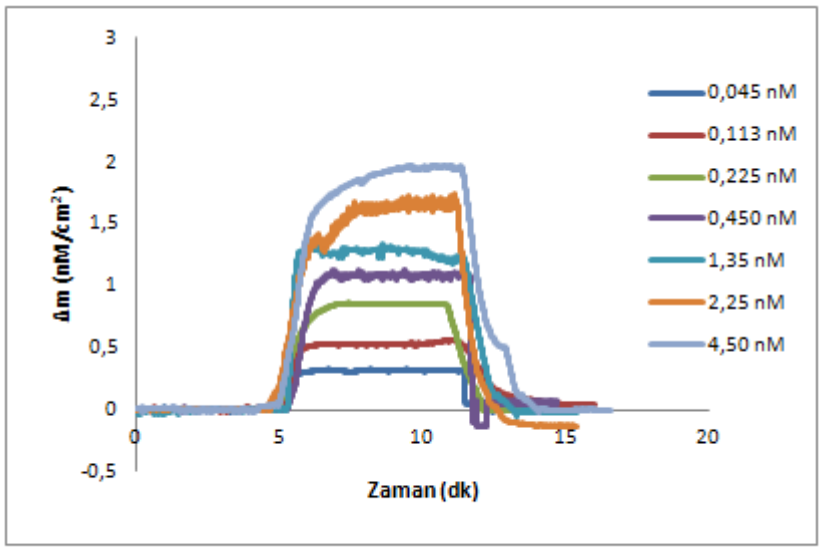



**Şekil 4.20. Devamı.** Karbofuran çözeltileri ile QCM sensör arasındaki etkileşimlere ait zamana karşı Δm değerini gösteren sensorgramlar. a) 0.045 nM; b) 0.113 nM; c) 0.225 nM; d) 0.45 nM; e) 1.35 nM; f) 2.25 nM; g) 4.5 nM

Kf-MIP/QCM sensör sisteminde ilk 5 dakika denge çözeltisi (metanol:saf su) geçirildikten sonra farklı derişimlerde karbofuran çözeltileri sisteme verildi. Δm cevabının ortalama 3 dakika boyunca arttığı, moleküler baskılı polimerin karbofuran ile doygunluğa ulaşmasından sonra ise 3-4 dakika sabit kaldığı görüldü. Ardından desorpsiyon ajanı (0.01 M $CaCI_2$) sisteme enjekte edildi ve Δm cevabı ortalama 2 dakika boyunca azaldı. Son aşamada ise sistemin tekrar dengeye ulaşması için 3 dakika beklendi. Şekil 4.21'de görüldüğü gibi toplam ölçüm süresi ortalama 16 dakika olarak belirlendi.




(a)




(b)

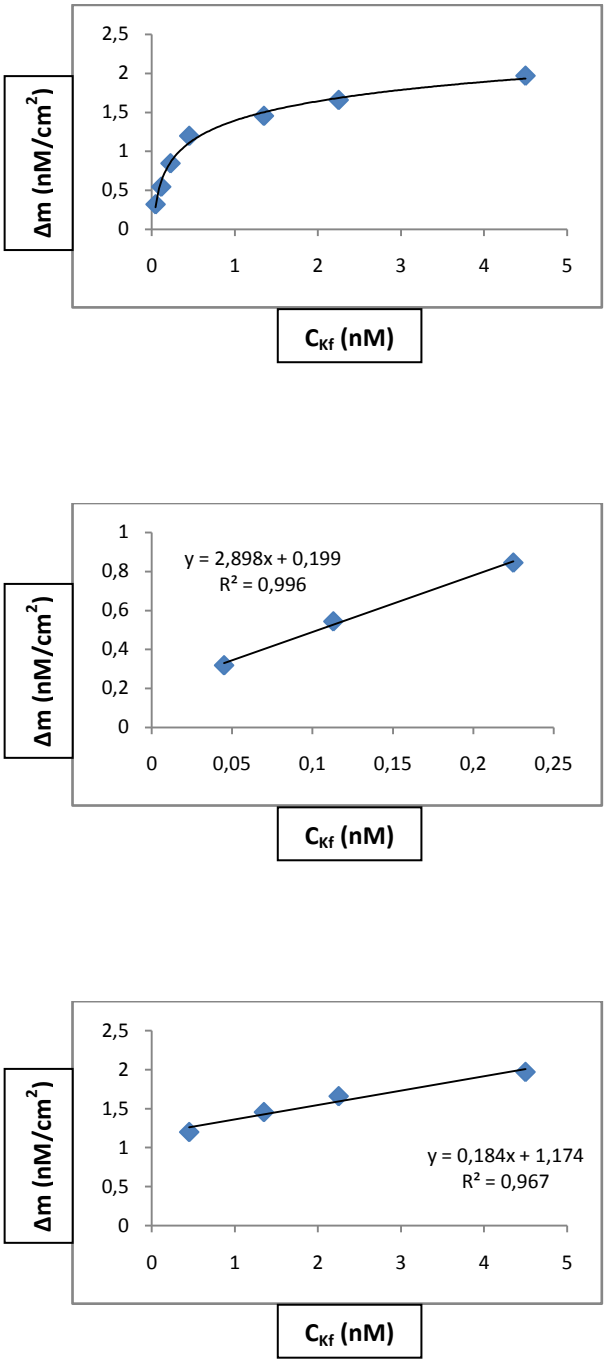
**Şekil 4.21.** Karbofuran çözeltileri ile QCM sensör arasındaki etkileşimlere ait sensorgramlar. a) zamana karşı Δf değerini gösteren sensorgram; b) zamana karşı Δm değerini gösteren sensorgram

Kim ve ark. (2007), karbofuran ve entomopatojen nematod (EPN) tayini için QCM sensör çalışmasında farklı derişimlerde hazırlanan pestisit çözeltileri ile yapılan sensör çalışmasının ortalama ölçüm süresini 45 dakika olarak belirlemişlerdir.

Özkütük ve ark. (2013a), paraokson baskılanmış QCM sensör kinetik çalışmalarında sensör sistemine, farklı derişimlerde (0.1-1.0 µM) hazırlanan paraokson

çözeltilerinin bağlanması ve ardından doygunluğa ulaşma süresini 90 dakika olarak belirlemişlerdir.

Kf-MIP/QCM sensörler de iki farklı derişim aralığında derişim-sinyal doğrusallığı göstermektedir. 0.045-0.225 nM aralığındaki veriler değerlendirildiğinde elde edilen doğruların denklemi (y=2.898x + 0.199) iken 0.45-4.5 nM aralığında (y=0.184x + 1.174) ve doğrusallıkları ($R^2$) sırasıyla 0.996 ve 0.967 olarak hesaplandı. Bu sonuçlara göre; karbofuran moleküllerinin iki farklı bölgeden yüksek afinite ile bağlandıkları söylenebilir (0.045-0.225 nM aralığında %99.6, 0.45-4.5 nM aralığında %96.7) (Şekil 4.22).



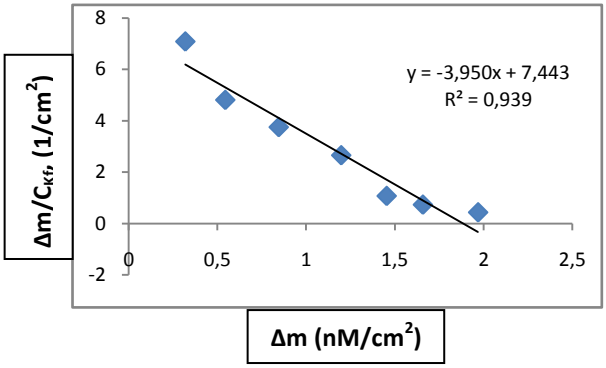

**Şekil 4.22.** Kf-MIP/QCM sensöre ait derişim ($C_{Kf}$) ile Δm arasındaki ilişki

### 4.5.1. Denge ve Bağlanma Kinetik Analizi

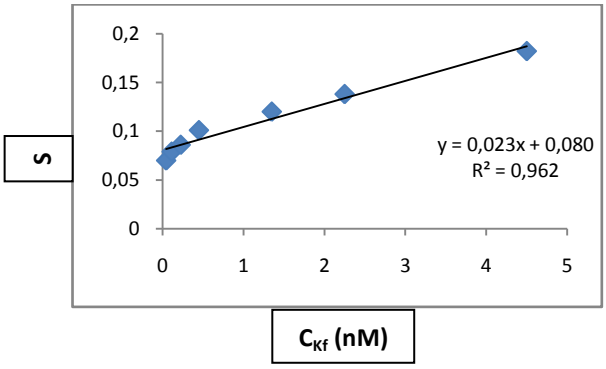
Karbofuran ve Kf-MIP arasındaki bağlanma etkileşimleri ve denge durumundaki bağlanma bölgelerini belirlemek için Scatchard hesaplaması yapıldı (Şekil 4.23). Çizelge 4.7'de belirtildiği üzere bağlanma sabiti $K_A$ ve $\Delta m_{maks}$ değerleri sırasıyla 3.951 $nM^{-1}$ ve 1.884 $nM/cm^2$ olarak hesaplandı. $K_A$ değeri bağlanma bölgelerinin ilgisinin yüksek olduğunu ifade etmektedir.

**Çizelge 4.7.** Kf-MIP/QCM sensör için kinetik hız sabitleri

| **Denge Analiz (Scatchard)** | | **Bağlanma Kinetik Analizi** | |
|---|---|---|---|
| $\Delta m_{maks,}$ $nM/cm^2$ | 1.884 | $k_a$, $nM^{-1}.s^{-1}$ | 0.024 |
| $K_A$, $nM^{-1}$ | 3.951 | $k_d$, $s^{-1}$ | 0.081 |
| $K_D$, nM | 0.253 | $K_A$, $nM^{-1}$ | 0.292 |
| $R^2$ | 0.939 | $K_D$, nM | 3.420 |
| | | $R^2$ | 0.963 |




(a)




(b)

**Şekil 4.23.** Kf-MIP/QCM sensör için kinetik hız sabitlerinin belirlenmesi. a) Denge analiz yaklaşımı (Scatchard); b) Bağlanma kinetik yaklaşımı

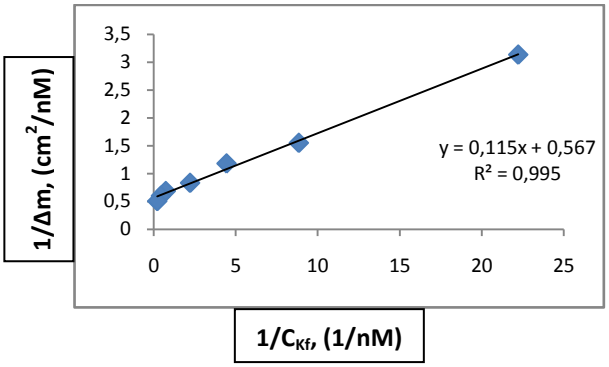
Özkütük ve ark. (2013a), paraokson baskılanmış QCM sensör ile yapılan denge ve bağlanma kinetik analiz çalışmalarında paraokson bağlanma sabitini $K_A$=1.04x10$^3$ M$^{-1}$ ve ligand-değişim etkileşim bölgesinin maksimum değerini; $Q_{max}$=4.722 nmol olarak bulmuşlardır. $K_A$ değeri bağlanma bölgelerinin ilgisinin yüksek olduğunu ifade etmektedir.

### 4.5.2. Denge İzoterm Modelleri

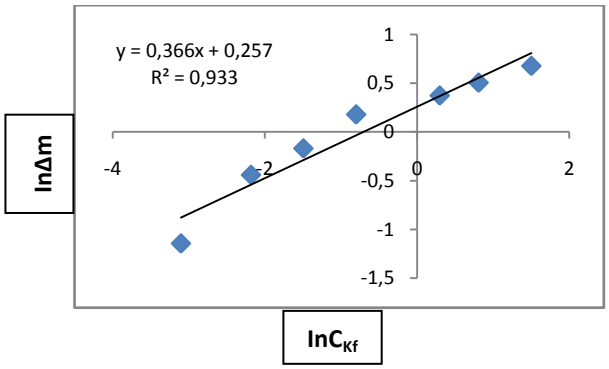
MIP/QCM sensör tanıma kabiliyeti, etkileşim seçiciliği ve yüzey homojenliği adsorpsiyon modelleri kullanılarak belirlendi (Şekil 4.24). Çizelge 4.8'de gösterilen sonuçlara göre Langmuir adsorpsiyon modeli karbofuran için en uygun olanıdır ($R^2$=0.995, $\Delta m_{maks}$=1.764 nM/cm$^2$). Buradan hesaplanan $\Delta m_{maks}$ değeri deneysel değere (1.968 nM) oldukça yakındır. Langmuir denkleminden hesaplanan $K_A$ ve $K_D$ değerleri sırasıyla 4.930 nM$^{-1}$ ve 0.203 nM olarak hesaplandı. Bu sonuçlar, Kf-MIP/QCM sensör için sensör üzerinde karbofuran bağlanmasının tek tabakalı ve homojen olduğunu göstermektedir.

**Çizelge 4.8.** Kf-MIP/QCM sensör için Langmuir, Freundlich ve Langmuir-Freundlich parametreleri

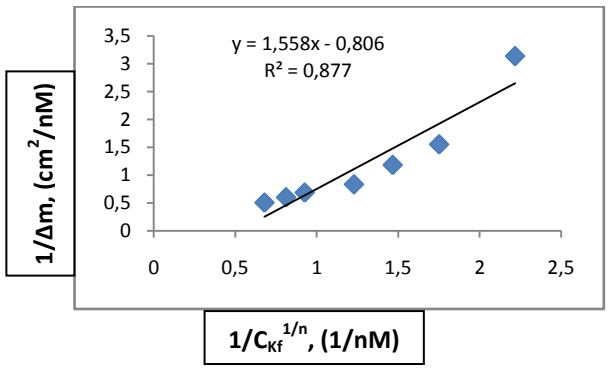
| **Langmuir** | | **Freundlich** | | **Langmuir- Freundlich** | |
|---|---|---|---|---|---|
| $\Delta m_{maks,}$ nM/cm$^2$ | 1.764 | $\Delta m_{maks}$, nM/cm$^2$ | 1.442 | $\Delta m_{maks}$, nM/cm$^2$ | 1.241 |
| $K_A$, nM$^{-1}$ | 4.930 | 1/n | 0.257 | 1/n | 0.257 |
| $K_D$, nM | 0.203 | $R^2$ | 0.934 | $K_A$, nM$^{-1}$ | 0.517 |
| $R^2$ | 0.995 | | | $K_D$, nM | 1.933 |
| | | | | $R^2$ | 0.878 |




(a)




(b)



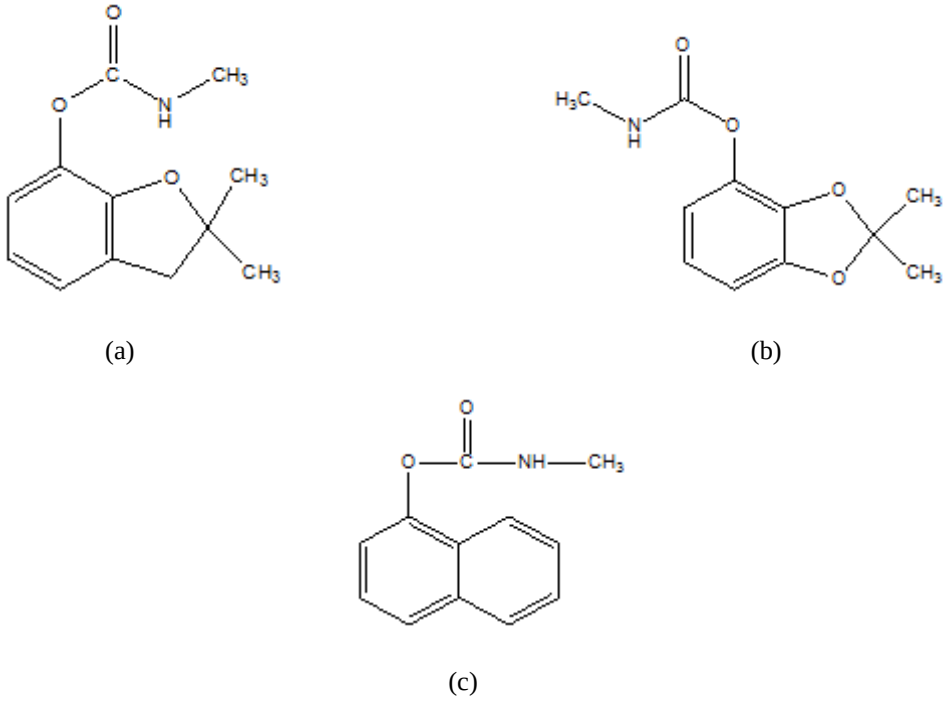

(c)

**Şekil 4.24.** Kf-MIP/QCM sensör için adsorpsiyon modelleri. a) Langmuir; b) Freundlich; c) Langmuir- Freundlich

### 4.5.3. Yarışmalı Kinetik Analizler ve Baskılanma Seçiciliğinin Belirlenmesi

Sensörün karbofuran'a karşı seçicilik çalışmaları için yarışmalı adsorpsiyon deneylerinde bendiokarb, karbaril ve karbofuran çözeltileri kullanıldı.

Karbofuran, bendiokarb ve karbaril'in molekül yapıları Şekil 4.25'te gösterilmiştir.



(a) (b)

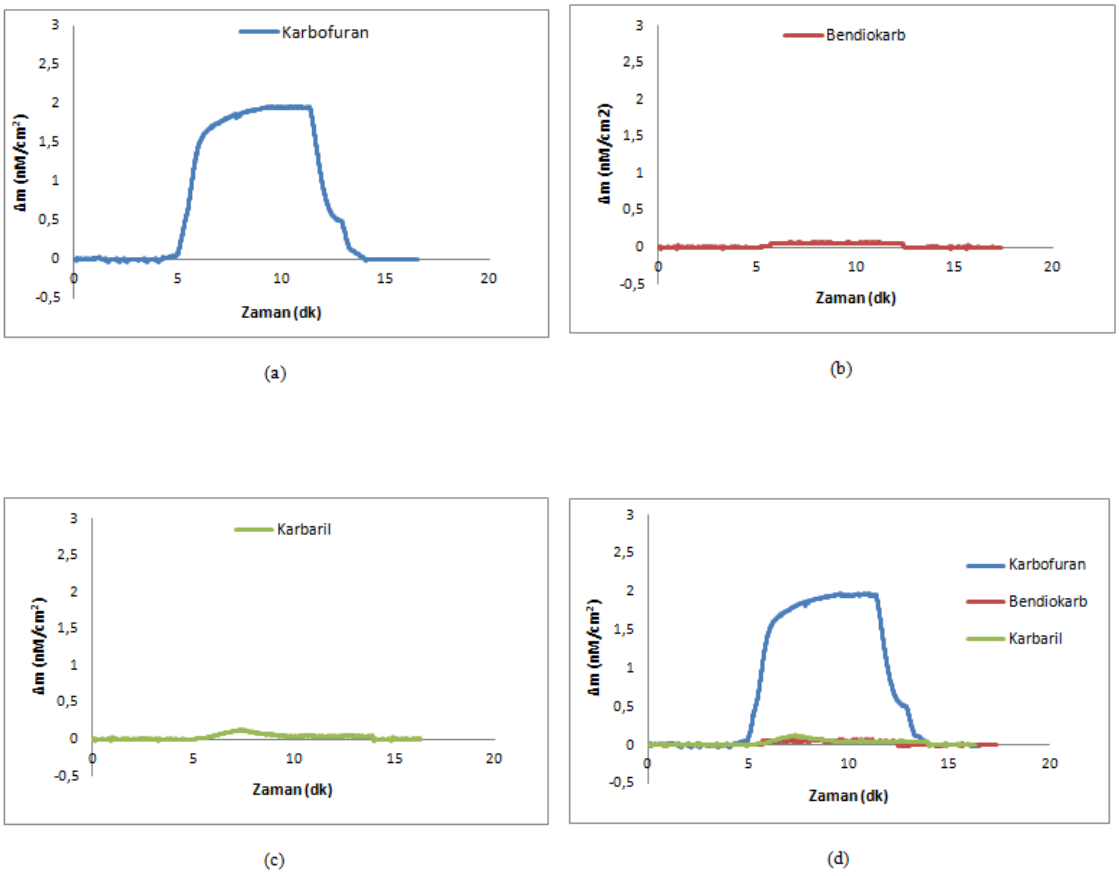
(c)

**Şekil 4.25.** Molekül yapıları a) karbofuran; b) bendiokarb; c) karbaril

Çizelge 4.9'da görüldüğü gibi karbofuran baskılanmış sensörün 4.5 nM derişimdeki bendiokarb ve karbaril'e verdiği sensorgram sinyal değerleri (Δm) sırasıyla 0.113 ve 0.107, aynı derişimdeki karbofuran için elde edilen sinyal değeri ise 1.968 olarak hesaplandı. Bu sonuçlara göre baskılanmış sensör karbofuran'ı, bendiokarb'a göre 17.416 kat, karbaril'e göre 18.392 kat daha duyarlı tayin edebildiği söylenebilir. Şekil 4.26'da Kf-MIP/QCM sensör ile yarışmacı pestisitlere ait zaman-Δm sensorgramları verilmektedir.

**Çizelge 4.9.** Karbofuran'a göre bendiokarb ve karbaril için seçicilik ve bağıl seçicilik katsayıları

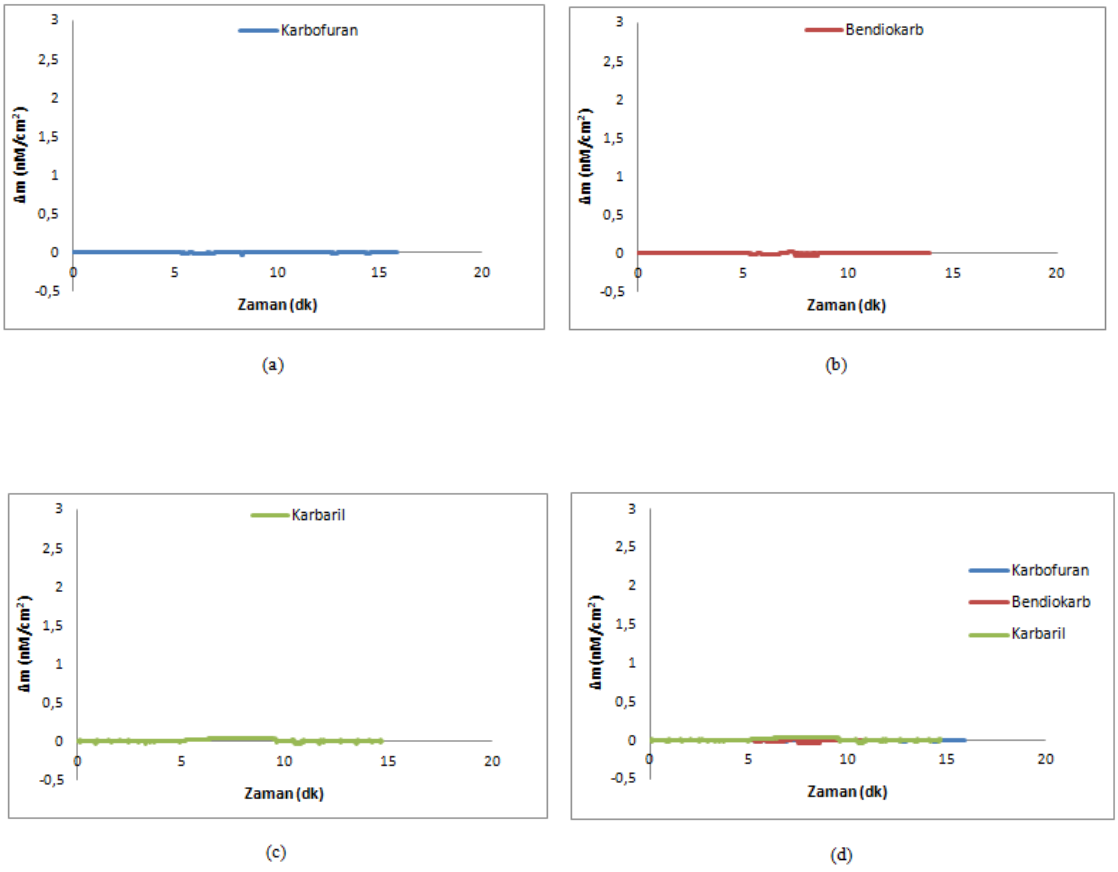
| | MIP | | NIP | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | **Δm** | **k** | **Δm** | **k** | **k'** |
| Karbofuran | 1.968 | | 0.028 | | |
| Bendiokarb | 0.113 | 17.416 | 0.019 | 1.474 | 11.818 |
| Karbaril | 0.107 | 18.392 | 0.017 | 1.647 | 11.167 |




**Şekil 4.26.** 4.5 nM derişiminde a) karbofuran; b) bendiokarb; c) karbaril ve d) karbofuran, bendiokarb ve karbaril çözeltilerinin birlikte verildiği Kf-MIP/QCM sensör arasındaki etkileşimlere ait zamana karşı Δm değerlerini gösteren sensorgramlar

Kf-MIP/QCM sensörün baskılama seçiciliğini göstermek için NIP/QCM sensör hazırlanarak, 4.5 nM derişimindeki bendiokarb, karbaril ve karbofuran çözeltileri QCM sistemine gönderildi. Kf-NIP/QCM sensörün aynı derişimdeki bendiokarb, karbaril ve karbofuran çözeltilerine verdiği sinyal değerinin oldukça düşük olduğu görülmektedir (Şekil 4.27). MIP ve NIP QCM sensörler karşılaştırıldığında karbofuran sinyal

duyarlılığının 1.968'den 0.028'e düştüğü görülmektedir. Hesaplanan seçicilik katsayıları bendiokarb için 17.416 (baskılanmış), 1.474 (baskılanmamış) olarak ve karbaril için 18.392 (baskılanmış), 1.647 (baskılanmamış) olarak bulundu (Çizelge 4.9). Baskılama seçiciliğini gösteren bağıl seçicilik katsayısı 11.818 (karbofuran/bendiokarb) ve 11.167 (karbofuran/karbaril) olarak hesaplandı.




**Şekil 4.27.** 4.5 nM derişiminde a) karbofuran; b) bendiokarb; c) karbaril ve d) karbofuran, bendiokarb ve karbaril çözeltilerinin birlikte verildiği Kf-NIP/QCM sensör arasındaki etkileşimlere ait zamana karşı Δm değerlerini gösteren sensorgramlar

Ding ve ark. (2014), 2,4-Diklorfenoksiasetik asit (2,4-D) yaninine yönelik QCM sensör seçicilik çalışmasında kullanılan 2,4-diklorfenol ve 4-klorfenoksi asetik asit'in 2,4-D'ye oranla 10 kat daha düşük seçiciliğe sahip olduğunu belirtmişlerdir.

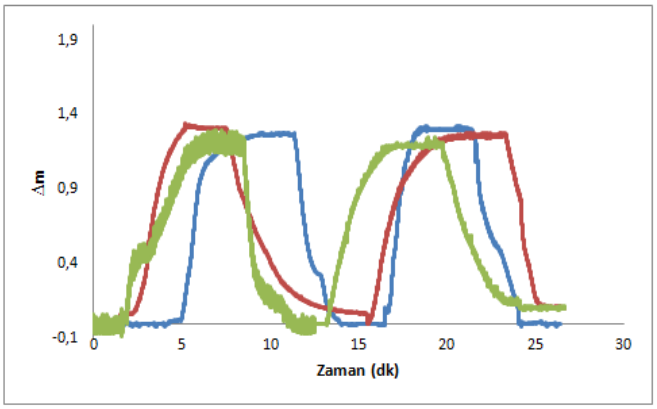
Çiçek ve ark. (2016), bilirubin baskılanmış QCM sensörle kolesterol, estradiol ve biliverdin kullanarak seçicilik çalışmaları yapmışlardır. Bu kapsamda baskılanmış sensör bilirubini biliverdine göre 2.19 kat, kolesterole göre 3.15 kat ve estradiole göre

5.92 kat daha duyarlı tayin edebilmektedir. Sonuç olarak bilirubin baskılı QCM sensör baskılama tekniğinden dolayı yüksek seçicilik ile bilirubini tanımaktadır.

Dt-MIP/QCM ve Kf-MIP/QCM sensörlerde oluşturulan kavitelerin baskılanmış hedef dimetoat ve karbofuran moleküllerini tanıdığı, hedef moleküller için yapısal hafızalar ve olağanüstü molekül boyutu uyuşması, baskılanmış sensörlerin baskılanmamış sensörlerden iyi olduğunu söyleyebiliriz.

### 4.5.4. Karbofuran Baskılı QCM Sensörle Tekrar Kullanılabilirlik Analizi

Kf-MIP/QCM sensörün tekrar kullanılabilirliğini incelemek amacıyla karbofuran içeren 1.35 nM derişimindeki çözeltiler sensör sistemi ile analiz edildi (Şekil 4.28).

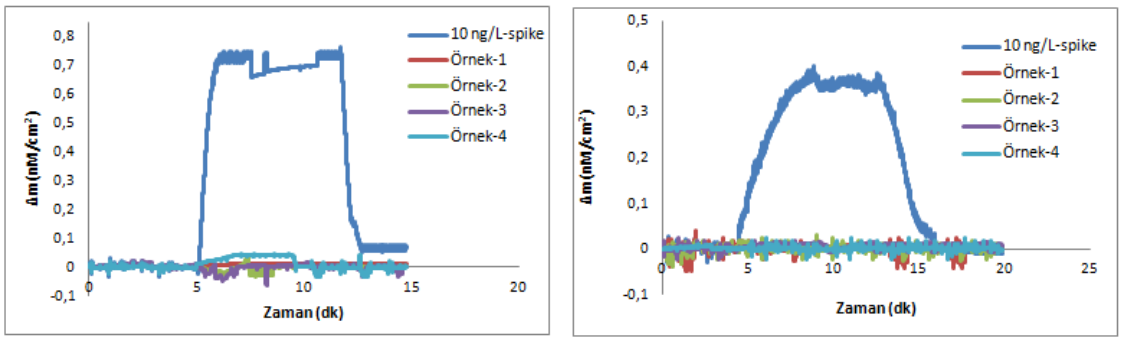



**Şekil 4.28.** Kf-MIP/QCM sensöre ait tekrar kullanılabilirlik sensorgramı

Karbofuran içeren çözeltinin sensör sisteminde birer hafta arayla tekrarlı (6 kez) bir şekilde yapılan analizleri sonucunda çipin tekrar tekrar kullanılabildiği belirlendi.

## 4.6. QCM Sensörlerle Doğal Kaynaktan Kinetik Analizler

Bu çalışma kapsamında P-MIP/QCM sensörler kullanıldı. Güneydoğu Anadolu Bölgesi Diyarbakır ili sınırları içerisinde Dicle Nehri'nden alınan çevre suyu örnekleri 0.22 µm şırınga ucu filtrelerden geçirilerek peristaltik pompa aracılığıyla QCM sensör ile etkileştirildi. Şekil 4.29'da görüldüğü gibi, P-MIP/QCM sensör yüzeylerine gönderilen çevre suyu örneklerinin sinyal değerleri sabit kalırken 10 ng/L standart ekleme (spike) ile Δm sinyal değerleri önemli derecede artmaktadır.




(a) (b)

**Şekil 4.29.** Çevre suyu örnekleri ile P-MIP/QCM sensör arasındaki etkileşimlere ait Δm/zaman sensogramı. a) dimetoat; b) karbofuran

Elde edilen veriler ışığında hazırlanan spesifik, yüksek seçici, hassas ve hızlı QCM sensörlerin hem sulu çözeltilerden hem de doğal kaynaktan pestisitlerin tayininde, çevre çalışmalarında alternatif olarak kullanılabileceğini söyleyebiliriz.

## 4.7. SPR Sensör Yüzeylerinin Karakterizasyonu

### 4.7.1. Temas Açısı Ölçümleri

Modifiye edilmemiş, pestisit baskılanmış (P-MIP/SPR) ve pestisit baskılanmamış (P-NIP/SPR) sensör yüzeyleri için temas açısı ölçüm değerleri Çizelge 4.10'da verilmiştir. Pestisitler için MIP sensör yüzeylerin temas açısı değerlerinin NIP sensör yüzeylere göre artış gösterdiği görülmektedir.

**Çizelge 4.10.** SPR sensör yüzeyleri temas açısı ölçüm değerleri

| **Yüzey** | **Temas Açısı, °** |
|---|---|
| Modifiye edilmemiş altın yüzey | 72.37 ± 0.47 |
| P-NIP/SPR sensör | 77.44 ± 0.81 |
| Dimetoat baskılanmış SPR sensör | 81.27 ± 0.34 |
| Karbofuran baskılanmış SPR sensör | 84.36 ± 0.57 |

Yüzeylerin temas açılarının önemli miktarda artması, hidrofobik özelliğinin arttığını göstermektedir. Bu durum, baskılanmış ve baskılanmamış nanofilmlerin sentezinde fonksiyonel monomer olarak kullanılan amino asit (Triptofan) temelli MATrp monomerinin oldukça hidrofobik karaktere sahip olması ile açıklanabilir. Bu sebeple, yüzeye hidrofobik bir polimerin tutturulması yüzey hidrofobisitesini arttırmış ve temas açısı değerini yükseltmiştir (Şekil 4.30).

Saylan ve ark. (2017), modifiye edilmemiş altın yüzey, pestisit baskılanmamış (NIP) altın yüzey ve pestisit baskılanmış (siyanazin (SNZ) baskılanmış, simazin (SMZ) baskılanmış ve atrazin (ATZ) baskılanmış) SPR sensörlerin temas açısı değerlerini sırasıyla $81.4^{o}$, $70.4^{o}$, $71.3^{o}$, $52.6^{o}$ ve $59.8^{o}$ bulmuşlardır. Temas açılarındaki azalmanın baskılama işlemi ile ilgili olduğunu, pestisitlerdeki triazin gruplarıyla hidrofilik özelliğin arttığını ve N-metakriloil-L-fenilalanin metil ester (MAPA) monomerinin hidrofilik yapısından kaynaklandığını belirtmişlerdir.



