

**ENDOKRİN SİSTEM ÜZERİNDE OLUMSUZ ETKİYE SAHİP
ESTRADIÖL VE FENİTROİYONUN TAYİNİNE YÖNELİK
MODİFİYE ELEKTROT TEMELLİ
ELEKTROKİMYASAL SENSÖR GELİŞTİRİLMESİ**

Duygu TOPÇUOĞULLARI
Yüksek Lisans Tezi
Eskişehir, 2017

**ENDOKRİN SİSTEM ÜZERİNDE OLUMSUZ ETKİYE SAHİP ESTRADIOL
VE FENİTROİYONUN TAYİNİNE YÖNELİK MODİFİYE ELEKTROT
TEMELLİ ELEKTROKİMYASAL SENSÖR GELİŞTİRİLMESİ**

Duygu TOPÇUOĞULLARI

YÜKSEK LİSANS YETERLİLİK TEZİ

Analitik Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç.Dr. Ali Özcan

Eskişehir

Anadolu Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kasım, 2017

**Bu tez çalışması Anadolu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Komisyonu Başkanlığı tarafından desteklenmiştir. Proje No: 1701F010**

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Duygu TOPÇUOĞULLARI'nın “Endokrin Sistem Üzerine Olumsuz Etkiye Sahip Estradiol ve Fenitrotyonun Tayinine Yönelik Modifiye Elektrot Temelli Elektrokimyasal Sensör Geliştirilmesi” başlıklı tezi 02/11/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından “Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği”nin ilgili maddeleri uyarınca, **Kimya** Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Unvanı-Adı Soyadı

İmza

Üye (Tez Danışmanı) : Doç. Dr. Ali ÖZCAN

.....

Üye

: Prof. Dr. Evrim SOFUOĞLU HÜR

.....

Üye

: Doç. Dr. Sibel EMİR DİLTEMİZ

.....

.....

Enstitü Müdürü

ÖZET

ENDOKRİN SİSTEM ÜZERİNDE OLUMSUZ ETKİYE SAHİP ESTRADİOL VE FENİTROTIYONUN TAYİNİNE YÖNELİK MODİFİYE ELEKTROT TEMELLİ ELEKTROKİMYASAL SENSÖR GELİŞTİRİLMESİ

Duygu TOPÇUOĞULLARI

Kimya Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kasım, 2017

Danışman: Doç. Dr. Ali ÖZCAN

Endokrin sistem bozucu kimyasal (EBK)'ların uzun süreli kullanımı bazı kanser türlerinin oluşumuna, ürüme bozukluklarına ve obezite gibi birtakım hastalıklara sebebiyet vermektedir. Bu kimyasalların yüksek toksisiteleri ve kararlı bir yapıya sahip olmalarından dolayı hızlı ve düşük derişimlerde tayinleri oldukça önemlidir. Bu tez çalışması kapsamında EBK sınıfında yer alan 17- β -estradiol (EST) ve fenitrotiyon (FNT)'un hızlı, hassas, seçici ve kolay tayinlerini gerçekleştirmek amacıyla modifiye elektrot temelli elektrokimyasal sensör geliştirilmesi amaçlanmıştır. İlk olarak sistamin bağlı altın nanopartiküllerle modifiye edilmiş tütsülenmiş silikadan oluşan bir nanokompozit sentezlenmiştir. Daha sonra sentezlenen nanokompozit, grafen nanoşeritlerle karıştırılarak homojen bir modifikasyon ajanı elde edilmiştir. Hazırlanan modifikasyon ajanıyla karbon pasta elektrot modifiye edilmiş ve EST tayinin için bir voltametrik yöntem önerilmiştir. Söz konusu yöntemle EST için oldukça düşük bir gözlenebilme sınırı (7,4 nM) elde edilmiştir. Tez çalışmasının ikinci kısmında, grafen oksitin tütsülenmiş silika yüzeyinde indirgenmesi ile bir nanokompozit hazırlanmış ve camsı karbon elektrodun modifikasyonunda kullanılmıştır. Hazırlanan modifiye elektrot fenitrotiyonun indirgenmesinde elektrokatalitik etki göstererek pik akımlarını önemli derecede arttırmıştır. Hazırlanan elektrokimyasal sensörlerin gerçek örneklerde kullanımı araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar hazırlanan her iki elektrokimyasal sensöründe hedeflenen analizlerde güvenle kullanılabileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Elektrokimya, Endokrin sistem bozucu kimyasallar, Sensör, Modifiye elektrot.

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF ELECTROCHEMICAL SENSOR BASED ON MODIFIED ELECTRODE FOR THE DETERMINATION OF ESTRADIOL AND FENITROTHION WHICH HAVE NEGATIVE EFFECTS ON THE ENDOCRINE SYSTEM

Duygu TOPÇUOĞULLARI

Department of Chemistry

Anadolu University, Graduate School of Sciences, November, 2017

Supervisor: Assoc.Doc.Dr. Ali ÖZCAN

The long-term use of endocrine disrupting chemicals (EDCs) leads to the formation of certain types of cancer, disorders of the reproductive system and diseases such as obesity. Because of the high toxicity and stable structure of these chemicals, rapid and low concentration determinations are very important. In the scope of this thesis, it was aimed to develop electrochemical sensor based on modified electrode in order to realize rapid, sensitive, selective and easy determination of 17- β -estradiol and fenitrothion which are EDCs. Firstly, a nanocomposite consisting of fumed silica modified with cystamine self-assembled gold nanoparticles was synthesized. The synthesized nanocomposite was then mixed with graphene nanoribbons to obtain a homogeneous modification agent. The carbon paste electrode was modified with the prepared modification agent and a voltammetric method was proposed for 17- β -estradiol determination. With this relevant method, a very low detection limit (7,4 nM) was obtained for 17- β -estradiol. In the second part of the thesis, a nanocomposite prepared by reduction of graphene oxide on the fumed silica surface and it was used in the modification of glassy carbon electrode. The prepared modified electrode showed an electrocatalytic effect in the reduction of fenitrothion, thereby increasing the peak currents significantly. The use of prepared electrochemical sensors in real samples has been investigated. The results showed that both of the electrochemical sensor prepared in this study can be used safely in the proposed analysis.

Keywords: Electrochemistry, Endocrine system disrupting chemicals, Sensor, Modified electrode.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca değerli bilgilerini benimle paylaşan, her türlü bilgiyi sabırla ve fedakarlıkta bulunarak elinden gelenin fazlasıyla aktarmaya çalışan ve gelecekte mesleki hayatımda da bana verdiği bilgilerden faydalanacağımı düşündüğüm değerli danışmanım Sayın Doç. Dr. Ali ÖZCAN'a teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Tezimin değerlendirilmesi aşamasında jüri üyesi olarak yer alan Sayın Prof. Dr. Evrim Sofuoğlu Hür ve Sayın Doç. Dr. Sibel Emir Diltemiz'e değerli vakitlerini ayırdıkları için teşekkür ederim.

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve tecrübeleriyle bana yardımcı olan Anadolu Üniversitesi Kimya Bölümü'ndeki tüm hocalarıma teşekkür ederim. Fen Fakültesi olanaklarından yararlanmamı sağlayan Fen Fakültesi Dekanlığına ve Kimya Bölümü imkanlarından yararlanmamı sağlayan Kimya Bölümü Başkanlığına tez çalışmam sırasında sağladıkları imkanlardan dolayı teşekkür ederim.

Gerek deneysel aşamalarda gerekse manevi olarak desteğini her zaman hissettiğim değerli çalışma arkadaşlarım Betül Kalkan'a ve özellikle desteğini her zaman yürekten hissettiğim değerli arkadaşım Kardelen Ecevit'e teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmam sırasında bilgilerini benimle paylaşarak gelişimime katkıda bulunduğunu düşündüğüm çalışma arkadaşım Salih İlkbaş'a teşekkür ederim. Ayrıca tez yazım sürecinde her zaman yardımlaşarak bu süreci birlikte tamamladığımız çalışma arkadaşım Mustafa Gürbüz'e teşekkür ederim.

Bu süreçte karşıma çıkan her türlü zorlukta karşılık beklemeden maddi manevi desteğini her zaman hissettiğim Can Şahintaş'a gönülden teşekkür ederim. En büyük desteği hayatım boyunca bana gösteren ve maddi ve manevi her türlü yardımı benden esirgemeyen Canım Annem Nursel TOPÇUOĞULLARI ve Canım Babam Cengiz TOPÇUOĞULLARI'na sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak, tez kapsamında gerçekleştirilen çalışmanın desteklenmesini sağlayan Anadolu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı ve Anadolu Üniversitesi Rektörlüğü'ne teşekkür ederim.

Duygu TOPÇUOĞULLARI

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait özgün bir çalışma olduğunu, çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilemeyen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm.

Duygu TOPÇUOĞULLARI

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
BAŞLIK SAYFASI	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar DİNİZİ	xii
ŞEKİLLER DİNİZİ	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xx
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Endokrin Sistem	4
2.2. Endokrin Sistem Bozucu Kimyasallar Tanımı ve Sınıflandırılması	5
2.2.1. Endokrin sistem bozucu kimyasalların etki mekanizmaları.....	8
2.2.2. Endokrin sistem bozucu kimyasalların insan sağlığı üzerine etkileri	10
2.2.2.1. Endokrin sistem bozucu kimyasalların dişi üreme sağlığı üzerine etkileri.....	10
2.2.2.2. Endokrin sistem bozucu kimyasalların erkek üreme sağlığı üzerine etkileri.....	11

2.2.2.3. <i>Endokrin sistem bozucu kimyasalların kanser oluşumu üzerine etkileri</i>	11
2.2.2.4. <i>Endokrin sistem bozucu kimyasalların tiroit hormonu üzerine olumsuz etkileri</i>	11
2.2.2.5. <i>Endokrin bozucu kimyasalların obezite üzerine etkileri</i>	12
2.3. Tez Çalışması Kapsamında Araştırılan Endokrin Sistem Bozucu Kimyasallar	12
2.3.1. 17 β -Estradiol	12
2.3.1.1. <i>17 β-Estadiol tayini için kullanılan yöntemler ve literatür araştırması</i>	13
2.3.2. Fenitrotiyon	16
2.3.2.1. <i>Fenitrotiyon tayini için kullanılan yöntemler ve literatür araştırması</i>	18
2.4. Sensörler ve Sensörlerin Sınıflandırılması	20
2.4.1. Elektrokimyasal sensörler	21
2.5. Elektrokimya ve Elektrokimyasal Teknikler	22
2.6. Voltametri	23
2.6.1. Voltametrde kullanılan elektrokimyasal hücreler ve hücre elemanları.....	24
2.6.2. Voltametrde kullanılan uyarma sinyalleri.....	25
2.6.3. Voltamogramlardan elde edilen bilgiler	26
2.6.4. Voltametrik yöntemlerde analiz sürecini etkileyen parametreler.....	27
2.7. Tez Çalışması Kapsamında Kullanılan Voltametrik Yöntemler	28
2.7.1. Diferansiyel puls voltametrisi	29
2.7.2. Dönüşümlü voltametri	29
2.8. Elektrot Modifikasyon Yöntemleri	31

2.8.1. Grafen oksit ve elektroanalitik uygulamaları	31
2.8.2. Grafen nanoşerit ve elektroanalitik uygulamaları.....	33
2.8.3. Tütsülenmiş silika ve elektrokimyasal uygulamaları	34
3. METARYAL VE YÖNTEM.....	35
3.1. Tez Kapsamında Kullanılan Kimyasallar	35
3.2. Kullanılan Cihazlar	36
3.3. Kullanılan Hücre ve Elektrotlar	36
3.4. Modifiye Elektrotların Hazırlanması	37
3.4.1. EST tayinine yönelik modifiye elektrot hazırlanması	38
3.4.1.1. <i>GNŞ/TS-Au-SA modifiye KP elektrodun karakterizasyonu</i>	<i>39</i>
3.4.1.2. <i>KPE/GNŞ-TS-Au-SA elektrodun EST varlığında elektrokimyasal davranışının incelenmesi</i>	<i>40</i>
3.4.1.3. <i>EST tayini için ölçüm parametrelerinin optimizasyonu</i>	<i>41</i>
3.4.1.4. <i>EST tayini için analitik parametrelerin belirlenmesi.....</i>	<i>41</i>
3.4.1.5. <i>EST tayini için girişim yapması muhtemel türlerin etkilerinin araştırılması</i>	<i>42</i>
3.4.1.6. <i>EST'nin gerçek örneklerde analizinin araştırılması.....</i>	<i>42</i>
3.4.2. FNT tayini için modifiye elektrot geliştirilmesi.....	43
3.4.2.1. <i>TS@İGO modifiye elektrodun karakterizasyonu</i>	<i>44</i>
3.4.2.2. <i>TS@İGO modifiye elektrodun hazırlanmasının optimizasyonu.....</i>	<i>44</i>
3.4.2.3. <i>CK/TS@İGO elektrodun fenitrotiyon varlığında elektrokimyasal davranışının incelenmesi</i>	<i>44</i>
3.4.2.4. <i>FNT tayini için ölçüm parametrelerinin optimizasyonu.....</i>	<i>45</i>
3.4.2.5. <i>FNT tayinin için analitik parametrelerin belirlenmesi.....</i>	<i>45</i>
3.4.2.6. <i>FNT tayini için girişim yapması olası türlerin etkilerinin araştırılması</i>	<i>45</i>

3.4.1.7. Gerçek örneklerde FNT analizinin araştırılması	45
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	47
4.1. EST Tayini İçin Modifiye Elektrot Hazırlanması.....	47
4.1.1. EST tayinine yönelik hazırlanan modifiye elektrodun karakterizasyonu	47
4.1.1.1. Modifiye elektrotların dönüşümlü voltametri ölçümleri.....	47
4.1.1.2. Elektrokimyasal impedans spektroskopisi ölçümleri.....	48
4.1.1.3. Modifiye elektrotların taramalı elektron mikroskopisi analiz sonuçları.....	50
4.1.1.4. Modifikasyon ajanların Raman analiz sonuçları.....	50
4.1.2. EST'nin elektrokimyasal davranışının incelenmesi	52
4.1.3. KP/GNŞ-TS-Au-SA elektrodun EST yükseltgenmesinde performansının incelenmesi.....	55
4.1.4. GNŞ/Ts-Au-SA miktarının etkilerinin araştırılması.....	57
4.1.5. EST tayini için ölçüm parametrelerinin optimizasyonu	57
4.1.6. EST tayinine girişim yapması muhtemel türlerin etkilerinin incelenmesi	60
4.1.7. EST tayini için analitik parametrelerin belirlenmesi	62
4.1.8. Estradiolün gerçek örneklerde araştırılması.....	64
4.2. FNT Tayinine Yönelik Modifiye Elektrokimyasal Sensör Geliştirilmesi	68
4.2.1. FNT tayinine yönelik modifiye elektrodun hazırlanması ve karakterizasyonu	68
4.2.1.1. Dönüşümlü voltametri ölçümleri	68
4.2.1.2. Elektrokimyasal empedans ölçümleri	70
4.2.1.3. Modifiye edici ajanların raman spektroskopisi sonuçları.....	71
4.2.2. FNT molekülünün elektrokimyasal davranışının incelenmesi	73

4.2.3. CK/TS@İGO elektrodun FNT'nin indirgenmesi üzerinde performansının incelenmesi.....	75
4.2.4. CK/TS@İGO elektrodun hazırlanma koşullarının optimizasyonu ...	77
4.2.4.1. <i>Modifikasyon süspansiyonunun hacminin optimizasyonu</i>	78
4.2.5. FNT tayini için ölçüm parametrelerinin optimizasyonu	79
4.2.6. Analizlerde girişim yapması muhtemel türlerin etkilerinin incelenmesi	81
4.2.7. FNT tayini için analitik parametrelerin belirlenmesi.....	82
4.2.8. FNT tayininin gerçek örneklerde araştırılması.....	85
5. SONUÇLAR	92
KAYNAKÇA	94
ÖZGEÇMİŞ	

TABLÖLAR DİNİZİ

Sayfa

Tablo 2.1. Endokrin bozucu kimyasallara örnek yapılar ve kullanım alanları	7
Tablo 2.2. 17- β -Estradiol kimyasal yapısı ve özellikleri	13
Tablo 2.3. Estradiolün elektrokimyasal tayinine yönelik literatürde yayınlanmış çalışmalar	16
Tablo 2.4. Fenitrotiyon kimyasal yapısı ve özellikleri.....	18
Tablo 3.1. Deneysel süreçlerde kullanılan kimyasallar.	35
Tablo 3.2. Tez çalışması kapsamında kullanılan cihazların adı, marka ve modeli ve kullanım amaçları.....	36
Tablo 4.1. Modifiye elektrotların 2,5 mM Fe(CN) $_6^{3-/4-}$ 0,1M KCl içeren çözeltide dönüşümlü voltametri ile elde edilen gerilim değerleri	48
Tablo 4.2. Elektrotlar için empedans devre elamanlarının eş değer devreye fit edilmiş değerleri.	50
Tablo 4.3. EST'nin yükseltgenme pik akımına girişim etkisi incelenen türlerin maksimum izin verilen derişimleri ve bu türlerin varlığında yüzde pik akımı değışimleri	61
Tablo 4.4. Geliştirilen modifiye elektrodun doğrusal ölçüm aralığı ve gözlenebilme sınırının literatürde yer alan diğer elektrokimyasal yöntemler ile karşılaştırılması	64
Tablo 4.5. Süt örneğinde modifiye elektrot kullanılarak gerçekleştirilen EST tayininin geri kazanım değerleri.....	67
Tablo 4.6. Elektrotlar için empedans devre elamanlarının eş değer devreye fit edilmiş değerleri	71

Tablo 4.7. FNT'nin indirgenme pik akımına girişim etkisi incelenen türlerin maksimum izin verilen derişimleri ve bu türlerin varlığında yüzdece pik akımı değişimleri.....	82
Tablo 4.8. Geliştirilen CK/TS@İGO elektrodun doğrusal ölçüm aralığı ve gözlenebilme sınırının literatürde yer alan diğer elektrokimyasal yöntemler ile karşılaştırılması	85
Tablo 4.9. Fenitrotiyonun gerçek örneklerde elde edilen geri kazanım değerleri	91

ŞEKİLLER DİNİZİ

Sayfa

Şekil 2.1. Endokrin sistem bozucu kimyasalların sınıflandırılması.	5
Şekil 2.2. Endokrin sistem bozulma süreci (a) hormon yanıtı; (b) agonistik etki; (c) antagonistik etki.	9
Şekil 2.3. Sensörlerin genel yapısının şematik olarak gösterimi.	20
Şekil 2.4. Dönüştürücü sisteme göre sensörlerin sınıflandırılması.	49
Şekil 2.5. Elektrokimyasal tekniklerin sınıflandırılması	23
Şekil 2.6. Voltametrik ölçümlerde kullanılan hücre ve hücre bileşenleri.	24
Şekil 2.7. Voltametrik tekniklerde kullanılan uyarma sinyalleri ve voltametrik yöntemler.....	26
Şekil 2.8. Örnek voltamogram ve önemli unsurlar.....	26
Şekil 2.9. Diferansiyel puls voltametrisinde uyarma sinyali (a); diferansiyel puls voltamogramı (b).....	29
Şekil 2.10. Dönüşümlü voltametri yönteminde uyarma sinyali (a) ve elektro aktif türe ait dönüşümlü voltamogramı (b).....	30
Şekil 2.11. Grafen ve grafen oksitin yapısal gösterimi.....	32
Şekil 2.12. Grafen nano şerit moleküler yapısı	33
Şekil 3.1. Deneysel çalışmalarda referans elektrot olarak kullanılan doygun kalomel elektrot (a) ve karşıt elektrot olarak kullanılan platin elektrot (b)	37
Şekil 3.2. EST tayininde kullanılan karbon pasta elektrot (a) ve FNT tayini amacıyla kullanılan camısı karbon elektrot (b).....	37
Şekil 3.3. Basit bir Randles devresi.	40

Şekil 3.4. 1 mg/mL TS@İGO (a) ve İGO (b) ile ultra-saf su kullanılarak hazırlanan modifikasyon çözeltilerinin kararlılığının karşılaştırılması	43
Şekil 4.1. KP, KP/TS-Au-SA, KP/GNŞ ve KP/GNŞ-TS-Au-SA elektrotlarına ait 0,1 M KCl çözeltisi içersinde 5,0 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ varlığında elde edilen dönüşümlü voltamogramlar. (Tarama hızı: 50 mV/s ⁻¹)	48
Şekil 4.2. KP, KP/TS-Au-SA, KP/GNŞ ve KP/GNŞ-TS-Au-SA elektrotlar kullanılarak 0,1 M KCl ve 5,0 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ içeren sulu çözeltide elde edilen Nyquist diyagramları.	49
Şekil 4.3. TS (a) ve TS-Au-SA (b) modifikasyon ajanlarının SEM görüntüleri	50
Şekil 4.4. ÇDKNT ve GNŞ'ye ait Raman spektrumları	51
Şekil 4.5. TS-Au ve TS-Au-SA nano kompozitlerine ait Raman spektrumları... ..	52
Şekil 4.6. EST yokluğunda (a) ve 25 µM EST varlığında (b) KP/GNŞ-TS-Au-SA elektroda ait dönüşümlü voltametri ölçümleri sonucu elde edilen voltamogramları (Tarama hızı: 50 mV/s; Karıştırma süresi: 60 s; Karıştırma hızı: 300 rpm).	53
Şekil 4.7. EST'nin elektrokimyasal yükseltgenme mekanizması.....	53
Şekil 4.8. (A) 25 µM EST'nin farklı tarama hızlarında (10; 25; 50; 75; 100; 125; 150; 200; 250 mV/s) KP/GNŞ-TS-Au-SA elektrot ile 0,1 M fosfat tamponu (pH 5) içinde elde edilen dönüşümlü voltamogramları. (B) 25 µM EST'nin farklı tarama hızlarına karşı yükseltgenme pik akımları.....	54
Şekil 4.9. KP, KP/TS-Au-SA, KP/GNŞ ve KP/GNŞ-TS-Au-SA elektrotlar ile 5,0 µM EST varlığında 0,1 M fosfat tamponu içinde (pH 6) elde edilen diferansiyel puls voltamogramları (Bekleme süresi: 60 s; temas süresi: 300 rpm).	56
Şekil 4.10. CK/GNŞ-TS-Au-SA (A), KP/GNŞ-TS-Au-SA (B) elektrotlarının 5,0 µM estradiol varlığında 0,1 M fosfat tamponunda (pH 6) elde edilen diferansiyel puls voltamogramları (Bekleme süresi: 60 s; Karıştırma hızı: 300 rpm).....	56

- Şekil 4.11.** Farklı hacimlerde GNŞ/TS-Au-SA nanokompozit kullanılarak hazırlanan elektrotlar kullanılarak 0,1 M fosfat tamponunda (pH 6,0) 5,0µM EST varlığında elde edilen pik akımları (Bekleme süresi: 60 s; karıştırma hızı: 300 rpm)..... 57
- Şekil 4.12.** (A) KP/GNŞ-TS-Au-SA elektrot ile farklı pH değerlerinde elde edilen 5,0 µM EST'ye ait diferansiyel puls voltamogramları (temas süresi: 60s; karıştırma hızı: 300 rpm); (B) yükseltgenme pik potansiyeline pH'nın etkisi..... 59
- Şekil 4.13.** Temas süresinin 0,1 M fosfat tamponu içinde (pH 5,0) 0,5 µM EST'nin yükseltgenme pik akım yüksekliğine etkisi. 60
- Şekil 4.14.** KP/GNŞ-TS-Au-SA elektrot ile 5 µM EST ve 5 µM Estron varlığında 0,1 M fosfat tamponu (pH 5) içinde gerçekleştirilen diferansiyel puls voltametri ölçümleri sonucu ele edilen voltamogramlar 62
- Şekil 4.15.** (A)KP/GNŞ-TS-Au-SA elektrot ile 0,1 µM il 0,5 µM derişim aralığında EST'ye ait 0,1 M fosfat tamponu içinde gerçekleştirilen DPV ölçümleri sonucu elde edile voltamogramlar (Bekleme süresi: 180 s; Karıştırma hızı: 300 rpm). (B) Modifiye elektrot ile elde edilen EST için kalibrasyon eğrisi..... 63
- Şekil 4.16.** (A) KP/GNŞ-TS-Au-SA elektrot ile 0,1 M fosfat tamponu içinde elde edilen 50 kez seyreltilmiş süt örneğinin diferansiyel puls voltamogramı. (B) Artan derişimlerde EST varlığında ve yokluğunda, KP/GNŞ-TS-Au-SA elektrot ile elde edilen 0,1 M fosfat tamponu içinde (pH 5) elde edililen 50 kez seyreltilmiş standart eklenmiş süt örneğinin DPV voltamogramları 66
- Şekil 4.17.** Artan derişimlerde EST varlığında, KP/GNŞ-TS-Au-SA elektrot ile elde edilen 0,1 M fosfat tamponu içinde (pH 5) elde edililen standart eklenmiş ilaç örneğinin DPV voltamogramları..... 67
- Şekil 4.18.** CK, CK/İGO ve CK/TS@İGO elektrotlarına ait 2,5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ içeren 0,1 M KCl çözeltisinde varlığında elde edilen dönüşümlü

- voltamogramlar. (Tarama hızı: 50 mV/s; karıştırma süresi 60 s; karıştırma hızı: 300 rpm)..... 69
- Şekil 4.19.** CK, CK/İGO ve CK/TS@İGO elektrotlarına ait 1 mM $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ içeren 0,1 M KCl çözeltisi varlığında elde edilen dönüşümlü voltamogramlar. (Tarama hızı: 50 mV/s; karıştırma süresi 60 s; karıştırma hızı: 300 rpm)... 70
- Şekil 4.20.** CK, CK/İGO ve CK/TS@İGO elektrotların 0,1 M KCl ve 2,5 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ içeren fosfat tamponundaki (pH 7,4) empedans ölçümleriyle elde edilen Nyquist diyagramları. 71
- Şekil 4.21.** TS yokluğunda (a) ve varlığında (b) elde edilen GO ve İGO nano kompozitlerine ait Raman spektrumları..... 72
- Şekil 4.22.** CK/TS@İGO elektrodun FNT yokluğunda (A), CK (B) ve CK/TS@İGO (C) elektrodun 25 μM FNT varlığında 0,1 M fosfat tamponu (pH 2) içinde elde edilen dönüşümlü voltametri voltamogramları (Tarama hızı: 50 mV/s; karıştırma süresi:60 s; karıştırma hızı: 300 rpm) 74
- Şekil 4.23.** (A) CK/TS@İGO elektrodun 25,0 μM FNT içeren 0,1 M fosfat tamponunda (pH 2,0) farklı tarama hızlarında elde edilen dönüşümlü voltamogramları ve (B)Tarama hızına karşı pik akımları 75
- Şekil 4.24.** CK, CK/İGO ve CK/TS@İGO elektrotlar kullanılarak 5 μM FNT içeren 0,1 M fosfat tamponu (pH 5) elde edilen diferansiyel puls voltamogramları (Karıştırma süresi: 60 s; karıştırma hızı: 300 rpm 76
- Şekil 4.25.** CK/TS@İGO ve CK/TS@İGO₁ elektrotları kullanılarak 5 μM FNT varlığında 0,1 M fosfat tamponu (pH 5) içinde gerçekleştirilen diferansiyel puls ölçümleri. (Bekleme süresi: 60 s; karıştırma hızı: 300 rpm)..... 78
- Şekil 4.26.** Yalın camı karbon elektrot yüzeyine farklı miktarlarda TS@İGO kompozit damlatılması sonucu 5 μM FNT varlığında elde edilen pik akım değerlerinin karşılaştırılması. (Bekleme süresi: 60 s; karıştırma hızı: 300 rpm) 79

- Şekil 4.27.** Çözelti ortamının pH'sının 5 μM FNT'nin pik akım değerleri üzerine (A) ve pik potansiyelleri üzerine (B).(Bekleme süresi: 60 s; karıştırma hızı: 300 rpm)..... 80
- Şekil 4.28.** CK/TS@İGO elektrot kullanılarak fosfat tamponunda (pH 2) farklı bekleme sürelerinde gerçekleştirilen ölçümlerde elde edilen 5,0 μM FNT'ye ait yükseltgenme pik akımları. 81
- Şekil 4.29.** (A)CK/TS@İGO elektrot ile 0,005 μM ile 0,1 μM derişim aralığında FNT'ye ait 0,1 M fosfat tamponu içinde (pH 2) gerçekleştirilen DPV ölçümleri sonucu elde edile voltamogramlar (Bekleme süresi: 90 s; Karıştırma hızı: 300 rpm). (B) FNT için kalibrasyon eğrisi 83
- Şekil 4.30.** (A)CK/TS@İGO elektrot ile 0,05 μM ile 5,0 μM derişim aralığında FNT'ye ait 0,1 M fosfat tamponu içinde (pH 2) gerçekleştirilen DPV ölçümleri sonucu elde edile voltamogramlar (Bekleme süresi: 90 s; Karıştırma hızı: 300 rpm). (B) Modifiye elektrot ile elde edilen FNT için kalibrasyon eğrisi..... 84
- Şekil 4.31.** CK/TS@İGO elektrot kullanılarak belirli miktarda FNT içeren nehir suyu örneğinin 0,1 M fosfat tamponunda (pH 2,0) artan derişimlerde FNT eklenerek elde edilen diferansiyel puls voltamogramları (Bekleme süresi: 90 s; karıştırma hızı: 300 rpm)..... 86
- Şekil 4.32.** CK/TS@İGO elektrot kullanılarak belirli miktarda FNT içeren idrar örneğinin 0,1 M fosfat tamponunda (pH 2,0) artan derişimlerde FNT eklenerek elde edilen diferansiyel puls voltamogramları (Bekleme süresi: 90 s; karıştırma hızı: 300 rpm. 87
- Şekil 4.33.** CK/TS@İGO elektrot kullanılarak belirli miktarda FNT içeren kuru üzüm örneğinin 0,1 M fosfat tamponunda (pH 2,0) artan derişimlerde FNT eklenerek elde edilen diferansiyel puls voltamogramları (Bekleme süresi: 90 s; karıştırma hızı: 300 rpm)..... 88
- Şekil 4.34.** CK/TS@İGO elektrot kullanılarak belirli miktarda FNT içeren domates ekstraktı örneğinin 0,1 M fosfat tamponunda (pH 2,0) artan derişimlerde

FNT eklenerek elde edilen diferansiyel puls voltamogramları (Bekleme süresi: 90 s; karıştırma hızı: 300 rpm). 89

Şekil 4.35. CK/TS@İGO elektrot kullanılarak belirli miktarda FNT içeren portakal ekstraktı örneğinin 0,1 M fosfat tamponunda (pH 2,0) artan derişimlerde FNT eklenerek elde edilen diferansiyel puls voltamogramları (Bekleme süresi: 90 s; karıştırma hızı: 300 rpm) 90

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

β	: Beta
KP/GNŞ	:Grafen nano şerit modifiye karbon pasta
KP/GNŞ-TS-Au-SA	: Grafen nano şerit ve sistamin bağlı altın nanopartikül modifiyeli tütsülenmiş silika nanokompozitleri ile modifiye karbon pasta
GO	: Grafen oksit
CV	: Dönüşümlü voltametri
DPV	: Diferansiyel puls voltametri
EBK	: Endokrin bozucu kimyasallar
EIS	: Elektrokimyasal empedans spektroskopisi
İGO	: İndirgenmiş grafen oksit
CK/TS@İGO	: İndirgenmiş grafen oksit ve tütsülenmiş silika nanokompozit modifiye camısı karbon
CK/İGO	:İndirgenmiş grafen oksit modifiye camısı karbon
M	: Molar
mM	: Milimolar
mV	: Milivolt
μ A	: Mikroamper
μ M	: Mikromolar
nM	: Nanomolar
s	: Saniye
KP/TS-Au-SA	: Tütsülenmiş silika yüzeyinde altın nanopartikül kompozit modifiye karbon pasta
V	: Volt

1. GİRİŞ

Çeşitli çevresel atıkların olumsuz etkileri doğal ya da sentetik bileşiklerin doğaya kontrolsüz olarak bırakılması sonucu ortaya çıkmaktadır. Artan dünya nüfusu ile birlikte doğaya gelişigüzel bırakılan bu bileşiklerin sayısında gün geçtikçe artmaktadır. Doğaya kontrolsüz olarak bırakılan bu bileşiklerin olumsuz etkileri geri dönüşümlü veya geri dönüşümsüz olarak birçok canlı türünün sağlığını ve yaşamını sürdürdüğü ortamı etkilemektedir. Bu atıkların bir grubunu da endokrin bozucu kimyasallar (EBK) oluşturmaktadır. EBK'lar genel olarak endokrin sistemin işleyişinde değişikliğe neden olarak canlı organizmasında birtakım bozukluklara neden olan kimyasallar olarak tanımlanmaktadır [1]. EBK'lar nanomolar seviyelerde bile doğal hormonları taklit edebilir veya hormonların etkilerini engelleyerek endokrin sistemin işleyişinde birtakım aksaklıklara neden olabilmektedirler [2]. Bununla birlikte canlı organizmaya alınan EBK'lar insan ve hayvanlar üzerinde cinsiyet bozuklukları, sperm sayısı ve kalitesinin azalması, erkek organizmasında dişilik, dişi organizmada ise erkeklik özelliklerini arttırarak üreme sistemini etkilemektedir. Olumsuz etkileri sadece üreme sağlığı üzerine olmayan EBK'lar, çeşitli kanser türlerinin oluşumunu tetiklediği, diyabet ve obezite gibi hastalıkların görülme sıklığını arttırdığı yapılan çalışmalar sonucunda ortaya konmuştur [3]. Doğal veya sentetik östrojenler ve pestisitler yüksek kararlılığa ve toksik etkiye sahip kimyasallardandır. Bu kimyasallar EBK'ların iki önemli sınıfını oluşturmaktadır.