(a) (b)

(c) (d)

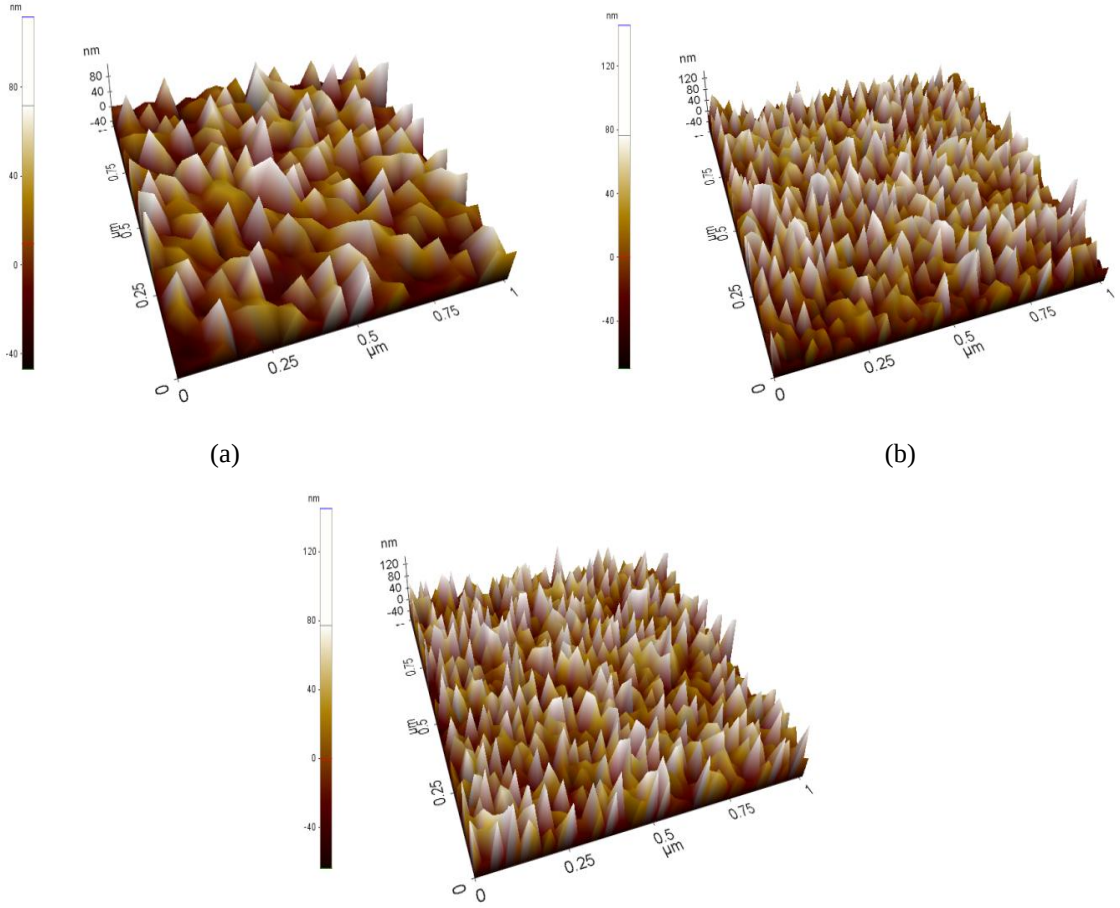
**Şekil 4.30.** Temas açısı ölçümleri. a) modifiye edilmemiş SPR sensör yüzeyi; b: P-NIP/SPR sensör yüzeyi; c: dimetoat baskılanmış; d) karbofuran baskılanmış SPR sensör yüzeyi

### 4.7.2. Atomik Kuvvet Mikroskop Analizleri

SPR sensörlerin yüzey morfolojisi çalışmalarında pestisit baskılanmış ve baskılanmamış nanofilmlerin yüzey derinlik değerleri Çizelge 4.11'de verilmiştir. Dimetoat ve karbofuran baskılı nanofilmler için yüzey derinlikleri sırasıyla 120.49 ± 1.91 nm ve 120.63 ± 2.62 nm olarak bulunurken, P-NIP sensör yüzeyi için 80.17 ± 1.60 nm olarak bulundu.

**Çizelge 4.11.** SPR sensör yüzeyleri atomik kuvvet mikroskop değerleri

| **Yüzey** | **AFM, nm** |
|---|---|
| P-NIP/SPR | 80.17 ± 1.60 |
| Dimetoat baskılanmış SPR sensör | 120.49 ± 1.91 |
| Karbofuran baskılanmış SPR sensör | 120.63 ± 2.62 |




**Şekil 4.31.** Atomik Kuvvet Mikroskobu ölçümleri. a: P-NIP/SPR sensör yüzeyi; b) dimetoat baskılanmış; c) karbofuran baskılanmış SPR sensör yüzeyi

Sonuçlar; sensör sistemlerinde modifikasyondan dolayı polimerizasyondan sonra yüzey derinliğinin arttığını, pestisit baskılamanın homojen bir şekilde olduğunu ve çip yüzeyinde film oluşumunu göstermektedir (Şekil 4.31).

Ertürk ve ark. (2016), prostat spesifik antijen (PSA) baskılanmış SPR sensörün AFM çalışmaları ile ilgili olarak; modifiye edilmemiş altın yüzey derinliğinin (11 ± 0.45 nm) alil merkaptan (21 ± 1.32 nm) modifikasyonundan sonra arttığını ve PSA baskılı sensörün yüzey derinliğinin 164 ± 1.53 nm olduğunu belirlemişlerdir. Sonuçlar alil merkaptan modifikasyonuna bağlı olarak yüzey derinliğinin arttığını ve polimerizasyondan sonra sensör çipi üzerinde kaba bir polimerik yüzey oluştuğunu göstermektedir.

Saylan ve ark. (2017), siyanazin (SNZ), simazin (SMZ) ve atrazin (ATZ) baskılanmış SPR sensörlerin yüzey AFM görüntü değerlerini sırasıyla 112.72, 97.76 ve 88.48 nm bularak nanofilm oluşumunun homojen olduğunu ileri sürmüşlerdir.

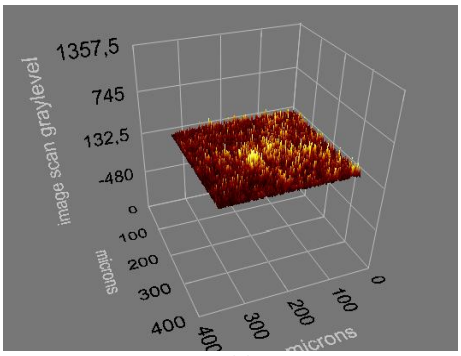
### 4.7.3. Elipsometre Analizleri

P-MIP, Dt-MIP/SPR ve Kf-MIP/SPR sensör çip yüzeylerinin elipsometrik görüntüleri Şekil 4.32'de verilmiştir. Ortalama kalınlık değerlerine bakıldığında dimetoat baskılanmış (133.08 ± 1.43 nm) ve karbofuran baskılanmış (136.86 ± 2.19 nm) sensör yüzeylerinin değerleri P-NIP/SPR ile elde edilen değerden (132.51 ± 1.74 nm) yüksek bulundu (Çizelge 4.12).

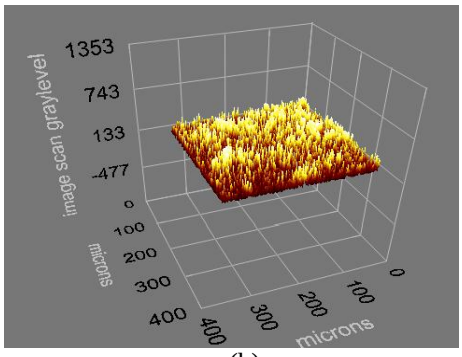
**Çizelge 4.12.** SPR sensör yüzeyleri elipsometre değerleri

| **Yüzey** | **Elipsometre, nm** |
|---|---|
| P-NIP/SPR sensör | 132.51 ± 1.74 |
| Dimetoat baskılanmış SPR sensör | 133.08 ± 1.43 |
| Karbofuran baskılanmış SPR sensör | 136.86 ± 2.19 |

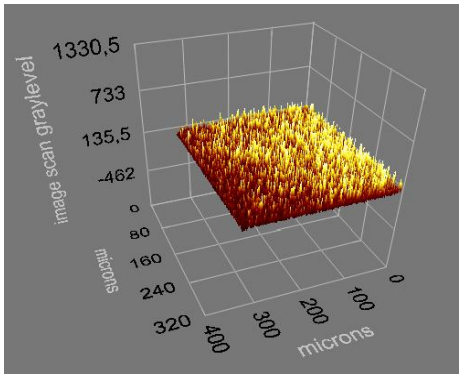
QCM çalışmalarında olduğu gibi kalınlıklardaki farklılıklar moleküler baskılamanın başarıyla gerçekleştiğini gösterdi. Bu sonuçlar, AFM sonuçları ile örtüşmekte olup, nanofilmlerin yüzeye tek tabakaya yakın bir şekilde tutturulduğunu göstermektedir.




(a)




(b)



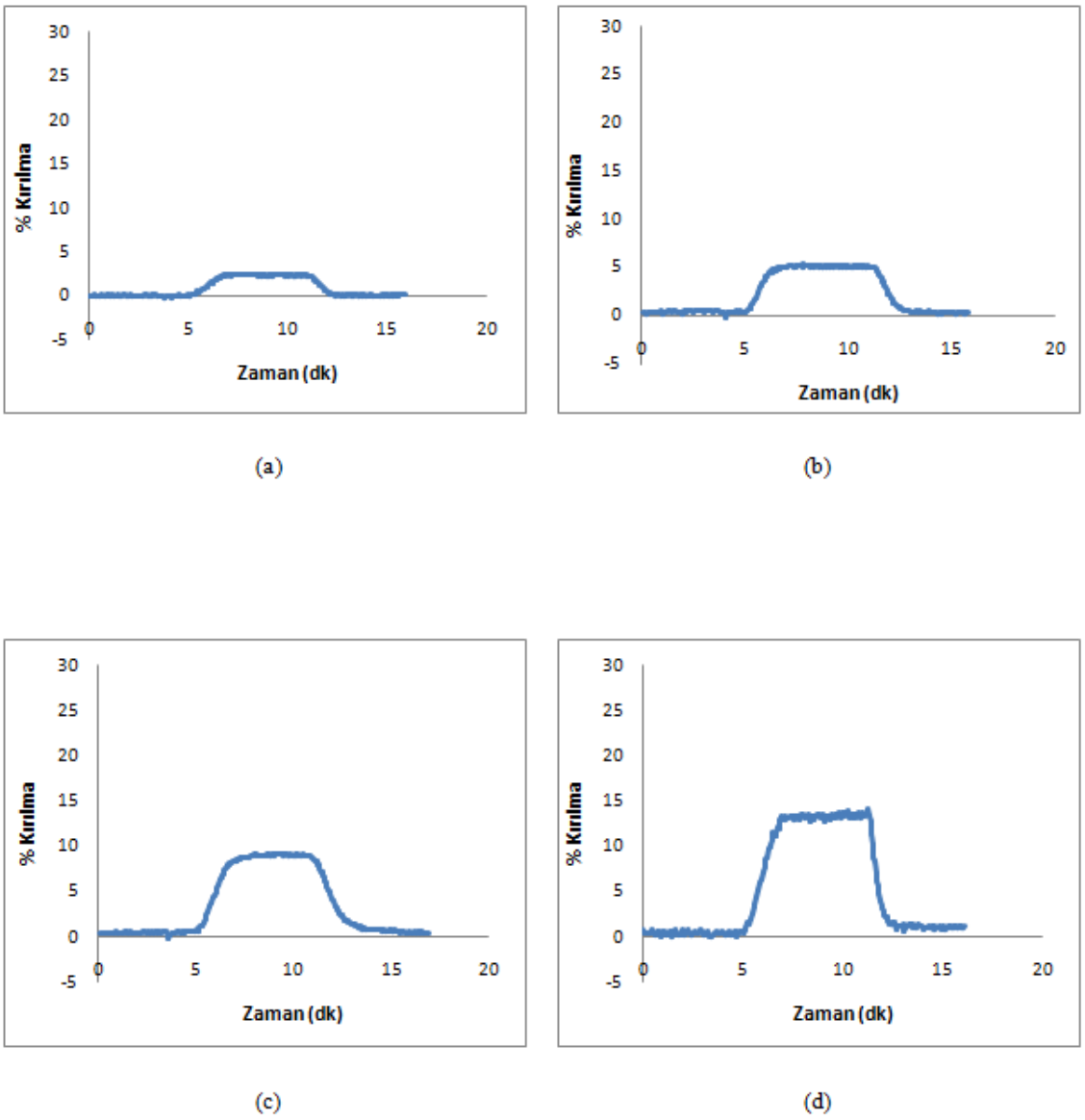

(c)

**Şekil 4.32.** Elipsometre ölçümleri. a) P-NIP/SPR sensör yüzeyi; b) dimetoat baskılanmış; c) karbofuran baskılanmış SPR sensör yüzeyi

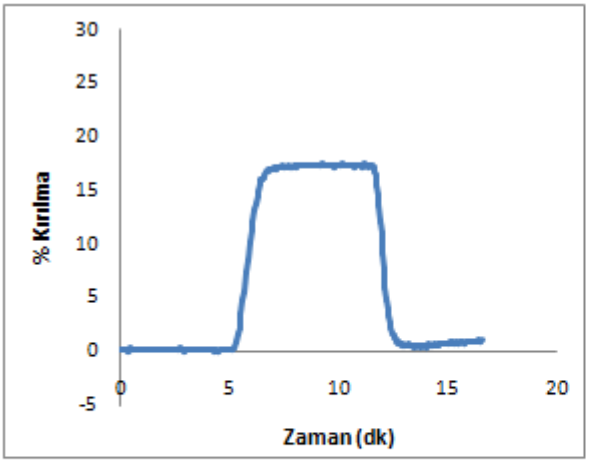
### 4.8. Dimetoat Baskılı SPR Sensörle Kinetik Analizler

Farklı derişimlerde (0.043-4.36 nM) dimetoat baskılanmış SPR (Dt-MIP/SPR) sensör çipleri hazırlanarak çözeltiler peristaltik pompa aracılığıyla SPR sensörle etkileştirildi. SPRimager II yazılımının kinetik görüntüleme programı ile elde edilen veriler eş zamanlı olarak izlendi ve kinetik veriler alındı.

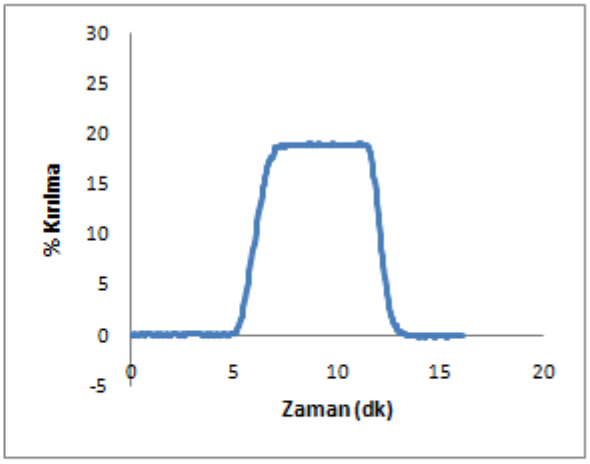
Sensör % kırılma değeri dimetoat çözeltisi ilavesinden sonra artmaktadır (Şekil 4.33). Verilerin daha duyarlı değerlendirilebilmesi için yaygın olarak anlık % kırılma değeri ile başlangıç % kırılma değeri arasındaki farkı gösteren ΔR değerleri kullanılmaktadır. Derişimin artmasıyla ΔR değerinde de artış gözlendi (Şekil 4.34). Bu durumda çözelti ile yüzey arasındaki sürücü güç olan derişim farkının artması ve dimetoat'ın baskılı polimere bağlandığı söylenebilir.



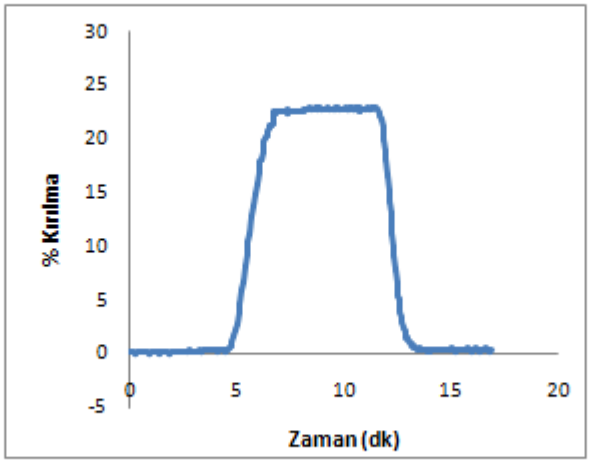

**Şekil 4.33.** Dimetoat çözeltileri ile SPR sensör arasındaki etkileşimlere ait zamana karşı % kırılma değerlerini gösteren sensorgramlar. a) 0.043 nM; b) 0.109 nM; c) 0.218 nM; d) 0.436 nM; e) 1.09 nM; f) 2.18 nM; g) 4.36 nM




(e)

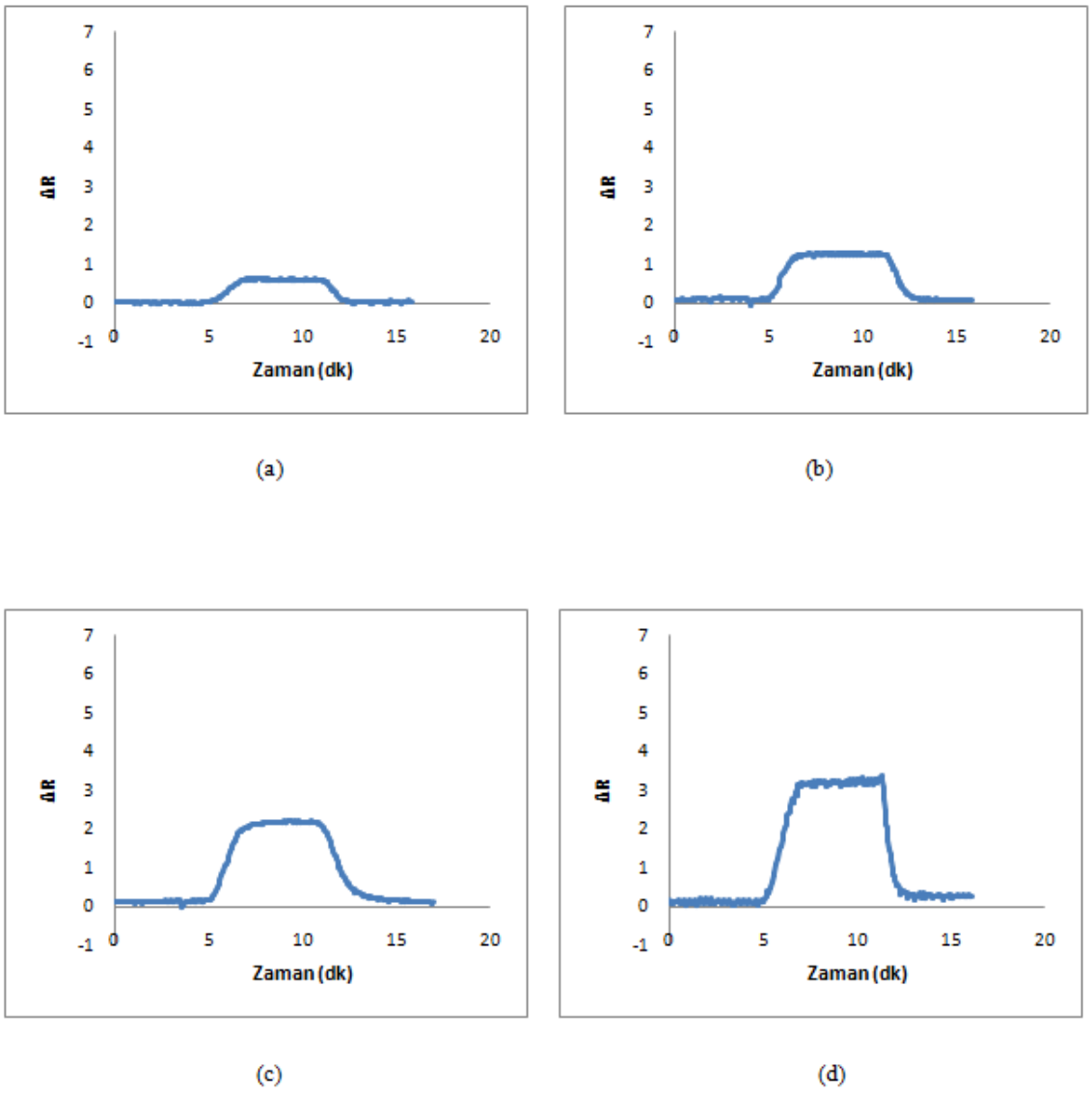



(f)

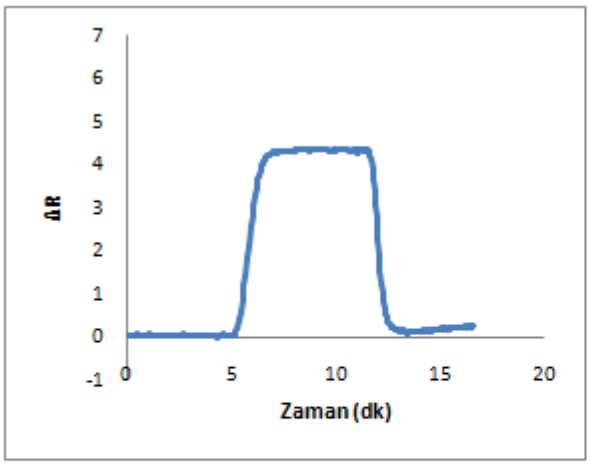



(g)

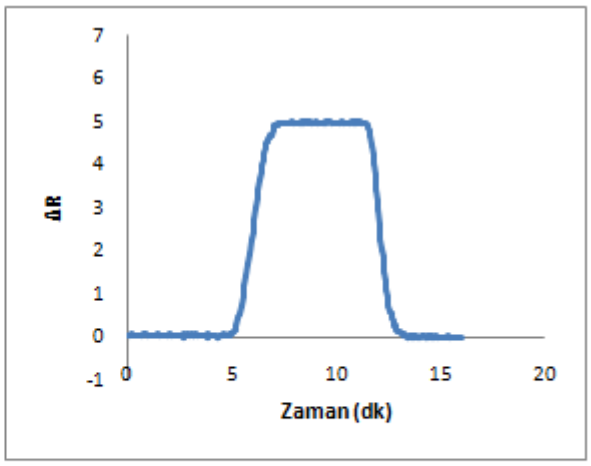
**Şekil 4.33. Devamı.** Dimetoat çözeltileri ile SPR sensör arasındaki etkileşimlere ait zamana karşı % kırılma değerlerini gösteren sensorgramlar. a) 0.043 nM; b) 0.109 nM; c) 0.218 nM; d) 0.436 nM; e) 1.09 nM; f) 2.18 nM; g) 4.36 nM



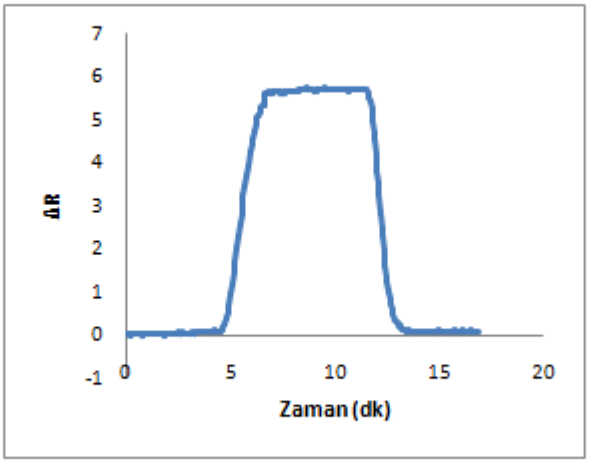

**Şekil 4.34.** Dimetoat çözeltileri ile SPR sensör arasındaki etkileşimlere ait zamana karşı ΔR değerlerini gösteren sensorgramlar. a) 0.043 nM; b) 0.109 nM; c) 0.218 nM; d) 0.436 nM; e) 1.09 nM; f) 2.18 nM; g) 4.36 nM




(e)




(f)

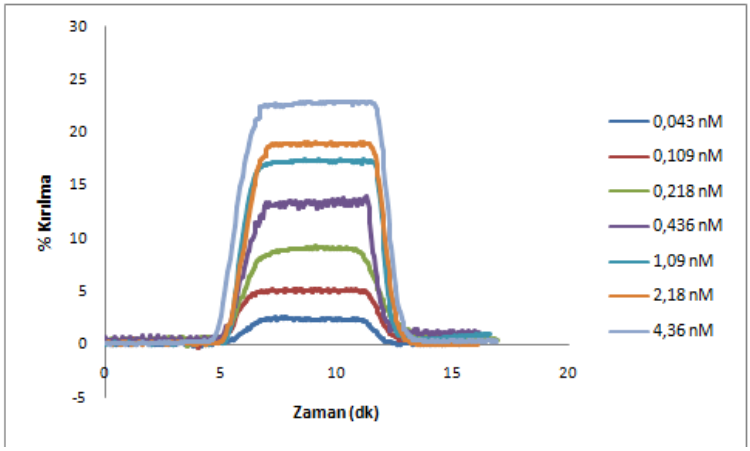



(g)

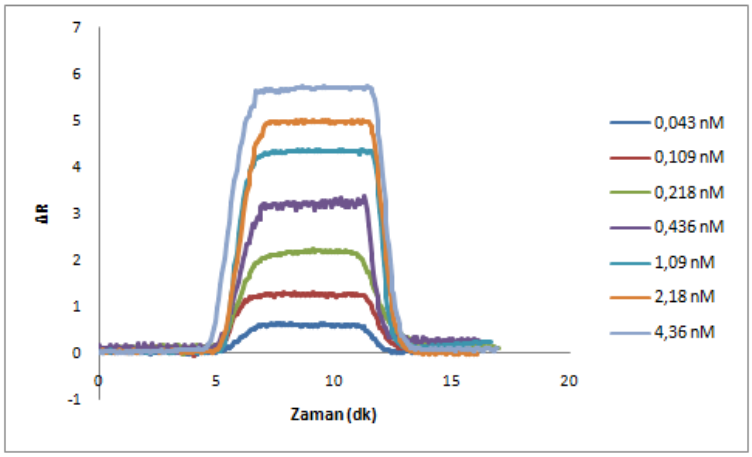
**Şekil 4.34. Devamı.** Dimetoat çözeltileri ile SPR sensör arasındaki etkileşimlere ait zamana karşı ΔR değerlerini gösteren sensorgramlar. a) 0.043 nM; b) 0.109 nM; c) 0.218 nM; d) 0.436 nM; e) 1.09 nM; f) 2.18 nM; g) 4.36 nM

Dt-MIP/SPR sensör sisteminde ilk 5 dakika denge çözeltisi (metanol:saf su) geçirildikten sonra farklı derişimlerde dimetoat çözeltileri (0.043-4.36 nM) sisteme verildi. ΔR cevabının ortalama 2 dakika boyunca arttığı, moleküler baskılı polimerin dimetoat ile doygunluğa ulaşmasından sonra ise 4-5 dakika sabit kaldığı görüldü. Desorpsiyon çözeltisi (2 M Glisin-HCI pH:2) sisteme enjekte edildikten sonra ΔR cevabı ortalama 2 dakika boyunca azaldı. Son aşamada ise sistemin tekrar dengeye ulaşması için 5 dakika beklendi. Toplam ölçüm süresi ortalama 17 dakika olarak belirlendi (Şekil 4.35).

Miyoglobin baskılı SPR sensör ile yapılan çalışmada, 0.1-1.0 μg/mL derişim aralığında ortalama toplam ölçüm süresi 27 dakika olarak bulunmuştur (Osman ve ark. 2013). Saylan ve ark. (2017) ise, pestisit baskılanmış SPR sensörlerin farklı derişimlerdeki (0.1-6.64 nM) ortalama toplam ölçüm sürelerini 17 dakika olarak belirlemişlerdir.



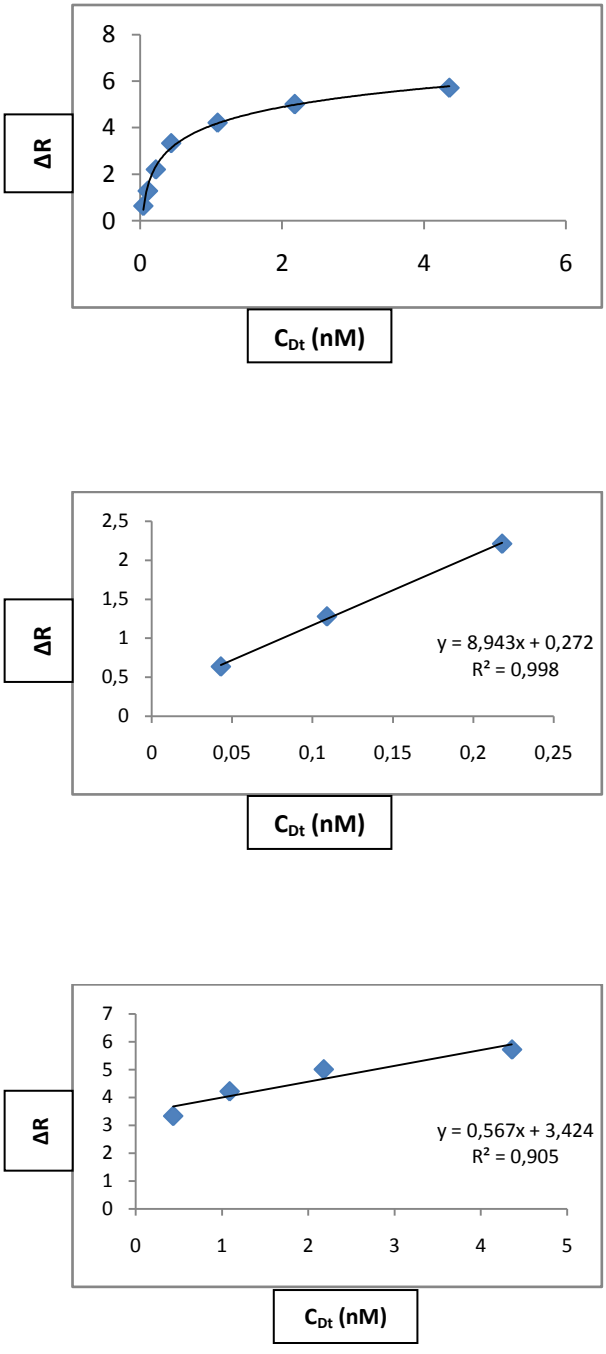

(a)




(b)

**Şekil 4.35.** Dimetoat çözeltileri ile SPR sensör arasındaki etkileşimlere ait sensorgramlar. a) zamana karşı % kırılma değerini gösteren sensorgram; b) zamana karşı ΔR değerini gösteren sensorgram

0.043-0.218 nM aralığındaki veriler incelendiğinde elde edilen doğruların denklemi (y=8.943x + 0.272) iken 0.436-4.36 nM aralığında (y=0.567x + 3.424), doğrusallıkları ($R^2$) ise sırasıyla 0.998 ve 0.905 olarak hesaplandı. Dimetoat moleküllerinin iki farklı bölgeden yüksek afinite ile; 0.043-0.218 nM aralığında %99.8, 0.436-4.36 nM aralığında ise %90.5 bağlandığı belirlendi (Şekil 4.36).




**Şekil 4.36.** Dt-MIP/SPR sensöre ait derişim ($C_{Dt}$) ile ΔR arasındaki ilişki

### 4.8.1. Denge ve Bağlanma Kinetik Analizi

Yüzeyin maksimum analit bağlama kapasitesi toplam ligand miktarı ($[B]_0$) olarak tanımlanır. Diğer tüm derişim değerleri ise SPR sinyali olarak ifade edilebilir. Bu şekilde kütlenin derişime dönüştürülmesine gerek duyulmayacaktır. Serbest analit derişiminin akış hücresinde sabit kaldığı yalancı/birinci derece koşulları altında bağlanma aşağıdaki eşitlikteki gibi ifade edilir:

$$d\Delta R/dt = k_a C \Delta R_{maks} - (k_a C + k_d)\Delta R \qquad 4.12$$

Burada, $d\Delta R/dt$, SPR sinyalinin değişim hızı; $R$ ve $\Delta R_{maks}$ bağlanma ile ölçülen ve rezonans artışından kaynaklanan maksimum sinyal; $C$, analit derişimi (nM); $k_a$, bağlanma hız sabiti (1/nMxs) ve $k_d$, ayrılma hız sabiti ($1/s$)'ni ifade eder. $k_a$ ve $k_d$ sabitlerinin oranından bağlanma sabiti $K_A$ ($nM^{-1}$) hesaplanır ($K_A=k_a/k_d$). Denge durumunda, $d\Delta R/dt=0$ alınarak eşitlik basitleştirilir:

$$\Delta R_{denge} /C = K_A \Delta R_{maks} - K_A \Delta R_{denge} \qquad 4.13$$

Bundan dolayı, bağlanma sabiti $K_A$, $\Delta R_{denge}/C$'ye karşı $\Delta R_{denge}$ grafiğinden hesaplanır. Ayrılma sabiti $K_D$ ise; $1/K_A$ eşitliği ile hesaplanabilir.