17- β -estadiol (EST) doğal östrojen grubunda yer alan, insan ve hayvan sağlığı üzerinde olumsuz etkileri bilinen endokrin sistem bozucu bir kimyasaldır. Kadınlarda ergenlikten menopoza dönemine kadar temel östrojen olan EST, erkeklerde de az miktarda salgılanarak üreme verimliliğini etkileyici etki göstermektedir. EST'ye yoğun olarak maruz kalınması durumunda doğurganlığı azalttığı, cinsiyet bozukluklarına neden olduğu, göğüs ve prostat kanserine neden olduğu yapılan araştırmalar sonucu bilim insanları tarafından ortaya konmuştur. Ayrıca, bu hormon troit hormonunun fonksiyonunu etkileyerek gelişim anormalliklerine de neden olmaktadır [4].

Bir diğer önemli EBK grubunu pestisitler oluşturmaktadır. Pestisitlerin en önemli grubunu organofosfat bileşikler oluşturmaktadır. Organofosfat bileşikler tarımsal verimliliği arttırmak amacıyla böcekler üzerinde yüksek öldürücü etkiye sahip olmaları ve kolay parçalanabilir yapıda olmalarından dolayı tarımsal bölgelerde

kullanılmaktadır [5]. Organofosfat bileşiklerinden olan fenitrotiyon genel olarak tahıl bitkileri, pamuk, pirinç ve sebzelerin üzerinde bulunan zararlı böceklerin kontrol edilmesinde kullanılmaktadır [6]. Bu pestisitler omurgalıların sinir uyarılarının iletilmesini katalizleyen asetilkolinesteraz enzimini inhibe edici etki göstererek canlı sağlığı üzerinde olumsuz etkilere neden olmaktadır [7]. Organofosfat grubu pestisitlerin çeşitli kanser türlerine ve DNA hasarına neden olduğu, büyüme ve gelişme fonksiyonları üzerine olumsuz yönde etki ettiği ve sinir iletimini durdurucu etki yarattıkları yapılan çalışmalar sonucu gözlemlenmiştir.

İnsan sağlığı üzerine oldukça önemli etki gösteren EBK'ların gıda güvenliği, çevresel güvenlik ve insan sağlığı açısından düşük miktarlarda ve hızlı tayini oldukça önemlidir. EBK'ların tayin edilmesinde genel olarak gaz kromatografisi [8], yüksek performanslı sıvı kromatografisi [9] ve kapiler elektroforez [10] gibi yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemler yüksek hassasiyete sahip olmalarına rağmen uzun analiz süresi, pahalı ekipmana ihtiyaç duymaları ve karmaşık örnek hazırlama işlemleri gerektirmelerinden dolayı birtakım dezavantajlara sahiptirler.

Son yıllarda EBK'ların tayinine yönelik çalışmalarda elektrokimyasal temelli sensör kullanımı araştırılmaktadır. Elektrokimyasal teknikler ucuz, basit, tek seferde birden çok analitin analizinin gerçekleştirilebilmesi ve kısa sürede analiz yapılabilmesi gibi avantajlara sahiptir. Farklı çalışma prensibine sahip elektrokimyasal sensörlerin arasında voltametrik sensörler önemli yer tutmaktadır. Voltametrik sensörler analitin elektrot yüzeyinde yükseltgenme veya indirgenmesi sonucu bir analitik sinyal elde edilmesi esasına dayanmaktadır. Hedef molekülün (analitin) tayin edilebilmesi için elde edilen analitik sinyalin şiddeti her zaman yeterli seviyede olmamaktadır. Bu sebeple, voltametrik sensörlerde kullanılan elektrotların yüzey özellikleri çeşitli yöntemlerle değiştirilerek modifiye elektrotlar elde edilebilmektedir.

Son yıllarda, nanopartikül esaslı modifiye elektrotlar EBK'ların tayininde popüler bir araştırma konusu olmuştur. Nanopartiküller diğer modifiye edici malzemelere göre benzersiz fiziksel, kimyasal ve elektronik özellikler göstermektedirler. Elektrot modifikasyonunda kullanılan nanomalzemelere örnek olarak grafen, karbon nanotüp, metal kompozitler, çeşitli oksitler ve polimerler verilebilir. Bu nanokompozitler nanoyapılarından dolayı elektrot yüzey alanını da önemli oranda

arttırmaktadırlar. Ayrıca, bu nanomalzemelerin birbirleriyle kombine edilmeleri sonucunda farklı özelliklere sahip yeni malzemeler üretilmektedir.

Tez çalışması kapsamında, EBK sınıfında bulunan estradiol ve fenitrotyon moleküllerinin tayinlerini gerçekleştirmek amacıyla modifiye elektrot temelli elektrokimyasal sensörlerin geliştirilmesi hedeflenmiştir. Tez çalışmasının birinci bölümünde, grafen nanoşerit (GNS) ve sistamin bağlı altın nanopartiküller ile modifiye edilmiş tütsülenmiş silika (TS-Au-SA) nanokompozitlerinin birlikte kullanılmasıyla yeni bir modifikasyon ajanı elde edilmesi hedeflenmiştir. Söz konusu modifikasyon ajanı kullanılarak karbon pasta elektrot yüzeyi modifiye edilmiş ve EST tayini için seçici ve hassas bir voltametrik sensör geliştirilmiştir. İkinci bölümde, tütsülenmiş silika yüzeyinde grafen oksidin indirgenmesiyle (TS@İGO) yeni bir nanokompozit elde edilmiştir. Elde edilen nanokompozit kullanılarak camı karbon (CK) elektrodun modifikasyonu gerçekleştirilmiş ve FNT tayini için yeni bir elektrokimyasal sensör geliştirilmiştir. Nanokompozitler ile modifiye edilen elektrotlar kullanılarak hedef moleküller olan EST ve FNT'nin gerçek örneklerde tayini başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Endokrin Sistem

Tüm canlılar yaşamlarını sürdürebilmek için vücut iç ortamında meydana gelen değişikliklere karşı homeostazisi (iç denge) sağlamak zorundadırlar. Bu denge ancak endokrin ve sinir sisteminin koordine bir biçimde işlev görmesiyle mümkündür. Sinir sistemi canlı vücudunda elektriksel haberleşmeyi sağlarken endokrin sistem kimyasal iletişim sistemi olan hormonal sistem ile haberleşmeyi sağlar. Sinir sistemi, sinir uyarılarını iletirken endokrin sistem taşıyıcı ortam olarak damarlarımızda bulunan kanı kullanır. Bilginin transfer mekanizmasındaki farklılıklara rağmen, iki sistemin de amacı organizmanın temel fizyolojik faaliyetlerinin kontrolü ve koordinasyonunu sağlamaktır [11].

Endokrin sistem kan akışıyla taşınan kimyasal sinyalleri (hormonları) yapan ve salgılayan birçok endokrin bezden oluşur. Endokrin bezler damar, sinir ve salgı epiteli hücrelerinden oluşmaktadır. Sinir hücreleri salgı miktarını belirlerken, damarlar hormon üretimi için hücrelere madde taşırlar ve üretilen hormonu kan akışı yoluyla hedef hücreye iletirler.

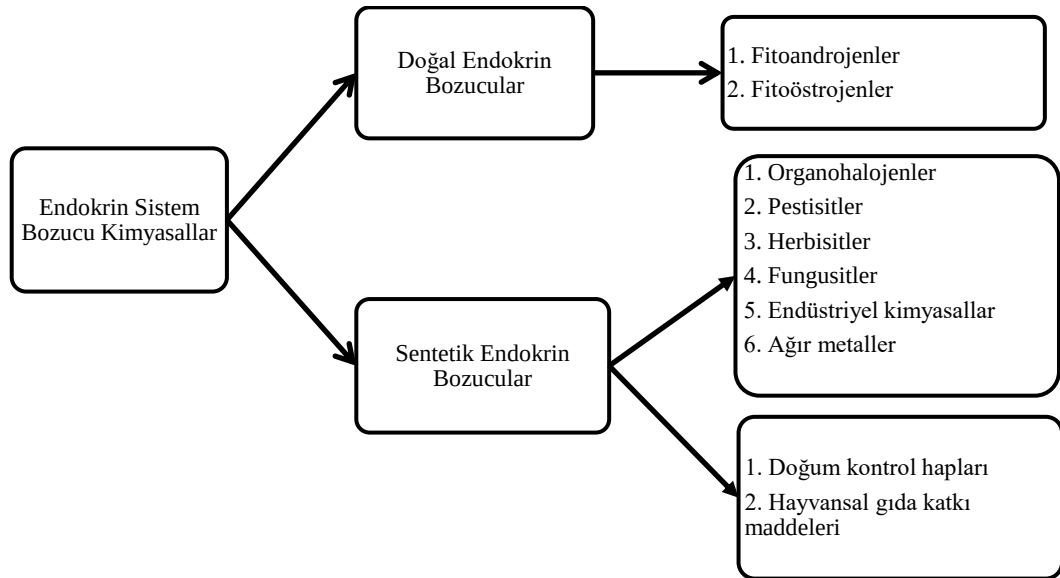
Hormonlar çok düşük derişimlerde bile etkili olan organik maddelerdir ve dolaşım sistemi yoluyla sentezlendikleri yerden başka bölgelere aktarılırlar. Vücudumuzda bulunan endokrin bezler trioid, paratiroid, hipofiz, böbrek üstü bezler, pankreas, ovaryum ve testislerdir [12]. Endokrin bezler tüm vücudumuzda salgıladıkları hormonlar aracılığıyla büyüme, gelişme, üreme, maddelerin hücreler tarafından kullanımı ve tuz-sıvı dengesini ayarlama gibi vücut aktivitelerinin düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadırlar. Hormonlar tüm vücut boyunca taşınabilir fakat sadece hedef hücre içinde ya da üzerindeki bu hormona özgü reseptörlere bağlanarak etki edebilirler. Bu etki durdurucu ya da uyarıcı olabilir. Fakat hedef hücre, hormona ait reseptör olmaması durumunda hormondan etkilenmemektedir [13].

Endokrin sisteme olumsuz etkilere sahip kimyasallar hormonlara doğrudan ya da dolaylı olarak etki ederek hormon üretimini durdurabilir veya bazı durumlarda gereğinden fazla salgılanmasına neden olabilir. Bunun sonucunda insan vücudunda pek çok hasar meydana gelebilir. Endokrin sistem bozucu kimyasalların neler olduğu ve canlı vücuduna etkileri oldukça önemli bir konudur. Bu sebeple ilk olarak endokrin

sistem bozucu kimyasalların tanımı ve neler olduğu anlatılacak; ardından canlı vücuduna etkileri tartışılacaktır.

2.2. Endokrin Sistem Bozucu Kimyasallar Tanımı ve Sınıflandırılması

Endüstrinin gelişmesiyle birlikte birçok kimyasal tür kontrolsüz olarak doğal yaşam ortamına bırakılmaktadır. Yaşadığımız çevreye bırakılan bu kirletici kimyasallardan bazıları insan ve vahşi doğada yaşayan canlıların endokrin sistemine doğrudan etki ederek organizmada birtakım bozulmalara neden olduğu günümüzde bilinmektedir. Bu zararlı kimyasallar endokrin sisteme istenmeyen cevap üreterek ya da bozucu etki yaparak büyüme ve gelişme gibi canlıların hayati fonksiyonlarına etki ederler. Bu kimyasal maddeler endokrin sistem bozucu kimyasallar (EBK) ya da endokrin bozucular olarak adlandırılırlar. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre "EBK'ler endokrin sistemin fonksiyonlarını değiştiren ve bozulmamış bir organizmada ya da onun alt popülasyonunda olumsuz sağlık etkilerine neden olan eksojen maddeler veya karışımlar" olarak tanımlanmıştır [14]. Günümüzde EBK'lar 800'den fazla farklı yapıda kimyasal yapı içermektedirler. Geniş kapsama sahip olan EBK'lar genel olarak 2 ana grup altında sınıflandırılabilir (Şekil 2.1).

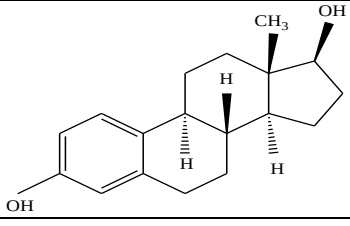
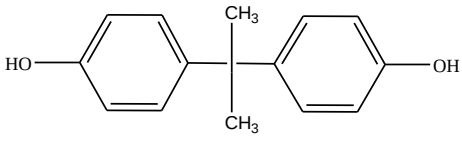
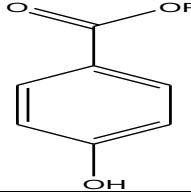
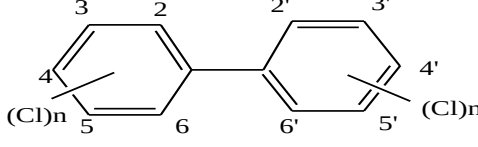
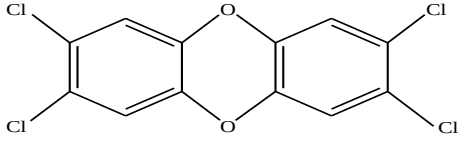
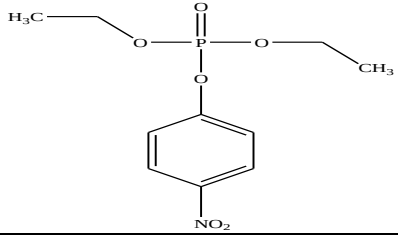
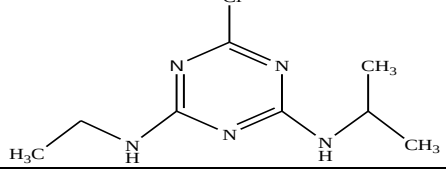
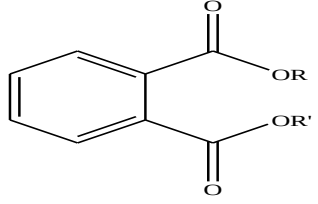


Şekil 2.1. Endokrin sistem bozucu kimyasalların sınıflandırılması.

Doğal endokrin bozucu grubunda yer alan fitoandrojen (örneğin, deve diken) ve fitoöstrojenlerin (örneğin, soya fasülyesi, kiraz) organizmada yıkımları kolaydır. Bu maddeler vücutta depolanmadıkları için organizmada önemli etkiler göstermezler.

Sentetik endokrin bozucular endüstriyel alanda, kozmetik sektöründe, doğum kontrol ilaçlarında, tarım ilaçlarında, besinlerde, plastik maddelerde ve oyuncak sektörü gibi birçok alanda yaygın kullanımları bulunmaktadır [15]. Özellikle doğal endokrin bozuculara oranla vücutta daha uzun süre kalarak organizmada birtakım tahribata neden olurlar. Örneğin, yüksek direnç ve kararlılığa sahip olan plastik ve epoksi reçinelerin yapımında yaygın kullanılan bisfenol A en çok bilinen endokrin sistem bozuculardandır. Bu kimyasal üzerinde yapılan araştırmalarda fazla miktarda maruziyette endokrin sisteme etki ederek prostat ve göğüs kanserine neden olduğu bilinmektedir [16]. 1938'de Dodds ve arkadaşları [17] tarafından kürtajin engellenmesinde kullanılmak amacıyla üretilen ve güçlü östrojen olan dietilbesterol kullanımı sonucunda kadınlar üzerinde nadir görülen vajinal kanser türü tespit edilmiştir. Kanser oluşumunda etkisi gösterilen bu madde sonraları üretimden kaldırılmıştır. Endokrin sistem bozucu olarak kabul edilen bir diğer grupta tarım sektöründe yaygın olarak kullanılan pestisitlerdir. Önceki yıllarda pestisitler genel olarak diklorodifeniltri-kloroetan içermektedir. Fakat bu kimyasal, insan vücudunun üreme, kardiyovasküler ve metabolik sistemlerini doğrudan etkileyebilen tiroit, östrojen, androjen, insülin ve nöroendokrin sistemleri ile etkileşime girerek EBK sınıfına dahil edilmiştir [18] .

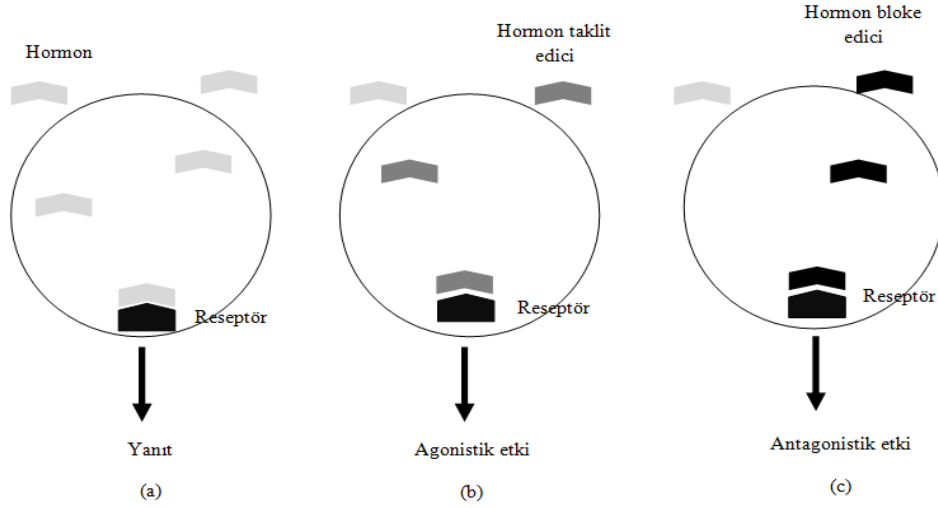
Tablo 2.1. Endokrin bozucu kimyasallara örnek yapılar ve kullanım alanları.

Kimyasal Adı	Kimyasal Yapısı	Kullanım Alanı
17-β-estradiol		Doğal steroid hormon
Bisfenol-A		Plastik ürünler ve epoksi reçine yapımında
Parabenler		Kozmetik ve ilaç endüstrisinde koruyucu olarak
Poliklorlu bifeniller		Dielektrik ve soğutma sıvısı olarak kullanılır
Dioksinler		Endüstriyel işlemlerde (ağartıcı kâğıt hamuru, kimyasal ve pestisit imalatı)
Paraokson		Tarla bitkilerinde kullanılan insektisit
Atrazin		Bitkiler kullanılan herbisit
Ftalatlar		Gıda ve içecek ambalajı, ilaç formülasyonlarında yardımcı maddeler, kozmetik ürünler, böcek ilaçları ve boyalar dahil plastikleştiriciler olarak kullanılır

Tablo 2.1’de görüldüğü gibi EBK’lar geniş kullanım alanlarına sahiptirler. Bu maddelerin doğal hormonları taklit ederek onların yerine geçip organizmada bozucu etki yaptıkları bilinmektedir. Bu nedenle hayatımızın her alanında iç içe yaşadığımız bu maddelerin bilinmesi ve olası etkilerine karşı önceden önlem alınması son derece önemlidir.

2.2.1. Endokrin sistem bozucu kimyasalların etki mekanizmaları

EBK’lar dokuların büyüme ve gelişmesinden sorumlu hormonal sistemi etkileyerek endokrin sistem üzerinde bozucu etkiye neden olmaktadır. Bir reseptöre bağlanan EBK iki tür etki gösterebilmektedir. EBK’ların etki mekanizmaları Şekil 2.2’de şematik olarak gösterilmiştir. EBK’lar reseptör ile bağlanıp hormonal yanıt üreterek agonistik etki (Şekil 2.2b) ya da hormonal cevap üretmeden reseptöre bağlanıp (Şekil 2.2c) antagonistik etki oluşturmaktadırlar [19]. Endokrin sistemde meydana gelen diğer etkiler ise hormonların ve onların reseptörlerinin sentezinde karşılaşılan bozulma ya da çoklu hormon sistemleri ile etkileşim olarak karşımıza çıkmaktadır. Endokrin sistem bozulma süreci oldukça karmaşık mekanizmalara sahiptir.



Şekil 2.2. Endokrin sistem bozulma süreci. (a) hormon yanıtı; (b) agonistik etki; (c) antagonistik etki.

Birçok EBK küçük moleküllerdir ve bu sebeple hormonları taklit edebilir ya da antagonize edebilmektedirler. EBK'ların endokrin sistemi etkileme mekanizmaları 6 maddede özetlenebilir [20].

1. EBK'lar doğal hormonları taklit ederek, hormon reseptörüne tam uyumla bağlanabilirler. Ayrıca mesajların yanlış zamanda ya da fazla üretilmesiyle organizmada olumsuz etkiler oluşabilmektedir.
2. Bazı endokrin bozucular, hücreler üzerinde veya hücrelerde daha fazla hormon reseptörünün oluşumuna neden olmaktadır. Bu etki ile hormon sinyallerinin çoğalmasına neden olabilmektedirler. Bu etki hem doğal hem de yabancı hormonların gereğinden fazla büyümesine yol açmaktadır [20].
3. Hücredeki reseptör alanını işgal ederek, bazı endokrin bozucular doğal hormonu engelleyebilmektedirler. Bu, bloke edicinin, bloke edilen hormona göre daha fazla veya daha az kuvvetli olup olmadığına bağlı olarak, gen üzerinde bir artırılmış veya azaltılmış etki yaratabilmektedirler. Hormonları bloke eden veya agonize eden kimyasal maddeler antiandrojenler veya antiöstrojenler olarak bilinmektedir [20].
4. Endokrin bozucular, bir hormonun parçalanmasını ve vücuttan atılmasını hızlandırarak hormonun tükenmesine yol açabilmektedirler.
5. Bu maddeler enzimlerle de etkileşime girebilmektedirler. Hormon eliminasyonu için gereken enzimleri deaktive ederek, gerekenden daha fazla hormon aktif kalabilmektedir. Vücudun içinde fazla miktarda hormonların birikmesiyle,

normalden çok sinyal gönderilmekte veya uygun olmayan zamanlarda sinyal verilebilmektedir.

6. Direk olarak hormon ya da hormonların yeteneklerini engelleyerek etki gösterebilmektedirler [20].

2.2.2. Endokrin sistem bozucu kimyasalların insan sağlığı üzerine etkileri

Endokrin bozucu maddeler çeşitli yollarla insan vücuduna girip organizmada bazı zararlı etkilere yol açabilmektedirler. Bu grupta bulunan kimyasallar gıda ya da su tüketimiyle, cilt ile temas ederek, intravenöz yolla, plasenta ve anne sütünün biyolojik transferi sonucunda insan vücuduna nüfus ederek olumsuz etkilere neden olmaktadır [21]. Bilim adamlarının yaptığı çalışmalar sonucu EBK'nın üreme sistemi üzerinde, prostat, göğüs, akciğer ve karaciğer gibi kanser türlerinin oluşmasında, diyabet ve obezite gibi hastalıkların görülmesinde etkili olduğu görülmüştür [22]. Endokrin bozucuların insan sağlığı üzerine etkilerini bu maddeler ile maruz kalınma yaşı, temas süresi, maruz kalınan kimyasalın derişimi ve tek veya karşım halinde karşılaşılması belirlemektedir [23].

2.2.2.1. Endokrin sistem bozucu kimyasalların dişi üreme sağlığı üzerine etkileri

Endokrin bozucu kimyasalların dişi üreme sistemi üzerine etkileri araştırıldığında sadece üreme dokuları üzerine değil aynı zamanda kemik, beyin ve kardiyovasküler sistem gibi üreme dokusu olmayan dokular üzerine de dişi organizmayı etkilediği görülmüştür.

Östrojen ve progesteron dişilerde üreme sağlığının düzenlenmesini sağlayan temel hormonlardır. Bu hormonlar arasındaki dengenin bozulmasıyla dişi doğurganlığını kaybedebilir ve menstrüel döngünün bozulmasına neden olabilir. EBK'lar dişi üreme sistemindeki bu dengeye etki ederek ve polikistik over sendromu, meme kanseri, erken menopoz, endometriozis ve pubertal gelişimde değişikliklere neden olmaktadır [24].

Yapılan çalışmalar organoklorin bileşikleri veya pestisitlere maruz kalındığında menstrual döngünün düzen ve uzunluğuna etki ettiği görülmüştür. Tayvan'da yaşayan kadınlar üzerinde yapılan bir araştırmada daha uzun veya düzensiz menstrüel döngüye sahip olan kadınların plasenta dokularında toplam poliklorlu dibenzo-p-dioksin,

dibenzofuran ve bifenil düzeylerinin daha yüksek olduğu görülmüştür [25]. Yapılan farklı bir çalışmada pestisitlere uzun süre maruz kalan kadınların, petisistlere maruz kalmamış kadınlara göre erken menopoza neden olduğu ispatlanmıştır [26].

Polikistik over sendromu, kadınlarda en sık görülen endokrin sistem bozukluklarından [27]. Kadınlarda düzensiz menstrüasyon, menstrüel sürenin azalması ve insülin direncine neden olduğu bilinmektedir. Özellikle bisfenol-A maruziyetinin artmasıyla polikistik over sendromunun görülmesi arasında yakından ilişki vardır. Polikistik over sendromu görülen kadınlarda bisfenol-A seviyesinin yüksek olduğu yapılan araştırmalarda görülmüştür [28].

2.2.2.2. Endokrin sistem bozucu kimyasalların erkek üreme sağlığı üzerine etkileri

EBK'lerin erkek üreme sağlığı üzerinde neden olduğu olumsuz etkiler son on yılda artmaktadır. Yapılan çalışmalarda EBK'lara maruz kalan erkek bireylerde sperm kalitesinde düşme, kadınsı özelliklerin artması ve kanser oluşumunu tetiklediği bilinmektedir [24].

2.2.2.3. Endokrin sistem bozucu kimyasalların kanser oluşumu üzerine etkileri

Endokrin sistem bozucu kimyasalların prostat, yumurtalık ve meme kanseri üzerine etkileri araştırılmaktadır. Endokrin duyarlı dokularda oluşan bu kanser türlerinin oluşumuna endokrin bozucu kimyasalların yüksek dozlarda sürekli kullanımının katkı sağladığı yapılan çalışmalar sonucu gözlenmiştir [24].

Tarım sektöründe çalışan insanların zirai mücadele ilaçlara maruziyet durumunda prostat kanserine yakalanma riskinin daha yüksek olduğu epidemiyolojik çalışmalarda görülmüştür [29]. Özellikle fungusit metil bromür, klorpirifos ve fonofos prostat kanseri riskini arttırmaktadır [30].

2.2.2.4. Endokrin sistem bozucu kimyasalların tiroit hormonu üzerine olumsuz etkileri

Tiroit hormonları metabolizma düzenleme, kemiğin yeniden biçimlenmesi, kardiyak fonksiyon ve zihinsel durumlarla ilgili işlevi olan hormonlardır. Tiroit hormonu fetal beyin gelişimi için oldukça önemlidir. Tiroit hormonu işlevselliğini kaybetmesiyle nöronal büyümeyi azaltır [31].

2.2.2.5. Endokrin bozucu kimyasalların obezite üzerine etkileri

Vücut kitle indeksi %30'dan fazla olan kişilere günümüzde obezite teşhisi konulmaktadır [32]. Obezite genetik, davranışsal ve çevresel faktörlerden kaynaklı olabilmektedir. Yakın zamanda obezite oluşumunda dikkat çeken bir çevresel faktör EBK'dır. Doğum öncesi ve erken yaşta poliklorlu bifenil bileşiklerine maruz kalınmasıyla ergenlik dönemindeki kişilerde kilo alımının daha fazla olduğu görülmüştür [33]. Diğer çalışmalar, bazı organik kirleticiler ile kilo alımı ve diyabet arasında doğrudan ilişki olduğunu göstermektedir [34].

2.3. Tez Çalışması Kapsamında Araştırılan Endokrin Sistem Bozucu Kimyasallar

Tez kapsamında elektrokimyasal tayini yapılmak üzere endokrin sistem bozucu kimyasal maddelere model olarak 17- β -estradiol (EST) ve fenitrotyon (FNT) seçilmiştir. 17- β -estradiol ve fenitrotyonun kimyasal yapısı ve endokrin bozucu olarak etkileri kapsamlı olarak bir sonraki bölümde tartışılmıştır.

2.3.1. 17- β -Estradiol

Steroidler doğal olarak hayvanlarda, mikroorganizmalarda ve bitkilerde bulunur ve çeşitli fonksiyonel gruplara ve yan zincirlere bağlı olan bir pentagonal karbon halkasıyla eşlik eden üç sikloheksan karbon halkasına sahiptirler [35]. Tüm steroidal bileşikler kolesterolden türemiştir. Estron, 17- β -estradiol ve estriol farklı oksidasyon durumuna sahip C18 steroidlerdir [20]. Bu hormonlar genellikle kadınlarda cinsiyet özelliklerinin geliştirilmesi ve korunmasından sorumlu olsalar da erkek organizmasında da önemli rol oynamaktadırlar [36]. Estron yumurtalık, testis ve plesantadan üretilmektedir ve menapoza girmiş kadınlarda temel östrojen formudur [37]. Estriol ise plesanta tarafından üretilmektedir ve kadınlarda en çok hamilelik döneminde salgılanmaktadır [38].

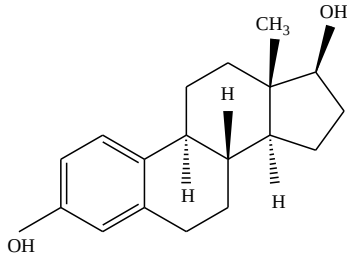
17- β -estradiol ya da estradiol, kolesterolden türetilen steroid yapıda en güçlü endojen östrojendir ve kadın ve erkek üreme kanalları, meme bezi, iskelet sistemi ve kardiyovasküler sistemlerde bulunan çeşitli dokuları hedef almaktadır (Şekil 2.3)[39]. Kadınlarda yumurtalık foliküllerindeki testesteron tarafından üretilirken; erkeklerde testisler ve periferik dokularda az miktarda üretimi olmaktadır[40]. EST üreme sisteminin düzenlenmesi, uzun kemiklerin olgunlaşmasından ve cinsiyet özelliklerinin

gelişiminden sorumlu önemli bir hormondur. EST ve yarı sentetik esterleri öncelikle menopozal hormon olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, kadın hipogonadizmi veya primer yumurtalık yetmezliği için tedavi amaçlı kullanılabilir. Serum ve idrarda EST düzeylerinin incelenmesi, çeşitli klinik uygulamalarda, hormon disfonksiyonu ve meme kanseri oluşumuyla ilgili hastalıkların önlenmesi, erken teşhis ve tedavisinin sağlanmasında önemlidir [41].