Eşitlik 4.12 tekrar incelendiğinde;

$$d\Delta R/dt = k_a C \Delta R_{maks} - (k_a C + k_d)\Delta R \qquad 4.14$$

Buradan, etkileşim kontrollü kinetikler için çizilen $d\Delta R/dt$'ye karşı $\Delta R$ grafiğinin eğimi $-(k_aC + k_d)$ olan bir doğru verdiği görülmektedir. Başlangıç bağlanma hızı analit derişimiyle doğrusal bir ilişki içerisindedir ve kantitatif olarak derişim belirlenmesinde kullanılır. Eğer $\Delta R_{maks}$ değeri biliniyorsa, tek bir sensorgram kullanılarak $k_a$ ve $k_d$ değerleri hesaplanabilir. Yüzeyi tamamen doygunluğa eriştirmek için çok yüksek analit derişimlerine ihtiyaç olduğundan dolayı $\Delta R_{maks}$'ın deneysel olarak belirlenmesi zordur. Tercih edilen yaklaşım, birçok farklı analit derişimlerinde bağlanma sensorgramlarının alınmasıdır. İleri ve geri yöndeki hızların analizi için çizilen $d\Delta R/dt$'ye karşı $\Delta R$ grafikleri, ileri ve geri yöndeki hız sabitleri ile ilişkili bir eğim değeri ($S$) vermektedir:

$$S = k_a C + k_d \qquad 4.15$$

*S*'ye karşı *C* grafiği, eğimi $k_a$ olan bir doğru vermektedir. Teorik olarak kesim noktası $k_d$ değerini vermektedir. Fakat $k_a C >> k_d$ olduğu durumlarda $k_d$ hesaplaması için bu yöntem çok güvenilir değildir. Daha güvenilir yöntem, ayrılma kinetiğinin incelenmesidir.

$$ln(\Delta R_o / \Delta R_t) = k_d (t - t_o) \qquad 4.16$$

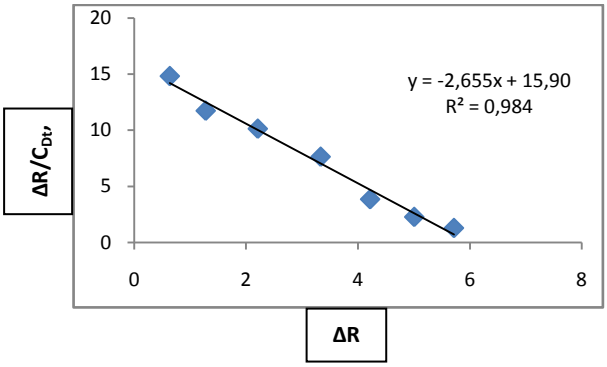
Burada; $\Delta R_o$ ve $\Delta R_t$, ayrılma eğrisindeki $t_o$ ve $t$ anlarındaki SPR sinyal değerleridir.

Dimetoat ve Dt-MIP arasındaki bağlanma etkileşimleri ve denge durumundaki bağlanma bölgelerini belirlemek için Scatchard hesaplaması yapıldı. Çizelge 4.13'e göre bağlanma sabiti $K_A$ ve $\Delta m_{maks}$ değerleri sırasıyla 2.655 $nM^{-1}$ ve 5.988 $nM/cm^2$ olarak hesaplandı.

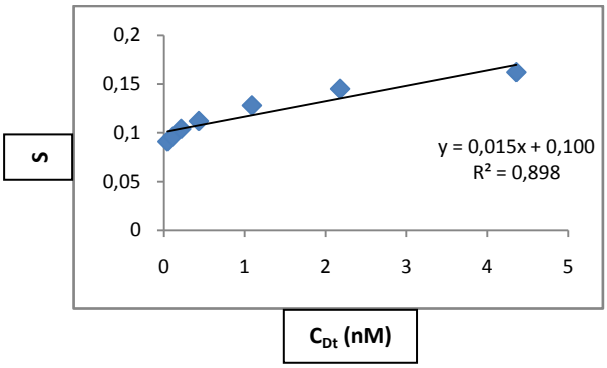
**Çizelge 4.13.** Dt-MIP/SPR sensör için kinetik hız sabitleri

| **Denge Analiz (Scatchard)** | | **Bağlanma Kinetik Analizi** | |
|---|---|---|---|
| $\Delta R_{maks}$ | 5.988 | $k_a$, $nM^{-1}.s^{-1}$ | 0.015 |
| $K_A$, $nM^{-1}$ | 2.655 | $k_d$, $s^{-1}$ | 0.1 |
| $K_D$, nM | 0.376 | $K_A$, $nM^{-1}$ | 0.15 |
| $R^2$ | 0.984 | $K_D$, nM | 6.666 |
| | | $R^2$ | 0.898 |

$K_A$ değeri bağlanma bölgelerinin ilgisinin yüksek olduğunu ifade etmektedir (Şekil 4.37).




(a)



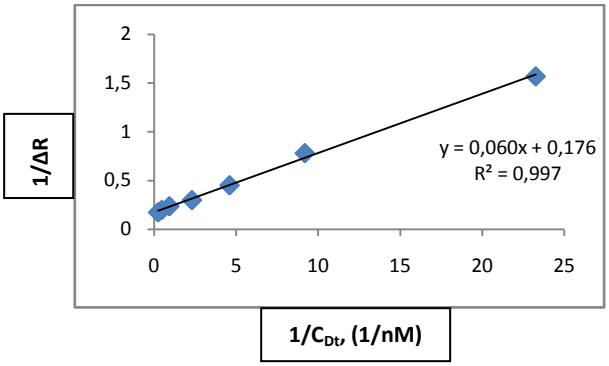

(b)

**Şekil 4.37.** Dt-MIP/SPR sensör için kinetik hız sabitlerinin belirlenmesi. a) Denge analiz yaklaşımı (Scatchard); b) Bağlanma kinetik yaklaşımı

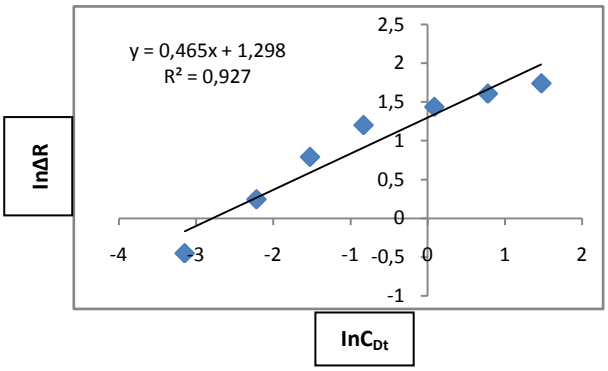
### 4.8.2. Denge İzoterm Modelleri

İzoterm çalışmaları ile ilgili hesaplamalar Kısım 4.4.2'de verilen Eşitlik 4.6-4.8'e göre yapıldığından bu kısımda tekrar bahsedilmemiştir. Ancak, $\Delta R_{maks}$ maksimum SPR sinyal kaymasını ifade etmektedir.

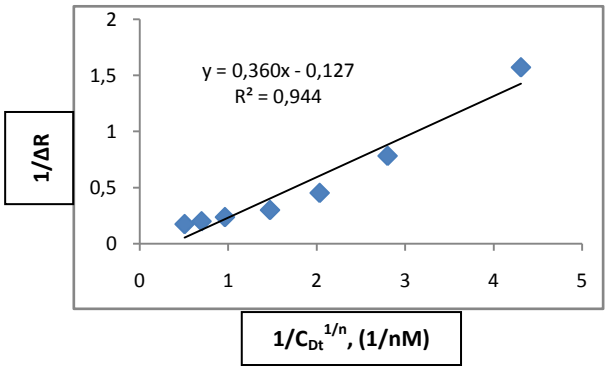
Çizelge 4.14'e göre korelasyon katsayılarına bakıldığında Langmuir adsorpsiyon modelinin dimetoat için en uygun olduğunu söyleyebiliriz ($R^2$=0.997). Buradan hesaplanan $\Delta R_{maks}$ değeri ($\Delta R_{maks}$=5.682 nM/cm$^2$) deneysel değere (5.717 nM) oldukça yakındır. Langmuir denkleminden hesaplanan $K_A$ ve $K_D$ değerleri sırasıyla 2.933 nM$^{-1}$ ve 0.341 nM olarak hesaplandı. Bu sonuçlar, baskılanmış SPR sensör yüzeyinde dimetoat bağlanmasının tek tabakalı ve homojen olduğunu göstermektedir (Şekil 4.38).




(a)




(b)




(c)

**Şekil 4.38.** Dt-MIP/SPR sensöre ait adsorpsiyon modelleri. a) Langmuir; b) Freundlich; c) Langmuir- Freundlich

**Çizelge 4.14.** Dt-MIP/SPR sensör için Langmuir, Freundlich ve Langmuir-Freundlich parametreleri

| **Langmuir** | | **Freundlich** | | **Langmuir-Freundlich** | |
|---|---|---|---|---|---|
| $\Delta R_{maks}$ | 5.682 | $\Delta R_{maks}$ | 3.662 | $\Delta R_{maks}$ | 7.874 |
| $K_A$, $nM^{-1}$ | 2.933 | 1/n | 0.465 | 1/n | 0.465 |
| $K_D$, nM | 0.341 | $R^2$ | 0.927 | $K_A$, $nM^{-1}$ | 0.353 |
| $R^2$ | 0.997 | | | $K_D$, nM | 2.835 |
| | | | | $R^2$ | 0.944 |

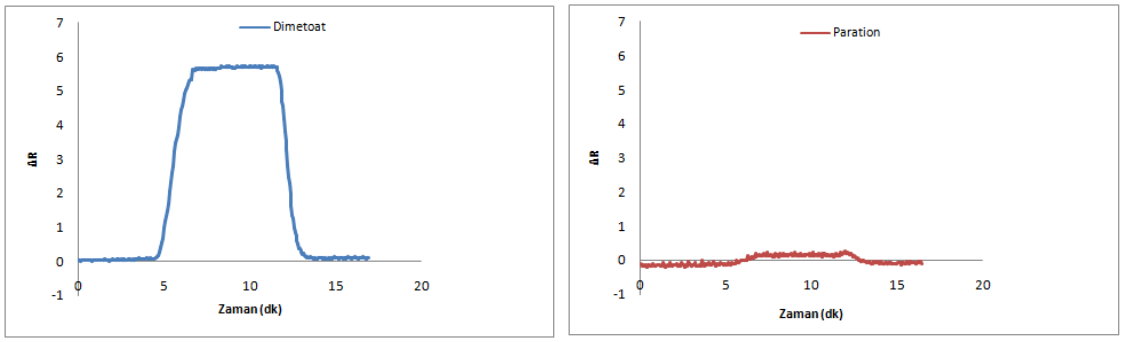
### 4.8.3. Yarışmalı Kinetik Analizler ve Baskılama Seçiciliğinin Belirlenmesi

Yarışmalı kinetik analizler ve baskılama seçiciliği ile ilgili çalışmalara ait hesaplamalar Kısım 4.4.3.'te belirtilen Eşitlik 4.9-4.11'e göre yapıldı.

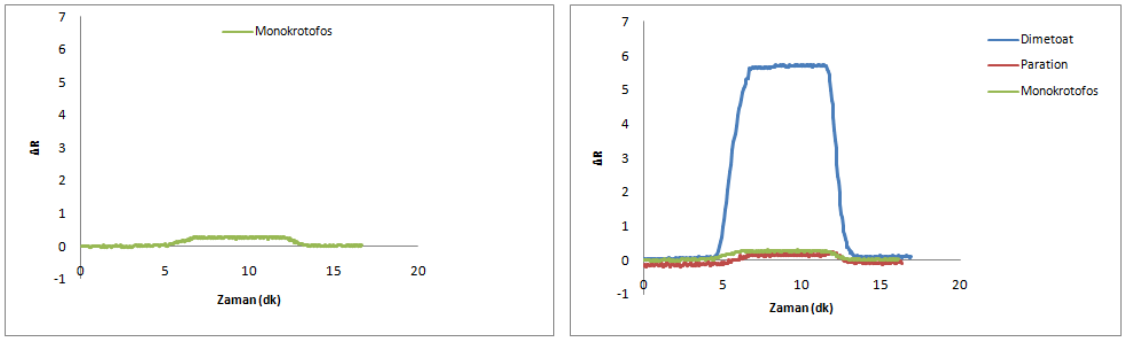
Sensörün dimetoat'a karşı seçiciliğinin belirlenmesi için yarışmalı adsorpsiyon deneylerinde dimetoat, paration ve monokrotofos çözeltileri kullanıldı. Elde edilen sensorgramlar Şekil 4.39'da verilmektedir. Dimetoat baskılanmış sensörün 4.36 nM derişiminde dimetoat, paration ve monokrotofosa verdiği sensorgram sinyal değerleri (ΔR) sırasıyla, 5.717, 0.336 ve 0.281 olarak belirlendi. (Çizelge 4.15). Bu sonuçlara göre baskılanmış sensör dimetoat'ı, paration'a göre 17.01 kat, monokrotofas'a göre 20.35 kat daha duyarlı tayin edebilmektedir.

**Çizelge 4.15.** Dimetoat'a göre paration ve monokrotofos için seçicilik ve bağıl seçicilik katsayıları

| | **MIP** | | **NIP** | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | **ΔR** | **k** | **ΔR** | **k** | **k'** |
| Dimetoat | 5.717 | | 0.116 | | |
| Paration | 0.336 | 17.01 | 0.144 | 0.81 | 21.12 |
| Monokrotofos | 0.281 | 20.35 | 0.176 | 0.66 | 30.86 |



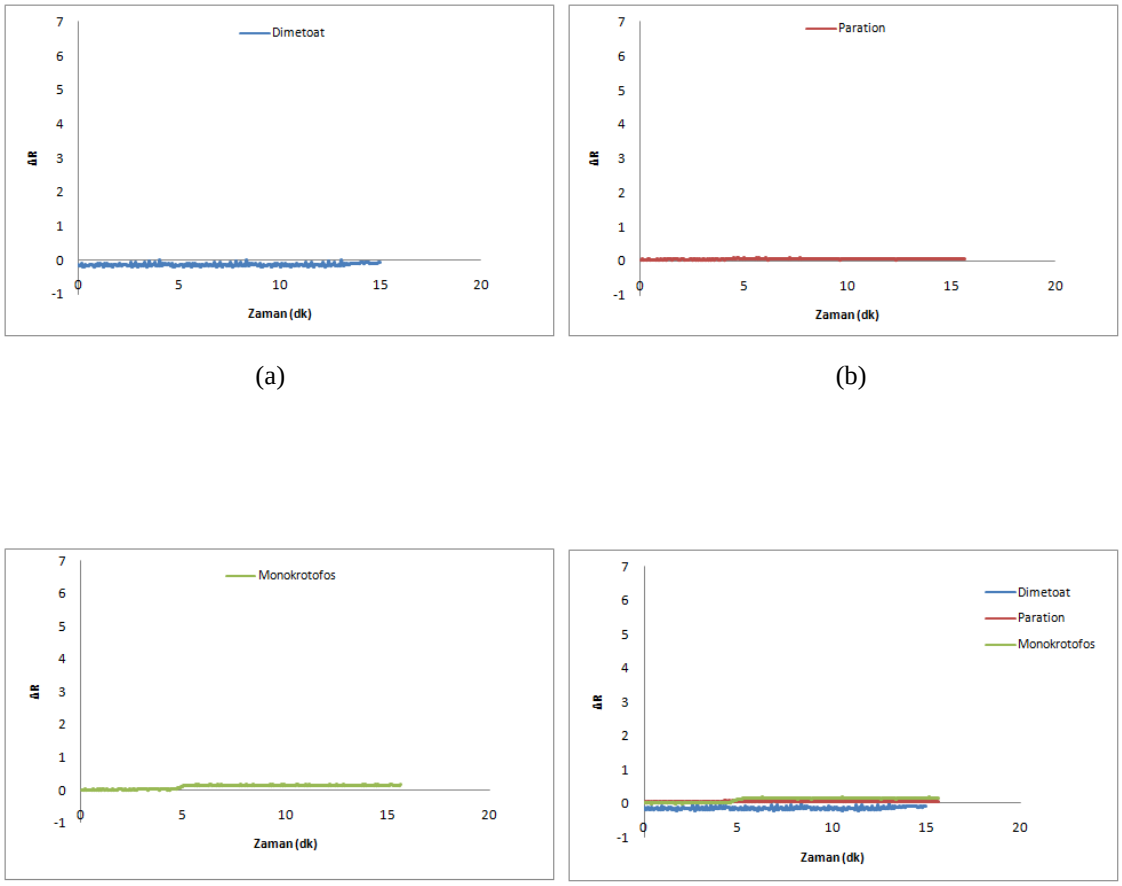

(a) (b)




(c) (d)

**Şekil 4.39.** 4.36 nM derişiminde a) dimetoat; b) paration; c) monokrotofos ve d) dimetoat, paration, monokrotofos çözeltilerinin birlikte verildiği Dt-MIP/SPR sensör arasındaki etkileşimlere ait zamana karşı ΔR değerlerini gösteren sensorgramlar

Dt-MIP/SPR sensörün seçiciliğini göstermek için NIP/SPR sensörler de hazırlandı. 4.36 nM derişimindeki dimetoat, paration ve monokrotofos çözeltileri SPR sistemine gönderildi. Dt-NIP/SPR sensörün aynı derişimdeki dimetoat, paration ve monokrotofos çözeltilerine verdiği sinyal artışının oldukça düşük olduğu görüldü (Şekil 4.40). MIP ve NIP sensörler karşılaştırıldığında dimetoat sinyal duyarlılığının 5.717'den 0.116'ya düştüğü görülmektedir. Hesaplanan seçicilik katsayıları paration için 17.01 (baskılanmış), 0.81 (baskılanmamış), monokrotofos için 20.35 (baskılanmış), 0.66 (baskılanmamış) olarak bulundu (Çizelge 4.15). Baskılama seçiciliğini gösteren bağıl seçicilik katsayısı 21.12 (dimetoat/paration) ve 30.86 (dimetoat/monokrotofos) olarak hesaplandı.



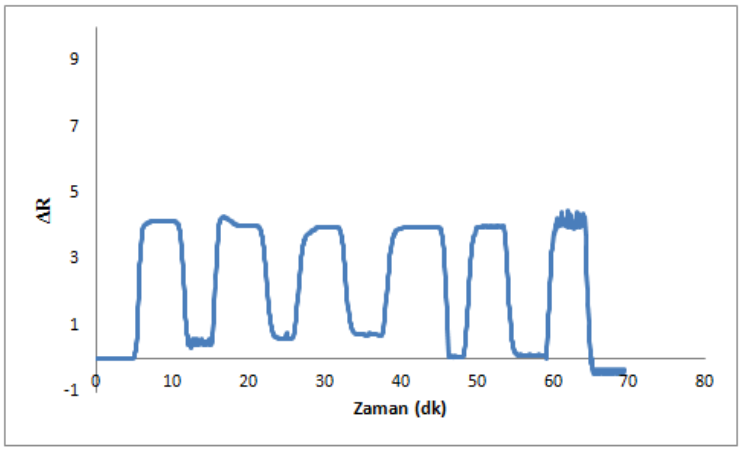

**Şekil 4.40.** 4.36 nM derişiminde a) dimetoat; b) paration; c) monokrotofos ve d) dimetoat, paration ve monokrotofos çözeltilerinin birlikte verildiği Dt-NIP/SPR sensör arasındaki etkileşimlere ait zamana karşı ΔR değerlerini gösteren sensorgramlar

Osman ve ark. (2013), hazırlamış oldukları SPR sensörün miyoglobine karşı seçiciliğinin belirlenmesi için lizozim, sitokrom c ve sığır serum albumin (BSA) kullanmışlardır. Baskılama seçiciliğini gösteren bağıl seçicilik katsayısı lizozim için 3.19, sitokrom c için 3.81 ve BSA için 5.59 olarak hesaplanmıştır.

Anand ve ark. (2016), moleküler baskılama temelli SPR sensörde profenofos'un seçiciliği için parathion ve ometoat pestisitlerini kullanmışlardır. Yapılan analizler sonucu, profenofos'a molekül şekli ve yapısal olarak benzer olan pestisitlerin SPR sensör sisteminde profenofos'a nazaran oldukça düşük sinyal verdiği belirlenmiş olup moleküler baskılama işleminin profenofos'a özgü olduğunu belirtmişlerdir.

### 4.8.4. Dimetoat Baskılı SPR Sensörle Tekrar Kullanılabilirlik Analizi

1.09 nM derişimindeki dimetoat çözeltileri ile Dt-MIP/SPR sensörün tekrar kullanılabilirlik sensorgramı Şekil 4.41'de verilmiştir.

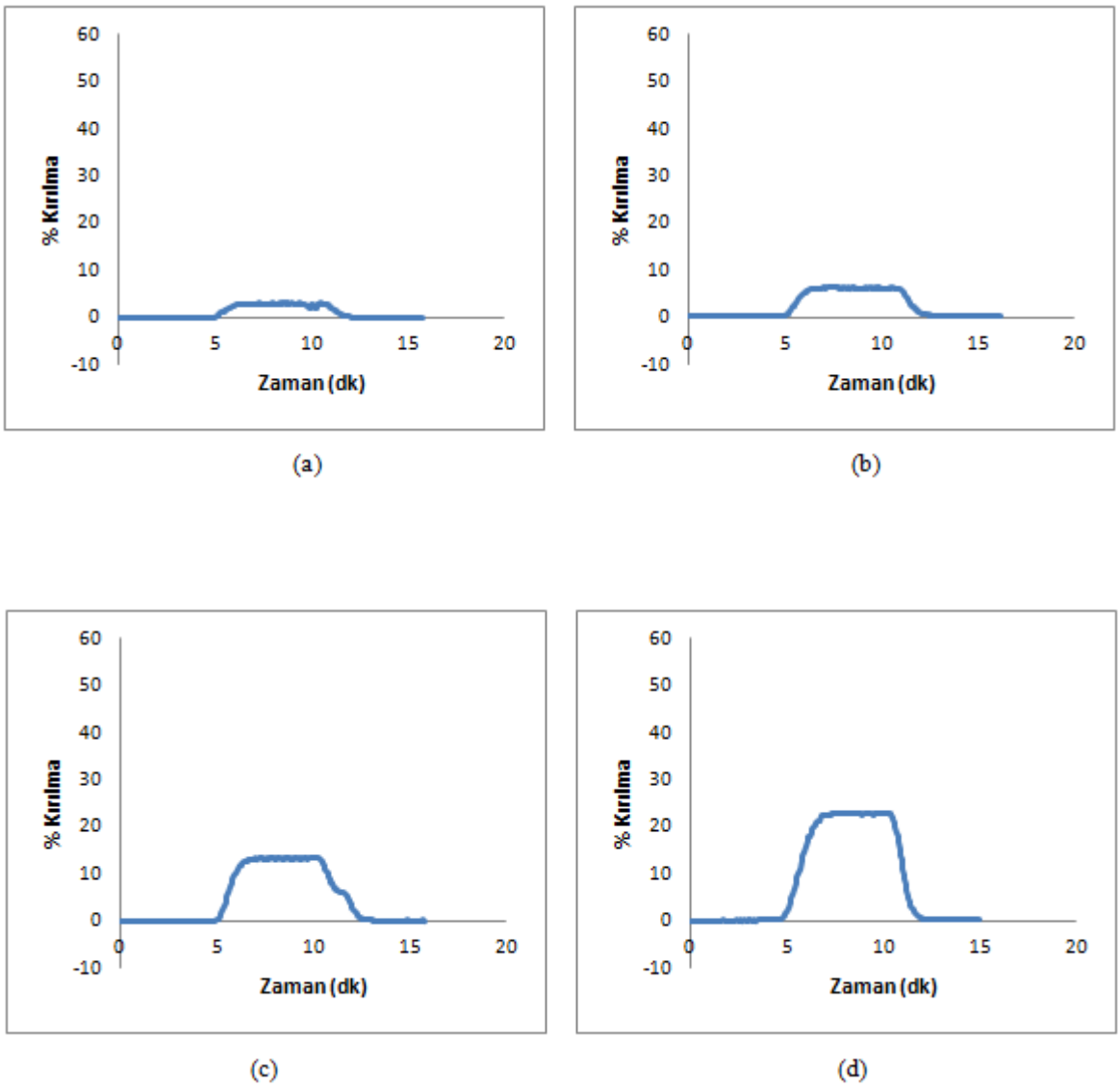



**Şekil 4.41.** Dt-MIP/SPR sensöre ait tekrar kullanılabilirlik sensorgramı

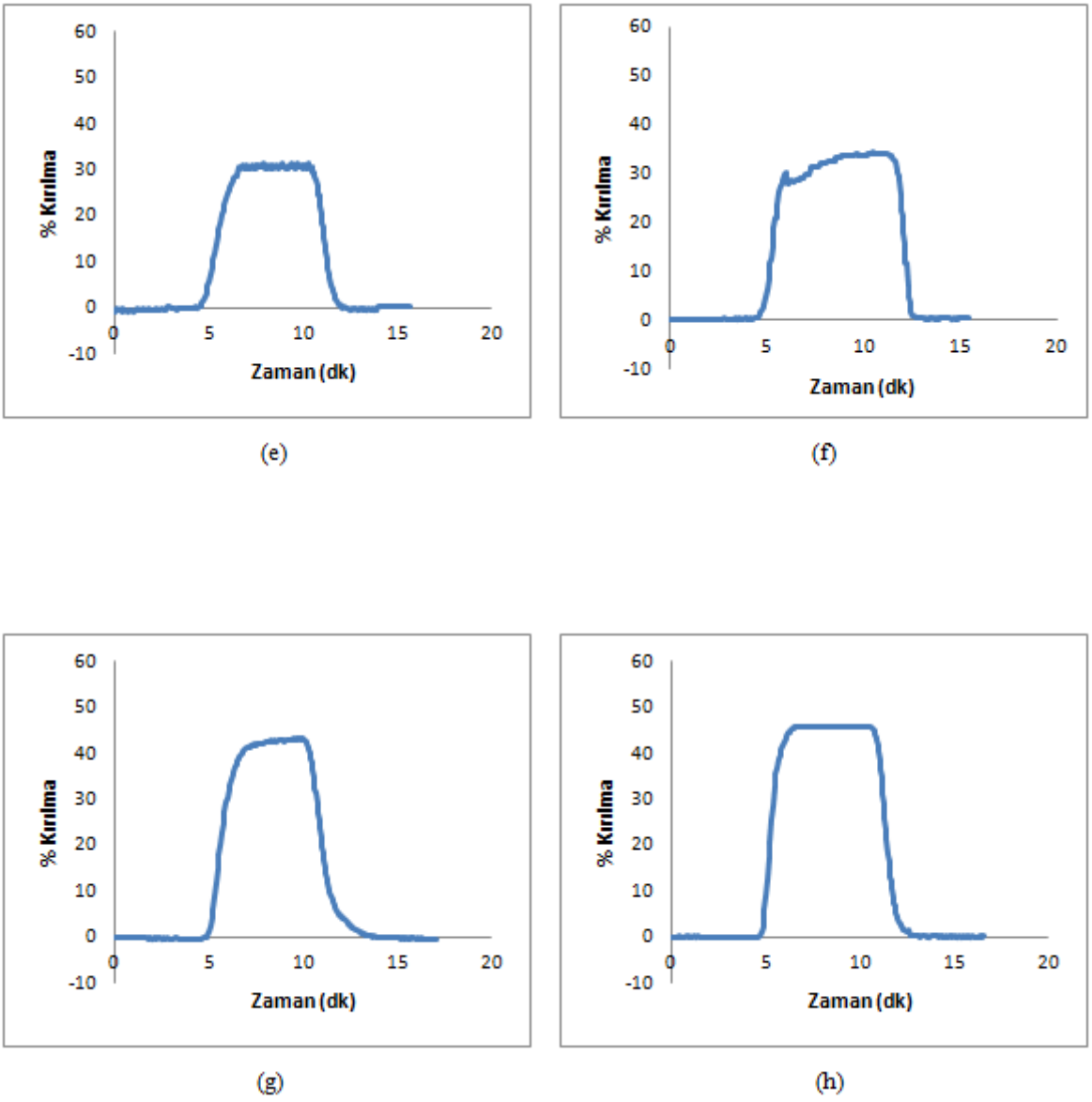
Dimetoat içeren çözeltinin sensör sisteminde birer hafta arayla altı tekrarlı yapılan analizleri sonucunda sensör çipinin tekrar tekrar kullanılabildiği göründü.

### 4.9. Karbofuran Baskılı SPR Sensörle Kinetik Analizler

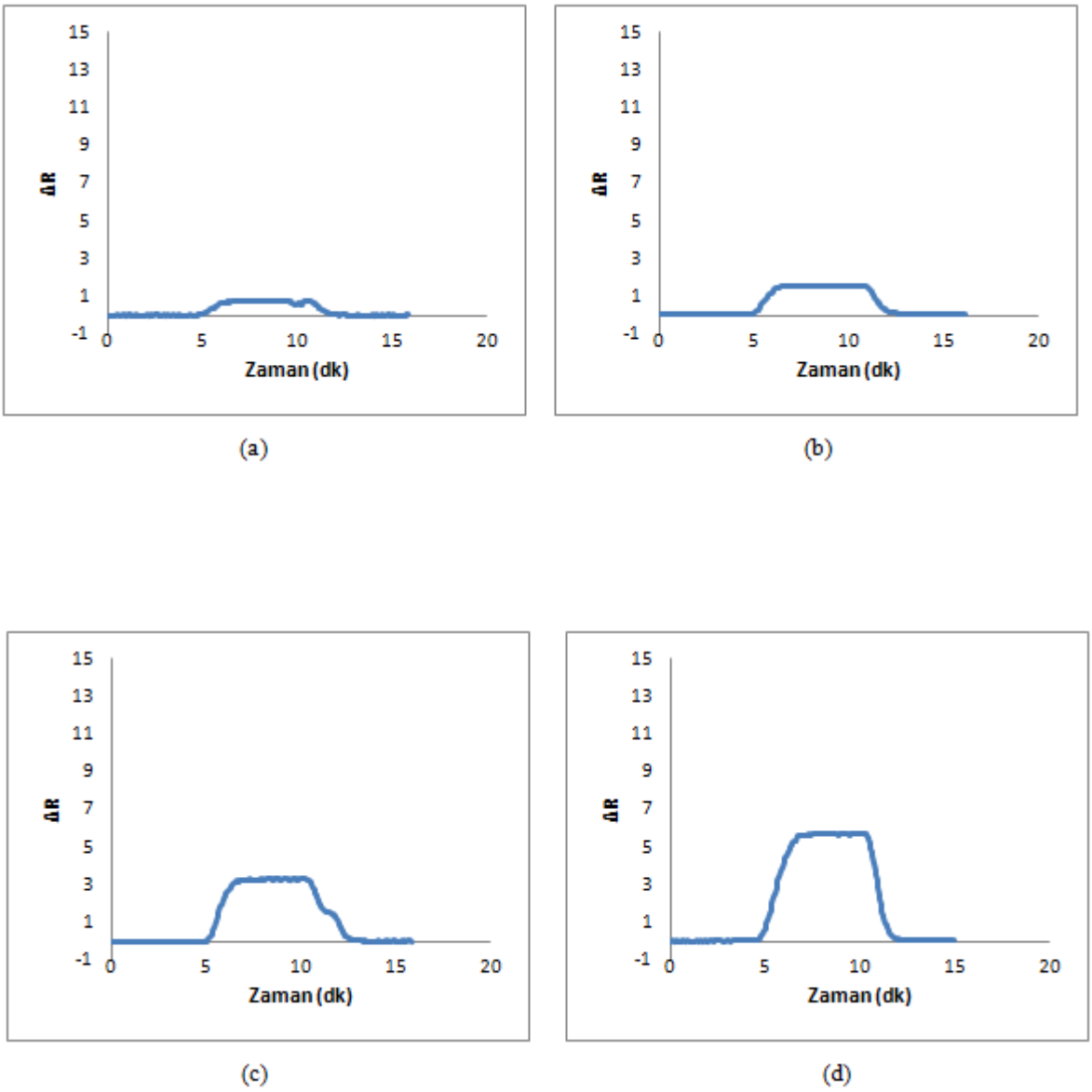
Farklı derişimlerde (0.045-4.5 nM) Kf-MIP/SPR sensör çipleri hazırlandı. Çözeltiler peristaltik pompa aracılığıyla SPR sensörlerle etkileştirildi. Sensör % kırılma değeri karbofuran çözeltisi ilavesinden sonra arttı (Şekil 4.42). Derişimin artmasıyla ΔR değerinde de artış olmaktadır (Şekil 4.43). Bu durumda çözelti ile yüzey arasındaki sürücü güç olan derişim farkının artması ve karbofuran'ın baskılı polimere bağlandığı söylenebilir.



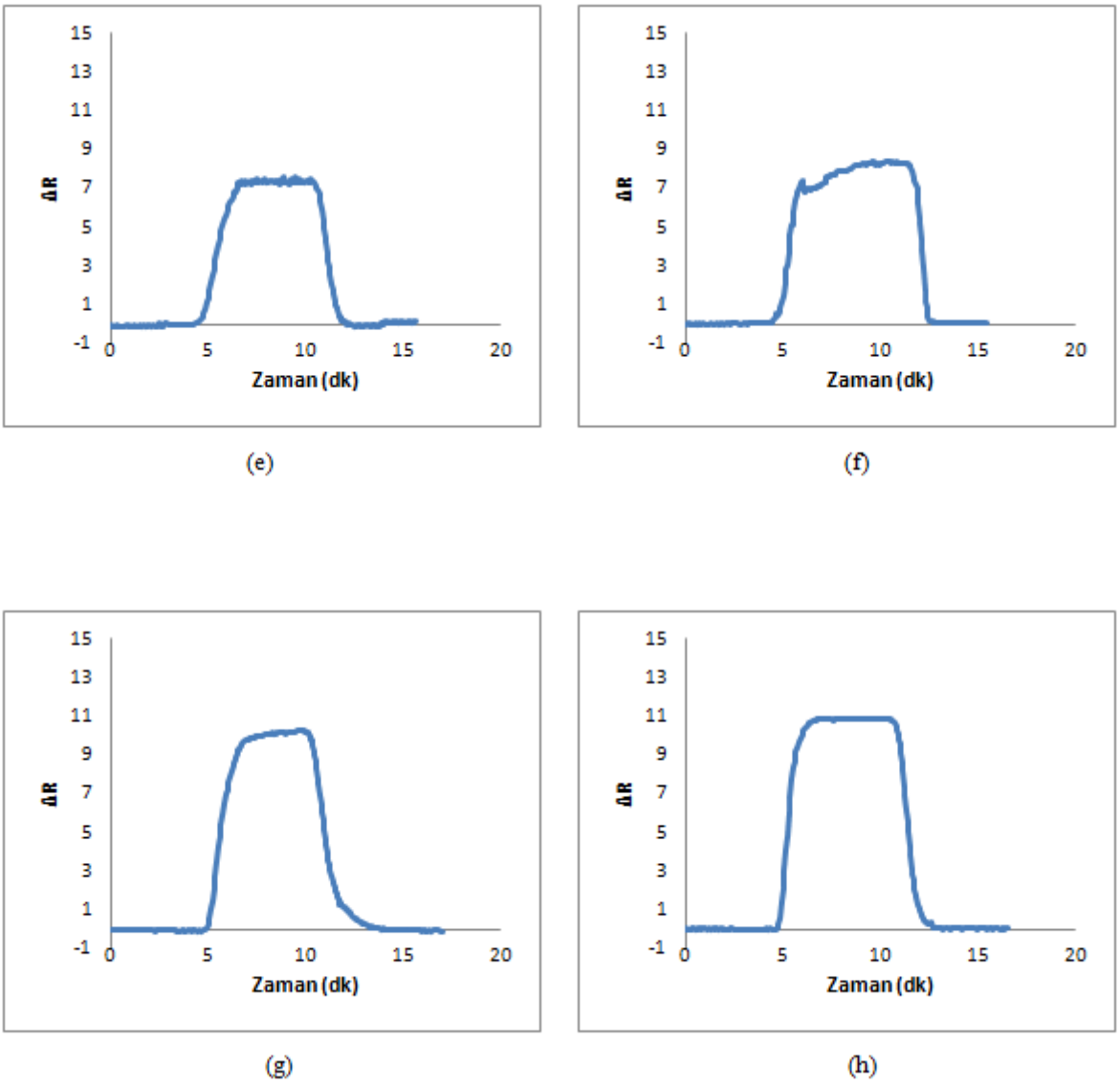

**Şekil 4.42.** Karbofuran çözeltileri ile SPR sensör arasındaki etkileşimlere ait zamana karşı % kırılma değerini gösteren sensorgramlar. a) 0.045 nM; b) 0.113 nM; c) 0.225 nM; d) 0.45 nM; e) 1.35 nM; f) 2.25 nM; g) 3.39 nM; h) 4.5 nM




**Şekil 4.42. Devamı.** Karbofuran çözeltileri ile SPR sensör arasındaki etkileşimlere ait zamana karşı % kırılma değerini gösteren sensorgramlar. a) 0.045 nM; b) 0.113 nM; c) 0.225 nM; d) 0.45 nM; e) 1.35 nM; f) 2.25 nM; g) 3.39 nM; h) 4.5 nM



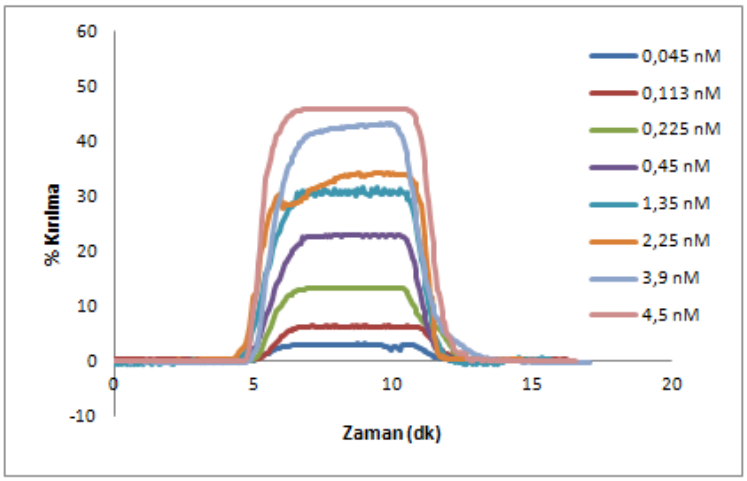

**Şekil 4.43.** Karbofuran çözeltileri ile SPR sensör arasındaki etkileşimlere ait zamana karşı ΔR değerini gösteren sensorgramlar. a) 0.045 nM; b) 0.113 nM; c) 0.225 nM; d) 0.45 nM; e) 1.35 nM; f) 2.25 nM; g) 3.39 nM; h) 4.5 nM



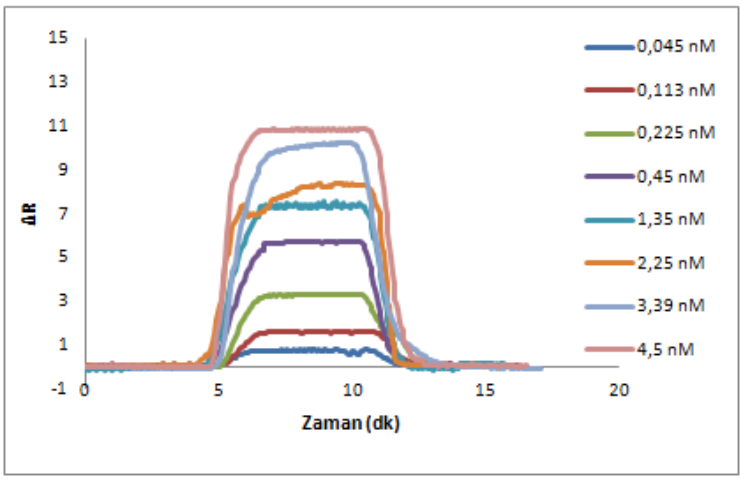

**Şekil 4.43. Devamı.** Karbofuran çözeltileri ile SPR sensör arasındaki etkileşimlere ait zamana karşı ΔR değerini gösteren sensorgramlar. a) 0.045 nM; b) 0.113 nM; c) 0.225 nM; d) 0.45 nM; e) 1.35 nM; f) 2.25 nM; g) 3.39 nM; h) 4.5 nM

Kf-MIP/SPR sistemden ilk 5 dakika denge çözeltisi (matanol:saf su) geçirildi (Şekil 4.44). Farklı derişimlerdeki karbofuran çözeltileri (0.045-4.5 nM) verildiğinde ΔR cevabının ortalama 2 dakika boyunca arttığı, moleküler baskılı polimerin karbofuran ile doygunluğa ulaşmasından sonra ise ortalama 3 dakika sabit kaldığı görüldü. Desorpsiyon çözeltisi (0.01 M $CaCl_2$) sisteme enjekte edildikten sonra ΔR cevabı ortalama 2 dakika boyunca azaldı. Ardından sistemin tekrar dengeye ulaşması için 5 dakika beklendi. Toplam ölçüm süresi ortalama 17 dakika olarak belirlendi.

Moleküler baskılama temelli SPR sensörle eritromisin tayini için yapılan bir çalışmada, 5-50 ppm derişim aralığındaki toplam analiz ölçüm süresi yaklaşık 30 dakika olarak bulunmuştur (Sarı ve ark. 2016).



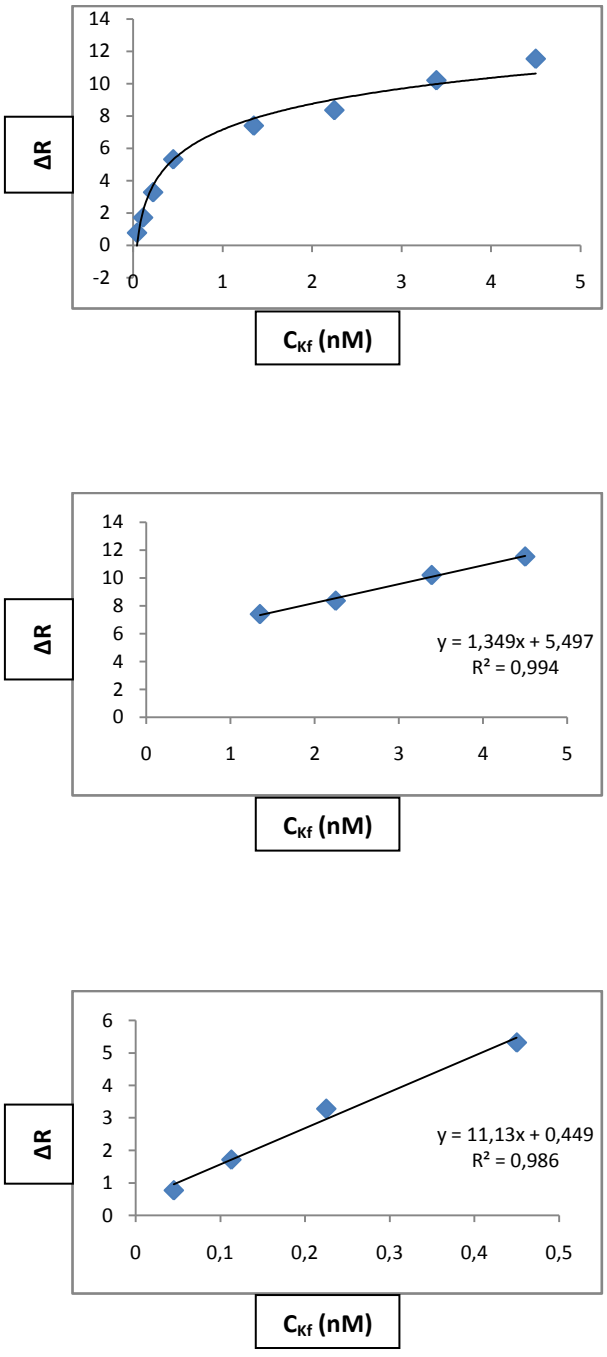

(a)




(b)

**Şekil 4.44.** Karbofuran çözeltileri ile SPR sensör arasındaki etkileşimlere ait sensorgramlar. a) zamana karşı % kırılma değerini gösteren sensorgram; b) zamana karşı ΔR değerini gösteren sensorgram

0.045-0.45 nM aralığındaki veriler değerlendirildiğinde elde edilen doğruların denklemi (y=1.349x + 5.497) iken 1.35-4.5 nM aralığında (y=11.13x + 0.449), doğrusallıkları ($R^2$) ise sırasıyla 0.994 ve 0.986 olarak hesaplandı. Karbufuran'ın 0.045-0.45 nM aralığında %99.4, 1.35-4.5 nM aralığında ise %98 bağlandığı belirlendi (Şekil 4.45).



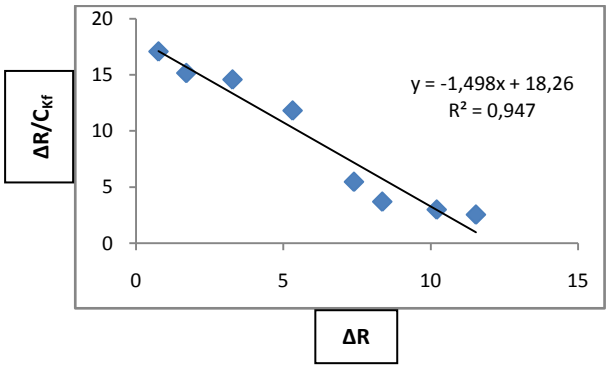

**Şekil 4.45.** Kf-MIP/SPR sensöre ait derişim ($C_{Kf}$) ile ΔR arasındaki ilişki

### 4.9.1. Denge ve Bağlanma Kinetik Analizi

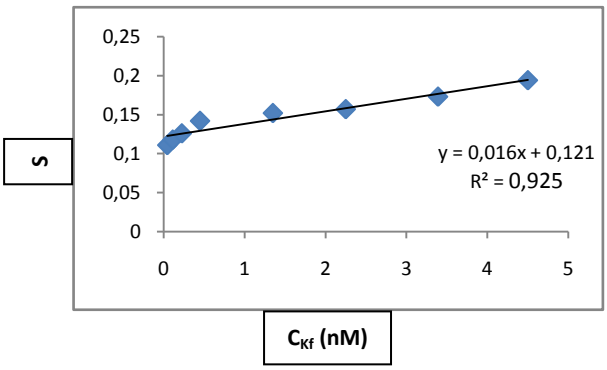
Scatchard analizi hesaplamalarında bağlanma sabiti $K_A$ ve $\Delta R_{maks}$ değerleri sırasıyla 1.498 $nM^{-1}$ ve 12.195 olarak hesaplandı. $K_A$ değeri bağlanma bölgelerinin ilgisinin karbofuran için yüksek olduğunu göstermektedir (Şekil 4.46, Çizelge 4.16).

**Çizelge 4.16.** Kf-MIP/SPR sensör için kinetik hız sabitleri

| **Denge Analiz (Scatchard)** | | **Bağlanma Kinetik Analizi** | |
|---|---|---|---|
| $\Delta R_{maks}$ | 12.195 | $k_a$, $nM^{-1}.s^{-1}$ | 0.016 |
| $K_A$, $nM^{-1}$ | 1.498 | $k_d$, $s^{-1}$ | 0.121 |
| $K_D$, nM | 0.667 | $K_A$, $nM^{-1}$ | 0.132 |
| $R^2$ | 0.947 | $K_D$, nM | 7.562 |
| | | $R^2$ | 0.925 |




(a)




(b)

**Şekil 4.46.** Kf-MIP/SPR sensör için kinetik hız sabitlerinin belirlenmesi. a) Denge analiz yaklaşımı (Scatchard); b) Bağlanma kinetik yaklaşımı

### 4.9.2. Denge İzoterm Modelleri

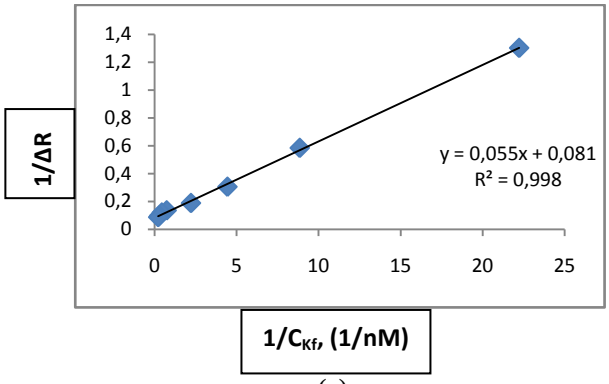
Adsorpsiyon izoterm çalışmalarında Langmuir adsorpsiyon modelinin karbofuran için en uygun model olduğu belirlendi ($R^2$=0.998, $\Delta R_{maks}$=12.346). Hesaplanan $\Delta R_{maks}$ değerinin ($\Delta R_{maks}$=12.346 nM/cm$^2$) deneysel değere (11.535 nM) oldukça yakın olduğu görüldü. Langmuir denkleminden hesaplanan $K_A$ ve $K_D$ değerleri sırasıyla 1.473 nM$^{-1}$ ve 0.679 nM olarak hesaplandı (Çizelge 4.17).

**Çizelge 4.17.** Kf-MIP/SPR sensör için Langmuir, Freundlich ve Langmuir-Freundlich parametreleri

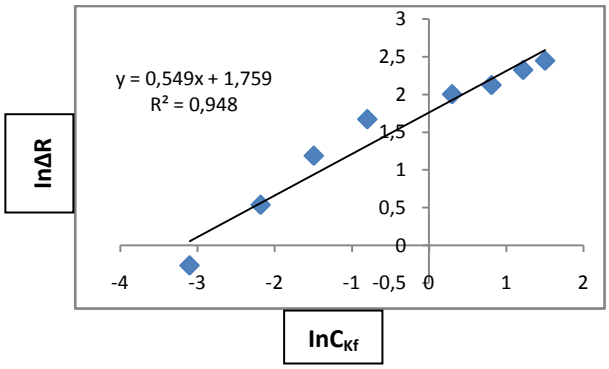
| **Langmuir** | | **Freundlich** | | **Langmuir- Freundlich** | |
|---|---|---|---|---|---|
| $\Delta R_{maks}$ | 12.346 | $\Delta R_{maks}$ | 5.812 | $\Delta R_{maks}$ | 12.392 |
| $K_A$, nM$^{-1}$ | 1.473 | 1/n | 0.550 | 1/n | 0.550 |
| $K_D$, nM | 0.679 | $R^2$ | 0.948 | $K_A$, nM$^{-1}$ | 0.352 |
| $R^2$ | 0.998 | | | $K_D$, nM | 2.838 |
| | | | | $R^2$ | 0.949 |

Bu sonuçlar, Kf-MIP/SPR sensör üzerinde karbofuran bağlanmasının tek tabakalı ve homojen olduğunu göstermektedir (Şekil 4.47).

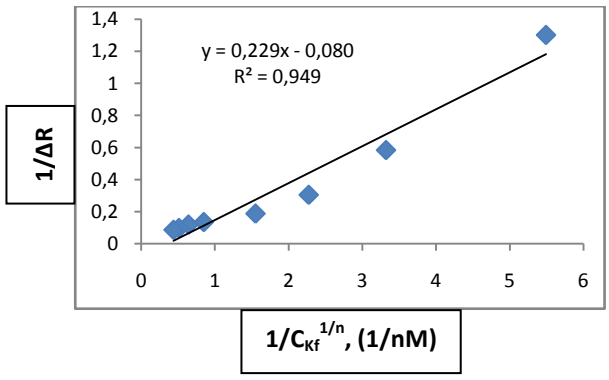
Miyoglobin baskılanmış SPR sensör çalışmasında Langmuir adsorpsiyon modelinin en iyi uyum gösterdiği belirtilmiştir ($R^2$=0.9971, $\Delta R_{maks}$=6.31). Langmuir adsorpsiyon modelinde elde edilen $\Delta R_{maks}$ değeri deneysel değere oldukça yakın olup, $K_A$ ve $K_D$ değerleri sırasıyla 0.594 μg/mL ve 1.681 mL/μg bulunmuştur (Osman ve ark. 2013).




(a)




(b)




(c)

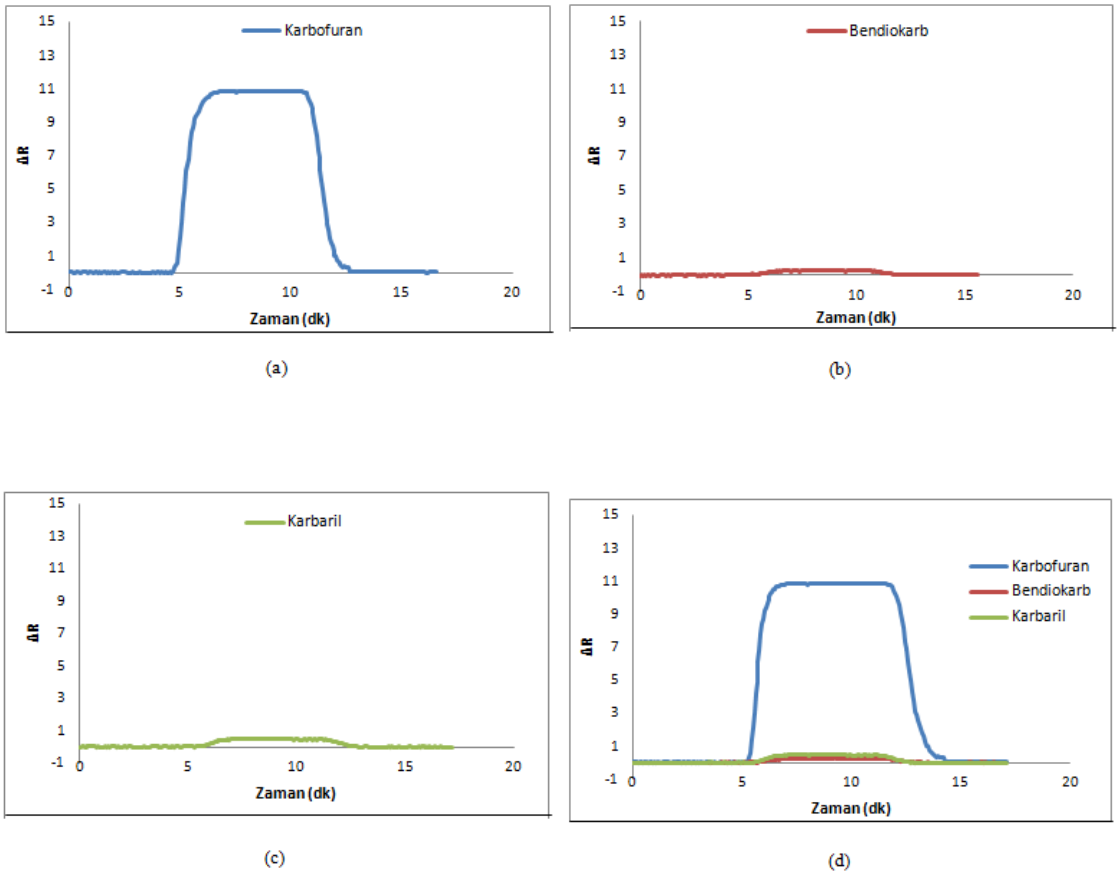
**Şekil 4.47.** Kf-MIP/SPR sensöre ait adsorpsiyon modelleri. a) Langmuir; b) Freundlich; c) Langmuir- Freundlich

### 4.9.3. Yarışmalı Kinetik Analizler ve Baskılanma Seçiciliğinin Belirlenmesi

Kf-MIP/SPR sensörün karbofuran'a karşı seçiciliğinin belirlenmesi için yarışmalı adsorpsiyon deneylerinde yarışmalı pestisitler olarak bendiokarb ve karbaril kullanıldı (Şekil 4.48). Karbofuran baskılanmış sensörün 4.5 nM derişiminde bendiokarb ve karbaril'e verdiği sensorgram sinyal değerleri (ΔR) sırasıyla, 0.471 ve 0.504, aynı derişimdeki karbofuran için ise 11.535 olarak bulundu (Çizelge 4.18). Bu sonuçlara göre baskılanmış sensör karbofuran'ı, bendiokarb'a göre 24.490 kat, karbaril'e göre 22.887 kat daha duyarlı tayin edebilmektedir.

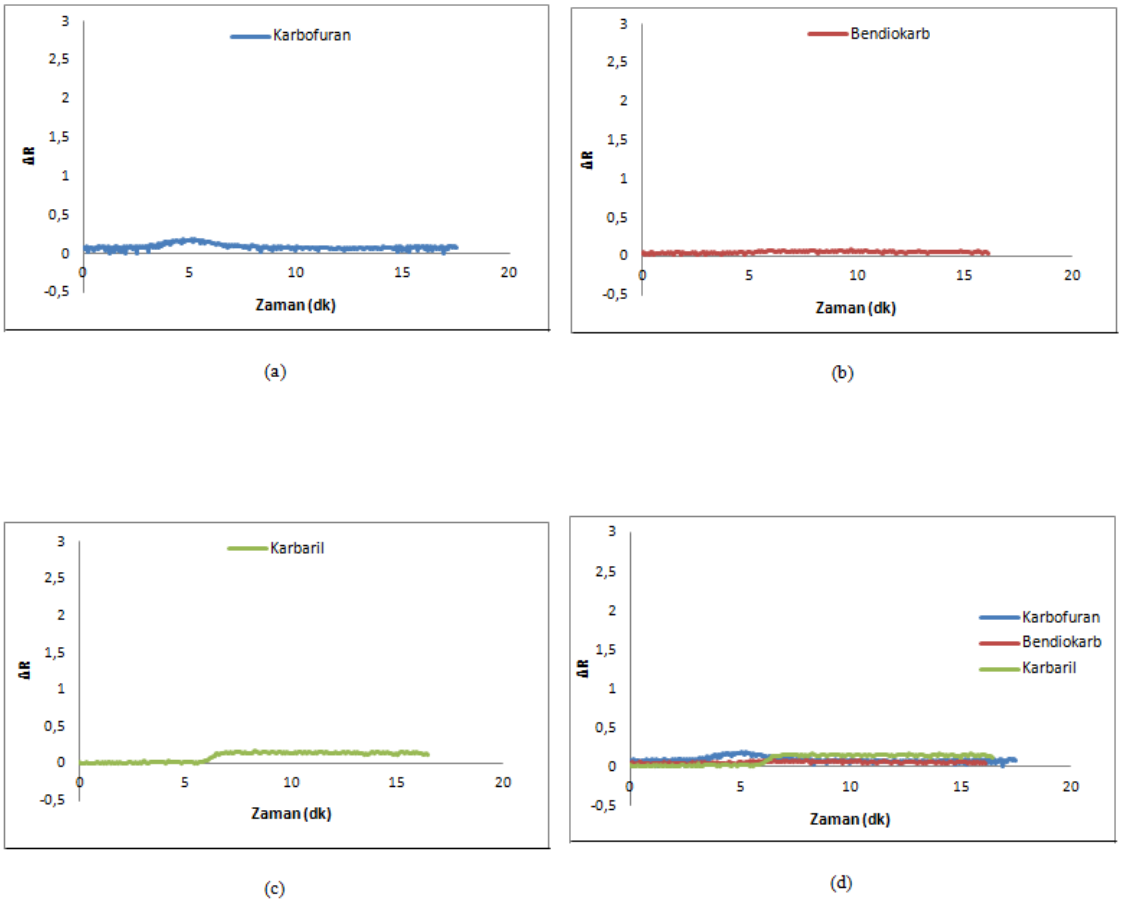
**Çizelge 4.18.** Karbofuran'a göre bendiokarb ve karbaril için seçicilik ve bağıl seçicilik katsayıları

| | **MIP** | | **NIP** | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | **ΔR** | **k** | **ΔR** | **k** | **k'** |
| Karbofuran | 11.535 | | 0.144 | | |
| Bendiokarb | 0.471 | 24.490 | 0.077 | 1.870 | 13.096 |
| Karbaril | 0.504 | 22.887 | 0.095 | 1.516 | 15.099 |




**Şekil 4.48.** 4.5 nM derişiminde a) karbofuran; b) bendiokarb; c) karbaril ve d) karbofuran, bendiokarb ve karbaril çözeltilerinin birlikte verildiği Kf-MIP/SPR sensör arasındaki etkileşimlere ait zamana karşı ΔR değerlerini gösteren sensorgramlar

Baskılama seçiciliği çalışmalarında karbofuran baskılanmamış SPR sensör de hazırlandı. 4.5 nM derişimindeki bendiokarb, karbaril ve karbofuran çözeltileri SPR sistemine gönderildi. Kf-NIP/SPR sensörün aynı derişimdeki bendiokarb, karbaril ve karbofuran çözeltilerine verdiği sinyal artışının oldukça düşük olduğu görülmektedir (Şekil 4.49). Yine baskılanmış ve baskılanmamış sensörler karşılaştırıldığında karbofuran sinyal duyarlılığının 11.535'den 0.144'e düştüğü görülmektedir. Hesaplanan seçicilik katsayıları bendiokarb için 24.490 (baskılanmış), 1.870 (baskılanmamış) olarak ve karbaril için 22.887 (baskılanmış), 1.516 (baskılanmamış) olarak bulundu (Çizelge 4.18). Baskılama seçiciliğini gösteren bağıl seçicilik katsayısı ise 13.096 (karbofuran/bendiokarb) ve 15.099 (karbofuran/karbaril) olarak hesaplandı.



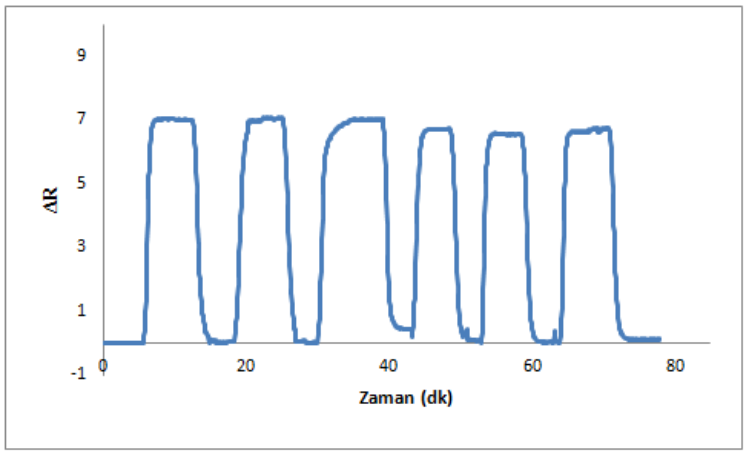

**Şekil 4.49.** 4.5 nM derişiminde a) karbofuran; b) bendiokarb; c) karbaril ve d) karbofuran, bendiokarb ve karbaril çözeltilerinin birlikte verildiği Kf-NIP/SPR sensör arasındaki etkileşimlere ait zamana karşı ΔR değerlerini gösteren sensorgramlar

Dong ve ark. (2012), moleküler baskılama temelli SPR sensör ile profenofos seçiciliği için benzer yapıda olan klorpirifos ve paration pestisitlerini kullanmışlarıdır. Profenofos'un klorpirifos ve paration'a göre yaklaşık 5 kat daha seçici olduğunu bildirmişlerdir. Agrawal ve ark. (2016) ise, moleküler baskılama yöntemi ile atrazin baskılı SPR sensörle seçicilik çalışmalarında sukroz, üre ve melamin kullanmışlardır. Sensörün atrazine karşı yüksek seçicilikte olduğunu belirlemiş olup moleküler baskılama tekniği ile hazırlanan polimerin atrazine özgü olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Dt-MIP/SPR ve Kf-MIP/SPR sensörlerde oluşturulan kavitelerin baskılanmış hedef dimetoat ve karbofuran moleküllerini tanıdığı, hedef moleküller için yapısal hafızalar ve olağanüstü molekül boyutu uyuşması, baskılanmış sensörlerin baskılanmamış sensörlerden iyi olduğunu söyleyebiliriz.

### 4.9.4. Karbofuran Baskılı SPR Sensörle Tekrar Kullanılabilirlik Analizi

2.25 nM derişimindeki karbofuran çözeltileri ile Kf-MIP/SPR sensörün tekrar kullanılabilirlik sensorgramı Şekil 4.50'de verilmiştir.

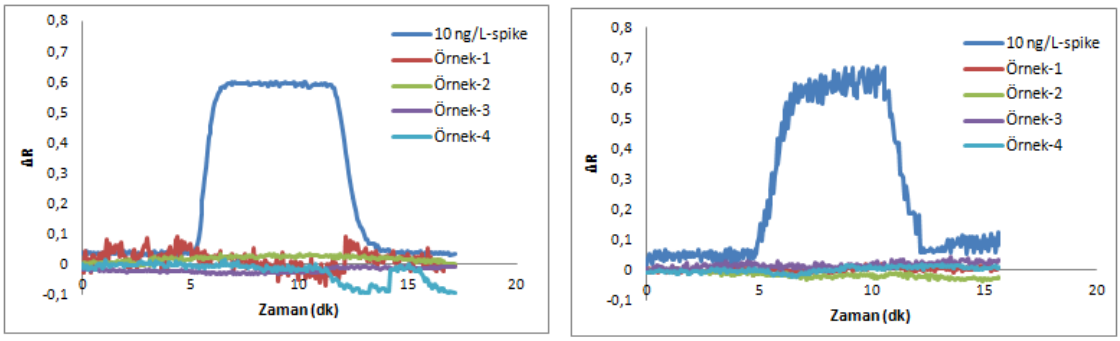



**Şekil 4.50.** Kf-MIP/SPR sensöre ait tekrar kullanılabilirlik sensorgramı

Karbofuran içeren çözeltinin sensör sisteminde birer hafta arayla yapılan altı tekrarlı analizleri sonucunda sensör çipinin tekrar tekrar kullanılabildiği belirlendi.

### 4.10. SPR Sensörlerle Doğal Kaynaktan Kinetik Analizler

Bu çalışma kapsamında P-MIP/SPR sensörler kullanıldı. Güneydoğu Anadolu Bölgesi Diyarbakır ili sınırları içerisinde Dicle Nehri'nden alınan çevre suyu örnekleri 0.22 µm şırınga ucu filtrelerden geçirilerek peristaltik pompa aracılığıyla SPR sensörler ile etkileştirildi. Şekil 4.51'de görüldüğü gibi P-MIP/SPR sensör yüzeylerine gönderilen çevre suyu örneklerinin sinyal değerleri sabit kalırken 10 ng/L standart ekleme (spike) ile ΔR sinyal değerleri önemli derecede artmaktadır.




(a) (b)

**Şekil 4.51.** Çevre suyu örnekleri ile P-MIP/SPR sensör arasındaki etkileşimlere ait ΔR/zaman sensogramı. a) dimetoat; b) karbofuran

Sonuç olarak, pestisit baskılı sensör çipler, hem sulu çözeltilerden hem de doğal kaynaktan pestisitlerin tayininde başarı ile kullanılabilmektedir.