Hormon tedavi ilaçlarında ve doğum kontrol haplarında kullanılan EST düşük derişimlerde bile sürekli olarak alındığında canlı organizmasında endokrin sisteme olumsuz yönde etki ederek üreme, immün, kardiyovasküler ve sinir sistemlerinde birçok patolojik değişikliğe neden olabilmektedir [42]. EST erkeklerde sperm kalitesini ve sayısı etkileyerek üreme verimliliğinin düşmesine neden olabilmektedir [2]. Ayrıca, EST eksikliği sonucu hiperandrojenizm, kanser, kalp hastalığı, osteoporoz ve menopoz gibi hastalıklara neden olduğu görülmektedir [43].

EST'nin endokrin sistemde olumsuz etkilere neden olmasından dolayı, Avrupa Birliği tarafından EBK olarak kabul edilmektedir [44]. Biyolojik öneme sahip olan bu hormonun düşük derişimlerde tayini oldukça önemli olduğundan tez çalışması kapsamında model madde olarak seçilmiştir.

Tablo 2.2. 17-β-Estradiol kimyasal yapısı ve özellikleri.

Yaygın adı	17-β-estradiol
Kimyasal adı	1,3,5-Estratriene-3,17β-diol
Kimyasal formülü	C ₁₈ H ₂₄ O ₂
Kimyasal yapısı	
Molekül ağırlığı	272,38 g/mol

2.3.1.1. 17-β-Estadiol tayini için kullanılan yöntemler ve literatür araştırması

Literatürde EST tayinine yönelik birçok çalışma bulunmaktadır. Gaz kromatografisi [45], gaz kromatografisi-kütle spektrometresi [46], yüksek performans sıvı kromatografisi [47], kapiler elektroforez [10], görünür bölge spektroskopisi [48] ve

enzim immün test [49] EST tayininde kullanılan yöntemlerden bazılarıdır. Fakat bu yöntemler pahalı cihaz gerektirmesi, uzun analiz süresi ve direk numune analizine olanak tanımaması gibi olumsuz özelliklere sahiptirler. Bu yöntemlere alternatif olarak son yıllarda düşük maliyet, yüksek hassasiyet, kolay uygulanabilme ve kısa analiz süresi gibi avantajlara sahip elektroanalitik yöntemler araştırılmaktadır. EST tayinine yönelik gerçekleştirilen elektronalitik çalışmalar aşağıda daha detaylı olarak açıklanmıştır.

Lahcen ve ark. [39] estradiol tayin etmek amacıyla yüzey-baskılı modifiye elektrot kullanmışlardır. Gerçekleştirdikleri çalışmada modifiye edici ajan olarak nanoyapılı manyetik moleküler baskılı polimer kullanmışlardır. Optimum şartlarda, yükseltgenme pik akımının EST derişimine bağlı olduğu gözlemlemiştirler. Gerçekleştirilen ölçümler sonucunda 0,05 – 10 μM EST derişimi varlığında doğrusal çalışma aralığı elde etmişlerdir. Gerçekleştirdikleri çalışmada gözlenebilme sınırını 0,02 μM ve tayin sınırı 0,09 μM olarak hesaplamışlardır.

Moraes ve ark. [2] yaptıkları çalışmada indirgenmiş grafen oksit ve metal kompleks porfirin maddelerini kullanarak camı karbon elektrot yüzeyini EST'nin elektrokimyasal tayinini gerçekleştirmek amacıyla kullanmışlardır. Geliştirdikleri modifiye elektrot ile estradiol için 0,1 – 1,0 μM çalışma aralığında doğrusal cevaplar elde etmişlerdir. Gözlenebilme sınırını 5,3 nM olarak hesaplamışlardır. Hazırladıkları modifiye elektrodu nehir suyu örneğinde başarıyla test etmişlerdir.

Janegitz ve ark. [43] elektrot yüzeyinde indirgenmiş grafen oksit ve diheksadesil fosfattan oluşan film oluşturarak EST'nin elektrokimyasal tayinini gerçekleştirmişlerdir. Hazırladıkları elektrodun karakterizasyonunu dönüşümlü voltametri ve elektrokimyasal empedans spektroskopisi yöntemlerini kullanarak gerçekleştirmişlerdir. Artan EST derişimine karşı akım değerleri 0,4 μM ile 20 μM derişim aralığında doğrusal olarak elde edilmiştir. Estradiol tayini için geliştirilen sensörün tayin sınırını 0,077 μM olarak bulunmuştur. Ürettikleri elektrokimyasal sensör idrar numunesinde başarıyla test edilmiştir.

Bir başka çalışmada grafen kuantum nokta katkılanmış poli(sülfosalisilik asit) maddesini camı karbon elektrot yüzeyine immobilize edilerek EST tayini için modifiye sensör geliştirilmiştir. Araştırmacılar geliştirdikleri modifiye elektrot sayesinde estradiol ve progesteron hormonlarının eş zamanlı tayinini gerçekleştirmişlerdir. Estradiol tayini

amacıyla kullanılan modifiye sensörün çalışma aralığı 0,001 – 6,0 μM aralığında doğrusal olarak elde edilmiş ve gözlenebilme sınırı 0,23 nM olarak hesaplanmıştır. Serum ve ilaç numuneleri gibi geniş matriks etkisi bulunan örneklerde geliştirilen modifiye sensör hızlı ve yüksek hassasiyette EST ve progesteron tayinine imkan tanımıştır [50].

Farklı bir çalışmada, çok duvarlı karbon nanotüp ile modifiye edilmiş camsı karbon elektrot yüzeyine platin nanopartiküllerin elektrokimyasal olarak birikimi gerçekleştirilerek EST'ye seçici modifiye sensör geliştirilmiştir. Geliştirilen elektrot için elde edilen sinyal 0,5 –15,0 μM derişim aralığında doğrusallık göstermiştir. Gözlenebilme sınırı 180 nM olarak hesaplanmıştır [51].

Diğer bir çalışmada, camsı karbon elektrot yüzeyi poly(L-serin) film ile modifiye edilerek, yalın camsı karbon elektroda göre EST'nin yükseltgenme pik akım değerinde belirgin bir artış gözlenmiştir [52]. Optimum koşullar altında modifiye elektrot kullanılarak gerçekleştirilen ölçümler sonucunda EST yükseltgenme pik akım değerleri 0,1 ile 30,0 μM derişim aralığında doğrusallık göstermektedir. Gerçekleştirilen çalışmanın gözlenebilme sınırı 0,02 μM olarak hesaplanmıştır.

Hao ve ark. [53] çok duvarlı karbon nanotüp ve gümüş nanopartikülden oluşan kompoziti kalem ucu grafit elektrodun modifikasyonu amacıyla kullanmışlardır. Gerçekleştirilen çalışmada, modifiye elektrot kullanılarak +0,90 V gerilim değerinde EST'ye ait yükseltgenme piki gözlenmiştir. Optimum koşullar altında gerçekleştirilen ölçümlerde doğrusal çalışma aralığı 0,07– 42 μM olarak gözlenmiştir. Gözlenebilme sınırı 10 nM olarak hesaplanmıştır. Geliştirilen sensör, kan serumu örneğinde EST tayini amacıyla başarıyla kullanılmıştır.

Ji ve ark. [54] metal çerçeveli yapılar modifikasyon ajanı olarak EST'nin elektrokimyasal tayinini gerçekleştirmek amacıyla kullanmışlardır. Elde edilen modifikasyon ajanı kullanılarak dietilstilbesterol ve EST'nin eş zamanlı tayini gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak, dietilstilbesterol ve EST için belirlenme limiti sırasıyla 2,7 nM ve 1,1 nM olan hassas, hızlı ve kullanışlı bir sensör geliştirilmiştir. Nehir suyu örneğinde gerçekleştirilen geri kazanım testleri sonucunda geliştirilen sensörün dietilstilbesterol ve EST tayini için uygulanabilir olduğunu gözlenmiştir.

EST tayini amacıyla gerçekleştirilen modifiye elektrot temelli elektrokimyasal sensör çalışmaları Tablo 2.3’de özetlenmiştir.

Tablo 2.3. Estradiolün elektrokimyasal tayinine yönelik literatürde yayınlanmış çalışmalar.

Modifiye elektrot	Doğrusal çalışma aralığı (μM)	Gözlenebilme sınırı (nM)	Kaynak
^a GCE/MIP/PtNPs	0,03 – 50	1000	[55]
^b GCE/GQDs-PSSA/İGO	0,001 – 6,0	0,23	[50]
^c GCE/CTAB-Nafion	0,025 – 1,5	1,0	[56]
^d GCE/CNT-Ni(cyclam)	0,5 - 40	60	[57]
^e GCE/MWNT-[bmim].çöPF6	0,01 - 1,0	5,0	[58]
^f GCE/MWCNT/Pt	0,5 –15,0	180	[51]
^g GCE/poly(L-serine)	0,1 - 30,0	0,02	[52]
^h PGE/MWCNT-GNP	0,07– 42	0,01	[53]
ⁱ GPE/Cu-BTC	0,003 – 0,75	2,7	[54]
^j GCE/RGO-DHP	0,4 - 20	0,077	[43]
^k GCE/RGO/ CuTthP	0,1 – 1,0	5,3	[2]
^l GCE/ Fe ₃ O ₄ -MIP	0,05 – 10,0	20	[39]

a: camısı karbon elektrot (CKE)/moleküler baskılanmış polimer/platin nanopartikül; b: CKE/grafen kuantum noktacıklar-poli(sülfosalisik asit)/grafen oksit; c: CKE/heksadesiltrimetilamonyum bromür; d: karbon nano tüp-1,4,8,11, tetraazisiklotetradekan; e: CKE/çok duvarlı karbon nano tüp/1-butyl-3-metilimidazolyum heksaflorofosfat; f: CKE/çok duvarlı karbon nano tüp/platin nano partikül; g: CKE/poly(L-serin); h: kalem ucu grafit elektrot/çok duvarlı karbon nano tüp/ gümüş nano partikül; i: karbon pasta elektrot/bakır/1,3,5-benzen trikarboksilik asit; j: CKE/indirgenmiş grafen oksit-diheksadesilfosfat film; k: CKE/indirgenmiş grafen oksit/bakır(II)-meso-tetra(tien-2-il)porfirin; l: CKE/manyetik demir oksit/moleküler baskılanmış polimer.

Görüldüğü gibi EST’nin elektrokimyasal tayini için farklı türde modifiye elektrotlar hazırlanmıştır. Ancak, yapılan araştırmalar sonucunda EST tayini için grafen nano şerit ve tez çalışması kapsamında sentezlenen sistamin bağlı altın nanopartikül modifiye tütsülenmiş silikanın kullanıma yönelik bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu da gerçekleştirilmiş planlanan çalışmanın özgün değerini teyit etmektedir.

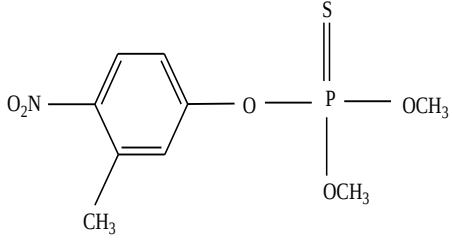
2.3.2. Fenitrotiyon

Tarımsal zararlılar dünya genelinde önemli bir sorun oluşturmaktadırlar. Bu sebeple tarım ürünlerine zarar veren kemirgenler, mantarlar ve böcekleri uzaklaştırmak veya öldürmek için zararlı kimyasallar olan böcek ilaçlarının (pestisitler) kullanımı

dünya genelinde ihtiyaç haline gelmiştir. Kullanılan bu kimyasallar sayesinde böcek, hastalık ve zararlı otların olumsuz etkilerini azaltmakta ve böylece tarımsal ürünlerin verimliliği artmaktadır. Bununla birlikte, birçok böcek öldürücü kimyasalların çevreye oldukça zararlı olduğu bilinmektedir [59]. Pestisitlerin dünya genelinde kullanımının artmasıyla birlikte insanlar ve hayvanlar çevresel faktörlerden (içme suları, tarım ürünleri) dolayı pestisitlere maruz kalmaktadırlar. Böcek öldürücü kimyasalların çoğu endokrin bozucu olarak tanımlanmaktadır. Bu kimyasallar toprak ve suda çözünerek toksik etki yaratabilmekte ya da omurgalı veya omurgasız hayvanların dokularına zarar verebilmektedirler. Bu kimyasallar yağda eriyerek yağ dokuda birikebilir veya yıkımı zor olan bu kimyasallar vücutta uzun süre kalarak toksit etkilere neden olabilirler. Endokrin bozucu kimyasallar grubunda bulunan pestisitlerin insan sağlığı üzerinde birçok olumsuz etkiye neden olduğu rapor edilmiştir. Pestisitlere maruziyet sonucu insanlarda kanser, alerji, astım, nörolojik hastalıklar ve üreme bozuklukları gibi hastalıkların oluşumu da rapor edilmiştir [60].

Organik fosforlu bileşikler tarımsal üretimin artırılması için kullanılan bir pestisit grubudur [61]. Diğer grup pestisitlere göre daha az toksik olmaları ve kolay parçalanabilir olmaları nedeniyle bu pestisit grubu, zirai ilaç kullanımında en çok tercih edilen pestisit grubudur [62]. Fenitrotiyon, o-o-dimetil-o-(3-metil-4-nitrofenil) fosforotioat, olarak bilinen organik fosforlu pestisitlerdendir [63]. Fenitrotiyon'un yapısı ve kimyasal özellikleri Tablo 2.4'de vermiştir. Genellikle pamuk, pirinç ve sebzeler üzerine nüfus eden zararlıları veya böcek, sinek, sivrisinek ve hamamböceğinin nüfus kontrolünün sağlanması için kullanılmaktadır. Fenitrotiyon, Avrupa Çevre Ajansı'na göre yüksek toksisitesinden dolayı kırmızı listeye alınmıştır [64]. Fenitrotiyon asetilkolinesteraz enziminin aktivitesini inhibe ederek canlılarda nörotoksik etkiye neden olduğu yapılan çalışmalarda görülmüştür [65]. Ayrıca fenitrotiyon grubu pestisitlerin çeşitli kanser türlerine ve DNA hasarına neden olduğu bilinmektedir [66]. Roh ve arkadaşları [67] çalışmalarında fenitrotiyonun toprak solucanı üzerinde etikilerini incelediklerinde hareketsizlik, büyüme, üreme, asetilkolinesteraz enzimi aktivitesi ve tepki-cevap geninde olumsuz etkilere neden olduğunu gözlemlemişlerdir.

Tablo 2.4. Fenitrotiyon kimyasal yapısı ve özellikleri.

Yaygın adı	Fenitrotiyon
Kimyasal adı	O,O-dimethyl O-4-nitro-m-tolyl phosphorothioate
Kimyasal formülü	C ₉ H ₁₂ NO ₅ PS
Kimyasal yapısı	
Molekül ağırlığı	277.25 g/mol

2.3.2.1. Fenitrotiyon tayini için kullanılan yöntemler ve literatür araştırması

Literatürde fenitrotiyon tayinine yönelik birçok klasik yöntem bulunmaktadır. Bu yöntemlerden bazıları gaz kromatografisi [68, 69], gaz kromatografisi-kütle spektrometresi [70], yüksek performanslı sıvı kromatografisi [71, 72], kapiler elektroforez [73], floresans ve kemiluminesans spektroskopisi [74, 75] ve dispersif sıvı-sıvı mikro ekstraksiyon [76] yöntemleridir. Kromatografik yöntemler yüksek duyarlılığa sahip olmasına rağmen pahalı cihaz gerektirmesi, uzun analiz süresi gerektirmesi ve karmaşık analiz sürecine sahip yöntemlerdir. Sıvı faz ekstraksiyonu ya da katı faz ekstraksiyonu gibi yöntemler de karmaşık ve zaman alıcı ekstraksiyon prosedürleri gerektirmektedir. Ayrıca bu yöntemler çok sayıda yıkama basamağı gerektirmektedir ve kapsamlı örnek hazırlama süreçleri gerektirmektedirler [77, 78]. Bu yöntemlere alternatif olarak elektrokimyasal yöntemler yüksek hassasiyet ve seçicilik, basit, kısa analiz süresi ve ucuz cihaz gerektirmesiyle son yıllarda tercih edilmektedir. Fenitrotiyon tayinine yönelik elektrokimyasal yöntemlerden bazıları detaylı olarak aşağıda açıklanmıştır.

Geremedhin ve ark. [79] fenitrotiyonun elektrokimyasal tayini için camsı karbon elektrot yüzeyine ön işlem olarak +1,75 V' da, 200 s sabit akım uygulamışlardır. Ön işlem uygulanmış camsı karbon elektrot, ön işlem uygulanmamış camsı karbon elektroda göre fenitrotiyonun pik akımında artışa neden olmuştur. Hazırladıkları modifiye elektrotla 0,4 – 50,0 µM derişim aralığında doğrusal çalışma aralığı elde etmişlerdir. Geliştirdikleri modifiye elektrodu ile idrar ve musluk suyu örneklerinde FNT'nin elektrokimyasal tayini başarıyla gerçekleştirmişlerdir.

Canevari ve arkadaşları [64] çok duvarlı karbon nanotüp yüzeyini silika ve rutenyum ftalosiyaninden oluşan nanokompozit kullanılarak elektrot modifikasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Ölçümler sonucunda 3,0 – 60,0 μM derişim aralığında doğrusal çalışma aralığı elde edilmiştir. Ürettikleri modifiye elektrot kullanılarak portakal suyu örneğinde fenitrotiyon tayinini başarıyla gerçekleştirmişlerdir.

Diğer bir çalışmada nano-titanyum oksit kullanılarak camı karbon elektrot yüzeyi modifiye edilmiştir. Gözlenebilme sınırı 0,01 μM olan çalışmanın 0,05 ile 10 μM FNT derişim aralığında pik akımının derişime bağı olarak arttığı gözlenmiştir. Bu yüksek seçicilikte ve hassasiyete sahip olan elektrot kullanılarak nehir suyu ve elma örneğinde eser miktarda FNT tayini başarıyla gerçekleştirilmiştir [80].

Kumaravel ve ark. [81] nanotitanyum dioksit ve nasyondan oluşan kompozit malzemeyi camı karbon elektrot yüzeyine damlatarak fenitrotiyon tayini için yeni bir modifikasyon geliştirmişlerdir. Çalışma aralığı 0,2 – 4,0 μM olan bu yöntem için gözlenebilme sınırı 0,0866 μM olarak hesaplanmıştır. Nehir suyu örneğinde gerçekleştirilen FNT tayini sonuçlarının yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile elde edilen sonuçlarla karşılaştırılabilir olduğu gözlenmiştir.

Surucu ve ark. [82] kalem ucu grafit elektrodu, indirgenmiş grafen oksit ve poli (E)-1-(4-((4-(fenilamino)fenil)diazenil)fenil)etanon kullanarak modifiye etmişlerdir. Elde edilen modifiye elektrotla gerçekleştirilen diferansiyel puls ölçümleri sonucu doğrusal çalışma aralığı 0,096 – 1,912 μM olarak gözlenmiştir. Geliştirdikleri sensör ile domates örneğinde FNT tayinini başarıyla gerçekleştirmişlerdir.

Fenitrotiyon'nun elektrokimyasal temelli sensör ile tayinine yönelik gerçekleştirilen diğer bir çalışmada modifiye edici ajan olarak seryum (IV) oksit ve indirgenmiş grafen oksitten oluşan nanokompozit malzeme kullanılmıştır [83]. Artan FNT derişimine karşı sinyal cevabı doğrusal olarak artmıştır. Doğrusal çalışma aralığı 0,025 ile 2,0 μM derişim aralığında gözlenmiştir. Gerçekleştirilen çalışma gözlenebilme limiti 3 nM olarak hesaplanmıştır.

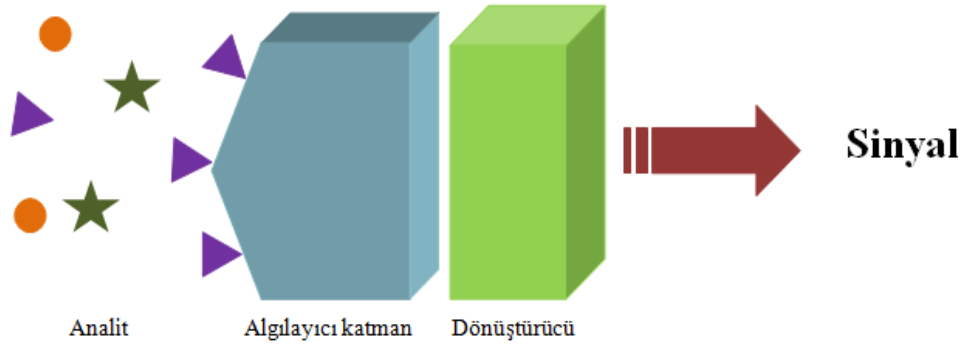
Bir diğer çalışmada, çok duvarlı karbon nanotüp modifikasyon ajanı olarak kullanılarak FNT ve bifenoks pestisitlerinin eş zamanlı tayinin gerçekleştirilmiştir. Yüksek seçicilik ve hassasiyete sahip bu yöntemin doğrusal çalışma aralığı 0,2 ile 60,0 μM aralığında gözlenmiştir. Geliştirilen yöntemin gözlenebilme sınırı 0,08 μM olarak

bulunmuştur. Nenir suyu örneklerinde geliştirilen modifiye elektrot kullanılarak FNT ve bifenoks tayini başarıyla test edilmiştir [84].

Literatür araştırması sonucunda FNT'nin elektrokimyasal tayinine yönelik modifiye elektrot temelli sensör çalışmaları bulunmaktadır. Gerçekleştirilen araştırmalar ışığında literatürde FNT'nin tayinine yönelik yer alan çalışmalara göre daha seçici ve hassas modifiye elektrot temelli sensör geliştirilmesi amaçlanmaktadır.

2.4. Sensörler ve Sensörlerin Sınıflandırılması

Kimyasal sensörler, çeşitli kimyasal bileşikler (analit) tarafından üretilen sinyalleri analitik olarak faydalı bir cevaba dönüştürebilen cihazdır. Kimyasal sinyaller, analitin kimyasal reaksiyonu sonucu ya da araştırılan sistemin fiziksel özelliklerinden ileri gelmektedir [85]. Şekil 2.3'de kimyasal sensörün yapısı şematik olarak gösterilmiştir. Bir kimyasal sensörün bileşenlerini algılayıcı katman ve dönüştürücü oluşturmaktadır.



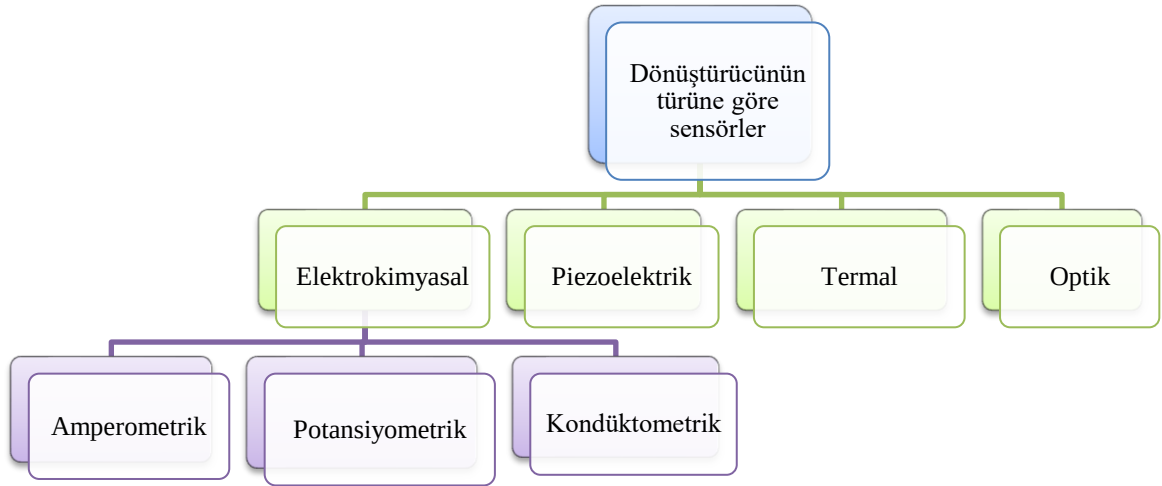
Şekil 2.3. Sensörlerin genel yapısının şematik olarak gösterimi.

Doku, mikroorganizma, organeller, hücre reseptörleri, enzimler, nükleik asitler, bakteriyofajlar ve moleküler baskılanmış polimerler sensörlerin algılayıcı katmanını oluşturmaktadırlar. Sensörlerin diğer bileşini olan dönüştürücüler ise tanıma katmanından aldıkları kimyasal sinyali, anlamlı bir analitik cevaba çeviren araçlardır [86]. Son yıllarda birçok sektörde sensör sistemlerinin kullanımı sahip oldukları avantajlar nedeniyle hızla artmaktadır. Sensörlerin kullanım alanlarını çeşitli gazların tayini, gıda analizleri, kalite kontrol sistemleri, sağlık alanı, ilaç üretim endüstrisi, endüstriyel atık suların denetimi ve savunma sanayi oluşturmaktadır.

İdeal bir sensör aşağıda belirtilen özelliklere sahip olmalıdır [87] .

1. Sensör tayin edilecek analite karşı yüksek seçicilik ve hassasiyet göstermelidir. Geliştirilen sensör analit ile benzer türler varlığında sadece analite karşı cevap vermelidir.
2. Yanıt süresi kısa olmalıdır.
3. İdeal bir sensör sıcaklık, pH ve nem gibi ortam şartlarından etkilenmemeli, kullanım ömrü uzun olmalıdır.
4. Sensörün tayin sınırı düşük olmalıdır.
5. Geliştirilen sensör ucuz, küçük ve taşınabilir olmalıdır.

Sensörler dönüştürücü sistemlerin türüne göre sınıflandırılabilmektedirler. Dönüştürücü sistemler elektrokimyasal, optik, piezoelektrik ve termal olabilmektedir. Sensörlerin temel sınıflandırılması Şekil 2.4’de görülmektedir. Tez çalışması kapsamında hazırlanan sensörler elektrokimyasal temellidir. Bu nedenle bir sonraki bölümde elektrokimyasal sensörler daha detaylı olarak verilmiştir.



Şekil 2.4. Dönüştürücü sisteme göre sensörlerin sınıflandırılması.

2.4.1. Elektrokimyasal sensörler

Elektrokimyasal sensörlerle analiz son yıllarda hızla gelişmekte olan yeni bir alandır. Elektrokimyasal sensörlerin önemi ucuz, hassas, seçici, kolay üretilebilir ve aynı anda birden çok analitin analizine olanak tanımaları nedeniyle gün geçtikçe artmaktadır. Elektrokimyasal sensörlerde algılayıcı katmanda gerçekleşen algılama

işlemi sonucunda ölçülebilir bir elektrokimyasal nicelik oluşmaktadır. Elektrokimyasal algılama sonucu elektrotlar arasında ölçülebilir bir akım, ölçülebilir bir potansiyel veya yük birikimi ya da bir ortamın iletkenlik değişimi meydana gelebilmektedir.

Elektrokimyasal sensörlerin daha iyi anlaşılabilmesi için elektrokimya ve elektrokimyasal teknikler daha detaylı olarak açıklanmıştır.

2.5. Elektrokimya ve Elektrokimyasal Teknikler

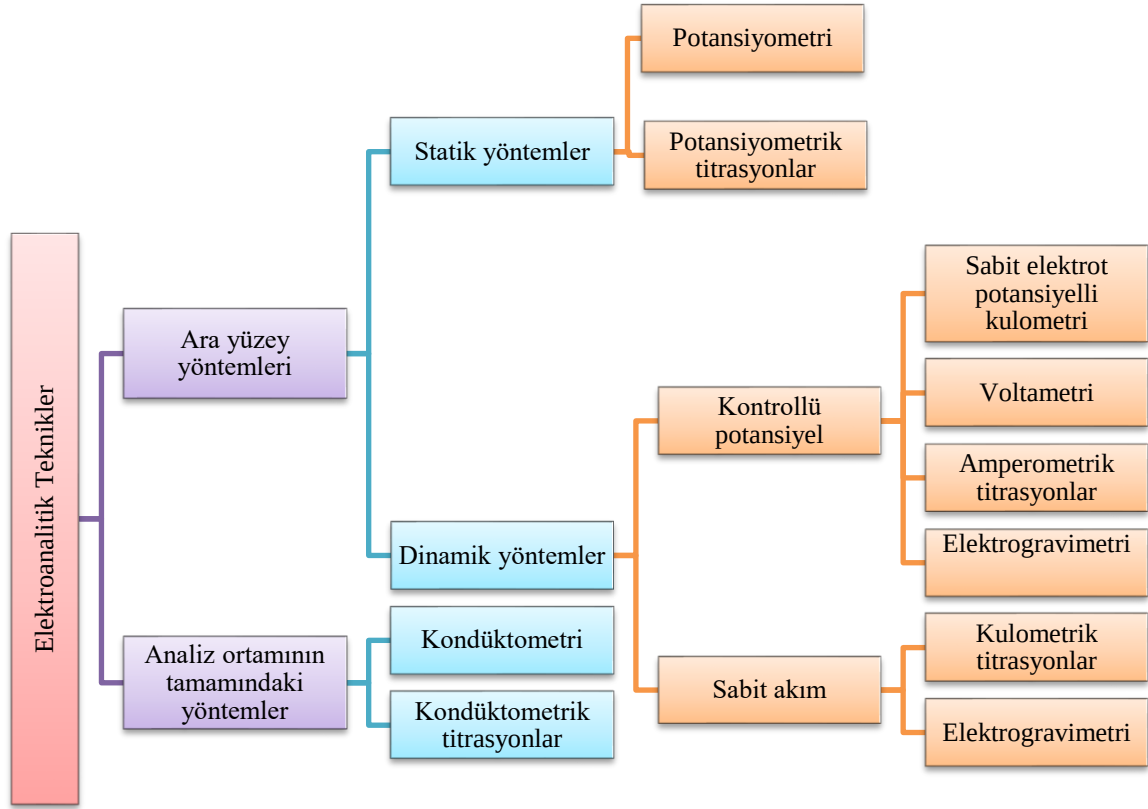
Maddenin elektrik enerjisi ile etkileşimini, etkileşim sonucu oluşan kimyasal ve fiziksel değişimleri ve kimyasal enerjinin fiziksel enerjiye çevrilmesini inceleyen ana bilim dalı elektrokimya olarak tanımlanmaktadır [88]. Elektrokimya bir maddenin elektrik ile uyarılması sonucu elektron kaybetmesini (yükseltgenme) veya elektron kazanmasını (indirgenme) araştırmaktadır.

Elektroanalitik yöntemler, bir elektrokimyasal hücredeki analit çözeltinin elektrokimyasal özelliklerine dayanan bir grup kantitatif analitik yöntemi kapsamaktadır. Elektrokimyasal teknikler yardımıyla çözeltideki türün derişimi, kinetiği, reaksiyon mekanizması, kütle aktarım hızı ve diğer davranışları hakkında bilgi sağlanabilmektedir. Elektroanalitik yöntemlerin diğer analitik yöntemlere göre bazı avantajları bulunmaktadır. Bunlar şu şekilde sıralanabilir [89];

1. Bu yöntemler çoğu zaman bir elementin özel bir yükseltgenme basamağı için elemente özgüdür. Farklı yükseltgenme basamağına sahip türler eş zamanlı olarak tayin edilebilmektedirler.
2. Kullanılan diğer analiz cihazlarına göre daha ucuzdur ve kullanımları kolaydır.
3. Analiz için çok az miktarda madde miktarı gerektirmektedirler.
4. Analiz süresi diğer analitik yöntemlere göre daha kısadır.
5. Doğrusal aralığı geniştir.

Elektroanalitik yöntemler temel olarak ara yüzeyde gerçekleşen yöntemler ve analiz ortamının tamamında gerçekleşen yöntemler olarak ikiye ayrılırlar. Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılması Şekil 2.5’de gösterilmektedir. Görüldüğü gibi farklı temel prensiplere sahip pek çok elektroanalitik yöntem mevcuttur. Bu yöntemlerin her birinin farklı kullanım alanları bulunmaktadır. Tez çalışması

kapsamında elektroanalitik yöntem olarak burada var olan yöntemlerden voltametri kullanılmıştır. Bu nedenle voltametrimin temel prensipleri daha detaylı olarak tartışılmıştır.



Şekil 2.5. Elektrokimyasal yöntemlerin sınıflandırılması.