### 4.11. LC-MS IT-TOF ile Dimetoat ve Karbofuran'ın Taranması

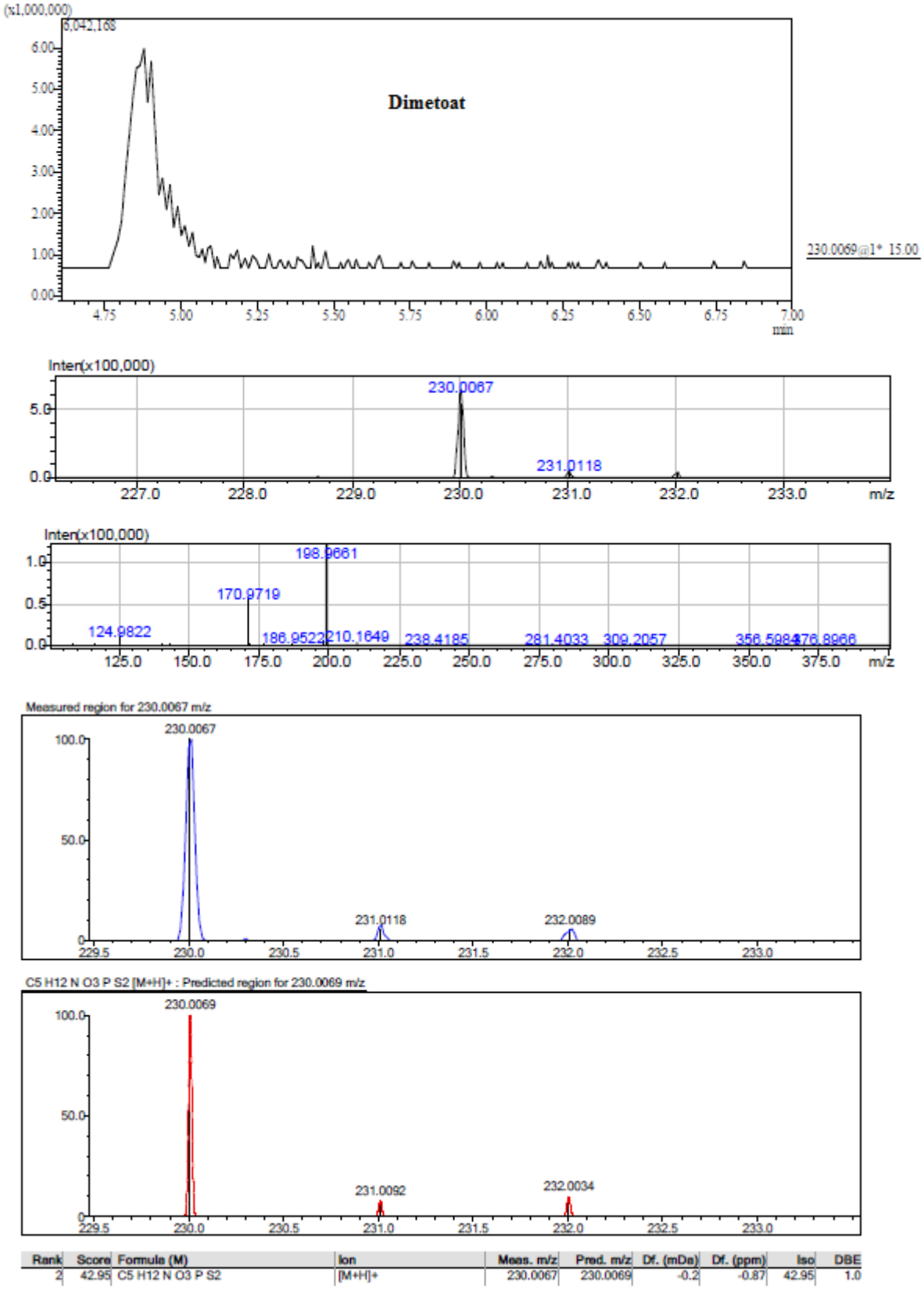
Çalışmamızın bu kısmında, LC-MS IT-TOF cihazında optimize edilen kapsamlı 20 dakikalık bir metot ile dimetoat ve karbofuran analiz edilerek genel profilleri belirlendi. Analitik metot ve cihazın parametreleri metot kısmında verildiğinden burada yalnızca sonuçlar üzerinde durulacaktır. Molekül formülleri tespit edilen analitlerin; alıkonma zamanları, parçalanma iyonları, tespit edilen iyon formları, ölçülen ve beklenen (teorik) m/z değerleri (tam kütle olarak verilmiştir), ppm cinsinden kütle hataları ve izotop skorları belirlenmiş olup değerler Çizelge 4.19'da verilmiştir.

**Çizelge 4.19.** Dimetoat ve karbofuran'ın LC-MS IT-TOF ile kalitatif analizi sonucu molekül formülleri, alıkonma zamanı (RT), ölçülen (m/z) değerler, beklenen (m/z) değerler

| No | Analit | RT | Formül | İyon | Parçalanma iyonu | Ölçülen m/z | Beklenen m/z | Fark (ppm) | İzotop Skor |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | **Dimetoat** | 4.83 | $C_5H_{12}NO_3PS_2$ | $[M+H]^+$ | 198.96-170.97 | 230.0067 | 230.0069 | -0.87 | 42.95 |
| 2 | **Karbofuran** | 7.96 | $C_{13}H_{24}O_{11}$ | $[M+H]^+$ | 165.09-123.04 | 222.1134 | 222.1125 | 4.05 | 84.63 |

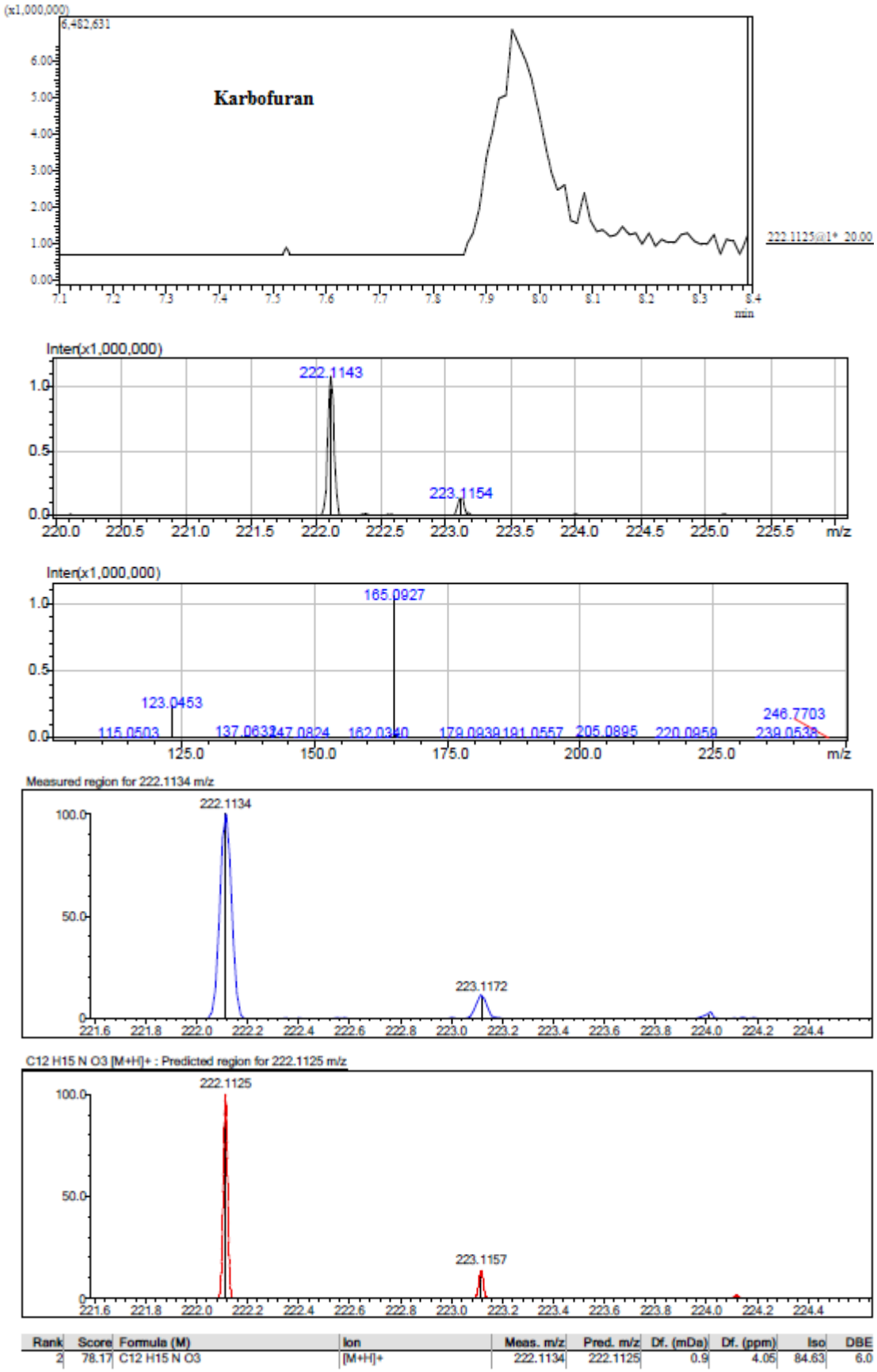
LC-MS IT-TOF taranması sonuçlarına göre, molekül formülleri tespit edilen dimetoat ve karbofuran'ın; alıkonma zamanları, iyon formları, ölçülen ve beklenen (teorik) m/z değerleri (tam kütle olarak verilmiştir), ppm cinsinden kütle hataları ve izotop skorları belirlenmiş olup parçalanma iyonları dimetoat için 199.00 m/z

karbofuran için 165.10 m/z olarak bulundu. LC-MS IT-TOF taramasına ait kromatogramlar (TIC) Şekil 4.52-4.53'te verilmiştir.




| Rank | Score | Formula (M) | Ion | Meas. m/z | Pred. m/z | Df. (mDa) | Df. (ppm) | Iso | DBE |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 2 | 42.95 | C5 H12 N O3 P S2 | [M+H]+ | 230.0067 | 230.0069 | -0.2 | -0.87 | 42.95 | 1.0 |

**Şekil 4.52.** Dimetoat'ın LC-MS IT-TOF kromatogramları




| Rank | Score | Formula (M) | Ion | Meas. m/z | Pred. m/z | Df. (mDa) | Df. (ppm) | Iso | DBE |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 2 | 78.17 | C12 H15 N O3 | [M+H]+ | 222.1134 | 222.1125 | 0.9 | 4.05 | 84.63 | 6.0 |

**Şekil 4.53.** Karbofuran'ın LC-MS IT-TOF kromatogramları

Bu çalışmaların ardından LC-MS IT-TOF taranması ile belirlenmiş olan parçalanma iyonları ve ölçülen tam kütleler göz önünde bulundurularak LC-MS/MS çalışmalarına geçildi.

### 4.12. LC-MS/MS ile Dimetoat ve Karbofuran'ın Kalitatif ve Kantitatif Analizi

Tez çalışmasının bu kısmında, dimetoat ve karbofuran standart maddelerinin LC-MS/MS cihazı ile kalitatif ve kantitatif analizi için kapsamlı bir metot hazırlanarak validasyon çalışmaları yapıldı.

LC-MS/MS analiz metoduna ait analitik parametreler (alıkonma zamanı (RT), ana (parent) iyonlar: standard bileşiklerin moleküler iyonları (m/z oranı), belirleme katsayısı ($R^2$), bağıl standart sapma (RSD), belirleme ve tayin alt sınırları (LOD/LOQ (ng/L)), %95 güven seviyesinde bağıl standart belirsizlik (k=2) (U (%)) Çizelge 4.20'de verilmiştir.

**Çizelge 4.20.** LC-MS/MS analiz metoduna ait analitik parametreler ([a]RT: Alıkonma zamanı, [b]Ana iyon(*m/z):*Standard bileşiklerin moleküler iyonları (m/z oranı), [c]$R^2$: Belirleme katsayısı, [d]RSD: Bağıl standart sapma, [e]LOD/LOQ (ng/L): Belirleme sınırı/Tayin sınırı, [f] U (%): %95 güven seviyesinde bağıl standart belirsizlik (k=2))

| No | Analitler | RT[a] | Ana İyon(m/z)[b] | Parçalanma İyonları | İyon Modu | Kalibrasyon Denklemi | $R^{2c}$ | RSD%[d] | | Lineerite Aralığı (ng/L) | LOD/LOQ (ng/L)[e] | Geri Kazanım (%) | | U[f] |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | | Aynı Gün | Farklı Günler | | | Aynı Gün | Farklı Günler | |
| **1** | **Dimetoat** | 0.61 | 229.80 | 199.00 | Poz | y=69.6358×-137.620 | 0.999 | 0.01556 | 0.01456 | 50-1000 | 16.92/20.53 | 1.00971 | 1.01037 | 0.0283 |
| **2** | **Karbofuran** | 0.96 | 221.90 | 165.10 | Poz | y=90.8707×-116.808 | 0.999 | 0.01364 | 0.01445 | 50-1000 | 20.47/24.91 | 1.00584 | 1.01008 | 0.0276 |

### 4.12.1. LC-MS/MS Metot Validasyon Parametreleri

Metodun performans özellikleri standart çözeltiler, standart ekleme (spike) yapılmış ve yapılmamış numuneler uygulanarak belirlendi. Bu amaçla metot validasyonu kapsamında doğrusallık (lineerite), gerçeklik (geri kazanım), kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik), belirleme ve tayin alt sınırı (LOD/LOQ) ile bağıl standart belirsizlik (U=%95 güven seviyesinde (k=2)) parametreleri değerlendirildi. Validasyon çalışmalarına ilişkin parametreler Çizelge 4.20'de gösterilmiştir.

### 4.12.2. Doğrusallık (Lineerite)

Dimetoat ve karbofuran standart maddelerinin kalitatif ve kantitatif analizini gerçekleştirmek için 5 farklı konsantrasyon aralığında (Çizelge 4.21) kalibrasyon eğrileri çizildi. LC-MS/MS metodundaki standartların lineer aralığının belirlenmesi için 3 tekrarlı 5 noktalı kalibrasyon eğrisi çizildi. Kalibrasyon eğrilerine ait denklemler ve belirleme katsayıları ($R^2$) Çizelge 4.20'de gösterilmiştir.

**Çizelge 4.21.** Standart maddeler için kullanılan kalibrasyon noktalarının derişimleri (ng/L)

| Grup | Analitler | Kalibrasyon 1 | Kalibrasyon 2 | Kalibrasyon 3 | Kalibrasyon 4 | Kalibrasyon 5 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **1** | **Dimetoat** | 50 | 100 | 250 | 500 | 1000 |
| **2** | **Karbofuran** | 50 | 100 | 250 | 500 | 1000 |

### 4.12.3. Gerçeklik (Geri Kazanım) ve Kesinlik (Tekrarlanabilirlik)

Metodun gerçeklik ve kesinlik çalışmaları, dimetoat ve karbofuran'ın aynı günde altı defa ve farklı günler içerisinde (3 farklı günde) altışar defa üç farklı konsantrasyonda (düşük, orta ve yüksek) her standardın kalibrasyonuna göre standart ekleme (spike) yapılarak gerçekleştirildi. Aynı gün ve farklı günlerde yapılan çalışmalar sonucunda, gerçeklik ve kesinliği belirlemek üzere geri kazanım ve % RSD değerleri bulundu (Çizelge 4.20). Gerçeklik ve kesinlik çalışmalarına ilişkin datalar Çizelge 4.23-4.28'de gösterilmiştir.

### 4.12.4. Belirleme ve Tayin Alt Sınırları (LOD/LOQ)

LC-MS/MS metodunda kullanılan standartların belirleme (LOD) ve tayin alt sınırlarının (LOQ) tespit edilmesinde analit içermeyen çevre suyu örneğinden hazırlanan 10 eş örneğe standardın sinyal verdiği en düşük derişimde standart ekleme yapılarak cihaza enjekte edildi. LOD ve LOQ değerleri aşağıdaki eşitliklere göre hesaplandı (Çizelge 4.20):

LOD=Ortalama+3×Standart Sapma

LOQ= Ortalama+10×Standart Sapma

LOD ve LOQ çalışmalarına ilişkin datalar Çizelge 4.22'de verilmiştir.

**Çizelge 4.22.** LC-MS/MS metodunda kullanılan standartların belirleme (LOD) ve tayin (LOQ) alt sınırlarının belirlenmesi çalışması

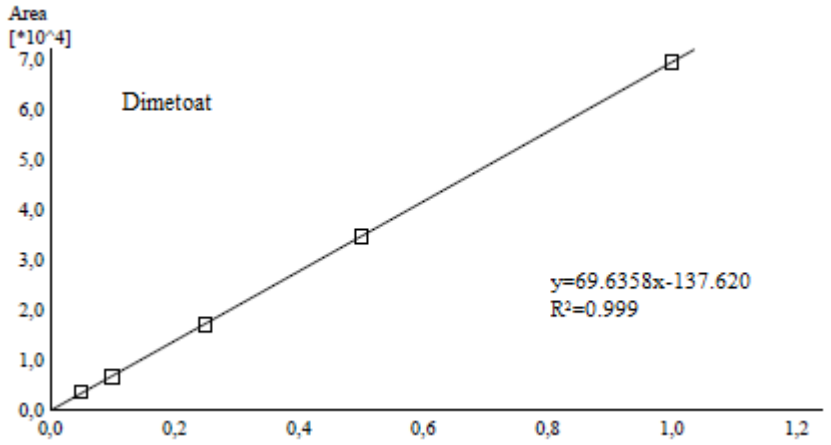
| No | Analit | 1. Okuma | 2. Okuma | 3. Okuma | 4. Okuma | 5. Okuma | 6. Okuma | 7. Okuma | 8. Okuma | 9. Okuma | 10. Okuma | ort | std | rsd | lod | loq |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **1** | **Dimetoat** | 15.36 | 16.01 | 14.98 | 15.06 | 15.20 | 14.68 | 14.95 | 16.11 | 15.28 | 16.08 | 15.37 | 0.52 | 0.03 | 16.92 | 20.53 |
| **2** | **Karbofuran** | 18.21 | 18.76 | 17.65 | 18.01 | 18.96 | 19.23 | 19.21 | 17.85 | 18.39 | 19.43 | 18.57 | 0.63 | 0.03 | 20.47 | 24.91 |

### 4.12.5. Bağıl Standart Belirsizlik ($U^{95}$)

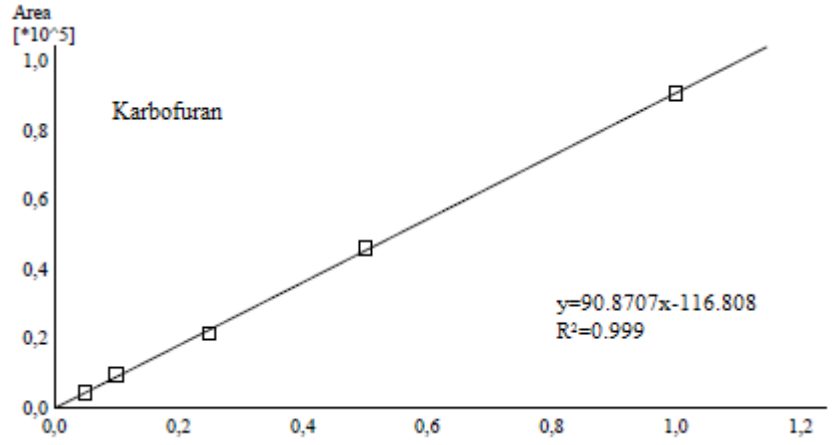
Analitlerin standart bağıl belirsizlikleri EURACHEM Guide'a göre gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik çalışmalarıyla belirlendi (EURACHEM CITAC Guide 2004). Her bir analit için yapılan belirsizlik çalışmalarının detayları Çizelge 4.23-4.28'de gösterilmiştir.

### 4.12.6. LC-MS/MS Metodundaki Analitlerin Kalibrasyon Grafikleri

Dimetoat ve karbofuran standart maddelerin LC-MS/MS metodu ile kalitatif ve kantitatif analizini gerçekleştirmek üzere 5 noktalı kalibrasyon eğrileri çizildi. Kalibrasyon eğrilerine ait grafikler, denklemler ve belirleme katsayıları ($R^2$) Şekil 4.54'de ve kalibrasyon grafikleri Şekil 4.55-4.59'da gösterilmiştir.

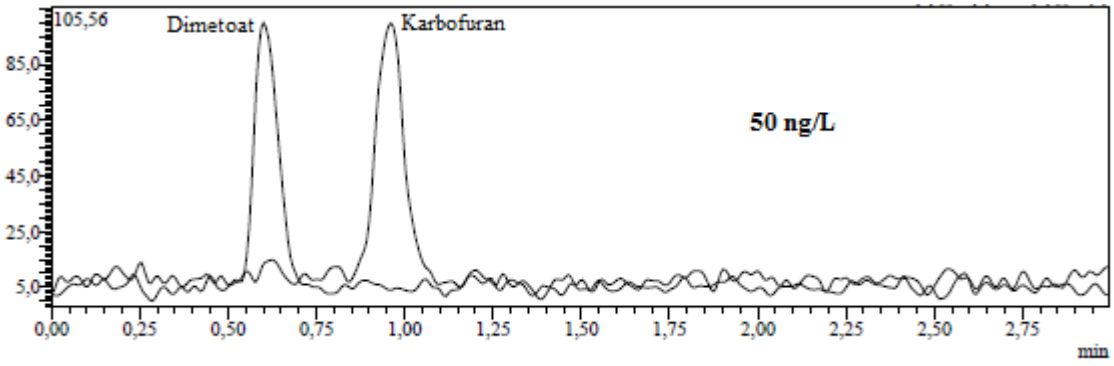



(a)

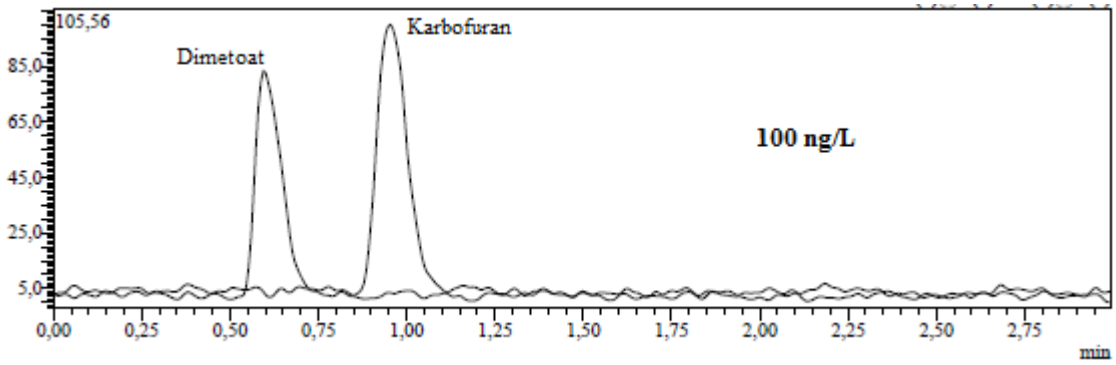



(b)

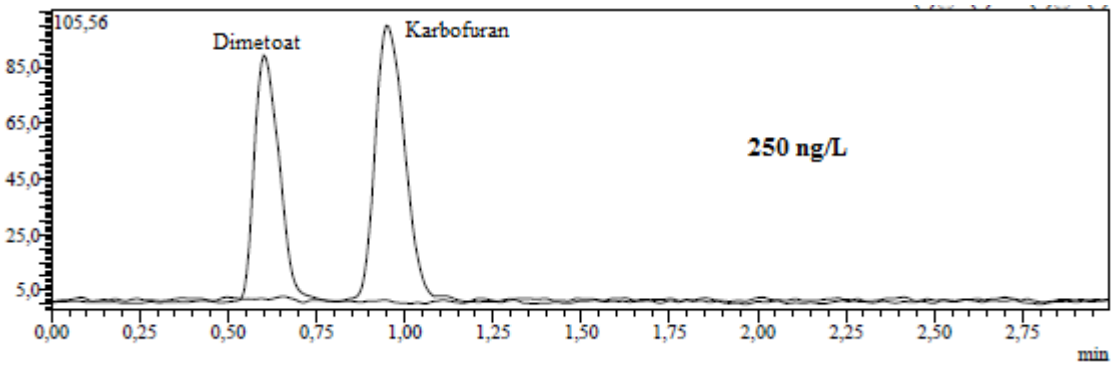
**Şekil 4.54.** LC-MS/MS metodundaki analitlerin kalibrasyon grafikleri;
a) dimetoat b) karbofuran



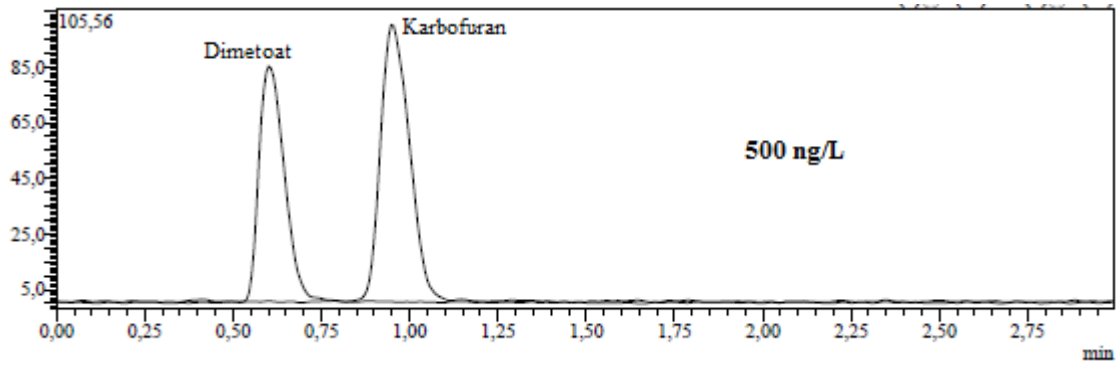

**Şekil 4.55.** LC-MS/MS metodundaki analitlerin kalibrasyon kromatogramları (50 ng/L)



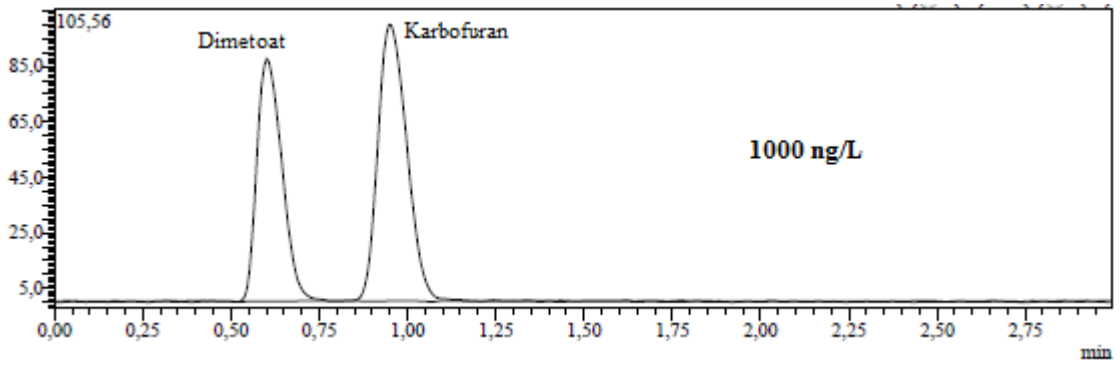

**Şekil 4.56.** LC-MS/MS metodundaki analitlerin kalibrasyon kromatogramları (100 ng/L)




**Şekil 4.57.** LC-MS/MS metodundaki analitlerin kalibrasyon kromatogramları (250 ng/L)




**Şekil 4.58.** LC-MS/MS metodundaki analitlerin kalibrasyon kromatogramları (500 ng/L)




**Şekil 4.59.** LC-MS/MS metodundaki analitlerin kalibrasyon kromatogramları (1000 ng/L)

### 4.12.7. LC-MS/MS Metot Validasyon Çalışmaları

Metodun performans özelliklerinin belirlenmesi için kapsamlı validasyon çalışmaları yapıldı (Çizelge 4.20). Bu amaçla metot validasyonu kapsamında doğrusallık (lineerite), gerçeklik (geri kazanım), kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik), belirleme ve tayin alt sınırı (LOD/LOQ) ile bağıl standart belirsizlik (U= %95 güven seviyesinde (k=2)) parametreleri değerlendirildi. Metod'un gerçeklik ve kesinlik çalışmaları, seçilen bir çevre suyu örneğine aynı günde altı defa ve farklı günler içerisinde (3 farklı günde) altışar defa üç farklı konsantrasyonda (düşük, orta ve yüksek) her standardın kalibrasyonuna göre standart ekleme (spike) yapılarak gerçekleştirildi. Aynı gün ve farklı günlerde yapılan çalışmalar sonucunda, gerçeklik ve kesinliği belirlemek üzere geri kazanım ve RSD (bağıl standart sapma) değerleri bulundu. Standartların belirleme (LOD) ve tayin alt sınırlarının (LOQ) tespit edilmesinde belirlenen bir çevre suyu örneğinden hazırlanan 10 eş örneğe standardın sinyal verdiği

en düşük derişimde standart ekleme yapılarak cihaza enjekte edildi. Analitlerin standart bağıl belirsizlikleri ($U^{95}$) EURACHEM Guide'a göre gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik çalışmalarıyla belirlendi. Validasyon çalışmalarında kullanılan bazı eşitlikler aşağıda verildi. Dimetoat ve karbofuran için validasyon çalışmalarının detayları (gerçeklik, kesinlik ve belirsizlik) Çizelge 4.23-4.28'de verilmiştir.

Ortalama ($\overline{x}$)= ($x_1$+$x_2$...$x_n$)/n

Standart Sapma $\sigma = \sqrt{\frac{1}{N}\sum_{i=1}^{N}(x_i - \bar{x})^2}$

RSD= Standart sapma/Ortalama

Geri Kazanım=100×Bulunan miktar/standart ekleme yapılan miktar

% Geri Kazanım=Geri kazanım/100

LOD=Ortalama+3×Standart Sapma

LOQ= Ortalama+10×Standart Sapma

**Çizelge 4.23.** Dimetoat için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları (RSD: bağıl standart sapma, Ort.:ortalama, Std.:standart sapma)

| taotemiD | ekipSkoy | Düşük spike (50 ng/L) | Geri Kaz. | Geri Kaz. (%) | Orta spike (250 ng/L) | Geri Kaz. | Geri Kaz. (%) | Yüksek spike (1000 ng/L) | Geri Kaz. | Geri Kaz. (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Aynı Gün | 0 | 48.96 | 97.92 | 0.98 | 252.85 | 101.14 | 1.01 | 1029.38 | 102.94 | 1.03 |
| | 0 | 51.68 | 103.36 | 1.03 | 248.79 | 99.52 | 1.00 | 1036.47 | 103.65 | 1.04 |
| | 0 | 51.12 | 102.24 | 1.02 | 251.48 | 100.59 | 1.01 | 1008.36 | 100.84 | 1.01 |
| | 0 | 51.83 | 103.66 | 1.04 | 252.86 | 101.14 | 1.01 | 998.31 | 99.83 | 1.00 |
| | 0 | 49.48 | 98.96 | 0.99 | 249.45 | 99.78 | 1.00 | 994.48 | 99.45 | 0.99 |
| | 0 | 50.68 | 101.36 | 1.01 | 250.12 | 100.05 | 1.00 | 1010.54 | 101.05 | 1.01 |
| **Ort.** | | 50.63 | 101.25 | 1.01 | 250.93 | 100.37 | 1.00 | 1012.92 | 101.29 | 1.01 |
| **Std** | | 1.17 | 2.35 | 0.02 | 1.74 | 0.70 | 0.01 | 16.77 | 1.68 | 0.02 |
| **RSD** | | 0.02 | 0.02 | 0.02 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.02 | 0.02 | 0.02 |
| Farklı Günler (1) | 0 | 50.67 | 101.34 | 1.01 | 251.32 | 100.53 | 1.01 | 1045.00 | 104.50 | 1.05 |
| | 0 | 49.23 | 98.46 | 0.98 | 251.39 | 100.56 | 1.01 | 1039.33 | 103.93 | 1.04 |
| | 0 | 48.78 | 97.56 | 0.98 | 248.78 | 99.51 | 1.00 | 1033.96 | 103.40 | 1.03 |
| | 0 | 51.25 | 102.50 | 1.03 | 249.63 | 99.85 | 1.00 | 1007.93 | 100.79 | 1.01 |
| | 0 | 51.11 | 102.22 | 1.02 | 252.18 | 100.87 | 1.01 | 1009.31 | 100.93 | 1.01 |
| | 0 | 49.38 | 98.76 | 0.99 | 250.37 | 100.15 | 1.00 | 1013.25 | 101.33 | 1.01 |
| | 0 | 49.39 | 98.78 | 0.99 | 248.20 | 99.28 | 0.99 | 998.39 | 99.84 | 1.00 |
| Farklı Günler (2) | 0 | 50.19 | 100.38 | 1.00 | 251.60 | 100.64 | 1.01 | 997.56 | 99.76 | 1.00 |
| | 0 | 50.90 | 101.80 | 1.02 | 250.83 | 100.33 | 1.00 | 1016.38 | 101.64 | 1.02 |
| | 0 | 49.64 | 99.28 | 0.99 | 252.10 | 100.84 | 1.01 | 1008.97 | 100.90 | 1.01 |
| | 0 | 48.79 | 97.58 | 0.98 | 249.74 | 99.90 | 1.00 | 1016.56 | 101.66 | 1.02 |
| | 0 | 51.29 | 102.58 | 1.03 | 248.32 | 99.33 | 0.99 | 1024.96 | 102.50 | 1.02 |
| | 0 | 51.64 | 103.28 | 1.03 | 251.80 | 100.72 | 1.01 | 1044.61 | 104.46 | 1.04 |
| Farklı Günler (3) | 0 | 50.86 | 101.72 | 1.02 | 250.99 | 100.40 | 1.00 | 1043.52 | 104.35 | 1.04 |
| | 0 | 51.72 | 103.44 | 1.03 | 248.19 | 99.28 | 0.99 | 1039.55 | 103.96 | 1.04 |
| | 0 | 49.18 | 98.36 | 0.98 | 248.10 | 99.24 | 0.99 | 1046.34 | 104.63 | 1.05 |
| | 0 | 48.92 | 97.84 | 0.98 | 249.37 | 99.75 | 1.00 | 1044.86 | 104.49 | 1.04 |
| | 0 | 50.49 | 100.98 | 1.01 | 252.60 | 101.04 | 1.01 | 1038.96 | 103.90 | 1.04 |
| **F.G.Ort.** | 0 | 50.19 | 100.38 | 1.0038 | 251.31 | 100.12 | 1.0012 | 1026.08 | 102.61 | 1.0261 |
| **F.G.Std** | 0 | 1.0289 | 2.058 | 0.021 | 1.5445 | 0.618 | 0.006 | 17.4689 | 1.747 | 0.017 |
| **F.G.RSD** | 0 | 0.021 | 0.021 | 0.021 | 0.006 | 0.006 | 0.006 | 0.017 | 0.017 | 0.017 |
| **Gen.Ort** | 0 | 50.30 | 100.60 | 1.0060 | 250.46 | 100.18 | 1.0018 | 1022.79 | 102.28 | 1.0228 |
| **Gen.Std** | 0 | 1.0580 | 2.116 | 0.0212 | 1.5800 | 0.632 | 0.0063 | 17.9033 | 1.790 | 0.0179 |
| **Gen.RSD** | 0 | 0.0210 | 0.021 | 0.021 | 0.0063 | 0.006 | 0.006 | 0.0175 | 0.018 | 0.018 |