2.6. Voltametri

Voltametri, bir elektrokimyasal hücredeki akımı, uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak ölçerek analit hakkında bilgi edinen bir elektroanalitik tekniktir. Elektroda potansiyel uygulanarak kimyasal türlerin elektron vererek yükseltgenmesi ya da elektron alarak indirgenmesi sağlanmaktadır. Bu tür elektrokimyasal değişimler sonucu elektron hareketinden olayı analit derişimi ile orantılı akım oluşmaktadır [90].

Voltametri, çeşitli ortamlardaki yükseltgenme ve indirgeme süreçleri, yüzeylerde adsorpsiyon olaylarının aydınlatılması ve kimyasal olarak modifiye edilmiş elektrot yüzeylerindeki elektron transfer mekanizmaları ile ilgili temel çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Voltametrik tekniklerin avantajları birçok inorganik ve organik türlerin tayini için çok geniş doğrusal derişim aralığı sunmaları, hızlı yanıt süresi, kinetik ve mekanik parametrelerin belirlenmesine olanak tanınması olarak sıralanabilir.

2.6.1. Voltametricde kullanılan elektrokimyasal hücreler ve hücre elemanları

Voltametric ölçümler genel olarak elektrokimyasal hücre denilen sistemler içinde gerçekleştirilmektedir (Şekil 2.6). Elektrokimyasal hücreler iki ya da daha fazla elektrottan oluşan ve akım veya potansiyelin ölçüm ve kontrolünün yapıldığı elektronik devre sistemidir. Şekil 2.6’da görüldüğü gibi referans, karşıt ve çalışma elektrodu olmak üzere üç elektrotlu elektrokimyasal hücre sisteminin elemanlarıdır.



Şekil 2.6. Voltametric ölçümlerde kullanılan hücre ve hücre bileşenleri.

Çalışma elektrodu olarak platin, camsı karbon, gümüş ve altın vb. maddelerden yapılmış zamanla potansiyeli değişen elektrotlar kullanılmaktadır. Analitin yükseltgenme veya indirgenme olayları bu elektrot yüzeyinde gerçekleştiğinden en önemli hücre elemanlarından biridir. Çalışma elektrotları inorganik ya da organik iyileştirici ajanlar yardımıyla kimyasal olarak modifiye edilmektedirler. İyileştirici ajanlarla modifiye edilen çalışma elektrodu yüzey alanı artırılarak analite karşı elde edilen yükseltgenme veya indirgenme pik akım değerinin iyileştirilmesine katkı sağlamaktadır [91].

Referans elektrot analit çözeltisinin bileşimi ve derişimden bağımsız potansiyele sahip bir yarı hücredir. Referans elektrodun elektrik direnci çok büyük olduğu için neredeyse üzerinden akım geçmemektedir. Elektroanalitik çalışmalarda gümüş-gümüş

klorür elektrot ve doygun kalomel elektrot (DKE) referans elektrot olarak sıklıkla kullanılmaktadır [92].

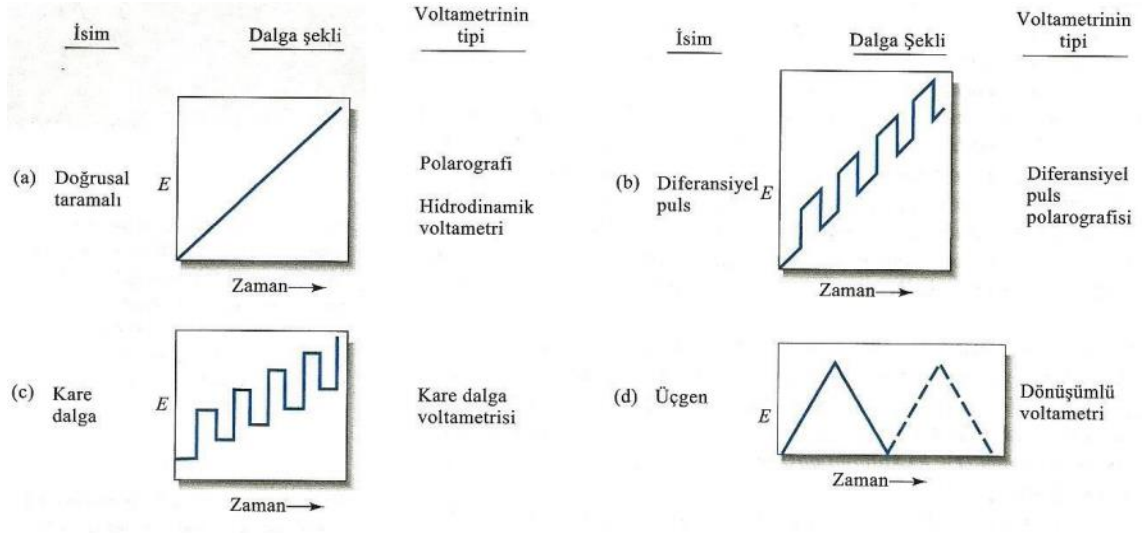
Karşıt elektrot olarak adlandırılan diğer elektrot çözelti içinden akım geçmesini sağlamaktadır ve çalışma elektrodu ile elektrot oluşturmaktadırlar. Fakat bu elektrot çifti ölçülen potansiyelin büyüklüğünün belirlenmesinde rol oynamamaktadır. Karşıt elektrodun potansiyeli sabittir, böylece toplam hücre potansiyelindeki herhangi bir değişiklik, çalışma elektrodundan kaynaklanmaktadır. Genellikle elektrokimyasal çalışmalarda platin tel karşıt elektrot olarak kullanılmaktadır [89].

Elektrokimyasal ölçüm hücresinde analit, destek elektrolit ve çözücü bulunmaktadır. Destek elektrolit olarak adlandırılan çözeltinin iletkenliğini artırıcı yönde etki eden kimyasallar elektrokimyasal ölçümlerde analiz çözeltisine ilave edilmektedir. Alkali metal tuzları yaygın olarak kullanılan destek elektrolitlerdir.

Elektrokimyasal ölçümlerde maddenin elektrot yüzeyine aktarımı elektriksel göç, karıştırma veya difüzyon yoluyla olmaktadır. Elektrotlar arasına gerilim uygulandığında anyonların anoda katyonların ise katoda hareket etmesi elektriksel göç olarak tanımlanmaktadır. Karıştırma yöntemi ile maddenin elektrot yüzeyine aktarımı elektrot hareketinden ya da analiz ortamının mekanik yöntemlerle karıştırılması ile gerçekleşen kütle aktarım türüdür. Difüzyon ise derişim farklılıklarından dolayı gerçekleşen kütle aktarım yoludur.

2.6.2. Voltametrیده kullanılan uyarma sinyalleri

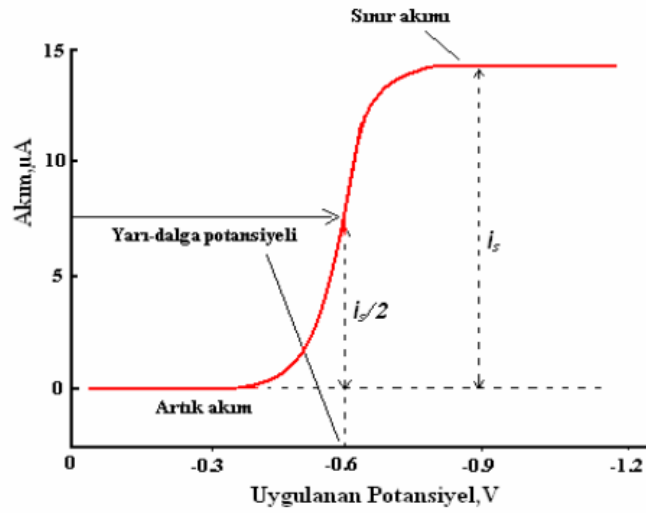
Voltametrیده moleküllerin gerilim uyarana verdiği akım değerlerinin grafiğe geçirilmesiyle voltamogram adı verilen eğriler oluşmaktadır. Voltametrik ölçümler sonucu elde edilen voltamogramların şekli uygulanan potansiyele bağlıdır. Voltametrik çalışmalarda yaygın olarak kullanılan uyarma sinyalleri Şekil 2.7’de gösterilmiştir.



Şekil 2.7. Voltametrik tekniklerde kullanılan uyarma sinyalleri ve voltametrik yöntemler.

2.6.3. Voltamogramlardan elde edilen bilgiler

Artık akım, sınır (limit) akım ve yarı dalga potansiyeli bir voltamogramı niteleyen önemli unsurlardır. Şekil 2.8’de bir voltamograma ait artık akım, sınır akım ve yarı dalga potansiyel değerleri gösterilmektedir.



Şekil 2.8. Örnek voltamogram ve önemli unsurlar.

Artık akım (i_a), elektrokimyasal hücre içine daldırılmış olarak bulunan çalışma elektrodu üzerinde henüz reaksiyon gerçekleşmediği zaman gözlenen akım türüdür. Gözlenen artık akımın büyüklüğü yöntemin duyarlılığını etkileyen unsurlardan biridir. Artık akım ölçüm ortamında bulunan elektroaktif türlerden (oksijen, ultra saf su içinde bulunan metaller, destek elektrolitte kullanılan tuzlar) kaynaklanmaktadır.

Sınır akım (i_s), voltametrik dalganın tepesinden sonra akımın sabit kaldığı bölgede gözlenen akım değeridir. Başka bir ifadeyle sınır akımı, elektrot yüzeyinde elektroaktif türün derişiminin sıfıra düştüğü andaki akım değeridir. Sınır akım ile artık akım arasındaki fark elektroaktif türün derişimi ile orantılıdır (Eş. 2.1). Sınır akım elektroaktif türün derişimi ile orantılı olmasından dolayı nicel analiz yapmak amacıyla kullanılabilir.

$$i_s = k \cdot C_A \quad (2.1)$$

Burada, C_A elektro aktif türün derişimi, k ise orantı sabitini göstermektedir.

Yarı dalga potansiyeli ($E_{1/2}$), sınır akımın değerinin yarısına ($i_s/2$) eşit olduğu zamandaki potansiyel değeri olarak tanımlanmaktadır. Yarı dalga potansiyeli, elektroaktif türe özgü bir değerdir. Bu nedenle kalitatif analizde sıklıkla kullanılmaktadır.

2.6.4. Voltametrik yöntemlerde analiz sürecini etkileyen parametreler

Voltametrik analiz süreçlerinde destek elektrolit-çözücü seçimi, sıcaklık, ortam pH'sı, çözünmüş oksijen miktarı ve temas süresi önemli parametreleri oluşturmaktadır.

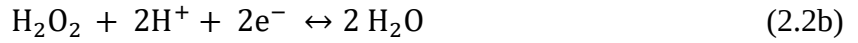
Destek elektrolit-çözücü seçimi: Voltametrik ölçümler genellikle bir destek elektrolit içeren ortamlarda gerçekleştirilmektedir. Elektrokimyasal hücrede bulunan destek elektrolit ve çözücü elektrot ve elektroaktif tür ile reaksiyon vermemelidir. Ayrıca çözücü seçerken çözücün ucuz olması, kolay saflaştırılabilmesine dikkat edilmeli ve ayrıca viskozite, çözme gücü, elektriksel iletkenlik gibi parametrelere dikkat edilmelidir.

Sıcaklık: Difüzyon katsayısı sıcaklığa bağlı olduğundan dolayı ölçülen akım şiddetini etkileyebilmektedir. Çok az miktarda bile sıcaklıktaki değişim, elektroaktif

türlerin difüzyon katsayısını %1-2 oranında değiştirmektedir. Bu nedenle voltametrik analiz süresince sıcaklığın sabit tutulmasına özen gösterilmelidir.

Ortam pH'sı: Elektrot yüzeyinde gerçekleşen elektrokimyasal tepkimeler esnasında proton (H^+) üretilmekte veya tüketilebilmektedir. Bu sebeple akım-potansiyel ilişkisinde pH'ya bağımlılık görülmektedir. Ani pH değişimden oluşacak olumsuz durumları engellemek için çözeltiler tamponlanmaktadır. Elektrokimyasal analiz sırasında seçilen tamponun çalışma aralığını daraltmaması istenmektedir.

Çözünmüş oksijen miktarı: Çalışma elektrodu üzerinde oksijenin elektrokimyasal indirgenmesi iki basamakta gerçekleşmektedir (Eş. 2.2a) Birinci basamakta hidrojen peroksit oluşumu (Eş. 2.2a) gözlenirken ikinci basamakta hidrojen peroksit indirgenerek su molekülünü oluşturmaktadır (Eş. 2.2b).



Bu tepkimelerin referans elektroda karşı yarı dalga potansiyelleri yaklaşık olarak -0,1 V ve -0,9 V değerlerine karşılık gelmektedir. Geniş bir aralıkta indirgenme dalgası oluşturmaları ve güçlü bir yükseltgen olarak davranmasıyla oksijen analiz sırasında sorunlar çıkarabilmektedir. Çözünmüş oksijenin yarattığı en önemli problem analit dalgalarıyla girişim yapıp analit tayinini engellemesidir. Bu sebeple çözelti içindeki çözünmüş oksijenin uzaklaştırılması gerekmektedir. Bu amaçla ölçüm yapmadan önce çözeltiden 2 ile 20 dakika aralığında inert bir gaz geçirilmelidir. Bu gazlar genellikle N_2 , He ve CO_2 'dir.

Temas süresi: Elektroaktif türün elektrot yüzeyine ulaşma süresi karıştırma işlemi yaparak hızlandırılabilir. Elektrot yüzeyinde biriken analit miktarı için temas süresinin optimum değeri belirlenmelidir ve belirlenen optimum koşullarda analit ölçümü yapılmalıdır.

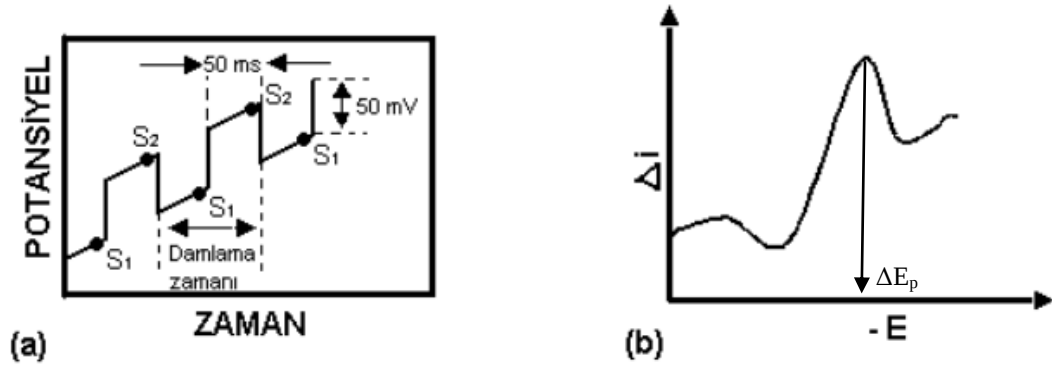
2.7. Tez Çalışması Kapsamında Kullanılan Voltametrik Yöntemler

Tez çalışması kapsamında diferansiyel puls voltametrisi (DPV) ve dönüşümlü voltametri (DV) yöntemleri kullanılmıştır. Bu sebeple bu yöntemler aşağıda daha detaylı incelenmiştir.

2.7.1. Diferansiyel puls voltametrisi

Diferansiyel puls voltametri birçok organik veya inorganik türün eser miktarda tayininde kullanılan bir elektrokimyasal yöntemdir. Bu yöntemin temeli doğrusal olarak artan potansiyel üzerine sabit büyüklükte pulsların belirli zaman aralıklarında çalışma elektroduna uygulanmasına dayanmaktadır. Şekil 2.9a'da görüldüğü gibi birincisi pulstan hemen önce (S_1) ve diğeri pulsun bitiminden hemen sonra (S_2) olmak üzere iki tane akım ölçümü gerçekleştirilmektedir. Burada akım $\Delta i = i_{S_2} - i_{S_1}$ 'dir. Diferansiyel puls voltametrisinde elde edilen akım-potansiyel eğrisi Şekil 2.9b'de verilmiştir. Burada elde edilen eğri pik şeklindedir ve yüksekliği derişime bağlıdır.

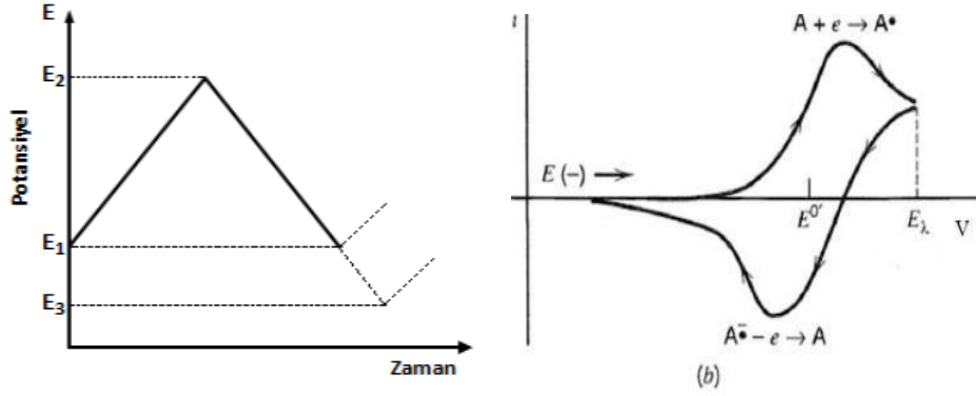
Bu teknikte pulsun sonundaki akımın içerdiği kapasitif akım miktarını azaltıp, yöntemin duyarlılığını arttırmak için pulsun başlangıç ve sonucunda ölçülen akım değerlerinin farkları alınmıştır. Bu yöntem sayesinde 10^{-8} M derişim değerlerinde madde tayini gerçekleştirilmesi mümkündür [88].



Şekil 2.9. Diferansiyel puls voltametrisinde uyarma sinyali (a); diferansiyel puls voltamogramı (b).

2.7.2. Dönüşümlü voltametri

Dönüşümlü voltametri en çok kullanılan elektrokimyasal yöntemlerden biridir. Dönüşümlü voltametri (DV), elektrodun akım cevabının, üçgen dalga şeklinde potansiyel ile uyarılması ile akımın ölçülmesi temeline dayanmaktadır. Bu yöntemde potansiyel zamana bağlıdır ve doğrusal olarak değişmektedir. Potansiyelin zamanla değişme hızı tarama hızı olarak tanımlanmaktadır. Şekil 2.10a'da uygulanan potansiyelin zamanla değişimi gösterilmektedir.



Şekil 2.10. Dönüşümlü voltametri yönteminde uyarma sinyali (a) ve elektro aktif türe ait dönüşümlü voltamogramı (b).

Potansiyel taraması şekilde görüldüğü gibi E_1 ve E_2 potansiyelleri arasında yapıp tekrar E_1 potansiyeline geri döndürülebilir ya da farklı bir potansiyel olan E_3 potansiyelinde tarama sonlandırabilir. İleri yönde taramada indirgenme reaksiyonu gerçekleşmesi durumunda, ters yönde gerçekleştirilen taramada ise yükseltgenme reaksiyonu gerçekleşmektedir. Şekil 2.10b’de ise tersinir bir elektrot tepkimesine ait dönüşümlü voltamogram görülmektedir.

Bu yöntemle elde edilen pik akımının büyüklüğü elektroaktif türün derişimi, aktarılan elektron sayısı, elektrot yüzey alanı ve difüzyon katsayısı gibi parametrelere bağlıdır. Tersinir bir reaksiyonun 25°C’deki pik akımı Randles-Sevcik eşitliği kullanılarak tanımlanmaktadır (Eş. 2.3). Randles-Sevcik eşitliği incelendiğinde akım, derişim ve tarama hızının kare kökü ile doğru orantılı olduğu görülmektedir.

$$I_p = 2,69 \cdot 10^5 n^{3/2} A C D^{1/2} v^{1/2} \quad (2.3)$$

Eşitlik 2.3’de gösterilen terimlerin anlamları aşağıda açıklanmıştır;

I_p : Pik akımı (A);

n : Transfer edilen elektronların sayısı

A : Elektrotların yüzey alanı (cm^2)

D : Yükseltgenen veya indirgenen türlerin difüzyon katsayısı (cm^2/s)

v : Tarama hızı (V/s)

C : Çözeltildeki türlerin derişimi (mol/cm^3)

Dönüşümlü voltamogramlar incelenerek;

- ✓ Sistemin yükseltgendiği potansiyel ve kaç basamakta indirgenip yükseltgendiği,
- ✓ Tersinir olup olmadığı,
- ✓ İndirgenme ya da yükseltgenme ürünlerinin kararlılığı,
- ✓ Elektrot tepkimesinde yer alan maddelerin yüzeye tutunup tutunmadıkları hakkında bilgiler edinmek mümkündür.

2.8. Elektrot Modifikasyon Yöntemleri

Voltametrik yöntemlerde karbon pasta elektrot, camsı karbon elektrot, yüzey baskılı elektrotlar vb. çalışma elektrodu olarak kullanılmaktadır. Fakat bilindiği gibi çalışma elektrotlarının sayısı sınırlıdır. Bu sebeple çalışma elektrotları elektrokimyasal veya kimyasal özellikleri değiştirilerek yüzeylerinde amacına uygun olarak bazı iyileştirmeler yapılmaktadır. Elektrot modifikasyonun temel amacı, çalışma elektrodunun yüzeyinde tamamen farklı özellikte yeni yüzeyler elde ederek elektroaktif tür ya da elektroaktif olmayan türlerin belirlenmesini sağlamaktır. Modifiye elektrotlar;

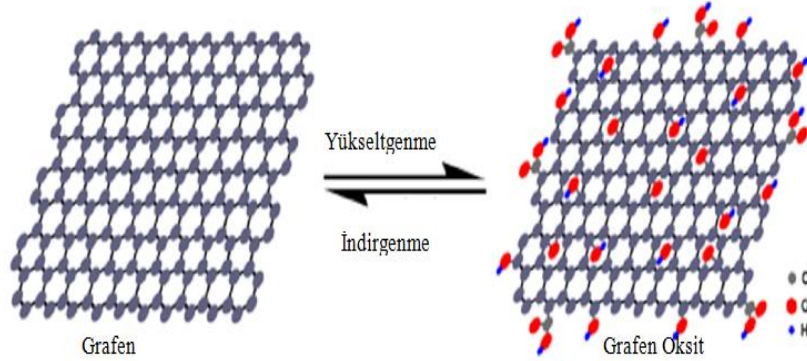
- Elektrokataliz,
- Sensör yüzeyi,
- Malzemeleri korozyona veya mekanik etkilere karşı korumak,
- Seçimli biriktirme uygulamaları geliştirmek,
- Seçici membran elde etmek amacıyla kullanılmaktadırlar.

Elektriksel olarak iletkenliğe sahip malzemeler, platin ve altın gibi inert ve kararlı yapıda maddeler, polimerik malzemeler, ligandlar ve kompleksler gibi maddeler elektrot modifikasyonunda sıklıkla kullanılmaktadır. Tez çalışması kapsamında grafen oksit, grafen nanoşerit ve tütsülenmiş silika modifikasyon ajanları olarak kullanılmıştır.

2.8.1. Grafen oksit ve elektroanalitik uygulamaları

Grafen oksit (GO), tek katmanlı grafit tabakadan oluşan ve genellikle yükseltgeme yoluyla grafitin kimyasal olarak muamelesi sonucunda üretilen bir malzemedir [93] (Şekil 2.11). GO ve grafit arasındaki farkı oluşturan etmenler GO'nun yapısında bulunan oksijenlenmiş gruplardır. Bu oksijenlenmiş gruplar GO'nun

elektrokimyasal, mekanik ve elektriksel özelliklerinin oluşmasında etkilidir. Bu oksijenlenmiş gruplar GO'nun elektrik iletkenliği grafitte göre düşürse bile bu işlevsel grupların varlığı potansiyel avantajlar sağlamaktadır [94].



Şekil 2.11. Grafen ve grafen oksitin yapısal gösterimi.

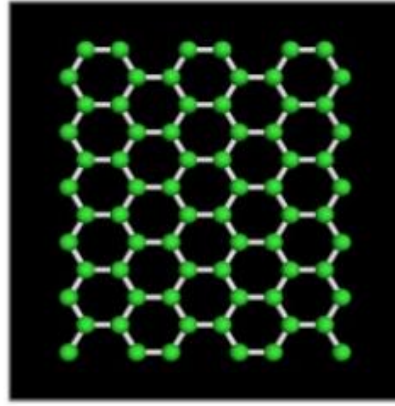
GO yüzeyinde bulunan fonksiyonel grupların sağladığı avantajlar şu şekilde sıralanabilir;

1. GO'nun polar oksijen fonksiyonel grupları ona hidrofilik özellik kazandırarak birçok çözücüde ve özellikle suda homojen olarak dağılmasını sağlamaktadır.
2. GO üzerindeki fonksiyonel gruplar, kimyasal modifikasyon için uygun ortam yaratmaktadırlar.

Ayrıca GO kolay sentezlenebilmesi, elektroaktif türleri yüzeye bağlama yeteneği ve optik özellikleriyle dikkat çekmektedir. Elektrot modifiye edici ajan olarak kullanılan GO elverişli elektron hareketliliği ve geniş yüzey alanı sayesinde elektro aktif türleri tutabilmektedir [95]. GO, metal nanopartiküller [96] veya oksit nanopartiküller [97], organik bileşikler [98], polimerler [99] ve biyomoleküllerle [100] işlevselleştirilerek yüksek elektriksel iletkenlik, kimyasal kararlılık, farklı türde birçok modifikasyon ve çok fonksiyonlu yapılar elde edilebilmesine olanak sağlamaktadır. GO tabanlı materyaller elektrokataliz [101], elektrokemilüminesans [102], elektrokimyasal sensörler [103], immünoesey [104] ve DNA sensörleri [105] dahil olmak üzere geniş bir alanda GO tabanlı elektrotlar geliştirmek ve hazırlamak için kullanılmaktadırlar. Birçok uygulama alanı olan GO tez çalışması kapsamında fenitrotiyonun elektrokimyasal tayininde modifikasyon ajanı olarak kullanılmıştır.

2.8.2. Grafen nanoşerit ve elektroanalitik uygulamaları

Grafen mekanik, elektronik ve kimyasal özellikleri nedeniyle son yıllarda araştırmacılar için önem arz etmektedir. Grafen, bal peteğine benzer hegzagonal örgüye sahip bir atom kalınlığında karbon atomlarından oluşan çok ince, yüksek yüzey alanına sahip ve oldukça dayanıklı bir malzemedir. Ancak, grafen kusurlu bir kimyasal yapıya sahiptir ve zayıf elektrokimyasal davranış sergilemektedir. Bunun nedeni grafenin elektronik boşluklara sahip olmasından kaynaklanmaktadır. Grafenin sahip olduğu olumsuzluklara alternatif olarak boyutları grafenden 10 nanometreden daha az olan grafen nanoşeritler (GNŞ) sentezlenerek çözülmüştür (Şekil 2.12).



Şekil 2.12. Grafen nano şerit moleküler yapısı.

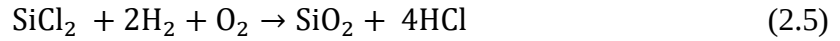
GNŞ'ler geometrik özelliklerine göre iki farklı kenar yapısına sahiptirler. Farklı kenar yapılarına sahip GNŞ'lerin, elektronik yapı ve manyetik özellikleri bu özelliklerine göre farklılık göstermektedir. GNŞ'ler kenar şekillerine göre zigzag kenarlı GNŞ ve koltuk kenarlı GNŞ olmak üzere ikiye ayrılmaktadırlar. Zigzag kenarlı GNŞ'lerin daha çok metalik davranış sergilediği; koltuk kenarlı GNŞ'ler ise genişliklerine bağlı olarak metalik, yarı-iletken veya yalıtkan özellik gösterdikleri görülmüştür [106]. Ayrıca, grafene göre GNŞ'ler daha reaktiftirler.

Geniş yüzey alanı, yüksek elektrik iletkenliği ve asidik ve alkalın elektrolitlerde yüksek elektrokimyasal kararlılığı nedeniyle GNŞ'ler elektrokimyasal çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadırlar [107]. Mehmeti ve ark. [108] camsı karbon elektrot yüzeyini GNŞ ile modifiye ederek musluk suyunda nitritin elektrokimyasal tayinini gerçekleştirmişlerdir. Govindasamy ve ark. [109] metil parathionun elektrokimyasal

tayini için gümüş parçacıklarla desteklenmiş GNŞ kullanarak hassas bir elektrokimyasal sensör geliştirmişlerdir.

2.8.3. Tütsülenmiş silika ve elektrokimyasal uygulamaları

Tütsülenmiş silika (TS), nano boyutta, renksiz, kokusuz ve sentetik bir silikon oksit ürünüdür. TS, yüksek sıcaklıkta alev hidroliz tekniği ile üretilmektedir. Bir oksijen-hidrojen alevi kullanılarak silisyum tetraklorür (SiCl_4) gaz fazına dönüştürülmektedir. Daha sonra su ile silika (SiO_2) ve hidroklorik aside dönüşmektedir [110].



Yüzeyi kimyasal tepkimeler için oldukça reaktif silanol grupları ile kaplıdır. Yüzey üzerinde bol reaktif silanol gruplarıyla çevrelenmiş olan TS, kimyasal reaksiyona izin vermektedir [111]. Yüksek yüzey alanı ve gözeneksiz yapısı nedeniyle, TS son yıllarda kozmetik, boya ve kaplama endüstrisinde kullanılmaya başlanmıştır. TS, elektrokimyasal çalışmalarda da kullanılmaktadır. Örneğin, Stauber ve arkadaşları [112] diferansiyel puls anodik sıyırma yöntemi yardımıyla modifiye edici ajan olarak TS kullanarak direkt kurşun analizi yapmışlardır. Kaushik ve arkadaşları [113] okratoksin-A tayini için TS-nanopartiküller ve kitosan bazlı nanobiyokompozit film kullanmışlardır.

Yapılan literatür araştırmaları sonucunda, GO, GNŞ ve TS nano malzemelerinin elektrot yüzey alanını ve iletkenliğini arttırması gibi özellikleri nedeniyle elektrokimyasal çalışmalarda modifikasyon ajanı olarak kullanıldıkları bilinmektedir. Bu sebeple tez çalışması kapsamında EST ve FNT'nin tayinine yönelik modifiye elektrot temelli elektrokimyasal sensörlerin hazırlanması amacıyla yukarıda açıklanan maddeler kullanılarak yeni özellikte, iletkenliği daha yüksek ve yüzey alanı arttırılmış nanokompozit malzemeler geliştirilmesi hedeflenmektedir.

3. METARYAL VE YÖNTEM

3.1. Tez Kapsamında Kullanılan Kimyasallar

Deneyisel çalışmalarda kullanılan kimyasal maddeler Tablo 3.1’de listelenmiştir.

Tablo 3.1. Deneyisel süreçlerde kullanılan kimyasallar.