**RSD (Pool)** 0.014041077

**Çizelge 4.24.** Dimetoat için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

| Analit | G.K.Çal. (ng/L) | % Ortalama Geri Kazanım | Analiz Son.St.Sap. | % Geri Alma St. Sap. | RSD | Paralel Sayısı |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 50 | 1.0060 | 1.0580 | 0.0212 | 0.0210 | 24 |
| **Dimetoat** | 250 | 1.0018 | 1.5800 | 0.0063 | 0.0063 | 24 |
| | 1000 | 1.0228 | 17.9033 | 0.0179 | 0.0175 | 24 |
| **ort** | | 1.0102 | | 0.0151 | 0.0149 | n=72 |
| | | | | | **karakök n:** | 8.4852814 |
| **Standard belirsizlik (ort(% geri alma std. sap.)/karekök n):** | | | | | | 0.0017835 |

**Çizelge 4.25.** Dimetoat için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

| Belirsizlik Kaynakları | x Değeri | Standart Belirsizlik u(x) | Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x |
|---|---|---|---|
| **Kesinlik** | **1** | ($RSD_{pool}$) **0.0140** | ($RSD_{pool}$/1) **0.0140 (c)** |
| **Gerçeklik** | (ort(% ort.geri kazanım)) **1.0102 (a)** | (Standard belirsizlik) **0.0018 (b)** | (b/a) **0.0018 (d)** |
| **Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik $u(P_{op})/P_{op}$** | | | (Karekök ($c^2+d^2$) **0.0142 (e)** |
| **Genişletilmiş belirsizlik (k=2, %95 Güven aralığı)** | | | (2×e) **<u>0.0283</u>** |

**Çizelge 4.26.** Karbofuran için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları (RSD: bağıl standart sapma, Ort.:ortalama, Std.:standart sapma)

| narufobraK | ekipSkoy | Düşük spike (50 ng/L) | Geri Kaz. | Geri Kaz. (%) | Orta spike (250 ng/L) | Geri Kaz. | Geri Kaz. (%) | Yüksek spike (1000 ng/L) | Geri Kaz. | Geri Kaz. (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Aynı Gün | 0 | 49.13 | 98.26 | 0.98 | 251.58 | 100.63 | 1.01 | 998.24 | 99.82 | 1.00 |
| | 0 | 50.86 | 101.72 | 1.02 | 249.96 | 99.98 | 1.00 | 999.34 | 99.93 | 1.00 |
| | 0 | 50.12 | 100.24 | 1.00 | 248.68 | 99.47 | 0.99 | 1024.36 | 102.44 | 1.02 |
| | 0 | 52.76 | 105.52 | 1.06 | 252.88 | 101.15 | 1.01 | 998.31 | 99.83 | 1.00 |
| | 0 | 49.90 | 99.80 | 1.00 | 250.45 | 100.18 | 1.00 | 998.47 | 99.85 | 1.00 |
| | 0 | 50.29 | 100.58 | 1.01 | 250.12 | 100.05 | 1.00 | 1010.54 | 101.05 | 1.01 |
| **Ort.** | | 50.51 | 101.02 | 1.01 | 250.61 | 100.24 | 1.00 | 1004.88 | 100.49 | 1.00 |
| **Std** | | 1.24 | 2.48 | 0.02 | 1.45 | 0.58 | 0.01 | 10.68 | 1.07 | 0.01 |
| **RSD** | | 0.02 | 0.02 | 0.02 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 |
| Farklı Günler (1) | 0 | 51.33 | 102.66 | 1.03 | 252.37 | 100.95 | 1.01 | 1015.90 | 101.59 | 1.02 |
| | 0 | 49.26 | 98.52 | 0.99 | 251.39 | 100.56 | 1.01 | 1035.22 | 103.52 | 1.04 |
| | 0 | 49.68 | 99.36 | 0.99 | 249.94 | 99.98 | 1.00 | 1024.69 | 102.47 | 1.02 |
| | 0 | 52.34 | 104.68 | 1.05 | 249.21 | 99.68 | 1.00 | 1013.45 | 101.35 | 1.01 |
| | 0 | 51.93 | 103.86 | 1.04 | 252.36 | 100.94 | 1.01 | 1009.31 | 100.93 | 1.01 |
| | 0 | 49.38 | 98.76 | 0.99 | 252.27 | 100.91 | 1.01 | 1013.25 | 101.33 | 1.01 |
| | 0 | 49.60 | 99.20 | 0.99 | 248.19 | 99.28 | 0.99 | 997.65 | 99.77 | 1.00 |
| Farklı Günler (2) | 0 | 50.19 | 100.38 | 1.00 | 252.63 | 101.05 | 1.01 | 998.38 | 99.84 | 1.00 |
| | 0 | 51.38 | 102.76 | 1.03 | 251.38 | 100.55 | 1.01 | 1002.89 | 100.29 | 1.00 |
| | 0 | 49.64 | 99.28 | 0.99 | 252.10 | 100.84 | 1.01 | 1008.97 | 100.90 | 1.01 |
| | 0 | 48.79 | 97.58 | 0.98 | 249.74 | 99.90 | 1.00 | 1011.57 | 101.16 | 1.01 |
| | 0 | 51.21 | 102.42 | 1.02 | 247.12 | 98.85 | 0.99 | 1024.96 | 102.50 | 1.02 |
| | 0 | 51.69 | 103.38 | 1.03 | 248.36 | 99.34 | 0.99 | 1024.55 | 102.46 | 1.02 |
| Farklı Günler (3) | 0 | 50.43 | 100.86 | 1.01 | 247.90 | 99.16 | 0.99 | 1033.68 | 103.37 | 1.03 |
| | 0 | 51.22 | 102.44 | 1.02 | 248.91 | 99.56 | 1.00 | 1039.55 | 103.96 | 1.04 |
| | 0 | 49.13 | 98.26 | 0.98 | 248.10 | 99.24 | 0.99 | 1036.41 | 103.64 | 1.04 |
| | 0 | 49.90 | 99.80 | 1.00 | 249.37 | 99.75 | 1.00 | 1044.86 | 104.49 | 1.04 |
| | 0 | 51.19 | 102.38 | 1.02 | 249.66 | 99.86 | 1.00 | 1038.96 | 103.90 | 1.04 |
| **F.G.Ort.** | 0 | 50.46 | 100.92 | 1.0092 | 251.31 | 100.02 | 1.0002 | 1020.79 | 102.08 | 1.0208 |
| **F.G.Std** | 0 | 1.0862 | 2.172 | 0.022 | 1.8170 | 0.727 | 0.007 | 14.9032 | 1.490 | 0.015 |
| **F.G.RSD** | 0 | 0.022 | 0.022 | 0.022 | 0.007 | 0.007 | 0.007 | 0.015 | 0.015 | 0.015 |
| **Gen.Ort** | 0 | 50.47 | 100.95 | 1.0095 | 250.19 | 100.08 | 1.0008 | 1016.81 | 101.68 | 1.0168 |
| **Gen.Std** | 0 | 1.0980 | 2.196 | 0.0220 | 1.7197 | 0.688 | 0.0069 | 15.4443 | 1.544 | 0.0154 |
| **Gen.RSD** | 0 | 0.0218 | 0.022 | 0.022 | 0.0069 | 0.007 | 0.007 | 0.0152 | 0.015 | 0.015 |

**RSD (Pool)** 0.013704077

**Çizelge 4.27.** Karbofuran için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

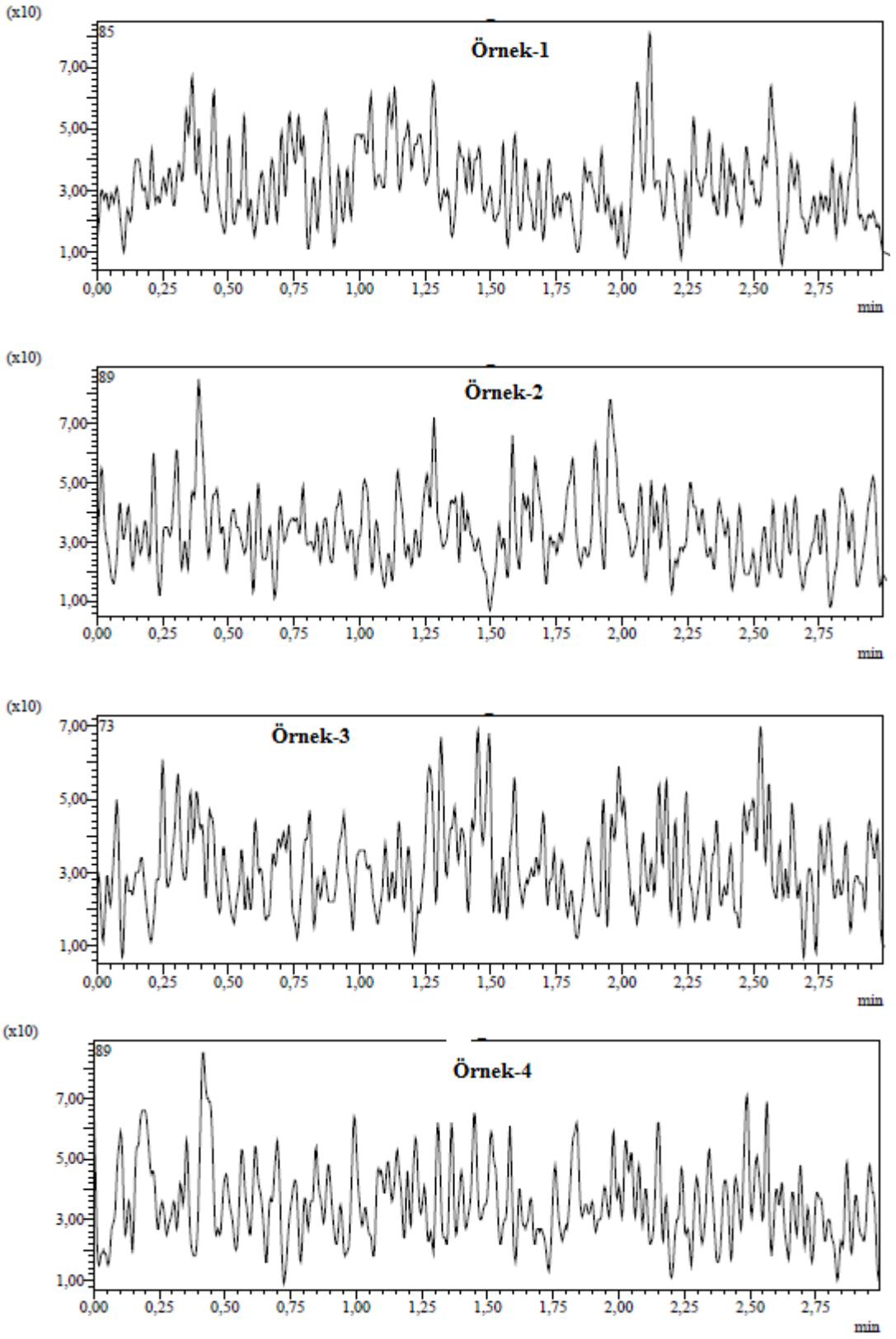
| Analit | G.K.Çal. (ng/L) | % Ortalama Geri Kazanım | Analiz Son.St.Sap. | % Geri Alma St. Sap. | RSD | Paralel Sayısı |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Karbofuran** | 50 | 1.0095 | 1.0980 | 0.0220 | 0.0218 | 24 |
| | 250 | 1.0008 | 1.7197 | 0.0069 | 0.0069 | 24 |
| | 1000 | 1.0168 | 15.4443 | 0.0154 | 0.0152 | 24 |
| **ort** | | 1.0090 | | 0.0148 | 0.0146 | n=72 |
| | | | | | **karakök n:** | 8.4852814 |
| **Standard belirsizlik (ort(%geri alma std. sap.)/karekök n):** | | | | | | 0.0017403 |

**Çizelge 4.28.** Karbofuran için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

| Belirsizlik Kaynakları | x Değeri | Standart Belirsizlik u(x) | Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x |
|---|---|---|---|
| **Kesinlik** | **1** | ($RSD_{pool}$) **0.0137** | ($RSD_{pool}$/1) **0.0137 (c)** |
| **Gerçeklik** | (ort(% ort.geri kazanım)) **1.009 (a)** | (Standard belirsizlik) **0.0017 (b)** | (b/a) **0.0017 (d)** |
| **Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik $u(P_{op})/P_{op}$** | | | (Karekök ($c^2+d^2$) **0.0138 (e)** |
| **Genişletilmiş belirsizlik (k=2, %95 Güven aralığı)** | | | (2×e) **<u>0.0276</u>** |

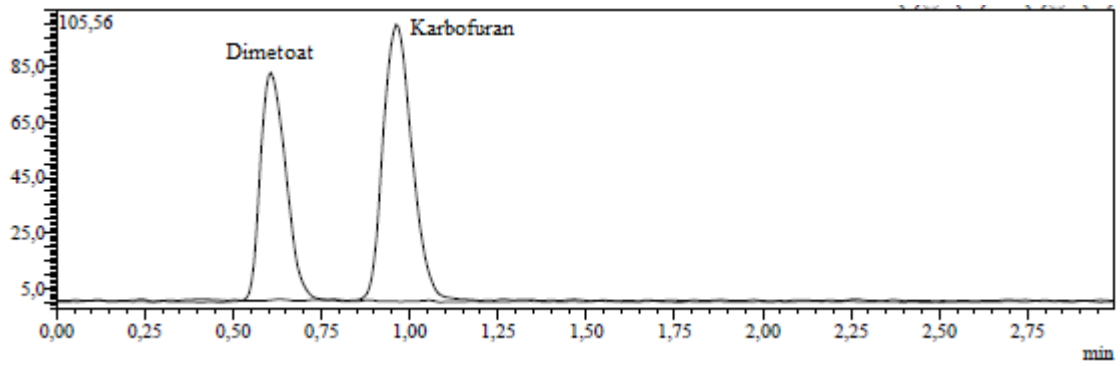
### 4.12.8. LC-MS/MS Analizine İlişkin Standart ve Numune Kromatogramları

Dimetoat ve karbofuran standart maddelerine özgü metot geliştirilerek validasyon çalışmaları yapıldı. Güneydoğu Anadolu Bölgesi Diyarbakır ili sınırları içerisinde Dicle Nehri'nden alınan dört farklı çevre suyu örneği, 0.22 µm şırınga ucu filtrelerden geçirilerek cihaza enjeksiyonu sonucu analizleri yapıldı. Örneklerin LC-MS/MS metodu ile taranmasına ilişkin kromatogramlar Şekil 4.60'ta gösterilmiştir.




**Şekil 4.60.** Çevre suyu örneklerinin kromatogramları

Analiz sonucunda çalışılan kalibrasyon aralığında çevre suyu örneklerinin içerisinde taraması yapılmak istenen dimetoat ve karbofuran'a rastlanılmadığı Şekil 4.60'daki kromatoğramlardan anlaşılmaktadır. Çevre suyu örneklerinin içerisinde taraması yapılmak istenen dimetoat ve karbofuran standart maddelerin her biri için standart eklemesi (500 ng/L) yapılarak altı tekrarlı okuma ile analizler gerçekleştirildi. LC-MS/MS metodu ile taranmasına ilişkin örnek bir kromatogram Şekil 4.61'de gösterilmiştir.




**Şekil 4.61.** Standart eklenen (Spike-500 ng/L) örnek bir çevre suyu kromatoğramı

Standart eklenmiş (Spike-500 ng/L) çevre suyu örneklerin LC-MS/MS metodu ile taranmasına ilişkin veriler Çizelge 4.29'da gösterilmiştir.

**Çizelge 4.29.** Çevre suyu örneklerinin standart eklenmiş (Spike-500 ng/L) LC-MS/MS sonuçları

| Dimetoat | koy ekipS | Örnek + Spike (500 ng/L) | Karbofuran | ekipS koy | Örnek + Spike (500 ng/L) |
|---|---|---|---|---|---|
| **Örnek-1** | 0 | 501.79 | **Örnek-1** | 0 | 499.38 |
| | 0 | 502.08 | | 0 | 498.86 |
| | 0 | 500.64 | | 0 | 500.73 |
| | 0 | 501.20 | | 0 | 502.10 |
| | 0 | 499.27 | | 0 | 501.69 |
| | 0 | 500.94 | | 0 | 501.48 |
| **Ort.** | | **500.98** | **Ort.** | | **500.71** |
| **Örnek-2** | 0 | 499.15 | **Örnek-2** | 0 | 498.95 |
| | 0 | 501.87 | | 0 | 498.18 |
| | 0 | 500.08 | | 0 | 501.82 |
| | 0 | 502.68 | | 0 | 500.16 |
| | 0 | 502.76 | | 0 | 502.96 |
| | 0 | 499.93 | | 0 | 501.59 |
| **Ort.** | | **501.08** | **Ort.** | | **500.61** |
| **Örnek-3** | 0 | 500.46 | **Örnek-3** | 0 | 499.08 |
| | 0 | 502.91 | | 0 | 499.19 |
| | 0 | 502.93 | | 0 | 500.81 |
| | 0 | 501.06 | | 0 | 500.65 |
| | 0 | 502.73 | | 0 | 500.48 |
| | 0 | 501.99 | | 0 | 501.05 |
| **Ort.** | | **502.01** | **Ort.** | | **500.21** |
| **Örnek-4** | 0 | 502.83 | **Örnek-4** | 0 | 501.63 |
| | 0 | 502.01 | | 0 | 500.69 |
| | 0 | 502.93 | | 0 | 501.35 |
| | 0 | 501.88 | | 0 | 502.75 |
| | 0 | 502.63 | | 0 | 501.11 |
| | 0 | 502.41 | | 0 | 502.27 |
| **Ort.** | | **502.45** | **Ort.** | | **501.63** |

### 4.12.9. QCM-SPR Sensör Sistemleri'nin LC-MS/MS ile Doğrulama ve Kıyaslama Çalışmaları

Tez çalışmasının bu kısmındaki amacımız, QCM ve SPR sensör sistemlerinde dimetoat ve karbofuranın bağlanma doğruluğunu, metod validasyonu yaptığımız LC-MS/MS gibi oldukça popüler kromatoğrafik bir sistem ile test etmek ve LC-MS/MS ile aralarındaki tayin limitleri olasılıklarını kıyaslamaktır.

Daha önce de belirtildiği gibi, çalışmamızın ilk aşamasında QCM ve SPR sensör sistemlerinde dimetoat ve karbofuran tayini için moleküler baskılanmış QCM ve SPR sensörler ayrı ayrı hazırlandı. QCM ve SPR sinyallerinin dimetoat ve karbofuran derişimleri arasındaki ilişkinin değerlendirilebilmesi için farklı derişim aralığında (her bir pestisit için 10-1000 ng/L aralığı) çözeltiler hazırlanarak kinetik analiz çalışmaları yapıldı. Sonraki aşamada ise, LC-MS/MS cihazı ile dimetoat ve karbofuran standart maddelerinin (50-100-250-500-1000 ng/L) kalitatif ve kantitatif analizi için kapsamlı bir metot hazırlanarak çevre suyu örnek numunelerle validasyon çalışmaları yapıldı.

QCM ve SPR sensör sistemlerinde çalışılan farklı derişimlerde hazırlanmış standart çözeltiler arasında üç farklı derişim (10-100-1000 ng/L) belirlenerek sensör sistemlerinde çalışma esnasında adsorpsiyon öncesi ve adsorpsiyon sonrası örnek çözeltileri alındı ve LC-MS/MS cihazı ile ölçümleri yapıldı. QCM ve SPR sensör sistemlerinde çalışma esnasında alınan bu üç farklı derişimdeki çözelti örneklerinden en düşük konsantrasyon (10 ng/L)'un, LC-MS/MS sisteminde valide edilen metoda göre tayin limitinin altında kalmasından dolayı LC-MS/MS çalışmalarında bu üç örnek çözeltiye ilaveten standart ekleme (spike) yöntemine başvuruldu. Dimetoat ve karbofuran için adsorpsiyon öncesi ve adsorpsiyon sonrası alınan örneklerin LC-MS/MS cihazı ile altışar tekrarı yapılarak ortalama değerleri alındı (Çizelge 4.30-4.33).

**Çizelge 4.30.** Dimetoat QCM çalışmasının adsorpsiyon öncesi ve adsorpsiyon sonrası LC-MS/MS analiz sonuçları

| Konst. (ng/L) | Ads. Öncesi + 500 ng/L-spike Ort. | Ads. Sonrası + 500 ng/L-spike Ort. | % Bağlanma Ort. |
|---|---|---|---|
| **10 ng/L (düşük)** | 511.48 | 500.94 | 91.8 |
| **100 ng/L (orta)** | 603.60 | 511.39 | 89.0 |
| **1000 ng/L (yüksek)** | 1503.92 | 603.49 | 89.6 |
| **Ortalama** | | | **90.13** |

**Çizelge 4.31.** Karbofuran QCM çalışmasının adsorpsiyon öncesi ve adsorpsiyon sonrası LC-MS/MS analiz sonuçları

| Konst. (ng/L) | Ads. Öncesi + 500 ng/L-spike Ort. | Ads. Sonrası + 500 ng/L-spike Ort. | % Bağlanma Ort. |
|---|---|---|---|
| **10 ng/L (düşük)** | 510.39 | 500.54 | 94.8 |
| **100 ng/L (orta)** | 602.15 | 505.92 | 94.2 |
| **1000 ng/L (yüksek)** | 1506.07 | 567.41 | 93.3 |
| **Ortalama** | | | **94.1** |

**Çizelge 4.32.** Dimetoat SPR çalışmasının adsorpsiyon öncesi ve adsorpsiyon sonrası LC-MS/MS analiz sonuçları

| Konst. (ng/L) | Ads. Öncesi + 500 ng/L-spike Ort. | Ads. Sonrası + 500 ng/L-spike Ort. | % Bağlanma Ort. |
|---|---|---|---|
| **10 ng/L (düşük)** | 511.09 | 501.08 | 90.2 |
| **100 ng/L (orta)** | 601.93 | 512.53 | 87.7 |
| **1000 ng/L (yüksek)** | 1502.18 | 621.26 | 87.9 |
| **Ortalama** | | | **88.6** |

**Çizelge 4.33.** Karbofuran SPR çalışmasının adsorpsiyon öncesi ve adsorpsiyon sonrası LC-MS/MS analiz sonuçları

| Konst. (ng/L) | Ads. Öncesi + 500 ng/L-spike Ort. | Ads. Sonrası + 500 ng/L-spike Ort. | % Bağlanma Ort. |
|---|---|---|---|
| **10 ng/L (düşük)** | 509.17 | 500.09 | 90.5 |
| **100 ng/L (orta)** | 598.86 | 506.52 | 93.4 |
| **1000 ng/L (yüksek)** | 1509.49 | 578.74 | 92.2 |
| **Ortalama** | | | **92.03** |

Çizelge 4.30-4.33 incelendiğinde, dimetoat ve karbofuran'ın QCM ve SPR sensör sistemlerindeki analiz sonuçlarını metot validasyonunu yapmış olduğumuz LC-MS/MS gibi kromatografik bir sistem ile % bağlanma ortalama değerleri hesaplandı. Bu kapsamda daha önce de belirtildiği gibi QCM ve SPR sensör sistemlerindeki bağlanma kinetik analiz verileri (Çizelge 4.4, 4.7, 4.13 ve 4.16) ile sensör sistemlerindeki adsorpsiyon öncesi ve adsorpsiyon sonrası LC-MS/MS analiz sonuçları örtüşmektedir.

Sonuç olarak QCM ve SPR sensör sistemlerinde dimetoat ve karbofuran baskılı sensörlerle yapmış olduğumuz spesifik bağlanma çalışmalarının doğruluğu LC-MS/MS sistemi ile test edildi.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sunulan tez çalışmasında, çevre sularında eser miktarda bulunmasına rağmen, yüksek toksisiteye sahip ve tarım ilaçları formülasyonunda en sık kullanılan organik fosforlu insektisit olan dimetoat ile karbamatlı insektisit karbofuran'ın tayinine yönelik son zamanlarda oldukça popüler olan moleküler baskılama yöntemi kullanıldı.

Kuvars kristal mikroterazi (QCM) ve yüzey plazmon rezonans (SPR) sensörler gerçek zamanlı ölçümleri, yüksek seçiciliği ve hassasiyeti gibi birçok avantajından dolayı özellikle de hedef molekülün tespiti ve karakterizasyonu gibi geniş aralıktaki uygulamalar için popülerlik kazanmıştır. Çalışmada gerçek zamanlı iki farklı pestisit tayini için moleküler baskılama temelli QCM ve SPR sensörler hazırlandı. Hazırlanan QCM ve SPR sensörlerin yüksek seçiciliği, doğruluğu, hassasiyeti, daha düşük tayin limitlerine inilmesi ve çevre suyu örnekleri üzerindeki uygulamaları sıvı kromoatografisi üçlü kuadrupol (tandem) kütle spektrometresi (LC-MS/MS) ile detaylı bir şekilde incelendi.

Dimetoat ve karbofuran hedef molekülleri ile etkileşmesi için uygun yapıda fonksiyonel monomer olarak seçilen N-metakriloil-L-triptofan metil ester (MATrp), L-triptofan metil ester ve metakriloil klorür'den sentezlendi ve FTIR-ATR çalışmaları ile karakterize edildi. 3403 $cm^{-1}$'de N-H gerilmesi, 2993 ve 2955 $cm^{-1}$'de sırasıyla aromatik ve alifatik C-H gerilme bandları, 1715 $cm^{-1}$'de karbonil C=O bandları gözlendi. 1448 $cm^{-1}$, 1235 $cm^{-1}$ ve 1146 $cm^{-1}$'de görülen bandların ise sırasıyla aromatik C-C, C-N ve C-O gerilmelerine ait olduğu tespit edildi.

FTIR-ATR spektrumu MATrp monomerinin başarıyla sentezlendiğini gösterdi.

p(EGDMA-MATrp) polimerin karakterizasyonu FTIR-ATR spektrofotometresi kullanılarak gerçekleştirildi. Spektrumda sırasıyla 3345 $cm^{-1}$'de N-H gerilmesi, 1728 $cm^{-1}$, 1662 $cm^{-1}$ ve 1610 $cm^{-1}$'deki bandların karbonil ve amid I, II grubuna ait olduğu, 1201 ve 1144 $cm^{-1}$'de ise simetrik ve asimetrik C-O gerilmeleri tespit edilmiş olup, p(EGDMA-MATrp) polimerin başarıyla sentezlendiğini söyleyebiliriz.

Moleküler baskılama tekniği kullanılarak, sentezlenen MATrp ile hedef molekülün (dimetoat veya karbofuran) etkileşimi ile ön-polimerizasyon gerçekleştirildi. Uygun çapraz bağlayıcı ve başlatıcı ilavesiyle hazırlanan karışım QCM ve SPR sensör

çiplerinin altın yüzeylerine damlatılarak UV ışığı altında polimerleşme işlemi gerçekleştirildi. Ayrıca baskılanmamış nanofilmler aynı yöntemle sadece ortama hedef molekül eklenmeksizin hazırlandı. Pestisit baskılanmış nanofilmlerin karakterizasyonu FTIR-ATR spektrofotometresi kullanılarak gerçekleştirildi. Bu doğrultuda; Dimetoat baskılanmış nanofilmin spektrumu incelendiğinde 3307 $cm^{-1'}$deki bandın N–H gerilmesi, 2950 $cm^{-1'}$deki bandın C–H gruplarının gerilme titreşimleri, 1615 $cm^{-1}$ ve 1507 $cm^{-1'}$deki absorpsiyon bandlarının sırası ile amid I (C=O ve C–N gerilme titreşimlerine) ve amid II (N–H deformasyon ve C–N gerilme titreşimlerine) bandları, 935 $cm^{-1'}$deki bandın ise P=S gerilme bandına ait olduğu belirlendi. Karbofuran baskılanmış polimere ait spektrumda ise 3326 $cm^{-1'}$deki bandın -N–H gerilme bandına, 2941 $cm^{-1'}$deki absorpsiyonun C-H gerilme bandına, 1736 $cm^{-1'}$deki pikin karbonil C=O gerilme bandına karşılık geldiği, 1455 $cm^{-1'}$deki pik aromatik C=C, 1193-1126 $cm^{-1}$ ‘deki piklerin ise C-N ve C-O gerilme bandlarına ait olduğu görülmekte olup polimerlerin başarıyla sentezlendiğini söyleyebiliriz.

Hazırlanan nanofilm kaplı QCM ve SPR sensör çip yüzeyleri temas açısı ölçümleri, atomik kuvvet mikroskobu (AFM) ve elipsometre ile karakterize edildi.

Temas açısı ölçümlerinden görüldüğü gibi modifiye edilmemiş QCM çip yüzeyinin temas açısı değeri 60.29° ± 0.24, pestisit baskılanmamış (P-NIP/QCM) nanofilmin tutturulmasıyla 68.33° ± 0.47’e, dimetoat baskılanmış nanofilmin tutturulmasıyla 74.40° ± 0.20’a ve karbofuran baskılanmış nanofilmin tutturulmasıyla 76.75° ± 0.61’e yükseldi. Modifiye edilmemiş SPR çip yüzeyinin temas açısı değeri 72.37° ± 0.47, P-NIP/SPR nanofilmin tutturulmasıyla 77.44° ± 0.81’e, dimetoat baskılanmış nanofilmin tutturulmasıyla 81.27° ± 0.34’ye ve karbofuran baskılanmış nanofilmin tutturulmasıyla 84.36° ± 0.57’ya yükseldiği görüldü.

Yüzeylerin temas açılarının önemli miktarda artması, yüzeylerin hidrofobik özelliğinin arttığını göstermektedir. Bu durum, baskılanmış ve baskılanmamış nanofilmlerin sentezinde fonksiyonel monomer olarak kullanılan amino asit (Triptofan) temelli MATrp monomerinin hidrofobik karaktere sahip olması ile açıklanabilir. Bu sebeple, yüzeye hidrofobik bir polimerin tutturulması yüzey hidrofobisitesini artırmış ve temas açısı değerini yükseltmiştir.

P-NIP nanofilmlerin QCM ve SPR sensörün yüzey derinlikleri sırasıyla 80.31 ± 2.41 nm ve 80.17 ± 1.60 nm iken dimetoat ve karbofuran baskılı QCM için sırasıyla 120.93 ± 3.12 nm ve 120.17 ± 1.09 nm, SPR için 120.49 ± 1.91 nm ve 120.63 ± 2.62 nm olarak bulundu. Bu sonuçlar; QCM ve SPR sensör yüzeylerinde film oluşumunu onaylamakta ve baskılamanın homojen olarak tek tabakaya yakın bir şekilde kaplandığını göstermiştir.

P-NIP/QCM sensör yüzeyi için yüzey kalınlığı 131.31 ± 3.74 nm, dimetoat ve karbofuran baskılanmış sensör yüzeyler için sırasıyla 138.50 ± 1.12 nm ve 133.48 ± 2.86 nm, P-NIP/SPR sensör yüzey kalınlığı 132.51 ± 1.74 nm, dimetoat ve karbofuran baskılanmış sensör yüzeyler için ise sırasıyla 133.08 ± 1.43 nm ve 136.86 ± 2.19 nm olarak bulundu. Kalınlıklardaki farklılıklar (MIP/NIP) moleküler baskılamanın başarıyla gerçekleştiğini göstermektedir.

Bu sonuçlar, AFM sonuçları ile örtüşmekte olup nanofilmlerin yüzeye tek tabakaya yakın bir şekilde tutturulduğunu göstermektedir.

Karakterizasyon çalışmalarının ardından, elde edilen pestisit baskılanmış ve baskılanmamış sensör çipleri QCM ve SPR sensör sistemlerine bağlanarak farklı derişimlerde kinetik ve afinite bağlanma çalışmaları yapıldı. Dt-MIP/QCM ve Kf-MIP/QCM sensörlerin kinetik çalışmalardaki toplam ölçüm süreleri yaklaşık olarak sırasıyla 20 dakika ve 16 dakika olarak belirlenirken, Dt-MIP/SPR ve Kf-MIP/SPR sensörlerin toplam ölçüm süreleri yaklaşık olarak 17 dakika olarak belirlendi.

Literatürdeki benzer çalışmalar ile kıyaslandığında, QCM ve SPR sensör sistemlerindeki toplam ölçüm sürelerinin oldukça düşük olduğu söylenebilir.

Dt-MIP/QCM ve Kf-MIP/QCM sensörler, iki farklı derişim aralığında derişim-sinyal doğrusallığı göstermektedir. Dimetoat için; 0.043-4.36 nM aralığındaki veriler değerlendirildiğinde elde edilen doğruların denklemi (y=5.207x + 0.203), (y=0.296x + 1.731) ve doğrusallıkları ($R^2$) sırasıyla 0.996 ve 0.880 olarak, karbofuran için; 0.045-4.5 nM aralığındaki doğruların denklemi (y=2.898x + 0.199), (y=0.184x + 1.174) ve doğrusallıkları ($R^2$) sırasıyla 0.996 ve 0.967 olarak hesaplandı. Bu sonuçlara göre; dimetoat (0.043-0.218 nM aralığında %99.6, 0.436-4.36 nM aralığında %88.0) ve karbofuran (0.045-0.225 nM aralığında %99.6, 0.45-4.5 nM aralığında %96.7) moleküllerinin iki farklı bölgeden yüksek afinite ile bağlandığı belirlendi. Dimetoat ve

karbofuran için belirleme alt limitleri (LOD) sırasıyla 5.35 ng/L ve 4.89 ng/L olarak hesaplandı.

Dt-MIP/SPR ve Kf-MIP/SPR sensörler, iki farklı derişim aralığında derişim-sinyal doğrusallığı göstermektedir. Dimetoat için; 0.043-4.36 nM aralığındaki veriler incelendiğinde elde edilen doğruların denklemi (y=8.943x + 0.272), (y=0.567x + 3.424), doğrusallıkları ($R^2$) sırasıyla 0.998 ve 0.905 olarak hesaplandı. Dimetoat moleküllerinin iki farklı bölgeden yüksek afinite ile, 0.043-0.218 nM aralığında %99.8, 0.436-4.36 nM aralığında ise %90.5 bağlandığı belirlendi. Karbofuran için; 0.045-4.5 nM aralığındaki veriler değerlendirildiğinde elde edilen doğruların denklemi (y=1.349x + 5.497), (y=11.13x + 0.449) ve doğrusallıkları ($R^2$) sırasıyla 0.994 ve 0.986 olarak hesaplandı. Karbufuran'ın 0.045-0.45 nM aralığında %99.4, 1.35-4.5 nM aralığında ise %98 bağlandığı belirlendi. Dimetoat ve karbofuran için belirleme alt limitleri (LOD) sırasıyla 8.37 ng/L ve 7.11 ng/L olarak hesaplandı.

Zamana bağlı olarak derişimlerdeki artışla birlikte Δm ve ΔR değerlerinde artış olduğunun görülmesi ve korelasyon sabitlerinin oldukça yüksek olması çözelti ile yüzey arasındaki sürücü güç olan derişim farkının arttığını ve pestisitlerin baskılı polimerlere bağlandığını göstermektedir. Bunun yanı sıra, 10-1000 ng/L gibi oldukça düşük derişimlerde yüksek afinite ve yüksek korelasyon katsayılarına sahip olmamız literatüre önemli katkılar sunacaktır.

Pestisit baskılı QCM ve SPR sensörlerin tanıma kabiliyeti, etkileşim seçiciliği ve yüzey homojenliği adsorpsiyon modelleri kullanılarak belirlendi. QCM sensör sisteminde dimetoat'ın en yüksek korelasyon katsayı değeri ve deneysel değere en yakın $\Delta m_{maks}$ değeri sırasıyla 0.998 ve 2.762 nM/cm$^2$ iken, karbofuran için bu değerler sırasıyla 0.995 ve 1.764 nM/cm$^2$ olarak hesaplandı. SPR sensör sisteminde ise dimetoat'ın en yüksek korelasyon katsayı değeri ve deneysel değere en yakın $\Delta R_{maks}$ değeri sırasıyla 0.997 ve 5.682 nM/cm$^2$ iken, karbofuran için bu değerler sırasıyla 0.998 ve 12.346 nM/cm$^2$ olarak hesaplandı. Korelasyon katsayılarına ve deneysel değere en yakın $\Delta m_{maks}/\Delta R_{maks}$ değerlerine bakıldığında, QCM ve SPR sensör sistemlerinde dimetoat ve karbofuran için Langmuir adsorpsiyon modelinin en uygun olduğunu söyleyebiliriz. Langmuir denkleminden hesaplanan $K_A$ ve $K_D$ değerleri sırasıyla Dt-

QCM: 4.022 $nM^{-1}$ ve 0.249 nM, Kf-QCM: 3.951 $nM^{-1}$ ve 1.884 $nM/cm^2$, Dt-SPR: 2.933 $nM^{-1}$ ve 0.341 nM, Kf-SPR: 1.473 $nM^{-1}$ ve 0.679 nM olarak hesaplandı.

Bu sonuçlar; hazırlanan dimetoat ve karbofuran baskılanmış QCM ve SPR sensör yüzeylerindeki bağlanmanın tek tabakalı ve homojen olduğunu göstermektedir.

QCM ve SPR sensörlerin seçiciliğinin belirlenmesi için yarışmalı adsorpsiyon deneylerinde dimetoat'a karşı paration ve monokrotofos, karbofuran'a karşı bendiokarb ve karbaril pestisitleri kullanıldı.

Dt-MIP/QCM sensörün 4.36 nM derişimdeki paration ve monokrotofos'a verdiği sinyal değerleri (Δm) sırasıyla, 0.228 ve 0.231 olarak hesaplandı. Aynı derişimdeki dimetoat için elde edilen sinyal değeri ise 2.912 olarak bulundu ve baskılanmış sensör dimetoat'ı, paration'a göre 12.77 kat, monokrotofos'a göre 12.61 kat daha duyarlı tayin edebilmektedir. Dt-MIP/QCM sensörün seçicilik çalışmaları yapılırken NIP/QCM sensörle de ölçümler yapılarak sonuçlar karşılaştırıldı. 4.36 nM derişimindeki dimetoat, paration ve monokrotofos çözeltileri QCM sistemine gönderildi. MIP ve NIP sensörler karşılaştırıldığında dimetoat sinyal duyarlılığının 2.912'den 0.061'e düştüğü görüldü. Hesaplanan seçicilik katsayıları paration için 12.77 (baskılanmış), 0.88 (baskılanmamış), monokrotofos için 12.61 (baskılanmış), 0.75 (baskılanmamış) olarak bulundu. Baskılama seçiciliğini gösteren bağıl seçicilik katsayısı ise 14.45 (dimetoat/paration) ve 16.74 (dimetoat/monokrotofos) olarak hesaplandı.

Kf-MIP/QCM sensörün 4.5 nM derişimdeki bendiokarb ve karbaril'e verdiği sensorgram sinyal değerleri (Δm) sırasıyla 0.113 ve 0.107, aynı derişimdeki karbofuran için elde edilen sinyal değeri ise 1.968 olarak hesaplandı ve baskılanmış sensörün karbofuran'ı, bendiokarb'a göre 17.416 kat, karbaril'e göre 18.392 kat daha duyarlı tayin edebilmektedir. Kf-MIP/QCM sensörün baskılama seçiciliğini göstermek için NIP/QCM sensör hazırlanarak, 4.5 nM derişimindeki bendiokarb, karbaril ve karbofuran çözeltileri QCM sistemine gönderildi. MIP ve NIP sensörler karşılaştırıldığında karbofuran sinyal duyarlılığının 1.968'den 0.028'e düştüğü görülmektedir. Hesaplanan seçicilik katsayıları bendiokarb için 17.416 (baskılanmış), 1.474 (baskılanmamış) olarak ve karbaril için 18.392 (baskılanmış), 1.647 (baskılanmamış) olarak bulundu. Baskılama seçiciliğini gösteren bağıl seçicilik

katsayısı 11.818 (karbofuran/bendiokarb) ve 11.167 (karbofuran/karbaril) olarak hesaplandı.

Dt-MIP/SPR sensörün 4.36 nM derişimdeki dimetoat, paration ve monokrotofosa verdiği sensorgram sinyal değerleri (ΔR) sırasıyla, 5.717, 0.336 ve 0.281 olarak belirlendi ve baskılanmış sensör dimetoat'ı, paration'a göre 17.01 kat, monokrotofas'a göre 20.35 kat daha duyarlı tayin edebilmektedir. Dt-MIP/SPR sensörün seçiciliğini göstermek için NIP/SPR sensörler de hazırlandı. 4.36 nM derişimindeki dimetoat, paration ve monokrotofos çözeltileri SPR sistemine gönderildi. MIP ve NIP sensörler karşılaştırıldığında dimetoat sinyal duyarlılığının 5.717'den 0.116'ya düştüğü görülmektedir. Hesaplanan seçicilik katsayıları paration için 17.01(baskılanmış), 0.81 (baskılanmamış), monokrotofos için 20.35 (baskılanmış), 0.66 (baskılanmamış) olarak bulundu. Baskılama seçiciliğini gösteren bağıl seçicilik katsayısı 21.12 (dimetoat/paration) ve 30.86 (dimetoat/monokrotofos) olarak hesaplandı.

Kf-MIP/SPR sensörün 4.5 nM derişimdeki bendiokarb ve karbaril'e verdiği sensorgram sinyal değerleri (ΔR) sırasıyla, 0.471 ve 0.504, aynı derişimdeki karbofuran için ise 11.535 olarak bulundu ve baskılanmış sensör karbofuran'ı, bendiokarb'a göre 24.490 kat, karbaril'e göre 22.887 kat daha duyarlı tayin edebilmektedir. Baskılama seçiciliği çalışmalarında karbofuran baskılanmamış SPR sensör de hazırlandı. 4.5 nM derişimindeki bendiokarb, karbaril ve karbofuran çözeltileri SPR sistemine gönderildi. MIP ve NIP sensörler karşılaştırıldığında karbofuran sinyal duyarlılığının 11.535'den 0.144'e düştüğü görülmektedir. Hesaplanan seçicilik katsayıları bendiokarb için 24.490 (baskılanmış), 1.870 (baskılanmamış) olarak ve karbaril için 22.887 (baskılanmış), 1.516 (baskılanmamış) olarak bulundu. Baskılama seçiciliğini gösteren bağıl seçicilik katsayısı ise 13.096 (karbofuran/bendiokarb) ve 15.099 (karbofuran/karbaril) olarak hesaplandı.

Etkileşimlerdeki bu hassasiyet, kalıp moleküllerin üç boyutlu yapılarının polimerik hafızaya alınmasından kaynaklanmakta ve böylece QCM ve SPR sensörlerde pestisitlerin tanınma seçiciliğinin arttığını göstermektedir.

P-MIP/QCM-SPR sensörlerin tekrar kullanılabilirliğini incelemek amacıyla farklı derişimlerde pestisit çözeltileri sensör sistemleri ile analiz edildi. Pestisit içeren

çözeltilerin eklenmesiyle sensörlerin cevabı hızlı bir şekilde arttı ve kısa sürede sabitlendi. Bu sayede pestisit teşhis edilmiş oldu. Analiz sonunda pestisitin yapıdan uzaklaştırılması ile sensörler tekrar kullanılabilir hale geldi. Sensör sisteminde birer hafta arayla tekrarlı (6 kez) bir şekilde yapılan analizler sonucu çiplerin başarılı bir şekilde tekrar tekrar kullanılabildiği tespit edildi.

Çevre suyu çalışmalarında sensör yüzeylerine gönderilen çevre suyu örneklerinin sinyal değerleri sabit kalırken her bir pestisit için 10 ng/L standart ekleme (spike) ile $\Delta m/\Delta R$ sinyal değerlerinin önemli derecede arttığı görüldü. Sonuç olarak, pestisit baskılı sensör çipler, çok düşük derişimlerde bile pestisitlerin tayininde başarı ile kullanılabilmektedir.

Elde edilen veriler ışığında hazırlanan spesifik, seçiciliği yüksek, hassas ve hızlı sensörlerin hem sulu çözeltilerden hem de doğal kaynaktan ve çevre çalışmalarında pestisitlerin tayininde alternatif olarak kullanılabileceğini söyleyebiliriz.

Sıvı kromatografisi iyon tuzaklı/uçuş zamanlı kütle spektrometresi (LC-MS IT-TOF) taranması sonuçlarına göre, molekül formülleri tespit edilen dimetoat ve karbofuran'ın; alıkonma zamanları, iyon formları, ölçülen ve beklenen (teorik) m/z değerleri (tam kütle olarak verilmiştir), ppm cinsinden kütle hataları ve izotop skorları belirlenmiş olup parçalanma iyonları dimetoat için 199.00 m/z karbofuran için 165.10 m/z olarak bulundu.

Belirlenen tam kütleler ve parçalanma iyonları doğrultusunda LC-MS/MS cihazı ile kalitatif ve kantitatif analiz için pestisitlere özgü kapsamlı bir metot hazırlanarak validasyon çalışmaları yapıldı. Dimetoat ve karbofuran için belirleme alt limitleri (LOD) sırasıyla 16.92 ng/L ($R^2$=0.999) ve 20.47 ng/L ($R^2$=0.999) olarak hesaplandı. LC-MS/MS sisteminde, örnek çalışma olarak dört farklı çevre suyu örneğine her bir pestisit için 500 ng/L standart eklenmesi (spike) yapılarak analizler gerçekleştirildi. QCM ve SPR sensör sistemlerinin farklı derişimlerdeki bağlanma doğruluğunu belirlemek için sensör sistemlerinde çalışılan standart çözeltiler arasında üç farklı derişim (10-100-1000 ng/L) belirlendi. Bu derişimlerin sensör sistemlerindeki adsorpsiyon öncesi ve adsorpsiyon sonrası örnekleri alındı ve LC-MS/MS cihazı ile analizler yapıldı. Analiz sonucunda, sensör sistemlerinin yüksek seçiciliği ve doğruluğu LC-MS/MS ile doğrulandı. LC-MS/MS sisteminde çalışılan derişim aralığı (50-1000

ng/L) sensör sistemlerindeki derişim aralığının (10-1000 ng/L) üzerinde olması sensör sistemlerinin daha düşük tayin limitlerinde çalıştığını göstermektedir.

Sonuç olarak;

Moleküler baskılama temelli QCM ve SPR sensörlerin, hem sulu çözeltilerden hem de doğal kaynaktan pestisit tayini için LC-MS/MS tekniği ile karşılaştırma deneyleri yapılarak hazırlanan sensör çiplerinin herhangi bir etiketlemeye ihtiyaç duymayan, on-line ölçüm yapabilen (gerçek zamanlı), düşük maliyetli, pratik, yüksek hassasiyetli, seçimli, hızlı cevap süresi ve örneklerin herhangi bir ön işleme gereksinim duyulmadan ölçüm alınabilecek olmasının yanında, kromatografi sistemlerine (LC-MS/MS) nazaran çok daha düşük dedeksiyon limitlerine kadar tayin etme olanağı sağladığı belirlendi.

Moleküler baskılama temelli pestisit tayinine yönelik QCM ve SPR sensör sistemler ile ilgili literatür çalışmaları fazla olmayıp, bu yöntemler yeni çalışılmaya başlanmıştır. Yaptığımız araştırmalar boyunca bilimsel veri tabanında kullanmış olduğumuz bu pestisitlerin (dimetoat ve karbofuran) moleküler baskılama temelli QCM ve SPR sensör sistemlerindeki uygulamaları ile ilgili herhangi bir çalışmaya da rastlanmamıştır. Bu bağlamda yaptığımız bu çalışma özgün bir çalışma niteliğindedir.

Hazırlanan sensör çipleri, başta zirai mücadele olmak üzere birçok alanda yaygın olarak kullanılan, çevre ve insan sağlığını çok ciddi tehdit eden pestisit kalıntılarının anlık analizini sağlayarak, bilinçsiz ve kontrolsüz kullanımlarının önüne geçilmesi de hedeflenmektedir.

## 6. KAYNAKLAR

Adams, R.M. 1983. Occupational skin Disease, Grune & Stratton, New York.

Agrawal, H., Anand, M.S., Banshi, D.G. 2016. Surface plasmon resonance based optical fiber sensor for atrazine detection using molecular imprinting technique. ***Sensors and Actuators B,*** 227: 204–211.

Ağar, S., Aydınoğlu, H., Temel, O., İkizünal, K., Ece, H. 1991. Pestisit kullanımının tarihçesi, bugünü ve geleceği. ***Türk Entomol Dergisi,*** 15: 247-256.

Alexander, C., Andersson, H.S., Andersson, L.I., Ansell, R.J., Kirsch, N., Nicholls I.A., O'Mahony, J., Whitcombe, M.J. 2006. Molecular imprinting science and technology: a survey of the literature for the years up to and including 2003, ***Journal of Molecular Recognition,*** 19: 106–180.

Anand, M.S., Sruthi, P.U., Banshi, D.G. 2016. Fiber optic profenofos sensor based on surface plasmon resonance technique and molecular imprinting. ***Biosensors and Bioelectronics,*** 79: 150–157.

Andaç, M., Say, R., Denizli, A. 2004. Molecular recognition based cadmium removal from human plasma. ***Journal of Chromatography B,*** 811: 119–126.

Bakas, I., Oujji, N.B., Moczko, E., Istamboulie, G., Piletsky, S., Piletska, E., Ait-Addi, E., Ait-Ichou, I., Noguer, T., Rouillon, R. 2013. Computational and experimental investigation of molecular imprinted polymers for selective extraction of dimethoate and its metabolite omethoate from olive oil. ***Journal of Chromatography A***, 1274: 13– 18.

Bereli, N., Andac, M., Baydemir, G., Say, R., Galaev, I.Y., Denizli, A. 2008. Protein recognition via ion-coordinated molecularly imprinted supermacroporous cryogels. ***Journal of Chromatography A,*** 1190: 18–26.

Boateng, G.O., Amuzu, K.K. 2006. A survey of some critical issues in vegetable crops farming along River Oyansia in Opeibea and Dzorwulu, Accra-Ghana. ***Global Advanced Research Journal of Physical and Applied Sciences,*** 2: 24-31.

Bobeldijk, I., Vissers, J.P., Kearney, G., Major, H., Van Leerdam, J.A. 2001. Screening and identification of unknown contaminants in water with liquid chromatography and quadrupole-orthogonal acceleration-time-of-flight tandem mass spectrometry. ***Journal of Chromatography A,*** 929: 63-74.

Bunde, R.L., Jarvi, E.J., Rosentreter, J.J. 1998. Piezoelectric quartz crystal biosensors. ***Talanta,*** 46: 1223–1236.

Caro, E., Masqué, N., Marcé, R.M., Borrull, F., Cormack, P.A.G., Sherrington, D.C. 2002. Non-covalent and semi-covalent molecularly imprinted polymers for selective on-line solid-phase extraction of 4-nitrophenol from water samples. ***Journal of Chromatography A,*** 963: 169–178.

Carter, R.M., Jacobs, M.B., Lubrano, G.J., Guilbault, G.G. 1995. Piezoelectric detection of ricin and affinity purified goat anti-ricin. ***Analytical Letters,*** 28: 1379–1386.

Cengiz, E. İ. 2006. Gill and kidney histopathology in the freshwater fish *Cyprinus carpio* after acute exposure to deltamethrin. ***Environmental Toxicology and Pharmacology,*** 22: 200–204.

Cormack, P.A.G, Elorza, A.Z. 2004. Molecularly imprinted polymers: Synthesis and characterization. ***Journal of Chromatography B Review,*** 804: 173–182.

Cormack, P.A.G., Mosbach, K. 1999. Molecular imprinting: recent developments and the road ahead. ***Reactive and Functional Polymers,*** 41: 115-124.

Çiçek, Ç., Yılmaz, F., Özgür, E., Yavuz, H., Denizli, A. 2016. Molecularly imprinted quartz crystal microbalance sensor (QCM) for bilirubin detection. ***Chemosensors,*** 4(4), 21; doi:10.3390/chemosensors4040021.

Dağ, S., Aykaç, V.T., Gündüz, A., Kantarcı, M., Şişman, N. 2000. Türkiye'de Tarım ilaçları endüstrisi ve geleceği. TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası, V. Türkiye Ziraat Mühendisliği Teknik Kongresi, 933-958.

Daş, Y.K., Aksoy, A. 2016. Pestisitler. ***Turkiye Klinikleri J Vet Sci Pharmacol Toxicol-Special Topics***, 2(2).

Davies, M.P., De Biasi, V., Perrett, D. 2004. Approaches to the rational design of molecularly imprinted polymers. ***Analytica Chimica Acta,*** 504: 7–14.

De Waard, M.A., Georgopoulos, S.G., Hollomon, D.W., Ishii, H., Schwinn, P. 1993. Chemical control of olant diseases: problems and prospects, ***Annual Review Phytopathology,*** 31: 403-421.

Delen, N., Durmusoglu, E., Güncan, A., Güngör, N., Turgut, C., Burçak, A. 2005. Türkiye'de pestisit kullanımı, Kalıntı ve duyarlılık azalısı sorunları, Türkiye Ziraat Mühendisligi 6 ıncı Teknik Kongresi, 629-648.

Denizli, A. 2016. Afinite Temelli Biyosensörler. ISBN: 978-605-88783-1-0, ANKARA.

Denizli, A. ve Küfrevioğlu, Ö.İ. 2010. Protein Kromatografisi ve Yeni Nesil Polimerik Sistemler. ISBN: 978-605-88783-0-3, ANKARA.

Dickert, F.L., Hayden, O. 1999. Imprinting with sensor development on the way to synthetic antibodies, Fresenius. ***Jornual of Analytical Chemistry,*** 364: 506-511.

Ding, J., Lu, Z., Wang, R., Shen, G., Xiao, L. 2014. Piezoelectric immunosensor with gold nanoparticles enhanced competitive immunoreaction technique for 2,4-dichlorophenoxyacetic acid quantification. ***Sensors and Actuators B,*** 193: 568– 573.

Dong, J., Gao, N., Peng, Y., Guo, C., Lv, Z., Wang, Y., Zhou, C., Ning, B., Liu, M., Gao, Z. 2012. Surface plasmon resonance sensor for profenofos detection using molecularly imprinted thin film as recognition element. ***Food Control,*** 25: 543–549.

Dong, X.C., Sun, H., Lu, X.Y., Wang, H.B., Liu S.X., Wang, N. 2002. Separation of ephedrine stereoisomers by molecularly imprinted polymers influence of synthetic conditions and mobile phase compositions on the chromatographic performance. ***Analyst.,*** 127: 1427–1432.

DPR. 2002. Pesticide Chemistry Database. Environmental Monitoring Branch, California Department of Pesticide Regulation.

Durmuşoğlu, E., Tiryaki, O., Canhilal, R. 2010. Türkiye'de pestisit kullanımı, kalıntı ve dayanıklılık sorunları. TMMOB Ziraat Muhendisleri Odası, VII. Turkiye Ziraat Mühendisliği Teknik Kongresi, 2: 589-607.

Earp, R.L., Dessy, R.E. 1996. Commercial Biosensors: Applications to clinical bioprocess and enviromental samples. John Wiley and Sons, Chapter 4, New York.

Erdoğan, B.Y. 2010. Samsun'da Yaygın Olarak Kullanılan Pestisitlerin Sağlığa ve Çevreye Etkileri. ***Alınteri Zirai Bilimler Dergisi,*** 19: 28-35.

Ersöz, A., Denizli, A., Özcan, A., Say, R. 2005. Molecularly imprinted ligand-exchange recognition assay of glucose by quartz crystal microbalance. ***Biosensors and Bioelectronics,*** 20: 2197–2202.

Ertürk, G., Özen, H., Tümer, M.A., Mattiassonc, B., Denizli, A. 2016. Microcontact imprinting based surface plasmon resonance (SPR)biosensor for real-time and ultrasensitive detection of prostatespecific antigen (PSA) from clinical samples. ***Sensors and Actuators B***, 224: 823–832.

Ertürk, G., Uzun, L., Tümer, M.A., Say, R., Denizli, A. 2011. Fab fragments imprinted SPR biosensor for real-time human immunoglobulin G detection. ***Biosens Bioelectron.,*** 28: 97-104.

EURACHEM CITAC Guide CG4. 2004. Quantifiying uncertainty in analytical measurement, 3rd ed.; Ellison, S. L. R., Williams, A., Eds. available from www.eurachem.org.

Falck, F., Ricci, A., Wolff, M.S., Goldbold, J., Deckers, P. 1992. Pesticide and polychlorinated biphenyl residues in human breast lipids and their relation to breast cancer. ***Archives of Environmental Health,*** 47: 143-146.

Fawcett, N.C., Evans, J.A., Chen, L.C., Drozda, K.A., Flowers, N. 1988. A quartz crystal detector for DNA. ***Analytical Letters,*** 21: 1099–1110.

Fishel, F.M. 2016. Pest management and pesticides: a historical perspective. The Agronomy Department, UF/IFAS Extension.

Gabrieli, B., Magali, K., Lucila, R., Martha, B.A., Renato, Z., Osmar, D.P. 2016. An effective method for pesticide residues determination in tobacco by GC-MS/MS and UHPLC-MS/MS employing acetonitrile extraction with low-temperature precipitation and d-SPE clean-up. ***Talanta,*** 161: 40-47.

Gao, N., Dong, J., Liu, M., Ning, B., Cheng, C., Guo, C., Zhou, C., Peng, Y., Bai, J., Gao, Z. 2012. Development of molecularly imprinted polymer films used for detection of profenofos based on a quartz crystal microbalance sensor. ***Analyst,*** 137: 1252-1258.

Gobi, K.V., Kim, S.J., Tanaka, H., Shoyama, Y., Miura, N. 2007. Novel surface plasmon resonance (SPR) immunosensor based on monomolecular layer of physically-adsorbed ovalbumin conjugate for detection of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and atomic force microscopy study. ***Sensors and Actuators B,*** 123: 583–593.

Gregor, J. D., Michael, J. 2007. Furlong Insecticide use: Contexts and ecological consequences. Agriculture and Human Values, 24: 281-306.

Guan, G., Liu, B., Wang, Z., Zhang, Z. 2008. Imprinting of molecular recognition sites on nanostructures and Its applications in chemosensors. ***Review Sensors,*** 8: 8291-8320.

Guilbault, G.G. 1983. Determination Of Formaldehyde With an enzyme coated piezoelectric crystal. ***Analytical Chemistry,*** 55: 1682–1684.

Guilbault, G.G., Jordan, J. 1988. Analytical uses of piezoelectric crystals. ***CRC Review,*** 19: 1–28.

Guilherme, N.M. Ferreira, Ana-Carina da-Silva, Tome, B. 2009. Acoustic wave biosensors: physical models and biological applications of quartz crystal microbalance, ***Trend in Biotechnology,*** 27: 689-697.

Haupt, K., Ye, L. 2004. Molecularly imprinted polymers as antibody and receptor mimics for assays, sensors and drug discovery. ***Analytical and Bioanalytical Chemistry,*** 378: 1887-1897.

Heising, R.A. 1946. Quartz crystals for electrical circuits, their design and manufacture. Van Nostrand, New York.

Holthoff, E.L., Bright, F.V. 2007. Molecularly templated materials in chemical sensing. ***Analytical Chimica Acta,*** 594: 147-161.

Homola, J. 2008. Surface plasmon resonance sensors for detection of chemical and biological species. ***Chemical Reviews,*** 108: 462-493.

Hsu, C.Y., Lin, H.Y., Thomas, J.L., Wu, B.T., Chou, T.C. 2006. Incorporation of styrene enhances recognition of ribonuclease A by molecularly imprinted polymers. ***Biosens Bioelectron.,*** 22: 355-363.

Hunter, D.J., Kelsey, K.T. 1993. Pesticide residues and breast cancer: the harvest of a silent spring. ***Journal of the National Cancer Institute,*** 85: 598-599.

Jamal, H.M., Ahmad, A.S. 2016. Organochlorine pesticide residues in human milk and estimated daily intake (EDI) for the infants from eastern region of Saudi Arabia. ***Environmental Sciences & Ecology,*** 164: 643-648.

Janshoff, A., Galla, H.J. & Steinem, C. 2000. Piezoelectric mass-sensing devices as biosensors – an alternative to optical biosensors. ***Angewandte Chemie,*** 39: 4004–4032.

Jia, K., Adam, P. M., Ionescu, R. E. 2013. Sequential acoustic detection of atrazine herbicide and carbofuran insecticide using a single micro-structured gold quartz crystal microbalance, ***Sensors and Actuators B***, 188: 400–404.

Jiang, H., Sabarinathan, J., Manifar, T., Mittler, S. 2009. 3-D FDTD analysis of gold-Nanoparticle-based photonic crystal on slab waveguide. ***Journal of Lightwave Technology,*** 13: 2264-2270.

Kanazawa, K.K. 1997. Mechanical behaviour of films on the quartz microbalance. ***Faraday Discussions,*** 77–90.

Kantarcı, M. 2007. Global BKU pazarı ve Ar-ge", Tarım ilaçları Kongre ve Sergisi, TMMOB Kimya ve Ziraat Muhendisleri Odaları, 13-23.

Kaspar, M., Stadler, H., Weiß, T., Ziegler, Ch. 2000. Thickness shear mode resonators ("mass-sensitive devices") in bioanalysis. ***Fresenius Journal of Analytical Chemistry,*** 366: 602–610.

Katz, A., Davis, M.E. 1999. Investigations into the mechanisms of molecular recoginition with imprinted polymers. ***Macromolecules,*** 32: 4113-4121.

Kim, N., Park, I-S., Kim, D-K. 2007. High-sensitivity detection for model organophosphorus and carbamate pesticide with quartz crystal microbalance-precipitation sensor. ***Biosensors and Bioelectronics***, 22: 1593–1599.

Kim, S.J., Gobi, K.V., Tanaka, H., Shoyama, Y., Miura, N. 2008. A simple and versatile self-assembled monolayer based surface plasmon resonance immunosensor for highly sensitive detection of 2,4-D from natural water resources. ***Sensors and Actuators B,*** 130: 281–289.

King, W.H. Jr. 1964. Piezoelectric Sorption Detector. ***Analytical Chemistry,*** 36: 1735–1741.

Kitchin, K.T. 1984. An enzymatic approach to biotransformation. ***Methods and Findings in Experimentals Clinical Pharmacology,*** 6: 303-310.

Klaassen, C.D. 2001. Casarett and Doull's toxicology: The basic science of poisons, (6th Edition), McGraw-Hill, Medical Pub. Division, 1236.

Kolayanova, F., Tarkowski, S. 1981. Toxicology of Pesticide. 41-123. Copenhagen.

Komiyama, M., Takeuchi, T., Mukawa, T., Asanuma, H., 2003. Molecular imprinting (from fundamentals to applications), Wiley-VCH Verlag.

Konash, P.L., Bastiaans, G.J. 1980. A SAW device for immunoreactions. ***Analytical Chemistry,*** 52: 1929–1935.

Kouzayha, A., Rabaa, A.R., Iskandarani, M.A., Beh, D., Budzinski, H., Jaber, F. 2012. Multiresidue method for determination of 67 pesticides in water samples using solid-phase extraction with centrifugation and gas chromatography-mass spectrometry. ***American Journal of Analytical Chemistry,*** 3: 257-265.

Kösslinger, C., Drost Aberl, F., Wolf, H., Koch, S., Woias, P. 1992. PZ immunosensors for HIV viruses. ***Biosensors Bioelectron.,*** 7: 397–401.

Krieger, N., Wolff, M.S., Hiatt, R.A., Rivera, M., Vogelman, J., Orentreich, N. 1994. Breast cancer and serum organochlorines: a prospective study among white, black, and Asian women. ***Journal of the National Cancer Institute,*** 86: 589-599.

Kriz, D., Ramstrom, O., Mosbach, K. 1997. Molecular imprinting: new possibilities for sensor technology. ***Analytical Chemistry,*** 69: 345-349.

Lacorte, S., Fernandez-Alba, A.R. 2006. Time of flight mass spectrometry applied to the liquid chromatographic analysis of pesticides in water and food, ***Mass Spectrometry Review,*** 25: 866-880.

Lasakova, M., Jandera, P. 2009. Molecularly imprinted polymers and their application in solid phase extraction. ***Journal of Seperation Science,*** 32: 799 – 812.

Li, X., Husson, S.M. 2006. Adsorption of dansylated amino acids on molecularly imprinted surfaces: a surface plasmon resonance study. ***Biosensors and Bioelectronics,*** 22: 336-348.

Liang, Y., Hao, H., Kang, A., Xie, L., Xie, T., Zheng, X., Dai, C., Wan, L., Sheng, L., Wang, G. 2010. Qualitative and quantitative determination of complicated herbal components by liquid chromatography hybrid ion trap time-of-flight mass spectrometry and a relative exposure approach to herbal pharmacokinetics independent of standards, ***Jornal of Chromatography A,*** 1217: 4971–4979.

Liedberg, B., Nylander, C., Lundstrom, I. 1983. Surface plasmon resonance for gas detection and biosensing. ***Sensors and Actuators,*** 4: 29-304.

Liu, Z.Y., Zhou, X.N., Zhang, H.H., Wan, L., Sun, Z.L. 2011. An integrated method for degradation products detection and characterization using hybrid ion trap/time-of-flight mass spectrometry and data proces- sing techniques: application to study of the degradation products of danofloxacin under stressed conditions, ***Analytical and Bioanalytical Chem*****istry,** 399: 2475–2486.

Lotierzo, M., Henry, O.Y.F., Piletsky, S., Tothill, I., Cullen, D., Kania, M., Hock, B., Turner, A.P.F. 2004. Surface plasmon resonance sensor for domoic acid based on grafted imprinted polymer. ***Biosensors and Bioelectronics,*** 20: 145-152.

Lu, C., Czanderna, A.W. 1984. Applications of piezoelectric quartz crystal microbalances, Elsevier.

Luzardo, O.P., Almeida-González, M., Ruiz-Suárez, N., Zumbado, M., Henríquez-Hernández, L.A., Meilán, M.J., Camacho, M., Boada, L.D. 2015. Validated analytical methodology for the simultaneous determination of a wide range of pesticides in human blood using GC–MS/MS and LC–ESI/MS/MS and its application in two poisoning cases. ***Science and Justice***, 55: 307–315.

Maldaner, L., Jardim, I.C.S.F. 2012. Determination of some organic contaminants in water samples by solid-phase extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. ***Talanta,*** 100: 38–44.

Marx, K.A. 2003. Quartz Crystal Microbalance: A useful tool for studying thin polymer films and complex biomolecular systems at the solution-surface interface. ***Biomacromolecules,*** 4: 1099–1120.

Mena, M.L., Mart´ınez-Ruiz, P., Reviejo, A. J., Pingarrón, J. M. 2002. Molecularly imprinted polymers for on-line preconcentration by solid phase extraction of pirimicarb in water samples. ***Analytica Chimica Acta,*** 451: 297–304.

Mirajkar, N., Pope, C. N. 2005. Dimethoate. ***Encyclopedia of Toxicology (Second Edition)***, 47–49.

Miura, N., Sasaki, M., Gobi, K.V., Kataoka, C., Shoyama, Y. 2003. Highly sensitive and selective surface plasmon resonance sensor for detection of sub-ppb levels of benzo[a]pyrene by indirect competitive immunoreaction method. ***Biosensors and Bioelectronics,*** 18: 953-959.