Kimyasal adı	Markası	Kimyasal adı	Markası
17 β -Estradiol (%98)	Sigma-Aldrich	Çok duvarlı karbon nanotüp (% 95, OD x L = 6,9 nm x 5 μ m)	Sigma-Aldrich
Estron (%99)	Sigma-Aldrich	Altın klorür trihidrat	Sigma-Aldrich
Fenitrotiyon (%95,4)	Riedel-de Haën	Sistamin (%98)	Sigma-Aldrich
Fenthion (%96,8)	Riedel-de Haën	Tütsülenmiş silika (toz, 14 nm)	Sigma-Aldrich
Potasyum dihidrojenfosfat (%99)	Fluka	Potasyum ferrisiyanür (%99)	Riedel-de Haën
Potasyum ferrosiyanür trihidrat (%99,5)	Riedel-de Haën	Potasyum klorür (%99)	Sigma-Aldrich
Hekzaaminorutenyum (III) klorür (%98)	Sigma-Aldrich	Fenol (%89,0)	Sigma-Aldrich
Kalsiyum klorür (%98)	J.T. Baker	4-nitro fenol (%99)	Sigma-Aldrich
Glukoz (%99)	Acros	2-nitro fenol (%98)	Sigma-Aldrich
Üre (%99)	Alfa Aesar	Nitrik asit (%70)	Sigma-Aldrich
Ürik asit (%99)	Sigma-Aldrich	Etanol (%99,8)	Sigma-Aldrich
Askorbik asit (%99,5)	Fluka	Sodyum borhidrür (%98)	Sigma-Aldrich
Sitrik asit (%99,5)	Sigma-Aldrich	Hidrazin hidrat (%80 suda)	Fluka
Hidrojen peroksit (%30)	Fluka	Grafite toz	Riedel-de Haën
Asetonitril (%99)	Riedel-de Haën	Sıvı parafin	Riedel-de Haën
Sodyum nitrat (%99)	Sigma-Aldrich	Dimetil formamit (%99)	Sigma-Aldrich
Potasyum permanganat (%97)	Sigma-Aldrich	Asetik asit (%100)	Riedel-de Haën

3.2. Kullanılan Cihazlar

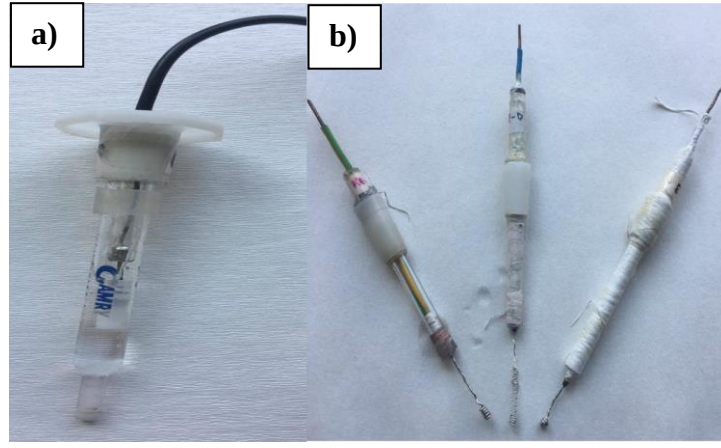
Tez çalışması kapsamında kullanılan cihazlar ve kullanım amaçları Tablo 3.2’de özetlenmiştir.

Tablo 3.2. Tez çalışması kapsamında kullanılan cihazların adı, marka ve modeli ve kullanım amaçları.

Cihaz Adı	Marka ve Model	Kullanım Amacı
Potansiyostat	Autolab PGSTAT 204	Elektrokimyasal ölçümlerde kullanılmıştır.
Potansiyostat	CHI 660D	Elektrokimyasal impedans ölçümlerinde kullanılmıştır.
ULTRAFE-SEM	ZeissUltraplus	Sentezlenen nanokompozitlerin morfolojilerinin belirlenmesinde kullanılmıştır
Raman Mikroskobu	Senterra	Sentezlenen nanokompozitlerin karakterizasyonunda kullanılmıştır.
Saf su	Sartorius (SartoriusArium Comfort I-1-UV-T)	Ultra-saf su temin edilmesinde kullanılmıştır.
Ultrasonik banyo	ISOLAB	Çözünürleştirme işlemlerinde kullanılmıştır.
Manyetik karıştırıcı	Velp Scientifica	Karıştırma işlemlerinde kullanılmıştır.
Analitik terazi	OHAUS	Tartım işlemlerinde kullanılmıştır.

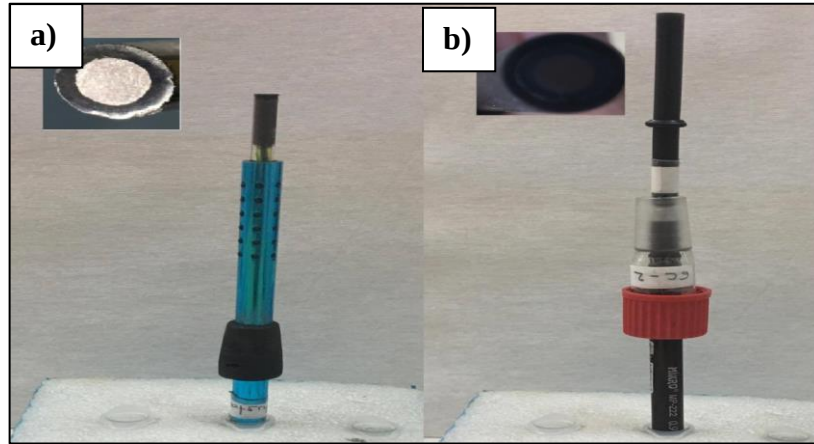
3.3. Kullanılan Hücre ve Elektrotlar

Tez çalışması kapsamında estradiol (EST) ve fenitrotyon (FNT) moleküllerinin elektrokimyasal tayinine yönelik iki farklı modifiye elektrot geliştirilmiştir. Her iki çalışmada deneysel ölçümler 5 boyunlu bir elektrokimyasal hücre içinde gerçekleştirilmiştir. Referans elektrot olarak Gammry marka (Gammry Instruments, ABD) doygun kalomel elektrot (DKE) (Şekil 3.1a) ve karşıt elektrot olarak platin elektrot (Şekil 3.1b) ortak olarak kullanılmıştır.



Şekil 3.1. Deneysel çalışmalarda referans elektrot olarak kullanılan doygun kalomel elektrot (a) ve karşı elektrot olarak kullanılan platin elektrot (b).

EST tayinine yönelik gerçekleştirilen çalışmada karbon pasta elektrot (Şekil 3.2a) çalışma elektrodu olarak kullanılmıştır. Kullanılan karbon pasta elektrot laboratuvar ortamında üretilmiştir. FNT tayinine yönelik gerçekleştirilen çalışmada camsı karbon elektrot (CK) (Şekil 3.1b) çalışma elektrodu olarak kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan CK elektrot (CK, 3,0 mm, BASİ, ABD) ticari olarak temin edilmiştir.



Şekil 3.2. EST tayininde kullanılan karbon pasta elektrot (a) ve FNT tayini amacıyla kullanılan camsı karbon elektrot (b).

3.4. Modifiye Elektrotların Hazırlanması

Tez çalışması kapsamında EST ve FNT'nin elektrokimyasal tayinine yönelik modifiye elektrot temelli sensörler geliştirilmiştir. İlk olarak EST'nin tayinine yönelik karbon pasta elektrot, FNT'nin tayinine yönelik camsı karbon elektrodun modifikasyonu gerçekleştirilmiştir.

3.4.1. EST tayinine yönelik modifiye elektrot hazırlanması

Estradiol tayinine yönelik gerçekleştirilen çalışmada karbon pasta elektrot (KPE)'nin modifikasyonu gerçekleştirilmiştir. Deneysel çalışmalarda kullanılan karbon pasta elektrot grafit tozu ve sıvı parafinin 70:30 (w/w) oranında karıştırılarak laboratuvar ortamında hazırlanmıştır. Grafit toz-sıvı parafin karışımı homojen olana kadar karıştırıldıktan sonra bir cam elektrot tutacağına (iç çap: 3,0 mm, uzunluk: 13 cm) doldurulmuştur. Hazırlanan karbon pasta elektrodun elektrik iletimi bakır tel yardımı ile sağlanmıştır. Elektrot yüzeyi parafin kağıt kullanılarak pürüzsüz hale getirilmiştir.

Hazırlanan karbon pasta elektrodun modifikasyonu için ilk olarak grafen nano şeritlerin (GNŞ) sentezi gerçekleştirilmiştir. GNŞ sentezi için 100 mg çok duvarlı karbon nanotüp ile 10 mL derişik H_2SO_4 karıştırılmış ve 1 saat boyunca ultrasonik banyoda tutulmuştur. Sonrasında reaksiyon ortamı buz banyosuna aktarılmıştır ve üzerine yavaşça 75 mg $NaNO_3$ ve 450 mg $KMnO_4$ ilave edilerek 2,5 saat boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Daha sonra reaksiyon kabı su banyosuna alınmış ve damla damla 20 mL %5'lik H_2SO_4 eklenmiştir. Tepkime ortamı oda sıcaklığına ulaştığında, 2 mL H_2O_2 damla damla tepkime ortamına ilave edilmiştir. Elde edilen siyah çökelti membran filtre yardımıyla süzölmüş ve sırasıyla %5'lik HNO_3 çözeltisi ve su ile üçer kez yıkanmıştır. Elde edilen siyah renkli ürün 90 °C'de vakum (600 mbar) altında kurutulmuştur.

İkinci kısmında, tütsölenmiş silika (TS)'nin önce altın nanopartiköllerle daha sonra da oluşan altın nanopartiköllerin yüzeyinde tek katmanlı sistamin (SA) tabakası ile modifikasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu kısımda, ilk olarak 1,0 g TS 4,0 M 50 mL HNO_3 çözeltisine ilave edilerek 4 saat boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Asit ile muamele edilen TS süzölmüştür. Elde edilen süzöntü su ile nötr olana kadar yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir. Sonrasında, 100 mg asit ile muamele edilmiş TS, 1 mM 50 mL $AuCl_4^-$ çözeltisine ilave edilmiştir ve 2 saat boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Çözelti Au^{3+} 'nın indirgenmesi için damla damla 10 mL 1,65 M hidrazin hidrat çözeltisi ilave edilmiştir. Reaksiyon sonucu turuncu-kahverengi renkte çökelti elde edilmiştir. Oluşan çökelti süzölerek su ile yıkanmıştır. Daha sonra, 50,0 mg TS-Au 1,0 mM 50 mL SA çözeltisi ile muamele edilmiştir ve 4 saat boyunca karıştırılmıştır. Son olarak elde edilen ürün TS-Au-SA olarak etiketlenmiştir.

Modifikasyon çözeltisinin hazırlanması için yukarıda anlatıldığı şekilde hazırlanan 10,0 mg GNŞ ve 5,0 mg TS-Au-SA 10 mL dimetilformamit içerisinde homojen bir süspansiyon elde edilene kadar ultrasonik banyoda dağıtılmıştır. Elde edilen homojen süspansiyondan belirli miktarda karbon pasta yüzeyine damlatılarak elektrot modifikasyonu tamamlanmıştır.

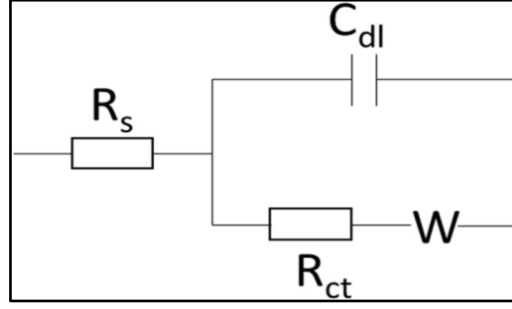
3.4.1.1. GNŞ/TS-Au-SA modifiye KP elektrodun karakterizasyonu

GNŞ/TS-Au-SA modifiye karbon pasta elektrodun karakterizasyonunda dönüşümlü voltametri (DV), elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS), taramalı elektron mikroskopi (TEM) ve raman spektroskopisi yöntemlerinden yararlanılmıştır.

Dönüşümlü voltametri: KP ve modifiye KP elektrotların elektron aktarım karakteristiklerinin incelenmesi amacıyla dönüşümlü voltametri ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla; KPE, KPE/GNŞ, KPE/TS-Au-SA ve KPE/GNŞ-TS-Au-SA elektrotların elektrokimyasal davranışları -0,3 V ile +1,0 V gerilim aralığında 5,0 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ ve -0,6 ile +0,3 V gerilim aralığında 1,0 mM $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ redoks türlerini içeren 0,1M KCl çözeltisinde incelenmiştir.

Elektrokimyasal impedans spektroskopisi: İmpedans, bir devrede uygulanan elektriksel akıma karşı gösterdiği toplam direnci temsil etmektedir. Elektrot karakterizasyon çalışmalarında elektron transferi, kütle transferi ve kimyasal reaksiyon mekanizmasının aydınlatılmasında kullanılan hassas bir yöntemdir.

EIS sonuçlarının doğruluğu, benzer olduğu düşünülen bir elektrik devresi yardımıyla kontrol edilir. Randles devresi, EIS’de kullanılan en basit elektrik devresidir (Şekil 3.3). Şekil 3.3’de görülen elektrik devresinde çözelti direnci (R_s), yük-transfer direnci (R_{ct}), warburg elemanı (W) ve sabit faz elemanı (C_{dl}) içeren elektriksel devre modeli kullanılarak, impedans ölçümleri sonucu elde edilen veriler fit edilmektedir [114]. Nyquist eğrisinden R_{ct} değeri kolaylıkla elde edilebilmektedir ve bu bilgi elektrot-elektrolit arasındaki elektron aktarım hızı hakkında önemli bilgiler vermektedir.



Şekil 3.3. Basit bir Randles devresi.

Tez çalışması kapsamında KPE, KPE/GNŞ, KPE/TS-Au-SA ve KPE/GNŞ-TS-Au-SA elektrotların elektron aktarım hızları +0,25 V gerilim değerinde 5,0 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ redoks çiftini içeren 0,1M KCl çözeltisinde elektrokimyasal impedans ölçümleri alınarak belirlenmiştir.

Taramalı elektron mikropkopsi: SEM analizleri tez kapsamında modifiye edilmiş elektrotların yüzey özelliklerinin incelenmesi ve modifiye edici ajanların sentezinin başarılı olup olmadığı hakkında bilgiler edinilmesi için kullanılmıştır.

Raman spektroskopisi: Tez çalışmasında sentezlenen modifiye edici ajanların fonksiyonel gruplarının belirlenmesinde kullanılmıştır.

3.4.1.2. KPE/GNŞ-TS-Au-SA elektrodun EST varlığında elektrokimyasal davranışının incelenmesi

EST stok çözeltisinin hazırlanması: 2,5 mM 10 mL EST stok çözeltisi 1:1 asetonitril-su çözücüsü içerisinde haftalık olarak hazırlanmıştır. Hazırlanan EST stok çözeltisi buzdolabında muhafaza edilmiştir.

Voltametrik ölçümler: KPE, KPE/GNŞ, KPE/TS-Au-SA ve KPE/GNŞ-TS-Au-SA elektrotların elektrokimyasal davranışları DPV ve CV yöntemleri kullanılarak incelenmiştir. Modifiye elektrotların ve modifiye edilmemiş KPE'nin 5,0 mM EST varlığında diferansiyel puls voltamogramları +0,2; +0,8 V potansiyel aralığında, 0,1 M fosfat tamponu (pH 6) içinde 60 s bekletilerek kaydedilmiştir. Aynı elektrotların EST varlığında dönüşümlü voltamogramları +0,2; +0,9 V potansiyel aralığında 0,1 M fosfat tamponu (pH 5) içinde, 60 s bekletilerek elde edilmiştir.

3.4.1.3. EST tayini için ölçüm parametrelerinin optimizasyonu

EST'nin elektrokimyasal tayini için belirlenen KPE/GNŞ-TS-Au-SA modifiye elektrot kullanılarak çözelti ortamının pH'sı ve temas süresi optimize edilmiştir.

Bu amaçla ilk olarak çözelti ortamının pH'sının optimum değeri belirlenmiştir. Farklı pH değerlerinde (2; 3; 4; 5; 6; 7,4; 8,5; 10) 5 µM EST'nin yükseltgenme pik akım değerleri incelenmiş ve optimum pH değeri belirlenmiştir.

Ölçüm ortamının pH'sının optimizasyonu yapıldıktan sonra KPE/GNŞ-TS-Au-SA farklı temas sürelerinde (30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 ve 240 s), 0,1 M fosfat tamponu (pH 5) içinde 5 µM EST varlığında bekletilerek diferansiyel puls ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen en yüksek pik akımına sahip temas süresi deneysel çalışmalarda optimum değer olarak kullanılmıştır.

3.4.1.4. EST tayini için analitik parametrelerin belirlenmesi

Analitik çalışmalarda, analit derişimi ile analitik sinyal arasındaki ilişkinin belirlenmesi kalibrasyon işlemi ile gerçekleştirilir. Analitik çalışmalarda doğrusal çalışma aralığının geniş olması sistem için büyük bir üstünlük sağlamaktadır. Tez çalışması kapsamında KP/GNŞ-TS-Au-SA elektrotla gerçekleştirilen çalışmada 0,1 µM ve 5,0 µM derişim aralığında EST derişimi arttırılarak yükseltgenme pik akımları kaydedilmiştir ve bu akım değerleri derişime karşı grafiğe geçirilmiştir. Kalibrasyon grafiğine ait regresyon denklemi ve korelasyon katsayısı hesaplanmıştır. Eş. 3.1 ve Eş. 3.2 kullanılarak gözlenebilme sınırı (LOD) ve tayin sınırı (LOQ) hesaplanmıştır.

$$LOD = \frac{3S_b}{m} \quad (3.1)$$

$$LOQ = \frac{10S_b}{m} \quad (3.2)$$

Bu denklemde S_b , blank ölçümünün standart sapması, m ise kalibrasyon grafiğinin eğimidir.

İdeal bir elektrokimyasal sensör için, elektrodun aynı koşullar altında aynı ya da farklı günlerde yapılan ölçümlerinin hemen hemen aynı olması istenmektedir. Bu sebeple, EST'nin elektrokimyasal tayini için geliştirilen elektrodun tekrarlanabilirliği belirlenmiştir. Pik akımı ve pik potansiyeli tekrarlanabilirliklerinin belirlenmesi amacıyla aynı çözelti kullanılarak ve aynı şekilde hazırlanmış farklı çözeltiler

kullanılarak, farklı günlerde optimum şartlar altında EST'ye ait diferansiyel puls voltamogramları kaydedilmiştir. Elde edilen ölçüm sonuçlarının bağıl standart sapma değerleri (en az üç ölçüm almak koşuluyla) hesaplanmıştır.

Elektrot kararlılığı ideal bir sensörün sahip olması gerek özelliklerinden biridir. Modifiye elektrodun kararlılığının belirlenmesi amacıyla modifiye elektrotlar 30 gün boyunca desikatör içerisinde bekletilmiş ve belirli aralıklarla diferansiyel puls voltamogramları kaydedilmiştir.

3.4.1.5. EST tayini için girişim yapması muhtemel türlerin etkilerinin araştırılması

EST tayinine yönelik hazırlanan GNŞ-TS-Au-SA modifiye elektrot kullanılarak gerçek numune analizlerinde girişim yapabilecek türlerin analit sinyaline etkisi optimum şartlar altında incelenmiştir. Askorbik asit, glukoz, üre, ürik asit, sitrik asit, kalsiyum klorür, potasyum klorür, o-nitro fenol ve estron varlığında KPE/GNŞ-TS-Au-SA elektrodun EST'ye karşı cevabı incelenmiştir.

3.4.1.6. EST'nin gerçek örneklerde analizinin araştırılması

EST tayinine yönelik geliştirilen CPE/GNŞ-TS-Au-SA sensörünün gerçek örneklerdeki etkinliğinin değerlendirilmesi amacıyla, geliştirilen sensör süt ve ilaç örneklerinde test edilmiştir.

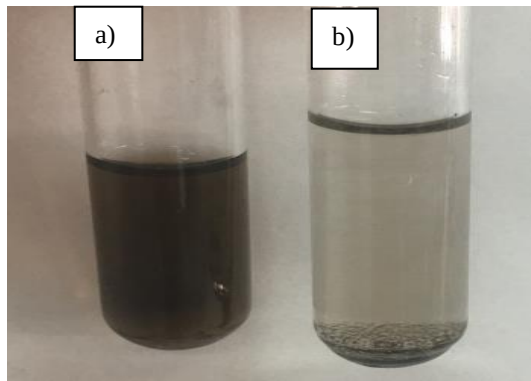
Süt numunelerinin hazırlanması sırasında belirli derişimde EST standart çözeltisi 10 mL süt örneği içine ilave edilmiştir. Hazırlanan karışım 5 dakika boyunca vortekste bekletilmiştir. Ardından, 15 dakika karanlık ve soğuk ortamda bekletilen EST içeren süt örneği proteinlerin çöktürülmesi amacıyla 6 mL asetronitril ve 150 µL asetik asit ile muamele edilmiştir. Oluşan çökeltinin uzaklaştırılması amacıyla örnek 15 dakika boyunca 400 rpm'de santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonucunda elde edilen berrak kısım ayrılarak 10 mL'ye ultra saf su kullanılarak seyreltilmiştir. Son olarak elde edilen örnekten 200 µL elektrokimyasal hücre içine alınmış ve DPV ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

EST etken maddesini içeren iki farklı ilaç örneği yerel eczanelerden temin edilerek herhangi bir ön işleme ihtiyaç duyulmadan 40 kat seyreltilerek modifiye elektrot ile elektrokimyasal ölçümler gerçekleştirilmiştir.

3.4.2. FNT tayini için modifiye elektrot geliştirilmesi

FNT elektrokimyasal tayini için camsı karbon elektrot çalışma elektrodu olarak kullanılmıştır. Camsı karbon elektrodun modifikasyonu grafen oksit (GO) ve tütsülenmiş silika (TS) içeren bir nanokompozit kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Asit muamele edilmiş TS'nin hazırlanma koşulları Bölüm 3.4.1'de açıklanmıştır. Asit muamele edilmiş TS'den 50 mg tartılıp, ticari olarak satın alınan 2 mg/mL GO'dan 2 mL alınarak 50 mL ultra-saf su içinde dağıtılan çözeltiye ilave edilmiştir ve 1 saat boyunca ultrasonik banyoda karıştırılmıştır. Sonrasında reaksiyon kabı 60 °C'de su banyosu ortamına alınmıştır. Yarım saat 60 °C'de bekletilen reaksiyon ortamına 7 mL NaBH₄ ilave edilerek TS yüzeyinde GO'nun indirgenmesi sağlanmıştır. İndirgenme işlemi sonucunda reaksiyon çözeltisinin renginin açık kahverenginden siyaha döndüğü gözlemlenmiştir. Reaksiyon ortamı 6 saat boyunca manyetik karıştırıcı ile karıştırılmıştır. Elde edilen ürün ultra-saf su ile 3 kez yıkanmış ve süzülerek 70 °C'de 6 saat boyunca vakum altında (600 mbar) kurutulmuştur. Elde edilen ürün TS@İGO olarak adlandırılmıştır. Elde edilen üründen 5 mg alınarak 5 mL su içinde homojen olana kadar ultrasonik banyoda karıştırılmıştır. Elde edilen homojen karışım camsı karbon elektrot yüzeyini modifiye etmek amacıyla kullanılmıştır.

Aynı yöntemle TS içermeyen İGO'da sentezlenmiştir. Ayrıca, GO miktarı yarıya düşürülerek de aynı işlemler ve elde edilen ürün TS@İGO₁ olarak isimlendirilmiştir. Şekil 3.4'de 1mg/mL TS@İGO ve İGO içeren dispersiyonların 20 gün bekletildikten sonra elde edilmiş görüntüleri verilmiştir. Görüldüğü gibi TS@İGO kararlı halde dururken İGO dibe çökmüştür.



Şekil 3.4. 1 mg/mL TS@İGO (a) ve İGO (b) ile ultra-saf su kullanılarak hazırlanan modifikasyon çözeltilerinin kararlılığının karşılaştırılması.

Camsı karbon elektrotlar (CKE) modifiye edilmeden önce yüzeyi sırasıyla 1,0 mikron, 0,3 mikron ve 0,05 mikronluk alümina tozları ile temizlenmiştir. Yüzeyi parlatılan elektrotlar temizlenmek üzere 15 dakika metanol-su karışımı içinde ultrasonik banyoda bekletilmiştir. Temizlenen elektrotların yüzeyine hazırlanan homojen karışımdan 20 µL damlatılarak 50 °C’de etüvde 1 saat boyunca kurumaya bırakılmıştır.

3.4.2.1. TS@İGO modifiye elektrodun karakterizasyonu

TS@İGO modifiye camsı karbon elektrodun ve modifiye edici ajanlarının karakterizasyonu, detayları Bölüm 3.4.1.1’de anlatılan dönüşümlü voltametri, elektrokimyasal empedans spektroskopisi ve Raman spektroskopisi yöntemleri yardımıyla gerçekleştirilmiştir.

3.4.2.2. TS@İGO modifiye elektrodun hazırlanmasının optimizasyonu

CK elektrot yüzeyine farklı hacimlerde (10, 15, 20, 40, 60 µL) TS@İGO süspansiyonundan damlatılarak 5 µM FNT varlığında 0,1 M fosfat tamponu içinde (pH 2) diferansiyel puls ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Ölçümler sonucunda elde edilen pik akımları karşılaştırılarak optimum damlatma hacmi belirlenmiştir.

3.4.2.3. CK/TS@İGO elektrodun fenitrotiyon varlığında elektrokimyasal davranışının incelenmesi

FNT stok çözeltisinin hazırlanması: 5,0 mM 5 mL FNT stok çözeltisi etanol çözücüsü kullanılarak haftalık olarak hazırlanmıştır. Hazırlanan 5,0 mM FNT stok çözeltisi -20 °C’de muhafaza edilmiştir.

CK, CK/İGO ve CK/TS@İGO elektrotların elektrokimyasal davranışları diferansiyel puls voltametrisi ve dönüşümlü voltametri yöntemleri kullanılarak incelenmiştir. Bu amaç doğrultusunda CK/ TS@İGO elektrot kullanılarak 0,1 M fosfat tamponunda (pH 2) 0,0 ile -0,75 V gerilim aralığında FNT varlığında CV ve DPV ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Aynı koşullar altında CK ve CK/İGO elektrotlarında elektrokimyasal davranışları incelenmiş ve CK/ TS@İGO elektrot ile kıyaslanmıştır.

3.4.2.4. FNT tayini için ölçüm parametrelerinin optimizasyonu

FNT'nin elektrokimyasal tayini için sırasıyla ortam pH'sı ve temas süresi parametreleri Bölüm 3.4.1.4'de anlatıldığı gibi optimize edilmiştir.

3.4.2.5. FNT tayinin için analitik parametrelerin belirlenmesi

FNT tayini için doğrusal çalışma aralığı, gözlenebilme sınırı ve tayin sınırı, tekrarlanabilirlik ve elektrodun rejenerasyonu çalışmaları Bölüm 3.4.1.5'de anlatıldığı şekilde EST yerine FNT kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.4.2.6. FNT tayini için girişim yapması olası türlerin etkilerinin araştırılması

FNT tayinine yönelik hazırlanan CK/TS@İGO elektrot kullanılarak gerçek numune analizlerinde girişim yapabilecek türlerin analit sinyaline etkisi optimum şartlar altında incelenmiştir. Askorbik asit, glukoz, üre, ürik asit, sitrik asit, kalsiyum klorür, potasyum klorür, o-nitro fenol ve fenthion varlığında CK/TS@İGO elektrodun 5 µM FNT'ye cevabında meydana gelen değişiklikler incelenmiştir.

3.4.1.7. Gerçek örneklerde FNT analizinin araştırılması

Üretilen modifiye elektrodun FNT'nin elektrokimyasal tayinini başarıyla gerçekleştirip gerçekleştiremeyeceği farklı gerçek numune ortamlarında test edilmiştir. Bu amaç doğrultusunda su, idrar, domates suyu, portakal suyu ve kuru üzüm örnekleri FNT tayini yapılmak üzere seçilmiştir.

Keskin Köyü Barajı'ndan temin edilen nehir suyu örneği ve laboratuvar personeli tarafından temin edilen idrar örneği membran filtreden süzildükten sonra belirli bir oranda seyreltilerek ön işlem uygulanmadan ölçümlerde kullanılmıştır.

Kuru üzüm örneği yerel marketlerden temin edilmiştir. 25 g kuru üzüm örneğinden tartılarak 50 mL etanol çözücüsü içinde 1 gün boyunca stok çözelti kabında bekletilmiştir. Daha sonra filtre kağıdı ile süzümüştür. 100 mL lik balon jojeye aktarılan kuru üzüm örneğine ait süzüntü ultra-saf su kullanılarak 100 mL'ye tamamlanmıştır.

Domates ve portakal yerel marketlerden temin edilmiştir. Pestisitlerin analizinde yaygın olarak kullanılan QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe) ekstraksiyon yöntemi domates ve portakal suyu örneklerinin hazırlanmasında

kullanılmıştır [115]. Domates ve portakal parçalanarak blendırdan geçirilmiştir. Elde edilen numunelerden 15 g tartılmıştır. Gıda numuneleri içine 6 g susuz magnezyum sülfat ve 1,5 g sodyum asetat bulunan santrifüj tüpüne aktarılmıştır. Karışım kabına 15 ml asetonitril eklenmiş ve hızlı şekilde karıştırma sonucunda katı ve organik faz olmak üzere iki faz elde edilmiştir. Katı fazın ayrılması amacıyla numuneler 5 dakika 4000 rpm’de santrifüj edildikten sonra organik fazın 4 mL’si içine 600 mg susuz magnezyum sülfat ilave edilmiştir. 5 dakika 400 rpm’de tekrar santrifüj edilen numunelerden üstte kalan organik faz elektrokimyasal ölçümlerde kullanılmıştır. FNT derişimi bilinen örneklerden 250 µL elektrokimyasal hücre içerisine eklenerek ölçümler gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Tez çalışması kapsamında endokrin sistem üzerine olumsuz etkilere sahip 17- β -estradiol (EST) ve fenitroiyon (FNT) moleküllerinin elektrokimyasal tayinine yönelik iki farklı modifiye elektrot geliştirilmiştir. Bu kapsamda hazırlanan elektrotlar ile gerçekleştirilen ölçümler sonucu elde edilen veriler aşağıda sırasıyla tartışılmıştır.

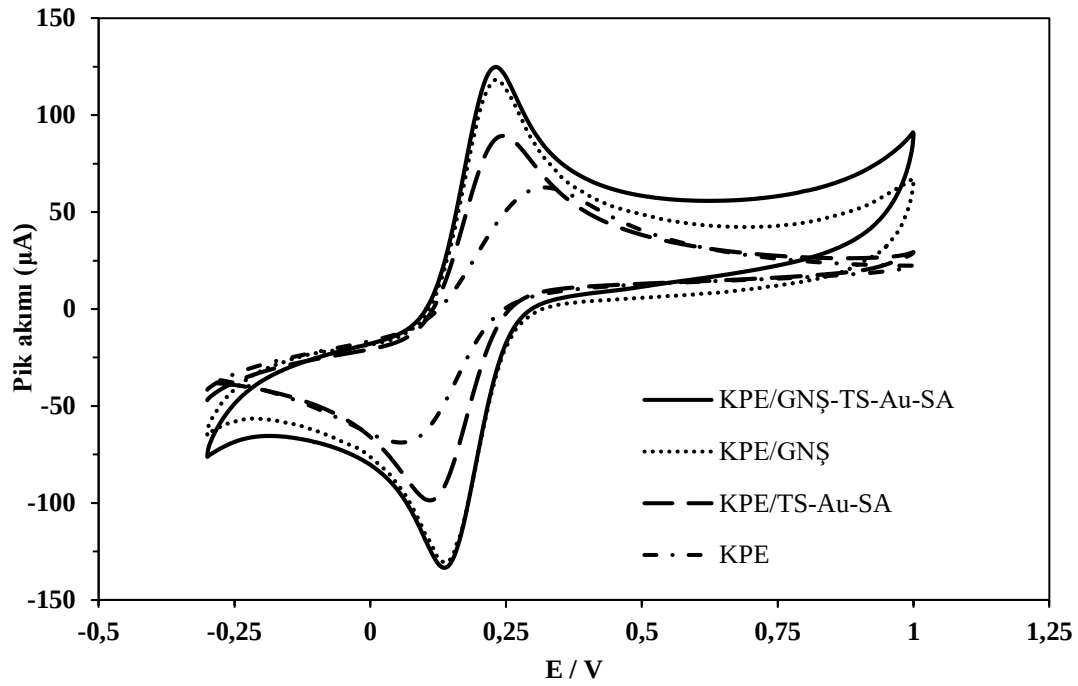
4.1. EST Tayini İçin Modifiye Elektrot Hazırlanması

4.1.1. EST tayinine yönelik hazırlanan modifiye elektrodun karakterizasyonu

Yalın karbon pasta ve modifiye karbon pasta elektrotların karakterizasyonu dönüşümlü voltametri ve elektrokimyasal impedans spektroskopisi, taramalı elektron mikroskobu ve raman spektroskopisi analizleri ile gerçekleştirilmiştir. karakterizasyon çalışmalarında elde edilen sonuçlar aşağıda detaylı olarak tartışılmıştır.