Mosbach, K., Arshady, R. 1981. Synthesis of substrate-selective polymers by host–guest polymerization. ***Makromolecular and Chemistry,*** 182: 687–692.

Mosbach, K., Ramström, O. 1996. The emerging technique of molecular imprinting and its future impact on biotechnology. ***Nature Biotechnology,*** 14: 163 - 170.

Moses, M. 1989. Cancer in human and potential occupationaİ and environmental exposure to pesticides. Abstract of selected epidemiologic studies and case reports, ***American Association of Occupational Health Nurse,*** 37: 131-136.

Nakamura, C., Hasegawa, M., Nakamura, N., Miyake, J. 2003. Rapid and specific detection of herbicides using a self-assembled photosynthetic reaction center from purple bacterium on an SPR chip. ***Biosensors and Bioelectronics,*** 18: 599-603.

Nomura, T., Okuhara, M. 1982. Frequency-shifts of piezoelectric quartz crystals immersed in organic liquids. ***Analytica Chemica Acta,*** 142: 281–284.

Nylander, C., Liedberg, B., Lind, T. 1982. Gas detection by means of surface plasmons resonance. ***Sensors and Actuators B,*** 3: 79-88.

O'Sullivan**,** C.K., Guilbault**,** G.G. 1999. Commercial quartz crystal microbalances – theory and applications. ***Biosensors & Bioelectronics,*** 14: 663–670.

Oh, B.K., Kim, Y.K., Bae, Y.M., Lee, W.H., Choi, J.W. 2002. Detection of *Escherichia coli* O157, H7 using immunosensor based on surface plasmon resonance. ***Journal of Microbiology and Biotechnology,*** 12: 780-786.

Osman, B., Uzun, L., Beşirli, N., Denizli, A. 2013. Microcontact imprinted surface plasmon resonance sensor for myoglobin detection. ***Materials Science and Engineering C,*** 33: 3609–3614.

Özgür, E. 2011. Östradiol tayini için moleküler baskılanmış sensörlerin hazırlanması. Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Hacettepe Üniversitesi, Ankara.

Özkütük, E.B., Diltemiz, S.E., Özalp, E., Ersöz, A., Say, R. 2013c. Silan based paraoxon memories onto QCM electrodes. ***Journal of Industrial and Engineering Chemistry***, 19: 1788–1792.

Özkütük, E.B., Diltemiz, S.E., Özalp, E., Gedikbey, T., Ersöz, A. 2013a. Paraoxon imprinted biopolymer based QCM sensor. ***Materials Chemistry and Physics***, 139: 107-112.

Özkütük, E.B., Diltemiz, S.E., Özalp, E., Say, R., Ersöz, A. 2013b. Ligand exchange based paraoxon imprınted QCM sensor. ***Materials Science and Engineering: C,*** 33: 938-942.

Özmen, Y. 2007. AB Müktesabatına göre hazırlanan bitki koruma ürünlerinin piyasaya arzı ile ilgili yönetmelik'in genel bir değerlendirilmesi. Tarım İlacları Kongre ve Sergisi, TMMOB Kimya ve Ziraat Muhendisleri Odaları, 1-12.

Pichon, V., Chapuis-Hugon, F. 2008. Role of molecularly imprinted polymers for selective determination of environmental pollutants. ***Analytica Chimica Acta,*** 622: 48-61.

Piletsky, S.A., Alcock, S., Turner, A.P.F. 2001. Molecular imprinting: at the edge of the third millennium. ***Trends Biotechnology,*** 19: 9-12.

Qian, K., Deng, Q., Fang, G., Wang, J., Pan, M., Wang, S., Pu, Y. 2016. Metal–organic frameworks supported surface–imprinted nanoparticles for the sensitive detection of metolcarb. ***Biosensors and Bioelectronics,*** 79: 359–363.

Rao, T.P., Daniel, S., Gladis, J.M. 2004. ***Trends in Analytical Chemistry,*** 23-28.

Richard, F.T., Jerome, S.S. 1996. Handbook of Chemical and Biochemical Sensors, Institute of Physics Publishing, Washington D.C., 1-604.

Rita, P., Reddy, PP., Reddy, S. V. 1987. Monitoring of workers occupationally exposed to pesticides in grape garden of anhdra pradesh. ***Environmental Research,*** 44: 1-5.

Safe, S.H. 1995. Enviromental and dietary estrogens and human health: is there a problem. ***Environmental Health Perspect,*** 103: 346-351.

Sari, E., Üzek, R., Duman, M., Denizli, A. 2016. Fabrication of surface plasmon resonance nanosensor for the selective determination of erythromycin via molecular imprinted nanoparticles. ***Talanta,***150: 607–614.

Sauerbrey, G. 1959. Verwendung von Schwingquarzen zur Wagung dünner Schichten und Microwagung. ***Zeitschrift für Physik,*** 155: 206–222.

Say, R., Erdem, M., Ersöz, A., Türk, H., Denizli, A. 2005. Biomimetic catalysis of an organophosphate by molecularly surface imprinted polymers. ***Applied Catalysis A: General,*** 286: 221–225.

Saylan, Y., Akgönüllü, S., Cimen, D., Derazshamshir, A., Bereli, N., Yılmaz, F., Denizli, A. 2017. Development of surface plasmon resonance sensors based onmolecularly imprinted nanofilms for sensitive and selective detectionof pesticides. ***Sensors and Actuators B*** 241: 446–454.

Schasfoort, R.B.M., Tudos, A.J. 2008. Handbook of surface plasmon resonance. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK.

Sellergren, B., Lepistö, M., Mosbach, K. 1988. Highly enantioselective and substrate-selective polymers obtained by molecular imprinting utilizing noncovalent interactions - NMR and chromatographic studies on the nature of recognition. ***Joyrnal of teh American Chemical Society,*** 110: 5853–5860.

Sharp, D.S., Eskenazi , B., Harrison, R., Callas, P., Smith, A.H. 1986. Delayed health hazard of pesticide exposure. ***American Jornal of Publich Health,*** 7: 441-471.

Shons, A., Dorman F., Nagarian, J. 1972. An immunospecific microbalance. ***Journal of Biomedical Materials Research,*** 6: 565–570.

Sihamdzu Corporation, 2009. Accurate mass measurement of high concentration Samples by LCMS-IT-TOF, Technical Report Volume 27, Shimadzu Corporation, International Marketing Division, Tokyo, Japan.

Skoog, D. A., Holler, F. J., Nieman, T. A. 1998. Principles of Instrumental Analysis, 5th Edition, Saunders College Publishing, Philadelphia.

Smith, A.L. 2008. The Quartz Crystal Microbalance. A Chapter for Volume 5 of the Handbook of Thermal Analysis and Calorimetry.

Spivak, D.A. 2005. Optimization, evaluation, and characterization of molecularly imprinted polymers. ***Advenced Drug Delivery Reviews,*** 57: 1779-1794.

Stephenson, C.J., Shimizu, K.D. 2007. Colorimetric and fluorometric molecularly imprinted polymer sensors and binding assays. ***Polymer International,*** 56: 482-488.

Stigter, E.C., Jong, G.J., Van Bennekom, W.P. 2005. An improved coating for the isolation and quantitation of interferon-gamma in spiked plasma using surface plasmon resonance (SPR). ***Biosensors and Bioelectronics,*** 21: 474-482.

Strong, A., Stimpson, D.I., Bartholomew, D.U., Jenkins, T.F., Elkind, J.L. 1999. Detection of trinitrotoluene (TNT) extracted from soil using a surface plasmon resonance (SPR)-based sensor platform. ***SPIE,*** 3710: 362-372.

Sun, H., Fung, Y. 2006. Piezoelectric quartz crystal sensor for rapid analysis of pirimicarb residues using molecularly imprinted polymers as recognition elements. ***Analytica Chemical Acta,*** 576: 67–76.

Szentirmay, Z. 1991. Surface plasmon spectroscopy of metal/dielectric structures. ***Spectrochimica Acta,*** 48: 9-17.

Şener, G. 2009. Nanopartiküllerle duyarlılığı arttırılmış yüzey plasmon rezonans biyosensörlerin hazırlanması. Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.

Şener, G., Özgür, E., Yılmaz, E., Uzun, L., Say, R., Denizli, A. 2010. Quartz crystal microbalance based nanosensor for lysozyme detection with lysozyme imprinted nanoparticles. ***Biosensors and Bioelectronics,*** 26: 815–821.

Taylor, A.D., Ladd, J., Yu, Q., Chen, S., Homola, J., Jiang, S. 2006. Quantitative and simultaneous detection of four foodborne bacterial pathogens with a multi-channel SPR sensor. ***Biosensors and Bioelectronics,*** 22: 752-758.

Taylor, E.L., Holley, A.G., Kirk, M. 2007. Pesticide development a brief look at the history. Southern Regional Extension Forestry.

Uludağ, Y., Piletsky, S.A., Turner, A.P.F. Cooper, M.A. 2007. Piezoelectric sensors based on molecular imprinted polymers for detection of low molecular mass analytes. ***FEBS Journal,*** 274: 5471–5480.

Umpleby, R.J., Baxter, S.C., Chen,Y., Shah, R.N., Shimizu, K.D., 2001. Characterization of molecularly imprinted polymers with the Langmuir-Freundlich isotherm. ***Analytical Chememisty,*** 73: 4584-4591.

Uzun, L., Say , R., Unal, S., Denizli, A. 2009. Hepatitis B surface antibody purification with hepatitis B surface antibody imprinted poly(hydroxyethyl methacrylate-N-methacryloyl-L-tyrosine methyl ester) particles. ***Journal of Chromatography B.*** 877: 181-188.

Uzun, L., Uzek, R., Şenel, S., Say, R., Denizli, A. 2013. Chiral recognition of proteins having L-histidine residues on the surface with lanthanide ion complex incorporated-molecularly imprinted fluorescent nanoparticles. ***Materials Science and Engineering C***, 33: 3432–3439.

Vogeser, M., Kirchhoff, F. 2011. Progression in automation of LC-MS in laboratory medicine. ***Clinical Biochemistry,*** 44: 4-13.

Wang, J. 1997. Remote electrochemical sensors for monitoring inorganic and organic pollutants. ***Trendsin Analytical Chemistry,*** 16: 84-88.

Watson, J.T., Sparkman, O.D. 2007. Introduction of Mass Spectrometry: Instrumentation, Applications and Strategies for Data Interpretation. (4th Eds), John Wiley & Sons Ltd, ISBN 978-0-470-51634-8, West Sussex, England

Wei, C., Zhou, H., Zhou, J. 2011. Ultrasensitively sensing acephate using molecular imprinting techniques on a surface plasmon resonance sensor. ***Talanta,*** 83: 1422-1427.

Wei, X., Samadi, A., Husson, S.M., 2005. Synthesis and characterization of molecularly imprinted polymers for chromatographic separations. ***Seperation Science Technology,*** 40: 109–129.

Welford, K. 1991. Surface plasmon-polaritons and their uses. ***Optical and Quantum Electronics,*** 23: 1-27.

Wolff, M.S., Toniolo, P.G., Lee, E.W. et. al. 1993. Blood levels of organochlorine residues and risk of breast cancer. ***Journal of the National Cancer Institute,*** 85: 648-652.

Wood, R.W. 1902. On a remarkable case of uneven distribution of light in a diffraction grating spectrum. ***Philosophical Magazine,*** 4: 396–402.

World Health Organization (WHO). 1989. Health principles of housing, Geneva, 88/7757-Macmillan/Clays-5000.

Wulff, G., Vesper, W., Grobeeinsler, R., Sarhan, A. 1977. Enzymeanalogue built polymers: 4. Synthesis of polymers containing chiral cavities and their use for resolution of racemates. ***Makromolecular Chemistry,*** 178: 2799–2816.

Yao, G.H., Liang, R.P., Huang, C.F., Wang, Y., Qiu, J.D. 2013. Surface plasmon resonance sensor based on magnetic molecularly imprinted polymers amplification for pesticide recognition. ***Analytical Chemistry,*** 17, 85, 11944-11951.

Yavuz, H., Karakoc, V., Turkmen, D., Say, R., Denizli, A. 2006. Synthesis of cholesterol imprinted polymeric particles. ***International Journal of Biological Macromolecules,*** 41: 8-15.

Yazgan, M.S. 1997. Türkiye′de pestisit kirliliği. Türkiye′de Çevre Kirlenmesi Öncelikleri Sempozyumu II, 571-577. Gebze-Kocaeli.

Ye, L., Haupt, K., 2004. Molecularly imprinted polymers as antibody and receptor mimics for assays, sensors and drug discovery. ***Analytical and Bioanalytical Chemistry,*** 378: 1887-1897.

Yıldırım, E., 2008. Tarımsal zararlılarla mücadele yöntemleri ve kullanılan ilaçlar. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Yayınları, No:219, Erzurum, 350 s.

Yılmaz, M.A. 2015. Bazı *Achıllea* L. türlerinin LCMS-IT/TOF ve LC-MS/MS ile metabolik profillerinin çıkarılması ve biyolojik özelliklerinin belirlenmesi. Kimya Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Dicle Üniversitesi, Diyarbakır.

Yilmaz, E., Majidi, D., Özgür, E., Denizli, A. 2015. Whole cell imprinting based *Escherichia coli* sensors: A study for SPR and QCM. ***Sensors and Actuators B***, 209: 714–721.

Yola, M.L., Uzun, L., Özaltın, N., Denizli, A. 2014. Development of molecular imprinted nanosensor for determination of tobramycin in pharmaceuticals and foods. ***Talanta,*** 120: 318-324.

Yongqin, L., Zhixing, L., Wei, F., Xin, Z., Tianwei, T. 2007. Selective recognition and large enrichment of dimethoate from tea leaves by molecularly imprinted polymers. ***Biochemical Engineering Journal,*** 36: 221–229.

Yun, K., Kobatake, E., Haruyuma, T., Laukkaned, M., Keinanen, K., Aizawa, M. 1998. Use of a quartz crystal microbalance to monitor immunoliposome-antigen interaction. ***Analytical Chemistry,*** 70: 260–264.

Zacharia, J.T. 2011. Identity, physical and chemical properties of pesticides. In: Stoytcheva M, ed. Pesticides in the Modern World - Trends in Pesticides Analysis. Rijeka: Intech; p.1-18.

Zhou, J., Ma, C., Zhou, S., Ma, P., Chen, F., Qi, Y., Chen, H. 2010. Preparation, evaluation and application of molecularly imprinted solid-phase microextraction monolith for selective extraction of pirimicarb in tomato and pear. ***Journal of Chromatography A,*** 1217: 7478–7483.

# ÖZGEÇMİŞ



**Adı Soyadı** : Oğuz ÇAKIR

**Doğum Yeri / Tarihi** : Malatya / 23 Temmuz 1984

**Ünvanı** : Araştırma Görevlisi

**Medeni Hali** : Bekâr

**Yabancı Dili** : İngilizce

**Adres** :Dicle Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi, 21280 Sur / Diyarbakır

**Tel** : 0505 770 70 68

**E-mail** : ocakir44@gmail.com / oguz.cakir@dicle.edu.tr

## Öğrenim Durumu

| Derece | Bölüm/Program | Üniversite | Yıl |
|---|---|---|---|
| Lisans | Kimya | Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi | 2004-2008 |
| Y. Lisans | Kimya-Biyokimya | İnönü Üniversitesi-Fen Bilimleri Enstitüsü | 2009- 2011 |
| Doktora | Kimya-Biyokimya | Dicle Üniversitesi-Fen Bilimleri Enstitüsü | 2012-2017 |

**Aldığı Görevler:** Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Araştırma Görevlisi, 2011

**Yüksek Lisans Tezi:** 2,3,7,8-TCDD (Tetraklorodibenzo-*p*-Dioksin)'nin Ratlarda Oluşturduğu Oksidatif Stres Üzerine Quercetin'nin Koruyucu Etkisinin Araştırılması (BAP-02/2010).

**Kullandığı Cihazlar**

**1.** Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)

**2.** Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi Kütle Spektrometresi (HPLC LC-MS/MS)

**3.** Gaz Kromatografisi Kütle Spektrometresi (GC-MS/MS)

**4.** Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi İyon Tuzaklı/Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometresi (UHPLC IT-TOF-MS)

**5.** Yüzey Plazmon Rezonans (SPR) Sensör Sistemleri

**6.** Kuvars Kristal Mikroterazi (QCM) Sensör Sistemleri

**Kongre, Çalıştay ve Sempozyumlarda Aldığı Görevler:**

**1.** 06-08 Mart 2014 tarihlerinde Dicle Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezinde düzenlenen "2023 Vizyonunda Üniversitelerin Araştırma Laboratuvarları Çalıştayı" teknik ve sosyal faaliyetler kurulunda görev almıştır.

**Projelerde Aldığı Görevler:**

**1.** 2,3,7,8-TCDD (tetraklorodibenzo-*p*-dioksin)'nin sıçanlarda oluşturduğu oksidatif stres üzerine quercetinin koruyucu etkisinin araştırılması, İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi, Araştırmacı, 02/2010.

**2.** Pestisit Tayini İçin Moleküler Baskılama Temelli Yüzey Plazmon Rezonans ve Kuvars Kristal Mikroterazi Sensörlerin Hazırlanması ve Uygulamaları, TÜBİTAK-115Z126 no'lu proje, Bursiyer, 2015.

**A. <u>Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler (SCI) :</u>**

**A1.** Ciftci O, Ozdemir I, Cakir O, Demir S. The determination of oxidative damage in heart tissue of rats caused by ruthenium(II) and gold(I) N-heterocyclic carbene complexes, Toxicology and Industrial Health, 27(8), 735–741, 2011.

**A2.** Ciftci O, Beytur A, Cakir O, Gurbuz N, Vardi N. Comparison of reproductive toxicity caused by cisplatin and novel platinum-*N*-heterocyclic carbene complex in male rats, Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology, 109, 328–333, 2011.

**A3.** Beytur A, Ciftci O, Aydin M, Cakir O, Timurkaan N, Yılmaz F. Protocatechuic acid prevents reproductive damage caused by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in male rats, Andrologia, 1:454-461, 2011.

**A4.** Zeliha Selamoglu Talas, Ilknur Ozdemir, Osman Ciftci, Oguz Cakir, Mehmet Fuat Gulhan, and Oguz Murat Pasaoglu. Role of propolis on biochemical parameters in kidney and heart tissues against L-NAME ınduced oxidative ınjury in rats. Clin Exp Hypertens., 36(7): 492–496, 2014.

**A5.** Osman Selcuk Aldemir, Zeliha Selamoglu Talas, Mehmet Fuat Gulhan, Oguz Cakır, Sevgi Durna Dastan, Husnu Dogan. Role of propolis on oxidative stress in various tissues of fish, Fresenius Environmental Bulletin, 23:3546-3550, 2014.

**A6.** Murat YAVUZ, Oğuz ÇAKIR, Zübeyde BAYSAL. Adsorption of cellulase on poly(2-hydroxyethyl methacrylate) cryogels containing phenylalanine, Turkish Journal of Chemistry, 40:720-728, 2016.

**B. <u>Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler (SCI ve SSCI'ya girmeyen):</u>**

**B1.** Zeliha Selamoglu Talas, Ilknur Ozdemir, Osman Ciftci, Oguz Cakir. Propolis attenuates oxidative injury in brain and lung of nitric oxide synthase inhibited rats, J Pharm Care, 1(2): 45-50, 2013.

**B2.** Shapour Kakoolaki, Zeliha Selamoglu Talas, Oguz Cakir, Osman Ciftci, Ilknur Ozdemir. Role of Propolis on Oxidative Stress in Fish Brain, Basic Clin Neurosci., 4(2):153-158, 2013.

**C. Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan bildiriler:**

**C1.** Oğuz Çakır**,** İlknur Özdemir, Zeliha Selamoğlu Talas, Osman Çiftçi. Nitro-arjinin-metil-ester (L-NAME) ile oluşturulan hipertansif sıçan dokularındaki biyokimyasal değişimler üzerine propolisin etkisi, Biyokimya Kongresi-2011, Adana.

**C2.** Oğuz Çakır, Hasan Dağlı, Murat Yavuz, Zübeyde Baysal. α–Kazeinin Süpermakrogözenekli Poli (HEMA-MAH) Kriyojellere Adsorpsiyonu, Kromatoğrafi Kongresi-2013, Bursa.

**C3.** Abdulselam ERTAŞ, Hüseyin ALKAN, Işıl HACIBEKİROĞLU, Oğuz ÇAKIR, Hasibe YILMAZ, Muammer KAPLAN. *Alcea Pallida ve Alcea Apterocarpa'* nin HPLC ve GC-MS ile phenolic, fatty asit ve uçucu yağ profillerinin belirlenmesi, 14. Ulusal Kromatoğrafi kongresi-2014, İzmir-Çeşme.

**C4.** Oğuz ÇAKIR**,** Erdoğan ÖZGÜR, Ali DERAZSHAMSHİR, Fatma YILMAZ, Adil DENİZLİ, Zübeyde BAYSAL. Amitrol (3-amıno-1,2,4-trıazole) tayini için piezo kristallerle hazırlanan biyosensörlerin QCM sisteminde kullanılması, 8. Ulusal Afinite Teknikleri Kongresi-2014, Konya.

**C5.** Murat Yavuz, Oğuz Çakır, Zübeyde Baysal. Poli(2-Hidroksietil Metakrilat-N-Metakriloil-L-Fenilalanin) [P(HEMA-MAPA)] Kriyojeller ile Selülaz Enzimi Adsorpsiyonu, 15. Ulusal Kromatoğrafi Kongresi-2015, Uşak.

**C6.** Oğuz ÇAKIR, Monireh BAKHSHPOUR, Fatma YILMAZ, Zübeyde BAYSAL, Adil DENİZLİ. Karbofuran Tayini İçin Kuvars Kristal Mikroterazi (QCM) Sensörlerin Hazırlanması**,** 10. Ulusal Afinite Teknikleri Kongresi-2016, Ayvalık-Balıkesir.

**D. Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan bildiriler:**

**D1.** Zeliha Selamoglu Talas, Shapour Kakoolaki, Oguz Cakir, Osman Ciftci, Ilknur Ozdemir. Role of propolis on oxidative stress in fish brain, Neur-Science Congress-2012, İran.

**D2.** Zeliha Selamoglu Talas, Ilknur Ozdemir, Osman Ciftci, Oguz Cakir. Hypertension and oxidative stress in rats treated propolis, Neur-Science Congress-2012, İran.

**D3.** Oğuz Çakır, İlknur Özdemir. The effect of quercetin on oxidative stres ınduced in rats vascular tissue of 2,3,7,8-TCDD (Tetrachlorodibenzo-p-dioxin), 44th World Chemistry Congress-2013, İstanbul.

**D4.** Oğuz ÇAKIR, Monireh BAKHSPOUR, Fatma YILMAZ, Adil DENİZLİ, Zübeyde BAYSAL. Synthesis of Molecular Imprinting Based Quartz Crystal Microbalance Sensors for Chlorpyrifos Determination, 2nd International Congress on Biosensors-2015, İzmir.

**D5.** M.A. Yılmaz, O. Cakir, A. Boukeloua, I. Yener, H. Temel. An efficient LC-MS/MS method validation for determination of water soluble vitamins in thymus. 11th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS), Ankara University Faculty of Pharmacy-2015, Ankara.

**D6.** Oğuz Çakır, M. Bakhspour, F. Yılmaz, Z. Baysal and A.Denizli. Preparation and Characterization of Quartz Crystal Microbalance Based Molecularly Imprinted Biosensors for Detection Dimethoate, 2015 international "9th National Affinity Techniques Symposium" (AFFTECH 2015) "4th Nanomedicine World Congress (NANOMED 2015)" and "2nd International NanoBioTechnology Symposium-2015, Koycegiz / Muğla.

**E. Uluslararası katılımlı ulusal bilimsel toplantılarda sunulan bildiriler:**

**E1.** Osman Çiftçi, İlknur Özdemir, Oğuz Çakır, Serpil Demir. Rutenyum (II) ve Altın (I) N-heterosiklik Karben Komplekslerinin Sıçan Kalp Dokusunda Oluşturdukları Oksidatif Hasarın Belirlenmesi, Kimya Kongresi-2011, Erzurum.

**E2.** Oğuz Çakır, İlknur Özdemir. 2,3,7,8-TCDD (Tetraklorodibenzo-*p*-Dioksin)'nin Sıçan Kalp Dokusunda Oluşturduğu Oksidatif Stress Üzerine Quercetinin Koruyucu Etkisinin Araştırılması, Kimya Kongresi-2011, Erzurum.

**F. Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan sözlü sunumlar:**

**F1.** Mehmet Fuat Gülhan, Ethem Akyol, Zeliha Selamoğlu Talas, Oğuz Çakır, Osman Çiftçi. Değişik Yaş Gruplarındaki Bal Arılarının (A.Mellifera L.) Bazı Biyokimyasal Parametrelerinin Belirlenmesi, İç Anadolu Bölgesi 1. Tarım ve Gıda Kongresi, 2013, Niğde.

**F2.** Hüsnü Doğan, Zeliha Selamoğlu Talas, Mehmet Fuat Gülhan, Oğuz Çakır, Sevgi Durna, İlknur Özdemir, Osman Çiftçi. Pestisite Maruz Bırakılan Gökkuşağı Alabalıklarında Biyokimyasal Parametreler Üzerine Propolisin Etkileri, İç Anadolu Bölgesi 1. Tarım ve Gıda Kongresi, 2013, Niğde.

**F3.** Oğuz ÇAKIR, Monireh BAKHSPOUR, Fatma YILMAZ, Zübeyde BAYSAL, Adil DENİZLİ. Karbofuran Tayinine Yönelik Moleküler Baskılama Temelli Yüzey Plazmon Rezonans (SPR) Sensörlerin Hazırlanması, 10. Ulusal Afinite Teknikleri Kongresi-2016, Ayvalık-Balıkesir.

**F4.** Oğuz ÇAKIR, Monireh Bakhspour, Fatma YILMAZ, Zübeyde BAYSAL, Adil DENİZLİ. Klorprifos Tayinine Yönelik Kuvars Kristal Mikroterazi (QCM) Sensörlerin Hazırlanması ve Sıvı Kromoatografisi Tandem Kütle Spektrometresi (LC-MS/MS) ile Metod Validasyonu, 16. Kromatoğrafi Kongresi-2016, Malatya.

**Almış Olduğu Sertifikalar ve Katıldığı Etkinlikler:**

**1.** Türk standartları enstitüsü kalibrasyon merkezi başkanlığınca, 06-07 mayıs 2011 tarihinde verilen 'TS EN ISO/IEC 17025 Deney ve Kalibrasyon Laboratuarlarının Yeterliliği İçin Genel Şartlar' eğitimine katılmış ve sertifika almıştır.

**2.** 7-8.05.2011 tarihinde, Enmac-Ünisem işbirliği ile gerçekleştirilen 'ISO 9001: 2008 Temel Eğitim' konulu programına katılmış ve sertifika almıştır.

**3.** 7-8.05.2011 tarihinde, Enmac-Ünisem işbirliği ile gerçekleştirilen 'ISO 19001 İç Tetkik' konulu programına katılmış ve sertifika almıştır.

**4.** 7-8.05.2011 tarihinde, Enmac-Ünisem işbirliği ile gerçekleştirilen 'Liderlik ve Stratejik Yönetim' konulu eğitimi başarı ile tamamlamış ve sertifika almıştır.

**5.** 7-8.05.2011 tarihinde, Enmac-Ünisem işbirliği ile gerçekleştirilen 'Profesyonel İş Hayatı' konulu programına katılmış ve sertifika almıştır.

**6.** 09-17 Ekim 2009 tarihleri arasında İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'nun düzenlediği 80 saatlik Laboratuvar Hayvanları kursunu tamamlamış ve kurs sınavında başarılı olmuş ve sertifika almıştır.

**7.** TÜBİTAK 2237 Proje eğitimi etkinlikleri destekleme programı kapsamında Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi tarafından 2012/2 döneminde düzenlenen 'Ugulamalı

TÜBİTAK Projeleri Hazırlama Eğitimi'ne katılarak bu sertifikayı almaya hak kazanmıştır.

**8.** 27 Şubat – 1 Mart 2013 tarihleri arasında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde düzenlenen Fluke Biomedical QA-ES MKII Electrocerrahi Ünite Analizörü, MPS-450 Hasta Simülatörü, Impulse 4000 Defibrilatör Analizörü, ESA601 Elektriksel Güvenlik Analizörü, BP Pump 2 NIBP Simülatörü, Index2 XLFE Pulse Oximetre Simülatörü, VT Mobile Gaz Akış Analizörü, Dale-40 Fototerapi Radyometre, INCU Inkübatör Analizörü, DPM4 Parametre Test Cihazı, Lutron DT-2268 Takometre, IBP HDM99XP Diyaliz Referans Metre, Riken FI-21 Anestezik Ajan Gazı Analizörü, Sypris 5180 Gaussmetre ve Tektronix DMM4020 Dijital Multimetre kullanım eğitimlerine katılarak başarı ile tamamlamıştır.

**9.** 27 Haziran 2012 tarihinde Dicle Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'n de Costech marka, ECS4010 CHNS model "Elementel Analiz" cihazı'nın kullanıcı eğitimine katılmıştır.

**10.** 19.07.2013-20.07.2013 tarihleri arasında Dicle Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'n de düzenlenen Quanta FEG marka "Scanning Electron Microscupe" cihazı'nın kullanıcı eğitimine katılmıştır.

**11.** 16-17 Mayıs 2010 tarihleri arasında İnönü Üniversitesinin düzenlediği 'Organometalik Kimya ve Kataliz Çalıştayı' na katılmıştır.

**12.** 9-10 Ocak 2010 tarihleri arasında İnönü Üniversitesinin düzenlediği 'Burslardan Yararlanma ve Bilimsel Proje Hazırlama Çalıştayı'na katılmıştır.

**13.** 23-25 Mayıs 2010 tarihleri arasında Aksaray Üniversitesinin düzenlediği 'Afinite Kromotografisi Lisansüstü Yaz Okulu'na katılmıştır.

**14.** 13-17 Ocak 2012 tarihleri arasında Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından AB ve diğer mali kaynaklardan etkin faydalanılması amacıyla düzenlenen 'PCM (Proje Döngüsü Yönetimi)' eğitimine katılmıştır.

**15.** 15 Mayıs 2013 tarihinde Gaziantep Novotel'de gerçekleştirilen "Gıda Analizlerinde Kromatoğrafik Tekniklerin (HPLC ve GCMS) Kullanımı" seminerine katılmıştır.

**16.** 19 Mart 2013 tarihinde Dicle Üniversitesinde düzenlenen "Agilent Spektroskopi Çözümleri" seminerine katılmıştır.

**17.** 27 Mart 2013 tarihinde kurum laboratuarında gerçekleştirilen "LCMS-8040 Prominence HPLC" kullanıcı eğitimi'ni başarı ile tamamlayarak bu sertifikayı almaya hak kazanmıştır.

**18.** 04 Ocak 2014 tarihinde kurum laboratuarında gerçekleştirilen "GCMS TQ-8030" kullanıcı eğitimi'ni başarı ile tamamlayarak bu sertifikayı almaya hak kazanmıştır.

**19.** 22-24 Agustos 2014 tarihleri arasında düzenlenen "UYGULAMALI BİYOKİMYADA GÜNCEL KONULAR" Biyokimya Lisansüstü Yaz Okuluna katılmıştır.

**20.** 4 Mayıs 2015 tarihinde TÜBİTAK-ULAKBİM'in düzenlemiş olduğu Editör ve Yazar 5. Eğitim Semineri'ne katılmıştır.

**21.** 08-11 Haziran 2015 tarihleri arasında Shimadzu Sanjo Works tarafından Kyoto/Japon'yada düzenlenen DSC (Diferansiyel Taramalı Kalorimetre) ve DTG (Simültane Diferansiyel Termal Gravimetre ) cihazları eğitimine katılmıştır.

# T.C.
# DİCLE ÜNİVERSİTESİ
# FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
# DOKTORA TEZ ÇALIŞMASI İNTİHAL RAPORU FORMU

| ÖĞRENCİ BİLGİLERİ | |
|---|---|
| **ADI VE SOYADI** | Oğuz ÇAKIR |
| **ÖĞRENCİ NO** | 12803506 |
| **EĞİTİM – ÖĞRETİM YILI** | 2016-2017 |
| **YARIYIL** | ☐ Güz ☒ Bahar |
| **ANABİLİM DALI** | Kimya |
| **PROGRAM** | Doktora |
| **TEZ KONUSU** | Pestisit Tayini İçin Moleküler Baskılama Temelli Yüzey Plazmon Rezonans ve Kuvars Kristal Mikroterazi Sensörlerin Hazırlanması |
| **İNTİHAL RAPORU BİLGİLERİ** | |
| **RAPOR TÜRÜ** | Tez Savunma Sınavı Sonrası |
| **SAYFA SAYISI** | 170 |
| **BENZERLİK ORANI** | % 10 |
| **RAPORLAMA TARİHİ** | 08/03/2017 |

Yukarıda başlığı gösterilen tez çalışmamın kapak sayfası, giriş, ana bölümler, sonuç ve tartışma kısımlarından oluşan toplam 170 sayfalık kısmına ilişkin, 08/03/2017 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından ***Turnitin*** adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan intihal raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 10 'dur.

Uygulanan filtrelemeler:

☒ Kabul/Onay sayfaları hariç
☒ Kaynakça hariç
☒ Alıntılar hariç
☐ Diğer

Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Programlarda Tez Çalışması İntihal Raporu Uygulama Esaslarını inceledim ve bu Uygulama Esaslarında belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini, aksinin tespit edilmesi durumunda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini saygılarımla arz ederim.

08/03/2017
Oğuz ÇAKIR

| | |
|---|---|
| 08/03/2017 | 08/03/2017 |
| Prof. Dr. Zübeyde BAYSAL | Prof. Dr. Ömer YAVUZ |
| **Tez Danışmanı** | **Anabilim Dalı Başkanı** |