4.1.1.1. *Modifiye elektrotların dönüşümlü voltametri ölçümleri*

EST tayinine yönelik hazırlanan modifiye elektrotların elektrokimyasal davranışları -0,3 V ve 1,0 V gerilim aralığında 5,0 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ redoks türlerini içeren 0,1M KCl çözeltisi içinde dönüşümlü voltametri yöntemiyle incelenmiştir. KP, KP/TS-Au-SA, KP/GNŞ ve KP/GNŞ-TS-Au-SA elektrotlar ile 5,0 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ içeren çözelti içinde elde edilen dönüşümlü voltamogramlar Şekil 4.1’de verilmiştir. Yapılan ölçümler sonucunda $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ ’nin yükseltgenmesi KP, KP/TS-Au-SA, KP/GNŞ ve KP/GNŞ-TS-Au-SA elektrotlar için sırasıyla +0,317 V, +0,249 V, +0,229 V ve +0,249 V gerilim değerlerinde meydana gelmiştir. $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ ’nin indirgenmesi KP, KP/TS-Au-SA, KP/GNŞ ve KP/GNŞ-TS-Au-SA elektrotlar için sırasıyla +0,055 V, +0,109 V, +0,109 V and +0,136 V gerilim değerinde meydana gelmiştir. Ayrıca KP, KP/TS-Au-SA, KP/GNŞ ve KP/GNŞ-TS-Au-SA elektrotlar ile gerçekleştirilen ölçüm sonucunda $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ redoks çifti için yükseltgenme ve indirgenme pik gerilimleri arasındaki fark ΔE_p değerleri hesaplanmış ve Tablo 4.1’de gösterilmiştir. Tablo 4.1 incelendiğinde KP elektrodun 0,262 V olan ΔE_p değerinin GNŞ-TS-Au-SA ile modifiye edilmesi sonucunda 0,113 V değerine düştüğü görülmektedir. ΔE_p değerinin düşmesi, modifiye elektrotta elektron transferinin yalın KP elektroda göre daha kolay gerçekleştiğini göstermektedir. Pik akımlarının artması ise GNŞ-TS-Au-SA varlığında elektrodun yüzey alanının arttığını açıkça göstermektedir.



Şekil 4.1. KP, KP/TS-Au-SA, KP/GNŞ ve KP/GNŞ-TS-Au-SA elektrotlarına ait 0,1 M KCl çözeltisi içerisinde 5,0 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ varlığında elde edilen dönüşümlü voltamogramlar. (Tarama hızı: 50 mV/s)

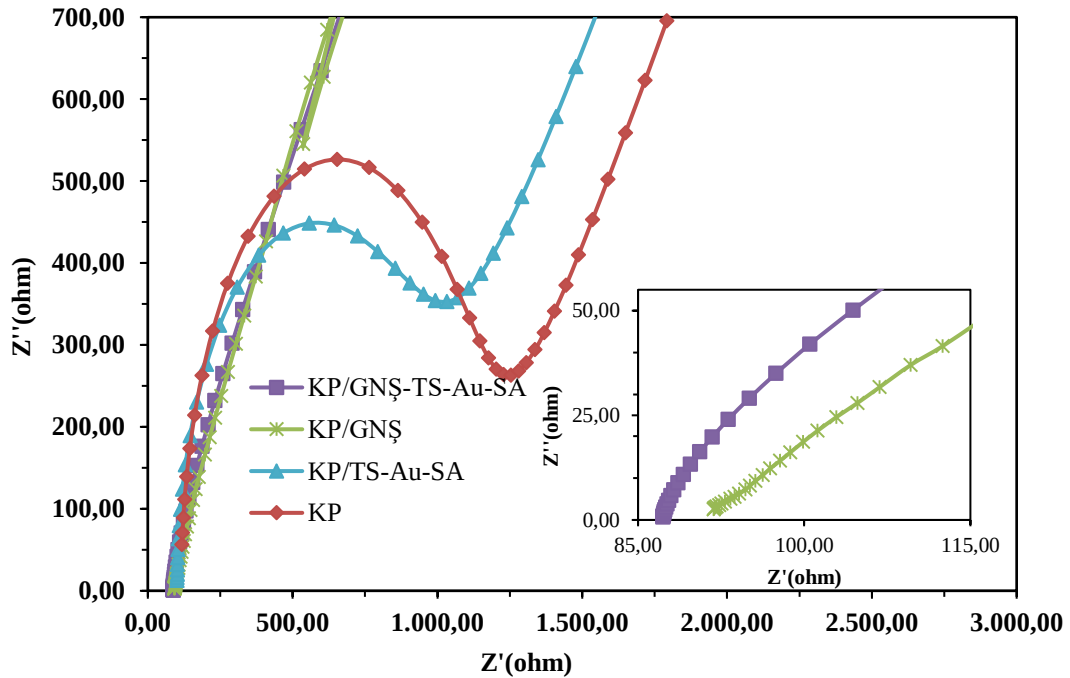
Tablo 4.1. Modifiye elektrotların 2,5 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ 0,1M KCl içeren çözeltide dönüşümlü voltametri ile elde edilen gerilim değerleri.

Elektrot	Gerilim (E_p)	Gerilim (E_a)	Gerilim Farkı ($\Delta E_p = E_a - E_k$)
KP/GNŞ-TS-Au-SA	+ 0,249	+ 0,136	0,113
KP/GNŞ	+ 0,229	+ 0,109	0,120
KP/TS-Au-SA	+ 0,249	+ 0,109	0,140
KP	+ 0,317	+ 0,055	0,262

4.1.1.2. Elektrokimyasal impedans spektroskopisi ölçümleri

Bu kısımda KP, KP/TS-Au-SA, KP/GNŞ ve KP/GNŞ-TS-Au-SA elektrotların elektron aktarım hızlarını karşılaştırmak amacıyla 5 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ ve 0,1 M KCl içeren çözeltide elektrokimyasal impedans ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Elektrokimyasal impedans ölçümleri sonucu elde edilen Nyquist diyagramları Şekil 4.2’de görülmektedir. Elde edilen ölçüm sonuçları çözelti direnci (R_s), yük-transfer direnci (R_{ct}), Warburg elemanı (W) ve sabit faz elemanını (C_{dl}) içeren basit bir elektriksel devre modeli kullanılarak fit edilmiştir. Elektriksel devre bileşenlerinin

hesaplanan değerleri Tablo 4.2’de verilmiştir. KP ve KP/GNş-TS-Au-SA elektrot karşılaştırıldığında y¼k-transfer direncinin 1003 Ω değerinden 0,001 Ω değerine d¼řt¼ę¼ g¼r¼lmektedir. Y¼k-transfer direnç değerinin azalması modifikasyon ajanları varlığında elektrodun elektron aktarım hızının arttığını g¼stermektedir. KP ve KP/TS-Au-SA elektrot varlığında elektron aktarım hızı yavaş olduğu i¼in empedans spektrumu yarı dairesel halka ile karakterize edilirken, KP/GNş ve KP/GNş-TS-Au-SA elektrotlar varlığında elektron aktarım hızı ¼ok y¼ksek gerçekleştiği i¼in doğrusal Warburg empedansı ile karakterize edilmektedir. KP elektrodun TS-Au-SA nanokompoziti ile modifikasyonu sonucunda Warburg değerinin artması elektrodun iletkenliğinin arttığını g¼stermektedir. Buna ek olarak, GNş nanokompozit ile hazırlanan elektrodun Tablo 4.2’de verilen Warburg değeri 0,0005209 Ω ’dan GNş-TS-Au-SA nanokompozit varlığında 0,0004342 Ω değerine d¼řt¼ę¼ g¼r¼lmektedir. Bunun nedeni GNş nanokompozitin, TS-Au-SA nanokompozit ile muamelesiyle elektrodun iletkenliğini az da olsa d¼ř¼rmesidir. Buna ek olarak GNş-TS-Au-SA nanokompozit varlığında elektrodun Warburg empedansının y eksenine daha yakın olması y¼k transfer direncinin azaldığını g¼stermektedir [116].



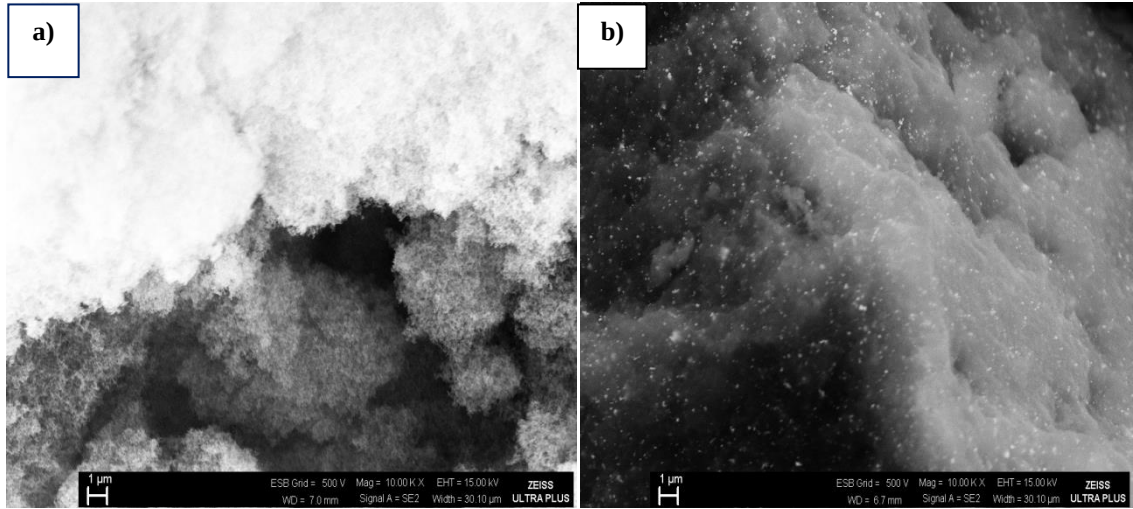
şekil 4.2. KP, KP/TS-Au-SA, KP/GNş ve KP/GNş-TS-Au-SA elektrotlar kullanılarak 0,1 M KCl ve 5,0 mM $\text{Fe(CN)}_6^{3-/4-}$ i¼eren sulu ¼özeltide elde edilen Nyquist diyagramları.

Tablo 4.2. Elektrotlar için empedans devre elamanlarının eş değer devreye fit edilmiş değerleri.

Elektrot	$R_s (\Omega)$	$R_{ct} (\Omega)$	$C_{dl} (F)$	W
KP	114,6	1003	$3,535.10^{-7}$	0,0002915
KP/TS-Au-SA	100,8	802,8	$1,573.10^{-6}$	0,000328
KP/GNŞ	93,26	0,00105	$2,334.10^{-5}$	0,0005209
KP/GNŞ-TS-Au-SA	87,21	0,001	$2,965.10^{-5}$	0,0004342

4.1.1.3. Modifiye elektrotların taramalı elektron mikroskopi analiz sonuçları

Modifikasyon ajanı olarak hazırlanan TS-Au-SA'nın yüzey morfolojisini incelemek için taramalı elektron mikroskopisi yöntemi kullanılmıştır. Şekil 4.3'de TS ve TS-Au-SA'nın SEM görüntüleri verilmiştir. TS'nin nano boyutlu yapısı görülmektedir (Şekil 4.3a). Au^{3+} 'nin TS içeren ortamda indirgenmesi sonucunda TS yüzeyinde beyaz noktacıkların oluştuğu görülmektedir (Şekil 4.3b). Bu beyaz noktalar TS yüzeyinde altın nanopartiküllerinin oluştuğunu göstermektedir. Bu da modifikasyon sürecinin başarıyla gerçekleştiğini göstermektedir.



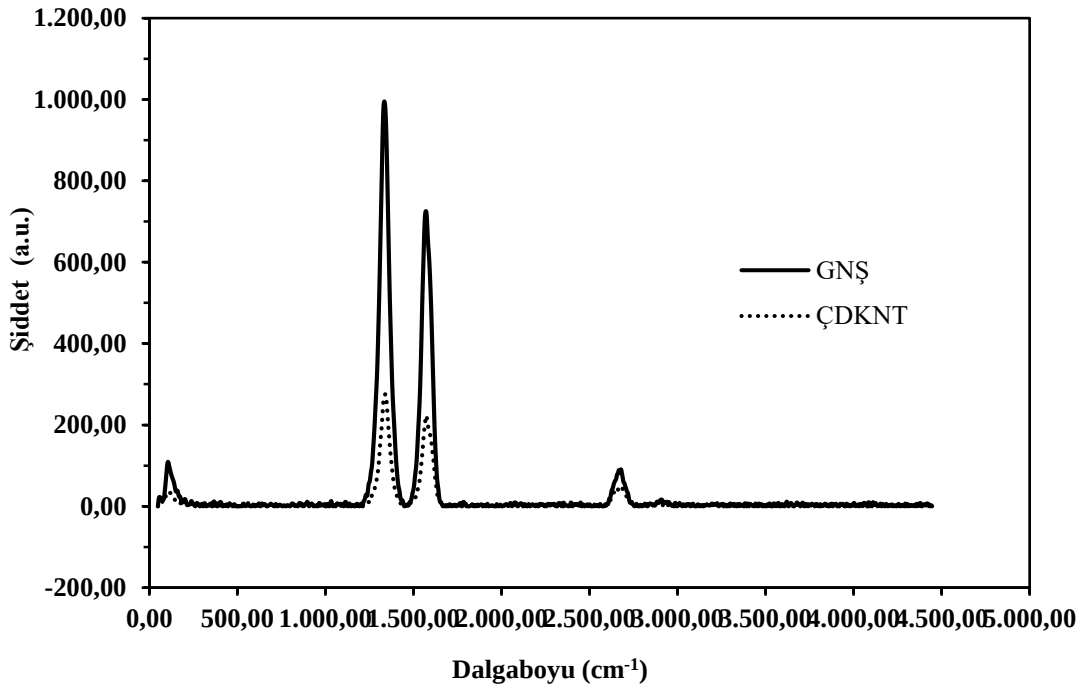
Şekil 4.3. TS (a) ve TS-Au-SA (b) modifikasyon ajanların SEM görüntüleri.

4.1.1.4. Modifikasyon ajanların Raman analiz sonuçları

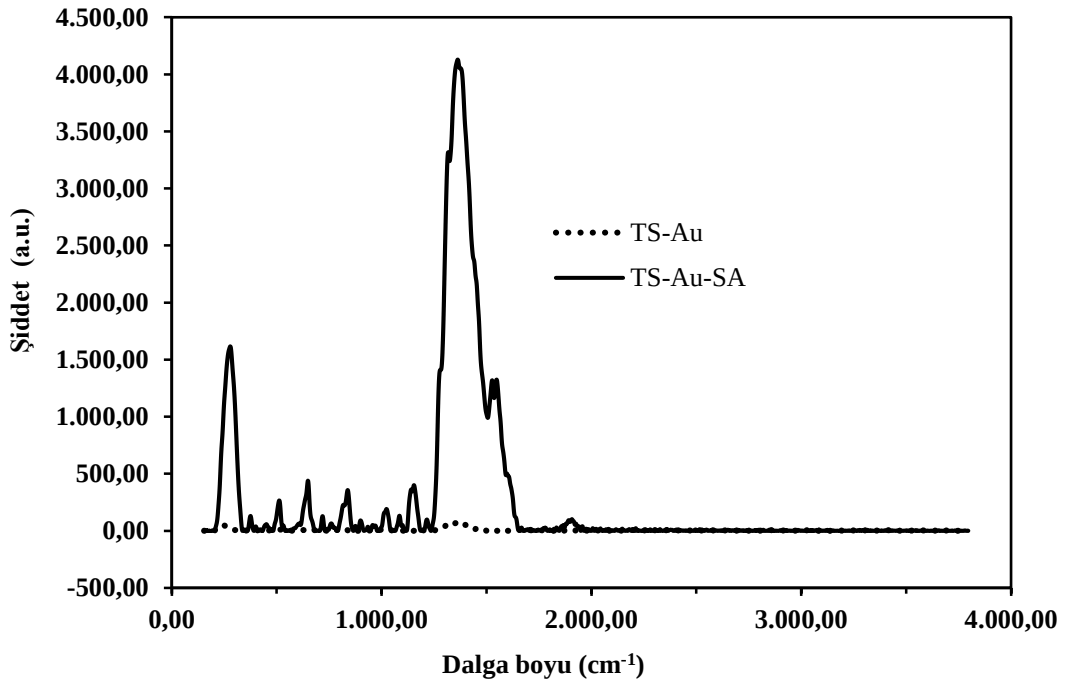
ÇDKNT ve GNŞ'ye ait Raman spektrumları Şekil 4.4'de verilmiştir. ÇDKNT'e ait spektrumda 1341 cm^{-1} , $1572,5 \text{ cm}^{-1}$ ve 2674 cm^{-1} dalga boyunda üç tane karakteristik bant gözlenmektedir. GNŞ spektrumunda ise bu bantlar 1334 cm^{-1} , 1570 cm^{-1} ve $2678,5 \text{ cm}^{-1}$ dalga boylarında gözlenmiştir. Bu gözlenen bantlar sırasıyla grafene ait karakteristik D, G ve 2D bantlarına karşılık gelmektedir [117]. Pik şiddetlerinin GNŞ'ye

ait Raman spektrumunda arttığı görülmektedir. Bu da grafen yapısının GNŞ'de ÇDKNT'ye göre arttığını göstermektedir.

TS-Au'nun SA ile modifikasyonunun araştırılması amacıyla TS-Au ve TS-Au-SA'ya ait Raman spektrumları elde edilmiştir (Şekil 4.5). TS-Au'ya ait spektrumda karakteristik bir Raman bandı bulunmamaktadır. Ancak TS-Au-SA için elde edilen Raman spektrumu incelendiğinde, TS-Au yüzeyinde sistamin (SA) varlığını gösteren farklı bantlar bulunmaktadır. 651,5 cm^{-1} 'de gözlenen bant C-S gerilmesine karşılık gelmektedir [118]. 930 cm^{-1} ve 1011 cm^{-1} 'de bulunan bantlar C-C ve C-N gerilme titreşimlerine karşılık gelmektedir [119]. Sonuçlar TS-Au'nun SA ile modifikasyonunun başarıyla gerçekleştiğini göstermektedir.



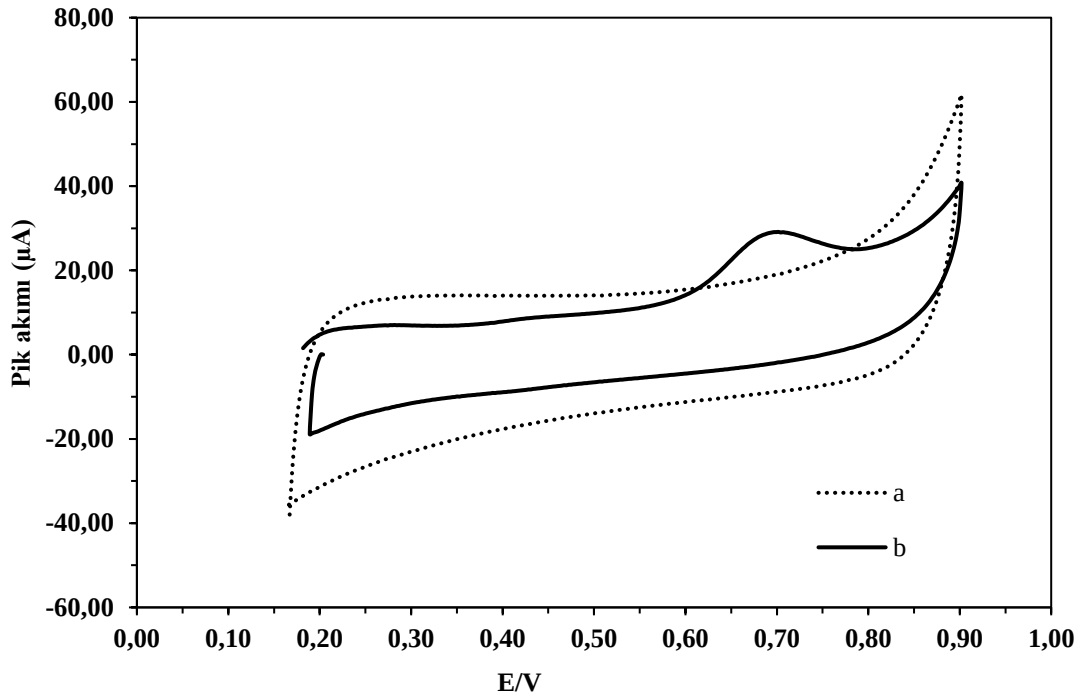
Şekil 4.4. ÇDKNT ve GNŞ'ye ait Raman spektrumları.



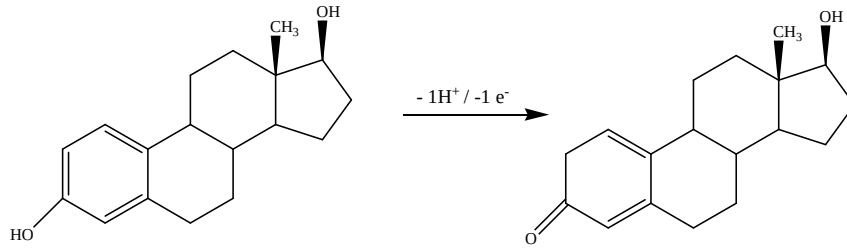
Şekil 4.5. TS-Au ve TS-Au-SA nano kompozitlerine ait Raman spektrumları.

4.1.2. EST'nin elektrokimyasal davranışının incelenmesi

EST'nin elektrokimyasal davranışı GNŞ-TS-Au-SA modifiye KP elektrot ile dönüşümlü voltametri yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Bu amaçla KP/GNŞ-TS-Au-SA elektrot ile 0,1 M fosfat tamponu (pH 5) içinde gerçekleştirilen dönüşümlü voltametri ölçümleri sonucunda elde edilen voltamogramda modifiye elektroda ait herhangi bir elektrokimyasal aktivite gözlenmemiştir (Şekil 4.6A). Modifiye elektrodun 25 μ M EST varlığında aynı koşullarda dönüşümlü voltametri ölçümü gerçekleştirildiğinde +0,694 V gerilim değerinde EST'ye ait tersinmez yükseltgenme piki açıkça görülmektedir (Şekil 4.6B). EST'nin yükseltgenme reaksiyonu Şekil 4.7'de gösterilmektedir.

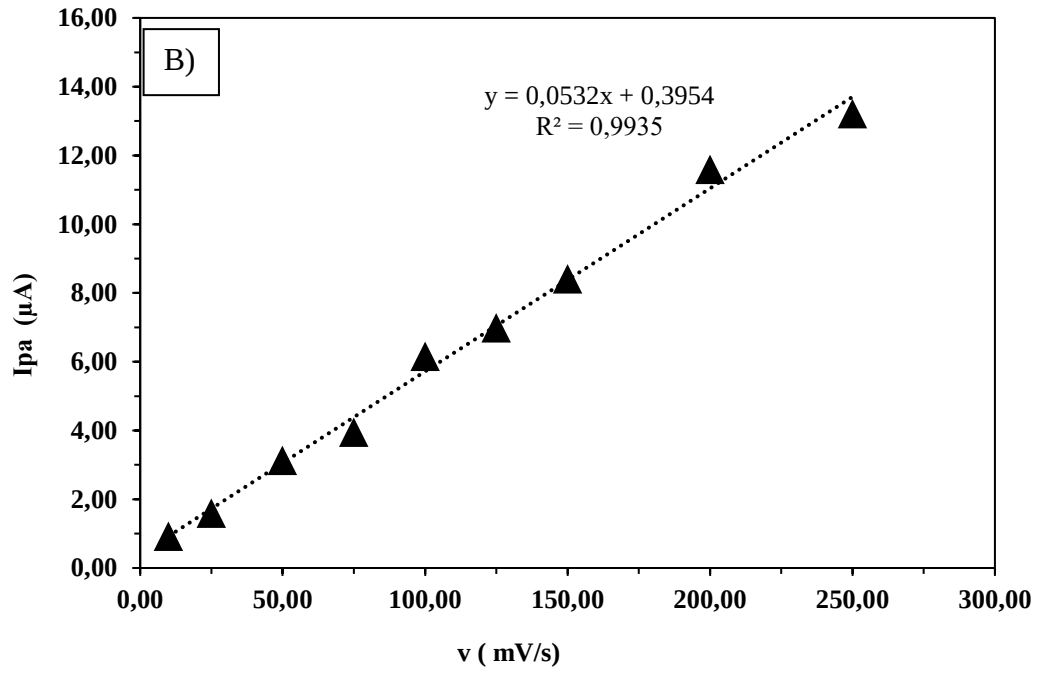
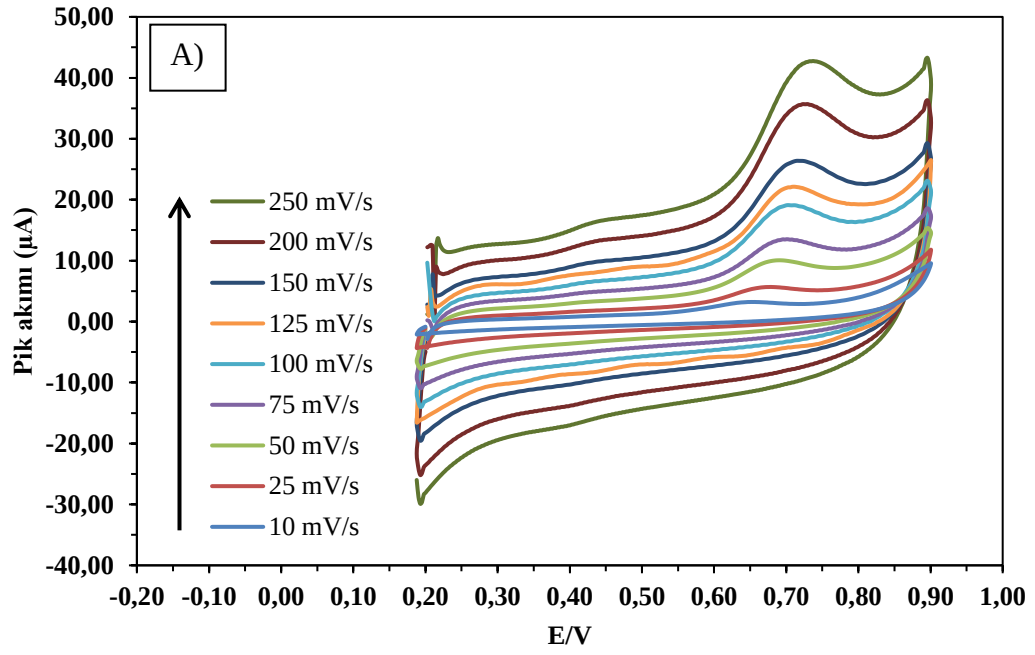


Şekil 4.6. *EST yokluğunda (a) ve 25 µM EST varlığında (b) KP/GNŞ-TS-Au-SA elektroda ait dönüşümlü voltametri ölçümleri sonucu elde edilen voltamogramları (Tarama hızı: 50 mV/s; Karıştırma süresi: 60 s; Karıştırma hızı: 300 rpm).*



Şekil 4.7. *EST'nin elektrokimyasal yükseltgenme mekanizması.*

KP/GNŞ-TS-Au-SA elektrot yüzeyinde EST'nin yükseltgenme mekanizmasının aydınlatılması amacıyla farklı tarama hızlarında (10; 25; 50; 75; 100; 125; 200; 250 mv/s) dönüşümlü voltametri ölçümleri gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.8). Ölçüm sonuçlarından görüldüğü gibi yükseltgenme pik akım değerleri tarama hızı ile doğru orantılı olarak artmaktadır. Bu da EST'nin yükseltgenme reaksiyon kinetiğinin adsorpsiyon kontrollü gerçekleştiği göstermektedir. Böylelikle, EST'nin yükseltgenme reaksiyonunun tersinmez olduğu doğrulanmıştır.

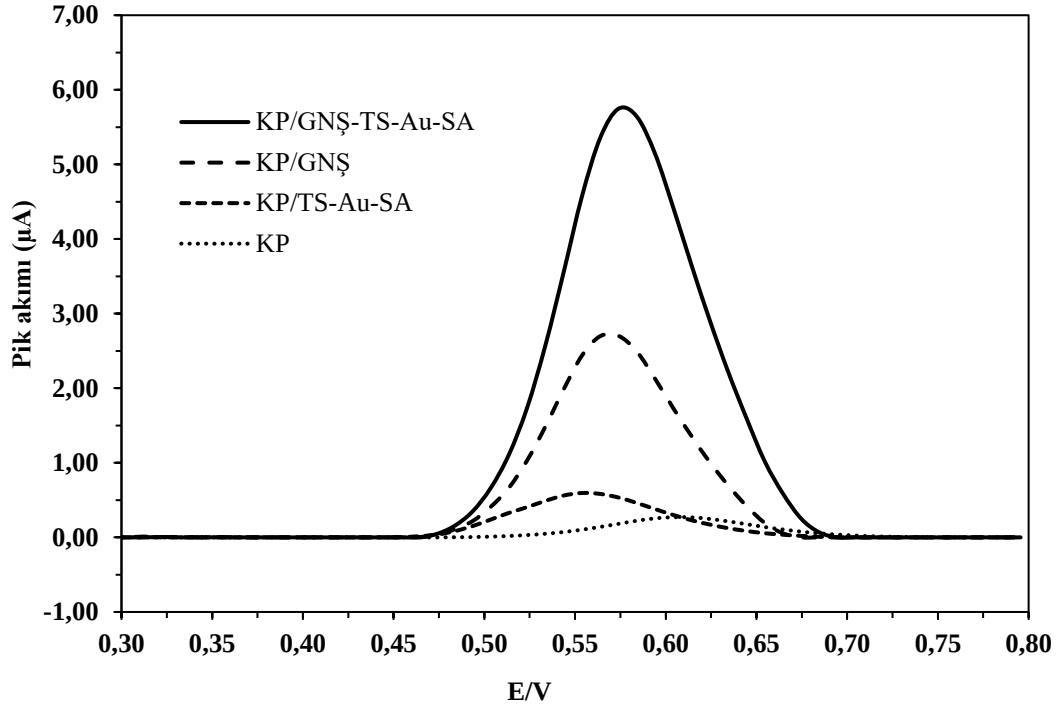


Şekil 4.8. (A) 25 μM EST'nin farklı tarama hızlarında (10; 25; 50; 75; 100; 125; 150; 200; 250 mV/s) KP/GNŞ-TS-Au-SA elektrot ile 0,1 M fosfat tamponu (pH 5) içinde elde edilen dönüşümlü voltamogramları. (B) 25 μM EST'nin farklı tarama hızlarına karşı yükseltgenme pik akımları.

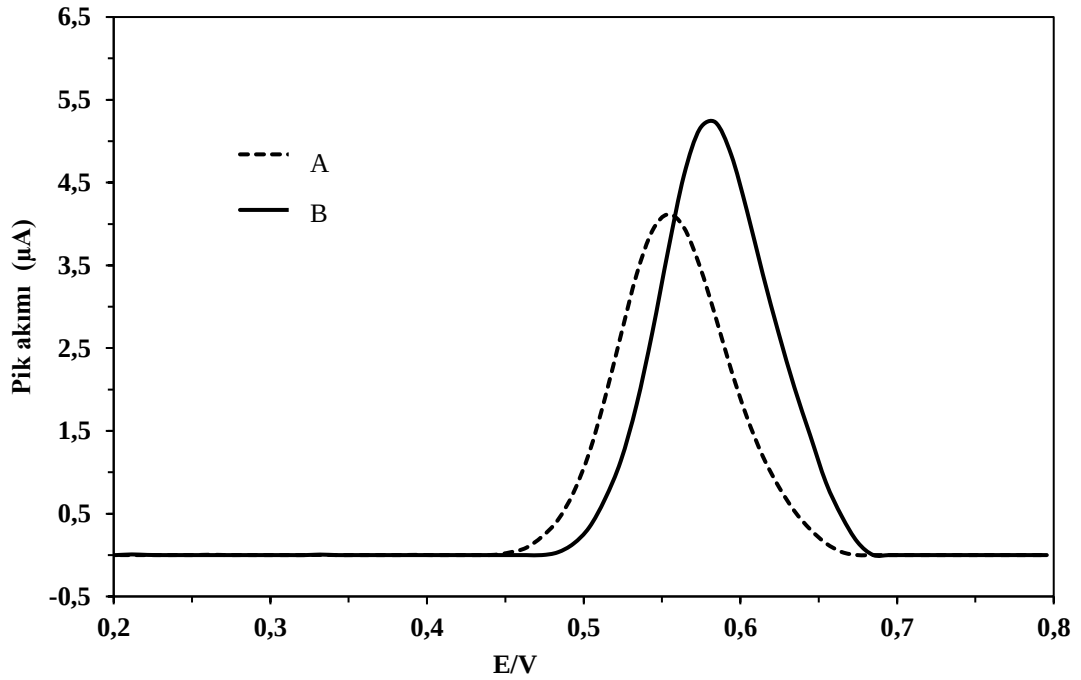
4.1.3. KP/GNŞ-TS-Au-SA elektrodun EST yükseltgenmesinde performansının incelenmesi

EST molekülünün elektrokimyasal davranışı modifiye edilmiş KP elektrotlar ve yalın KP elektrot ile kullanılarak DPV yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Bu kapsamda 5,0 μ M EST'nin 0,1 M fosfat tamponu (pH 6,0) içinde KP ve KP/TS-Au-SA, KP/GNŞ ve KP/GNŞ-TS-Au-SA elektrotlar kullanılarak elde edilen diferansiyel puls voltamogramları Şekil 4.9'da gösterilmiştir. Şekil 4.9'da görüldüğü gibi yalın KP elektrot ile alınan ölçüm sonucunda +0,641 V gerilim değerinde EST'ye ait yükseltgenme piki gözlenmiştir. KP/TS-Au-SA, KP/GNŞ ve KP/GNŞ-TS-Au-SA elektrotlar ile alınan diferansiyel puls ölçümlerinde EST'ye ait yükseltgenme pik gerilim değerlerinde kayma görülmüştür. KP/TS-Au-SA, KP/GNŞ, KP/GNŞ-TS-Au-SA elektrotlar ile alınan ölçüm sonucunda EST'ye ait yükseltgenme pik gerilim değerleri sırasıyla +0,581 V, +0,564V ve +0,574 V olarak gözlenmiştir. EST yükseltgenme pik gerilimindeki bu kaymalar KP yüzeyinde kullanılan modifikasyon ajanlarının farklı yapılara sahip olmalarından kaynaklanmaktadır. Modifikasyon ajanlarının yapılarındaki farklılıklar EST'nin yükseltgenme pik akım değerlerinde de farklılıklar meydana getirmiştir. Şekil 4.9'da görüldüğü gibi pik akımında ilk önemli artış KP elektrodun yüzeyinin GNŞ modifiye edici ajan ile kaplanması sonucu gözlenmiştir. Daha sonrasında GNŞ/TS-Au-SA nanokompozit varlığında EST'nin yükseltgenme pik akımı en yüksek değere ulaşmıştır. Bu durum GNŞ-TS-Au-SA nanokompozit varlığında EST'nin yüksek elektron aktarım hızının ve adsorpsiyon özelliğinin artmasıyla açıklanabilir.

Çalışma elektrotu çeşidinin EST molekülünün pik akım yüksekliğine etkisinin incelenmesi amacıyla KP/GNŞ-TS-Au-SA elektrot ve GNŞ-TS-Au-SA nanokompozit kaplı camı karbon (CK/GNŞ-TS-Au-SA) elektrodun EST'nin yükseltgenmesine karşı performansları Şekil 4.10'da karşılaştırılmıştır. EST yükseltgenme pik akım değeri KP/GNŞ-TS-Au-SA elektrot kullanıldığında en yüksek değere ulaşmıştır. Ayrıca CK/GNŞ-TS-Au-SA elektrot ile gerçekleştirilen ard ardına ölçümlerde EST'ye ait yükseltgenme pik akım değerinin düştüğü; elektrot yüzeyinin ölçüm kararlılığı göstermediği gözlenmiştir. Bu sebeple çalışmalarda KP elektrot EST tayini için uygun bir yüzey sağladığından çalışma elektrodu olarak tercih edilmiştir.



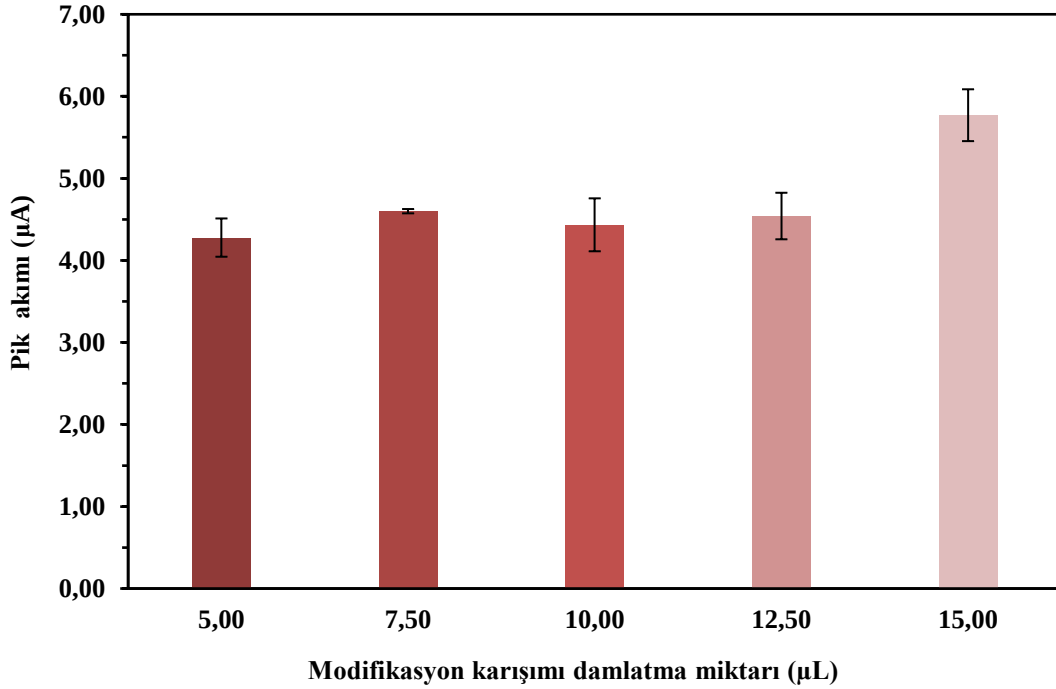
Şekil 4.9. KP, KP/TS-Au-SA, KP/GNŞ ve KP/GNŞ-TS-Au-SA elektrotlar ile 5,0 µM EST varlığında 0,1 M fosfat tamponu içinde (pH 6) elde edilen diferansiyel puls voltamogramları (Bekleme süresi: 60 s; temas süresi: 300 rpm).



Şekil 4.10. CK/GNŞ-TS-Au-SA (A), KP/GNŞ-TS-Au-SA (B) elektrotlarının 5,0 µM estradiol varlığında 0,1 M fosfat tamponunda (pH 6) elde edilen diferansiyel puls voltamogramları (Bekleme süresi: 60 s; Karıştırma hızı: 300 rpm).

4.1.4. GNŞ/TS-Au-SA miktarının etkilerinin araştırılması

GNŞ/TS-Au-SA modifikasyon ajanının hazırlanması amacıyla 10 mg GNŞ ile 5 mg TS-Au-SA nanokompozit 10 mL dimetilformamid içerisinde dispers edilmiştir. Hazırlanan GNŞ/TS-Au-SA dispersiyonun elektrot yüzeyine damlatma hacmi optimize edilmiştir. Bu amaçla, KP elektrot yüzeyine 5 μ L, 7,5 μ L, 10 μ L ve 15 μ L damlatılarak 0,1 M fosfat tamponu (pH 6) içinde diferansiyel puls ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Ölçümler sonucu elde edilen 5,0 μ M EST'ye ait pik akımları Şekil 4.11'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda 5,0 μ M EST'ye ait yükseltgenme pik akım değeri en yüksek değerine 15 μ L GNŞ/TS-Au-SA dispersiyonu elektrot yüzeyine damlatıldığında ulaşılmıştır. Bu nedenle optimum olarak 15 μ L seçilmiş ve ilerleyen basamaklarda kullanılmıştır.



Şekil 4.11. Farklı hacimlerde GNŞ/TS-Au-SA nanokompozit kullanılarak hazırlanan elektrotlar kullanılarak 0,1 M fosfat tamponunda (pH 6,0) 5,0 μ M EST varlığında elde edilen pik akımları (Bekleme süresi: 60 s; karıştırma hızı: 300 rpm).

4.1.5. EST tayini için ölçüm parametrelerinin optimizasyonu

EST'nin elektrokimyasal tayinine yönelik yapılan çalışmada KP/GNŞ-TS-Au-SA elektrot kullanılarak temas süresi ve ölçüm ortamının pH'sı optimize edilmiştir.

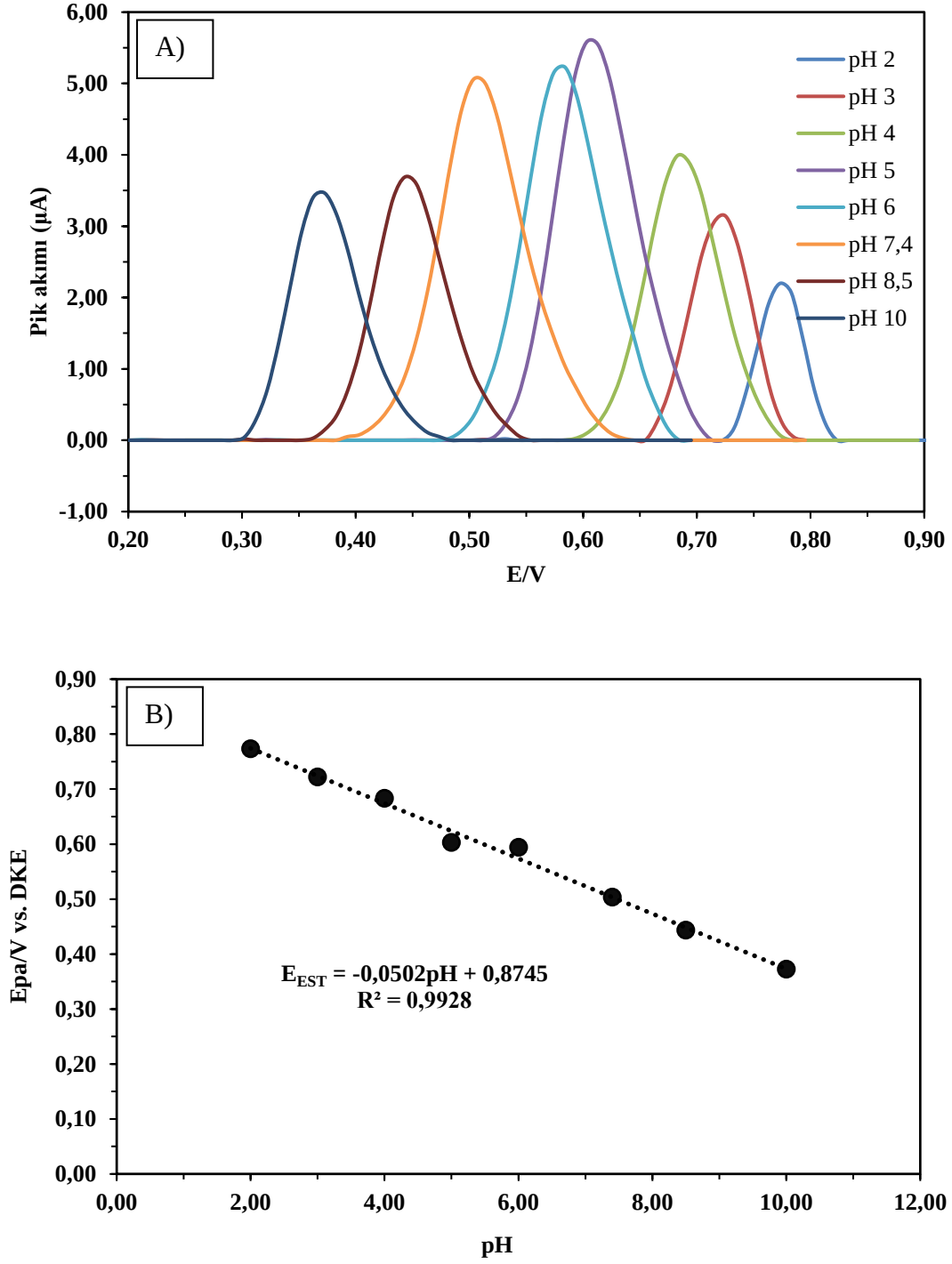
Elektrokimyasal ölçümler sırasında ortamda bulunan H^+ iyonları pik gerilimi ve pik potansiyelini etkileyen önemli bir unsurdur. Bu nedenle tez çalışması kapsamında

H⁺ derişiminin bir ölçüsü olan pH değerin EST'nin pik akımına etkisi incelenmiştir. Öncelikle, KP/GNŞ-TS-Au-SA elektrot kullanılarak çözelti ortamının pH değerin EST'nin voltametrik davranışı üzerine etkisi incelenmiştir. Farklı pH değerlerinde (2; 3; 4; 5; 6; 7,4; 8,5; 10) 5,0 µM EST'nin diferansiyel puls ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Farklı pH değerlerinde EST'nin yükseltgenmesine ait voltamogramlar Şekil 4.12A'da gösterilmektedir. Optimum yükseltgenme pik akım değeri pH 5 de gözlenmiştir

Ayrıca elektrot reaksiyonunda proton transfer ilişkisi nedeniyle destek elektrolitin pH değeri arttıkça EST'ye ait yükseltgenme potansiyel değerleri negatif yönde kayma göstermiştir (Şekil 4.12B). EST'nin yükseltgenme potansiyeli (E_{pa}) ve çözelti ortamının pH'sı arasında doğrusal bir ilişki gözlenmiştir (E_{EST} = -0,0502 pH + 0,8745; R² = 0,9928) Nernst eşitliğine göre pH ile pik potansiyeli ilişkisi aşağıda verilen formül ile açıklanabilir [120];

$$\frac{dE_{pa}}{dpH} = - \frac{0,059m}{n} \quad (4.1)$$

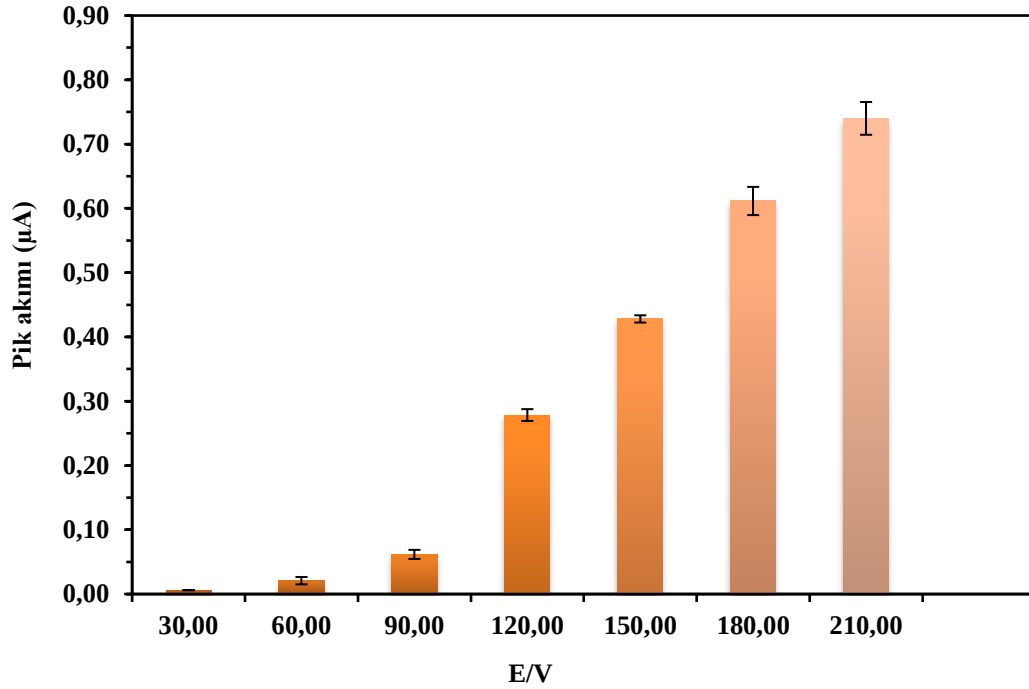
Burada m, elektrokimyasal reaksiyona katılan proton sayısını temsil etmektedir ve n, elektronların sayısını göstermektedir. EST için dE_{pa} / dpH değeri -0,0502 olarak hesaplanmıştır. Elde edilen değer, Nernst denkleminde bulunan teorik değere (-0,059) oldukça yakındır. Bu sonuç, EST'nin elektrokimyasal yükseltgenmesi sırasında aynı sayıda proton ve elektronun yer aldığını göstermektedir. Buradan yola çıkarak ve literatürde yer alan çalışmalara dayanarak EST'nin yükseltgenmesi için bir mekanizma önerilebilir (Şekil 4.7).



Şekil 4.12. (A) KP/GNŞ-TS-Au-SA elektrot ile farklı pH değerlerinde elde edilen 5,0 μM EST'ye ait diferansiyel puls voltamogramları (temas süresi: 60s; karıştırma hızı: 300 rpm); (B) yükseltgenme pik potansiyeline pH'nın etkisi.

Elektrokimyasal süreçlerde temas süresi hassasiyeti ve verimliliği etkileyen parametrelerden biridir. Bu nedenle ölçüm ortamının pH'sı optimize edildikten sonra EST'nin yükseltgenme pik akımına KP/GNŞ-TS-Au-SA elektrodun çözelti içinde

bekleme süresinin etkisi incelenmiştir. Bu amaçla KP/GNŞ-TS-Au-SA elektrot kullanılarak 30 ile 210 s aralığında $0,5 \mu\text{M}$ ait pik akımları belirlenmiştir (Şekil 4.13). Şekil 4.13’de görüldüğü gibi 30 ile 180 s temas süresi aralığında yükseltgenme pik akımı muazzam şekilde artmıştır. Fakat 180 saniyeden sonra yükseltgenme pik akım değerleri az miktarda artış göstermiştir. Bu sebeple optimum temas süresi 180 s olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.13. Temas süresinin $0,1 \text{ M}$ fosfat tamponu içinde ($\text{pH } 5,0$) $0,5 \mu\text{M}$ EST'nin yükseltgenme pik akım yüksekliğine etkisi.

4.1.6. EST tayinine girişim yapması muhtemel türlerin etkilerinin incelenmesi

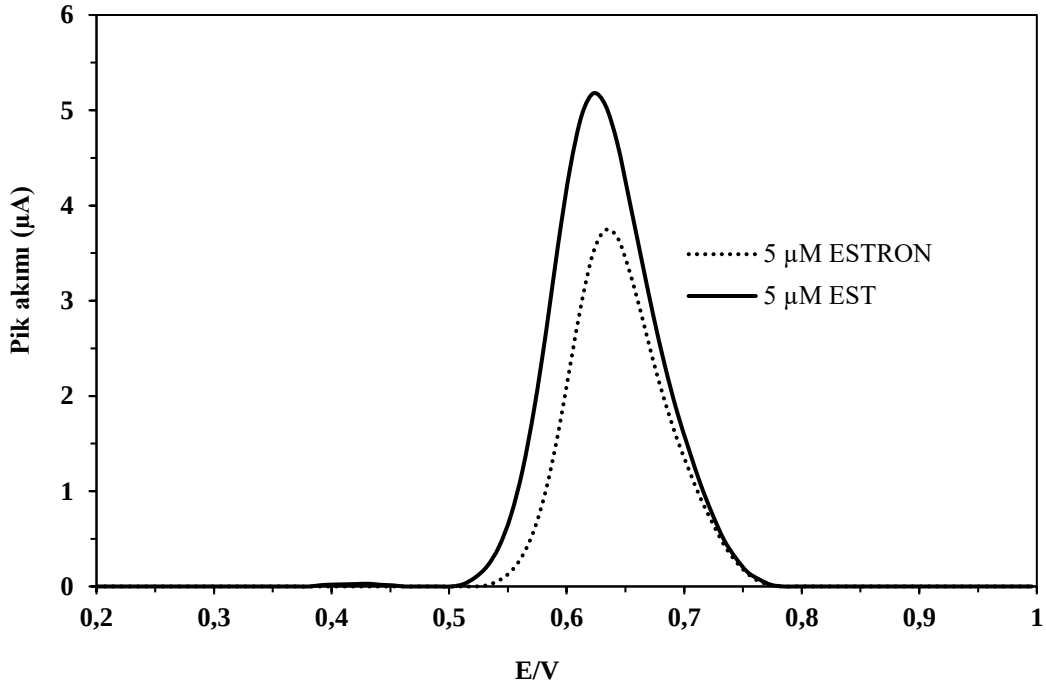
Elektrokimyasal çalışmalarda gerçekleştirilen girişim çalışmaları, elektrodun analite karşı olan seçiciliğini göstermektedir. Bu amaç doğrultusunda literatür araştırmaları sonucunda girişim yapması muhtemel türler belirlenmiş ve $0,1 \text{ M}$ fosfat tamponunda ($\text{pH } 6$) $5 \mu\text{M}$ EST varlığında DPV ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Askorbik asit ($1000 \mu\text{M}$), potasyum klorür ($2000 \mu\text{M}$), glukoz ($2000 \mu\text{M}$), üre ($2000 \mu\text{M}$), ürik asit ($100 \mu\text{M}$), sitrik asit ($2000 \mu\text{M}$), kalsiyum klorür ($2000 \mu\text{M}$) ve o-nitrofenol ($25 \mu\text{M}$) varlığında $5,0 \mu\text{M}$ EST'nin yükseltgenme pik akım değerinde önemli bir farklılık ortaya çıkmamıştır (Tablo 4.3).

Ayrıca girişim yapan türlerin incelenmesi kapsamında endokrin bozucu hormon olan estronun girişim etkisi araştırılmıştır. Şekil 4.14’de $5,0 \mu\text{M}$ estron ve $5,0 \mu\text{M}$

EST'nin 0,1 M fosfat tamponunda (pH 6) elde edilen diferansiyel puls voltamogramları gösterilmektedir (Şekil 4.14). Şekil 4.14'deki voltamogram incelendiğinde estron ve estradiolün yükseltgenme pik gerilim değerlerinin aynı olduğu görülmektedir. Bunun nedeni bu iki maddenin yapısal olarak birbirine benzemesinden kaynaklanmaktadır. Elde edilen sonuçlar, geliştirilen modifiye elektrot ile tez kapsamında gerçek numune olarak seçilen süt ve ilaç örneklerinde EST'nin elektrokimyasal tayininin seçici olarak gerçekleştirilebileceğini göstermektedir.

Tablo 4.3. EST'nin yükseltgenme pik akımına girişim etkisi incelenen türlerin maksimum izin verilen derişimleri ve bu türlerin varlığında yüzde pik akımı değişimleri.

Girişim etkisi incelenen türler	Girişim etkisine izin verilen maksimum derişim / μM	$*YAD = \left(\frac{I_{p2} - I_{p1}}{I_{p1}} \right) \times \%100$
2-Nitro-fenol	25	-0,76
Sitrik asit	2000	1,05
Glukoz	2000	2,07
Üre	200	-0.61
Ürik asit	100	0,92
Askorbik asit	2000	2,58
CaCl ₂	1000	-2,39
KCl	2000	-0,60
*YAD: Yüzdece akım değişimi. I_{p1}: 5,0 μM estradiolün girişim yapan türler yokluğundaki yükseltgenme pik akımı. I_{p2}: 5,0 μM estradiolün girişim yapan türler varlığındaki yükseltgenme pik akımı.		



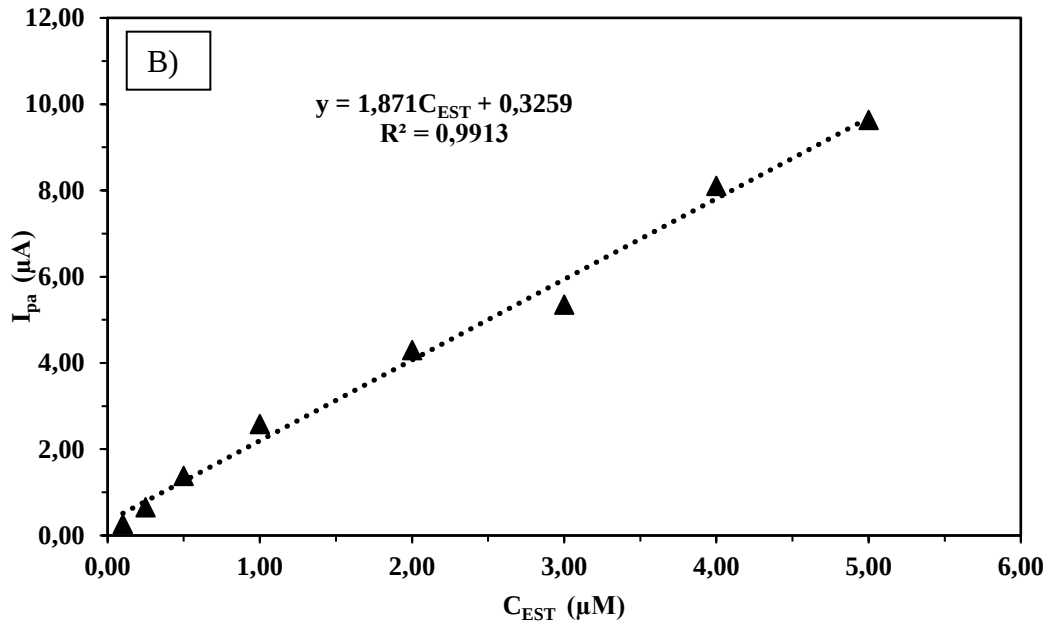
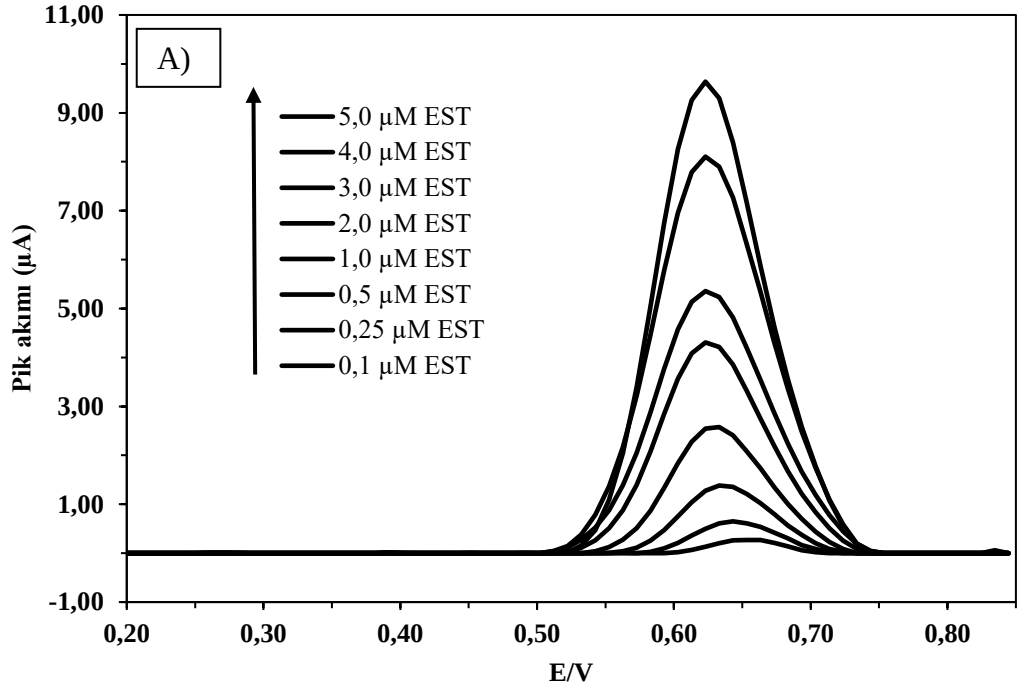
Şekil 4.14. KP/GNŞ-TS-Au-SA elektrot ile 5 μM EST ve 5 μM Estron varlığında 0,1 M fosfat tamponu (pH 5) içinde gerçekleştirilen diferansiyel puls voltametri ölçümleri sonucu ele edilen voltamogramlar.

4.1.7. EST tayini için analitik parametrelerin belirlenmesi

KP/GNŞ-TS-Au-SA elektrot kullanılarak EST için doğrusal çalışma aralığı, tayin sınırı, tekrarlanabilirlik ve kararlılık gibi analitik parametreler belirlenmiştir. Artan EST derişimi ile gerçekleştirilen DPV ölçümleri sonucu elde edilen voltamogramlar Şekil 4.15A’da gösterilmektedir. EST’nin artan derişimine karşı elde edilen pik akımları grafiğe geçirilmiştir (Şekil 4.15B). Şekil 4.15B’de gösterilen analitik cevap aşağıda verilen eşitlik uyarınca 0,1 ile 5,0 μM EST derişim aralığında doğrusal bir ilişkiye sahiptir.

$$I_{pa} (\mu\text{A}) = 1,871 C_{EST} + 0,3259 \quad (4.2)$$

Gerçekleştirilen hesaplamalar sonucu yukarıda gösterilen eşitlikte korelasyon katsayısı (R^2) 0,9913 olarak hesaplanmıştır. Bu çalışma için gözlenebilme sınırı KP/GNŞ-TS-Au-SA elektrot ile gerçekleştirilen 10 tane blank ölçümün standart sapması olan (σ) ve 3σ / eğim formülü kullanılarak 0,0074 μM olarak hesaplanmıştır. Bu çalışmada elde edilen gözlenebilme sınırı ve doğrusal aralık literatürdeki diğer çalışmalar ile Tablo 4.4’de kıyaslanmıştır.



Şekil 4.15. (A) KP/GNŞ-TS-Au-SA elektrot ile 0,1 μM ile 0,5 μM derişim aralığında EST'ye ait 0,1 M fosfat tamponu içinde gerçekleştirilen DPV ölçümleri sonucu elde edile voltamogramlar (Bekleme süresi: 180 s; Karıştırma hızı: 300 rpm). (B) Modifiye elektrot ile elde edilen EST için kalibrasyon eğrisi.

Tablo 4.4. Geliştirilen modifiye elektrodun doğrusal ölçüm aralığı ve gözlenebilirlik sınırının literatürde yer alan diğer elektrokimyasal yöntemler ile karşılaştırılması.

Elektrot	Doğrusal ölçüm aralığı (μM)	Gözlenebilirlik sınırı (μM)	Kaynak
^a GCE/MWCNTs-Pt	0,5 – 15,0	0,18	[51]
^b GCE/CNT-Ni(Cyclam)	0,5 – 50,0	0,06	[57]
^c GCE/RGO-PHN	0,1 – 1,0	0,0053	[121]
^d GCE/RGO-DHP	0,4 – 10,0	0,077	[43]
^e CPE/Cu-BTC	0,003 – 0,75	0,001	[54]
^f GCE/BPIDS	0,1 – 10,0	0,05	[122]
^g KPE/GNŞ-TS-Au-SA	0,1 – 5,0	0,0074	Bu çalışmada

a: camısı karbon elektrot – çok duvarlı karbon nanotüp – platin
b: camısı karbon elektrot – karbon nanotüp – nikel(cyclam)
c: camısı karbon elektrot – indirgenmiş grafen oksit – porfirin
d: camısı karbon elektrot – indirgenmiş grafen oksit – diheksadesil fosfat
e: karbon pasta elektrot – bakır – benzen trikarboksilik asit
f: camısı karbon elektrot – poli {1-bütül-3-imidazol dodesil sülfonat}
g: karbon pasta elektrot – grafen nano şerit- tütsülenmiş silika- altın nano partikül- sistamin

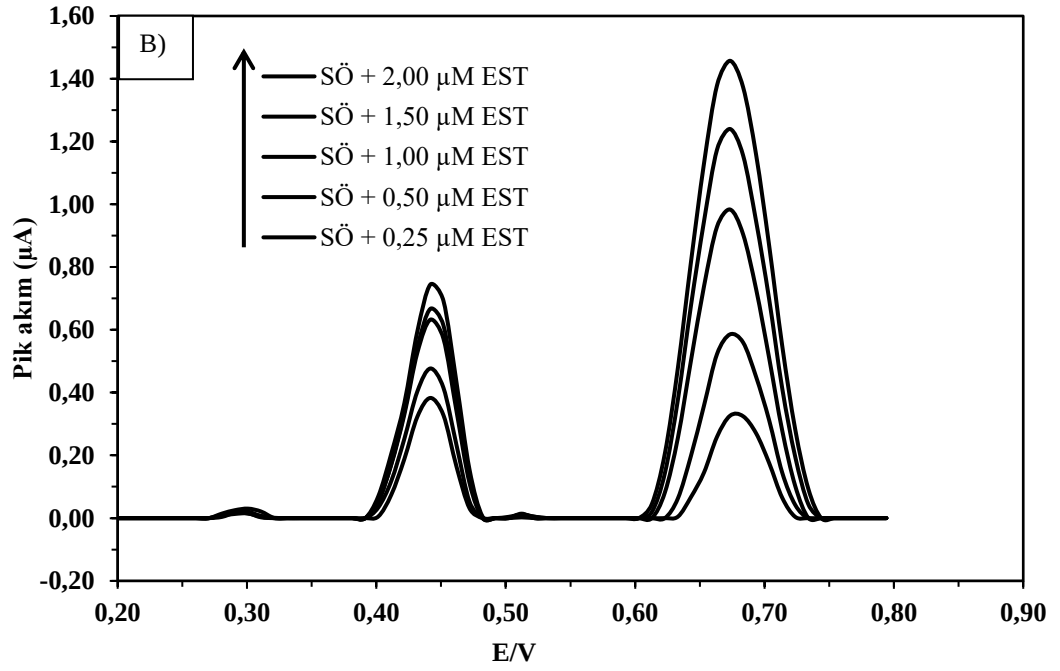
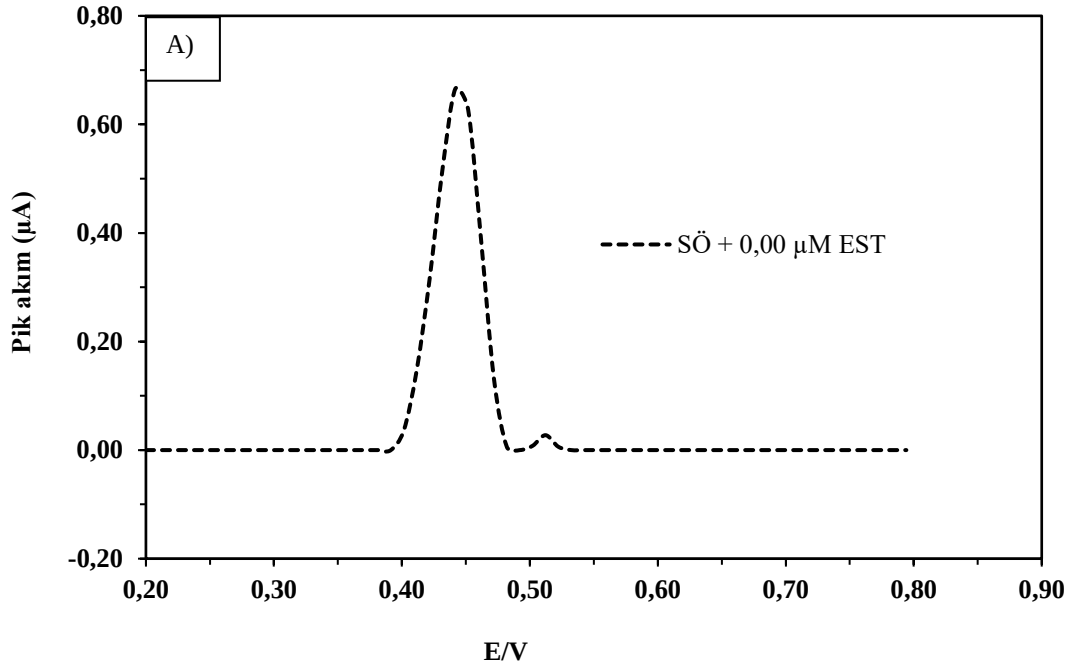
GNŞ-TS-Au-SA modifiye elektrodun tekrar üretilebilirliği farklı günlerde yeni olarak hazırlanan elektrotlar ile 10 kez gerçekleştirilen ölçümler sonucunda belirlenmiştir. Hazırlanan elektrotlarla 5,0 μM EST varlığında DPV ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Ölçümler sonucunda bağıl standart sapma (RSD) değeri %2,89 olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar GNŞ-TS-Au-SA modifiye elektrodun yüksek tekrarlanabilir özelliğe sahip olduğunu açıkça göstermektedir.

GNŞ-TS-Au-SA modifiye karbon pasta elektrodun kararlılığının belirlenmesi amacıyla modifiye elektrotlar 30 gün boyunca desikatör içerisinde bekletilmiş ve voltametrik cevapları belirlenmiştir. 30 gün boyunca bekletilen modifiye elektrodun ilk voltametrik cevabının %91-92'sini koruduğu belirlenmiştir. Bu sonuç GNŞ-TS-Au-SA modifiye elektrodun yüksek kararlılığa sahip olduğunu göstermektedir.

4.1.8. Estradiolün gerçek örneklerde araştırılması

Gerçek örneklerde EST tayini için KP/GNŞ-TS-Au-SA elektrodun uygulanabilirliğini göstermek amacıyla süt ve ilaç örneklerinde ölçümler gerçekleştirilmiştir. DPV ölçümleri 0,1 M fosfat tamponu (pH 5) içinde, karıştırma süresi 180 s ve karıştırma hızının 300 rpm olduğu optimum koşullarda gerçekleştirilmiştir.

İlk olarak KP/GNŞ-TS-Au-SA elektrot kullanılarak süt örneğinde EST tayini araştırılmıştır. Bu amaçla süt örneği ve standart eklenmiş süt örneği içinde DPV ölçümleri gerçekleştirilmiştir. 50 kat seyreltilmiş süt örneğinin DPV ölçümü sonucu elde edilen voltamogram Şekil 4.16'da verilmiştir. Şekil 4.16a'da süt örneğinin EST içermediği, voltamogramda EST'ye ait yükseltgenme pikinin görüldüğü gerilim değerinde bir pik görülmemesinden anlaşılmaktadır. 50 kat seyreltilmiş EST içeren süt örneği için DPV ölçümleri sonucu elde edilen voltamogramlar Şekil 4.16b'da gösterilmektedir. Gerçekleştirilen ölçümler sonucunda +0,674 V gerilim değerinde EST'ye ait yükseltgenme piki gözlenmiştir. Ortama standart EST çözeltisinden ilave edildiğinde söz konusu pikin şiddetinin arttığı görülmüştür. Bu da söz konusu pikin EST'ye ait olduğunu doğrulamaktadır. Analizler sonucunda elde edilen geri kazanım değerleri Tablo 4.5'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlar geliştirilen modifiye elektrodun süt örneklerinde EST tayini için bir şekilde kullanılabileceğini ifade etmektedir.

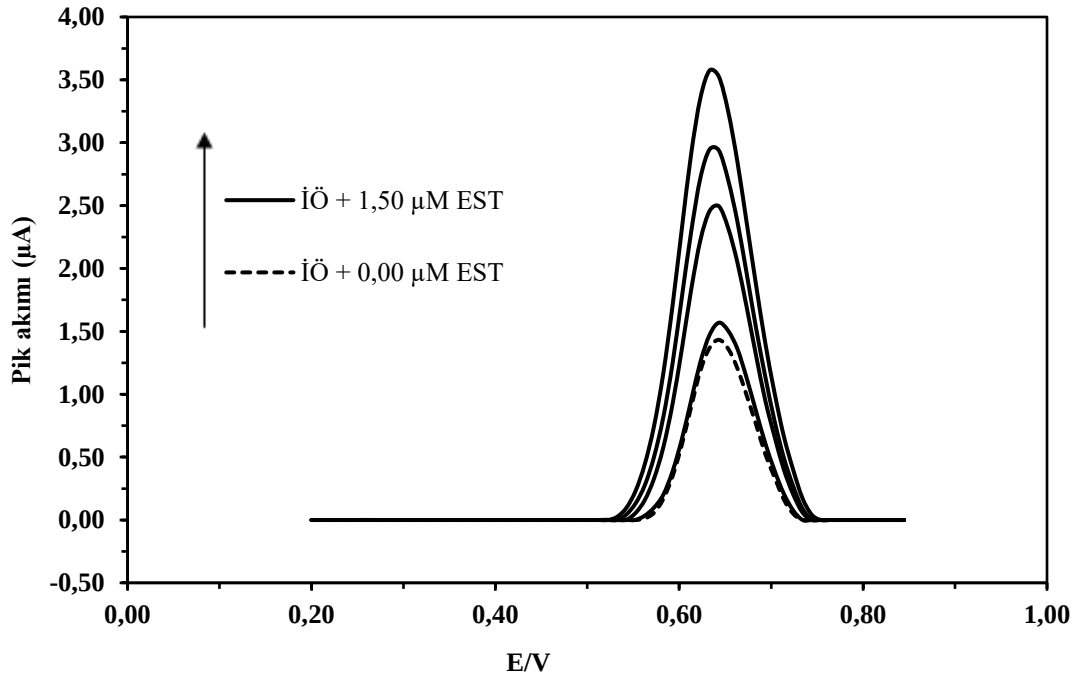


Şekil 4.16. (A) KP/GNŞ-TS-Au-SA elektrot ile 0,1 M fosfat tamponu içinde elde edilen 50 kez seyreltilmiş süt örneğinin diferansiyel puls voltamogramı. (B) Artan derişimlerde EST varlığında ve yokluğunda, KP/GNŞ-TS-Au-SA elektrot ile elde edilen 0,1 M fosfat tamponu içinde (pH 5) elde edililen 50 kez seyreltilmiş standart eklenmiş süt örneğinin DPV voltamogramları.

Tablo 4.5. *Süt örneğinde modifiye elektrot kullanılarak gerçekleştirilen EST tayininin geri kazanım değerleri.*

Örnek	Eklenen miktar (μM)	Bulunan miktar (μM)	% Geri kazanım
Süt örneği - A	0,00	-	-
	50	53,31	106,62
Süt örneği - B	0,00	-	-
	50	55,18	110,36

EST tayini için geliştirilen KP/GNŞ-TS-Au-SA elektrodun performansı ilaç örneklerinde de araştırılmıştır. Bu amaçla EST etken maddesi içerdiği bilinen Trisequens ve Estrofem adlı ilaçlar test edilmek üzere belirlenmiştir. 40 kat seyreltilmiş ilaç örneği kullanılarak optimum koşullar altında gerçekleştirilen DPV ölçümleri sonucu elde edilen voltamogramlar Şekil 4.17’de gösterilmektedir. Estrofem ve trisequens ilaçlarının içerdiği EST miktarı sırasıyla 26,10 mg/g ve 24,63 mg/g olarak hesaplanmıştır. Deneysel ölçümler sonucunda Estrofem ve Trisequens ilaç örneklerinde EST miktarı sırasıyla 24,48 mg/g ve 24,63 mg/g olarak bulunmuştur. Sonuçlar incelendiğinde ilaç örneklerinde EST tayininin başarıyla uygulandığını göstermektedir.



Şekil 4.17. *Artan derişimlerde EST varlığında, KP/GNŞ-TS-Au-SA elektrot ile elde edilen 0,1 M fosfat tamponu içinde (pH 5) elde edilen ilaç örneğine ait DPV voltamogramlar.*

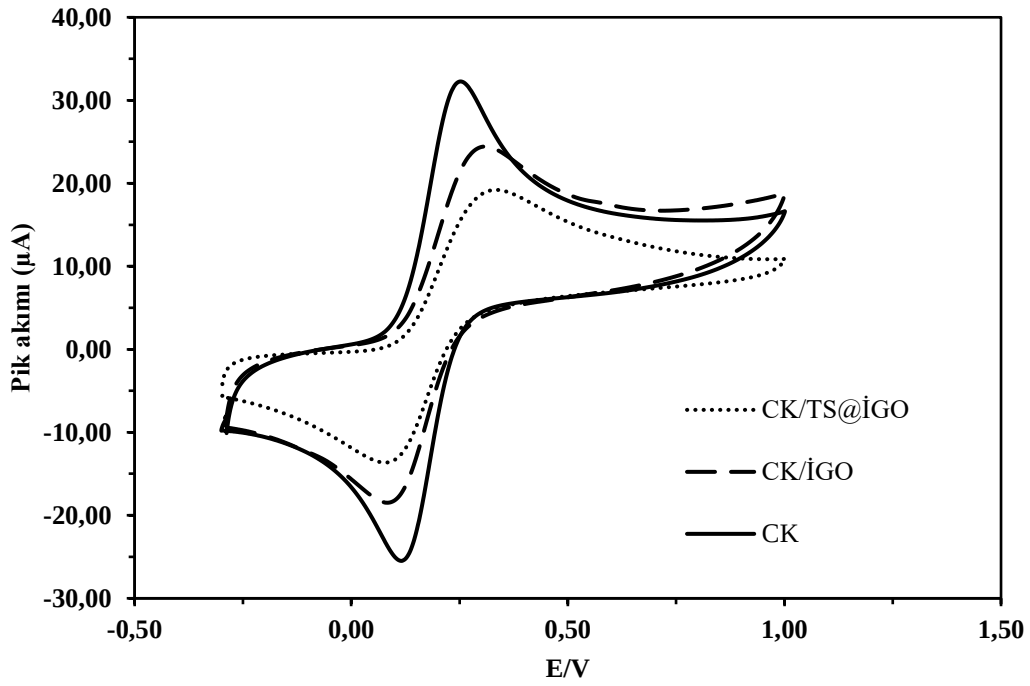
4.2. FNT Tayinine Yönelik Modifiye Elektrokimyasal Sensör Geliştirilmesi

4.2.1. FNT tayinine yönelik modifiye elektrodun hazırlanması ve karakterizasyonu

Tez çalışmasının ikinci bölümünde endokrin sistem bozucu kimyasallardan bir tanesi olan fenitrotyon (FNT)'nin elektrokimyasal tayinine yönelik modifiye elektrot temelli elektrokimyasal sensör geliştirilmesi amaçlanmıştır. Camsı karbon (CK) elektrot yüzeyi Bölüm 3.4.2'de elde edilme aşamaları açıklanan TS@İGO nanokompoziti ile modifiye edilmiştir. Hazırlanan CK/TS@İGO elektrodun karakterizasyonu dönüşümlü voltametri, elektrokimyasal impedans spektroskopisi ve raman spektroskopisi yöntemleri ile gerçekleştirilmiştir.

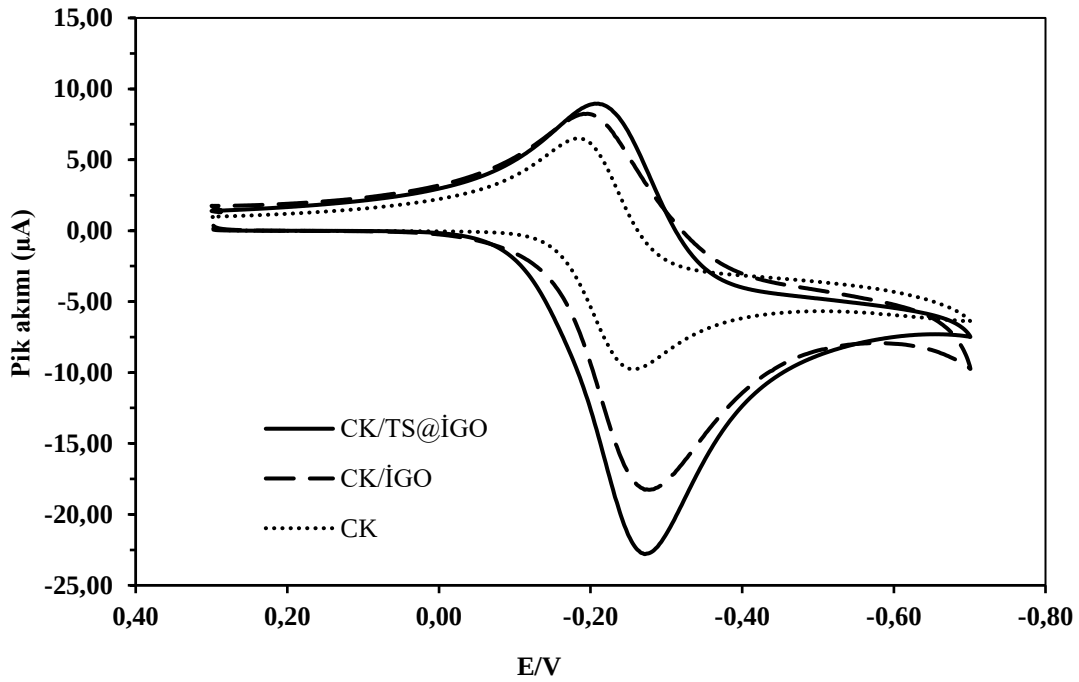
4.2.1.1. Dönüşümlü voltametri ölçümleri

Karakterizasyon çalışmaları kapsamında ilk olarak 0,1 M KCl içeren 2,5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ve 1,0 mM $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ çözeltileri içinde dönüşümlü voltametri ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Öncelikle, yalın CK, CK/İGO ve CK/ TS@İGO elektrodun 2,5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ redoks çifti içeren 0,1 M KCl çözeltisi içinde dönüşümlü voltametri ölçüm sonuçları Şekil 4.18'de verilmiştir. CK elektrodun $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ redoks çifti içeren çözelti içinde yükseltgenme ve indirgenme pik gerilim değerleri sırasıyla +0,2590 ve +0,1077 olarak gözlenmiştir ve ΔE_p değeri 0,1513 olarak hesaplanmıştır. CK/İGO elektroda ait yükseltgenme ve indirgenme pik gerilim değerleri sırasıyla +0,29572 ve +0,08575 olarak gözlenmiştir ve ΔE_p değeri 0,2099 olarak hesaplanmıştır. CK elektrot yüzeyinde İGO varlığında pik ΔE_p değerinin artmasının nedeni İGO yüzeyindeki negatif gruplar ile $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ redoks çifti içeren çözelti içindeki negatif grupların birbirini itmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. CK elektrot yüzeyinde TS@İGO varlığında yükseltgenme ve indirgenme pik gerilim değerleri +0,2835 ve +0,0930 olarak gözlenmiştir ve ΔE_p değeri 0,1905 olarak hesaplanmıştır. ΔE_p değerinin CK/İGO elektroda göre azalması, TS@İGO modifiye elektrodun elektron aktarım hızının CK/İGO elektroda göre daha fazla olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.18. CK, CK/İGO ve CK/TS@İGO elektrotlarına ait 2,5 mM $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ içeren 0,1 M KCl çözeltisinde elde edilen dönüşümlü voltamogramlar. (Tarama hızı: 50 mV/s; Karıştırma süresi 60 s; Karıştırma hızı: 300 rpm)

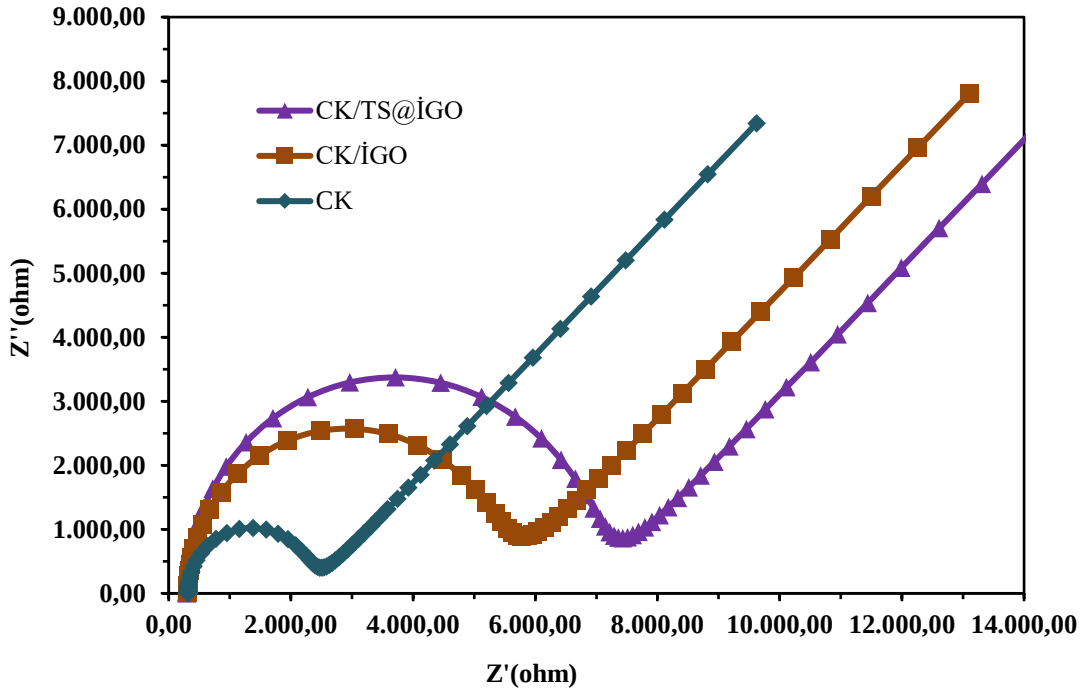
Dönüşümlü voltametri ölçümleri pozitif yüklü $Ru(NH_3)_6^{3+}$ redoks çifti içeren 0,1 M KCl çözeltisi içinde de gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.19). CK, CK/İGO ve CK/TS@İGO elektrotların indirgenme pik gerilimleri -0,2542, -0,2713, -0,2688 V değerinde gözlenmiş ve yükseltgenme pik gerilim değerleri sırasıyla -0,1882, -0,1956, -0,2127 V değerinde gözlenmiştir. CK, CK/İGO ve CK/TS@İGO elektrotların ΔE_p değerleri sırasıyla 0,066, 0,0757 ve 0,056 olarak hesaplanmıştır. CK elektrot yüzeyinde TS@İGO kompozit varlığında ΔE_p değerinin düşmesi $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ ile elde edilen sonuçları desteklemektedir. Ayrıca TS@İGO kompozit varlığında $Ru(NH_3)_6^{3+}$ molekülüne ait pik akım değerlerinin artması ise modifiye elektrodun yüzey alanının yalın CK elektroda göre oldukça yüksek olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.19. CK, CK/İGO ve CK/TS@İGO elektrotlarına ait 1 mM $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ içeren 0,1 M KCl çözeltisi varlığında elde edilen dönüşümlü voltamogramlar. (Tarama hızı: 50 mV/s; Karıştırma süresi 60 s; Karıştırma hızı: 300 rpm)

4.2.1.2. Elektrokimyasal empedans ölçümleri

CK, CK/İGO ve CK@TS-İGO elektrotlar ile 2,5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ve 0,1 M KCl içeren fosfat tamponunda (pH 7,4) gerçekleştirilen elektrokimyasal empedans ölçümleri sonucu elde edilen Nyquist diyagramları Şekil 4.20’de gösterilmektedir. Elektrotlar için empedans devre elamanlarının eş değer devreye fit edilmiş değerleri ise Tablo 4.6’da verilmiştir. CK, CK/İGO ve CK/TS@İGO elektrotların yük transfer dirençleri (R_{ct}) sırasıyla 1975 Ω , 5007 Ω ve 6629 Ω olarak hesaplanmıştır. CK/TS@İGO elektrodun yük transfer direnci CK elektroda göre oldukça artış göstermektedir. Bu durumun nedeni TS@İGO kompozitin yapısında bulunan negatif gruplar ile $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ redoks çifti arasında gerçekleşen elektrostatik itmeden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Elde edilen sonuçlar $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ içeren çözeltide gerçekleştirilen dönüşümlü voltamogramlar ile uyumludur.



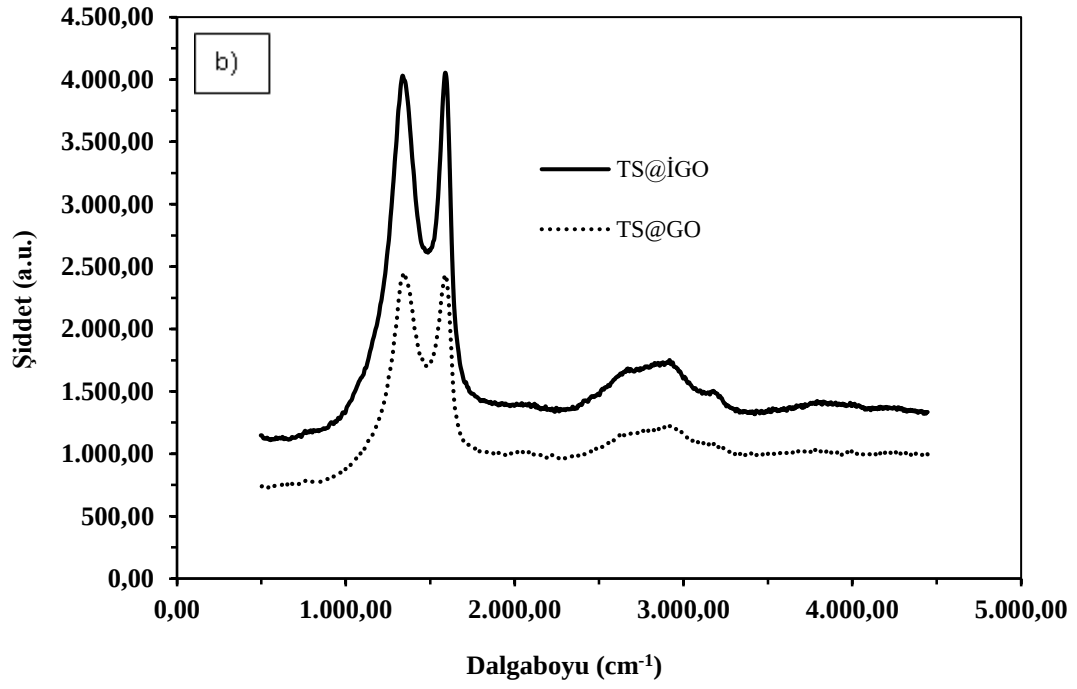
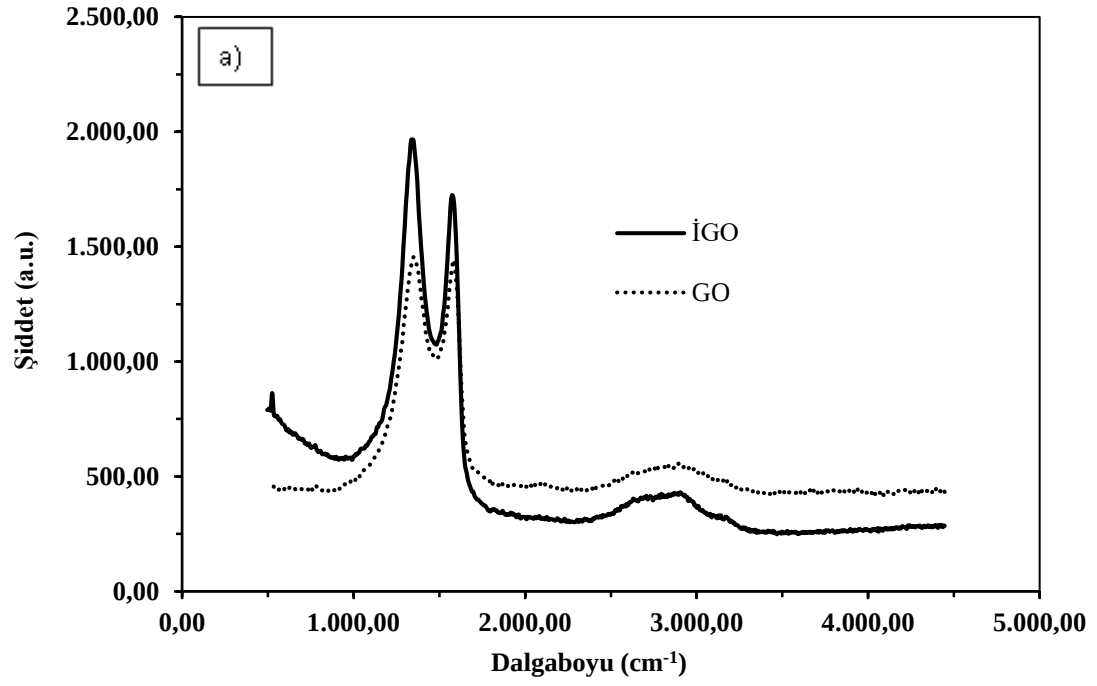
Şekil 4.20. CK, CK/İGO ve CK/TS@İGO elektrotların 0,1 M KCl ve 2,5 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ içeren fosfat tamponundaki (pH 7,4) empedans ölçümleriyle elde edilen Nyquist diyagramları.

Tablo 4.6. Elektrotlar için empedans devre elamanlarının eş değer devreye fit edilmiş değerleri.

Elektrot	R_s (Ω)	R_{ct} (Ω)	C_{dl} (F)	W
CK	311,1	1975	$5,707 \cdot 10^{-7}$	0,0003843
CK/İGO	311,4	5007	$8,939 \cdot 10^{-7}$	0,0003617
CK/TS@İGO	294,5	6629	$5,748 \cdot 10^{-7}$	0,0003934

4.2.1.3. Modifiye edici ajanların raman spektroskopisi sonuçları

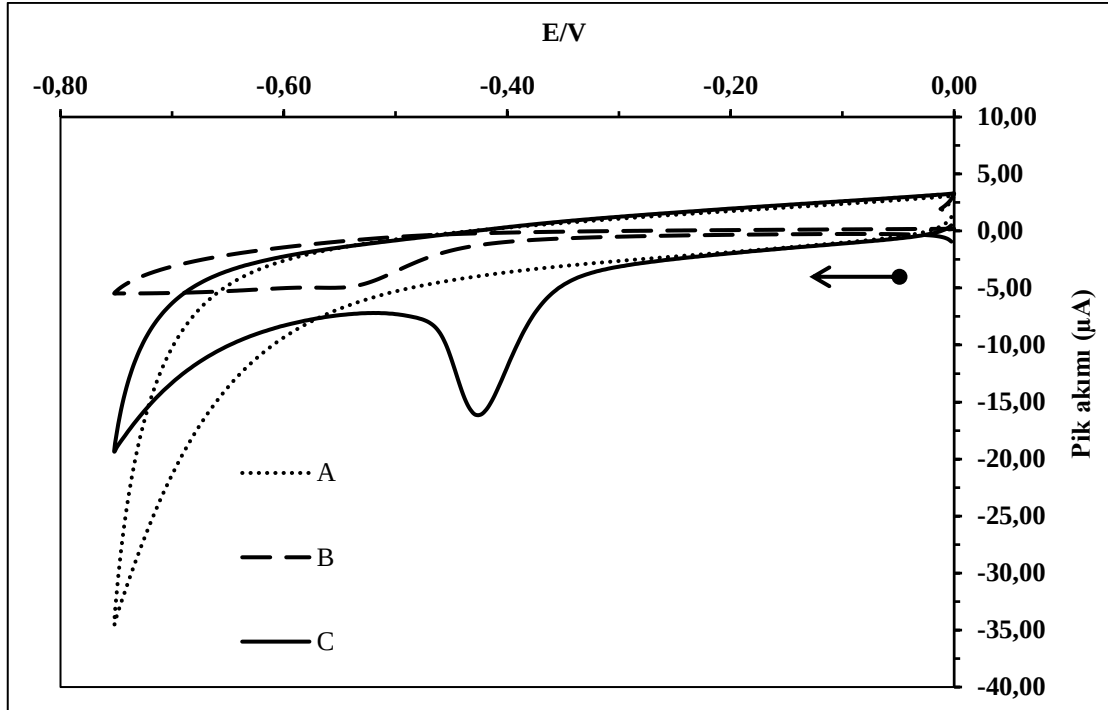
GO ve İGO'ya ait raman spektrumları Şekil 4.21a'da verilmiştir. GO'ya ait Raman spektrumunda 1373 cm^{-1} ve 1579 cm^{-1} dalga boyunda D ve G bantlarına karşılık gelen iki tane karakteristik bant gözlenmiştir. GO'ya göre İGO'nun pik şiddetinin artması, GO'nun indirgenme sonucu İGO'ya dönüştüğünü göstermektedir. Şekil 4.21b'de TS@GO ve TS@İGO nanokompozitlerin Raman spektrumları verilmiştir. TS'nin karakteristik bir pikinin bulunmamasından dolayı grafen oksidin karakteristik piklerinin olduğu bölgede iki tane bant gözlenmiştir. Ancak İGO'ya göre TS@İGO nanokompozitinin pik şiddetinin daha fazla olduğu görülmektedir.



Şekil 4.21. TS yokluğunda (a) ve varlığında (b) elde edilen GO ve İGO nano kompozitlerine ait Raman spektrumları.

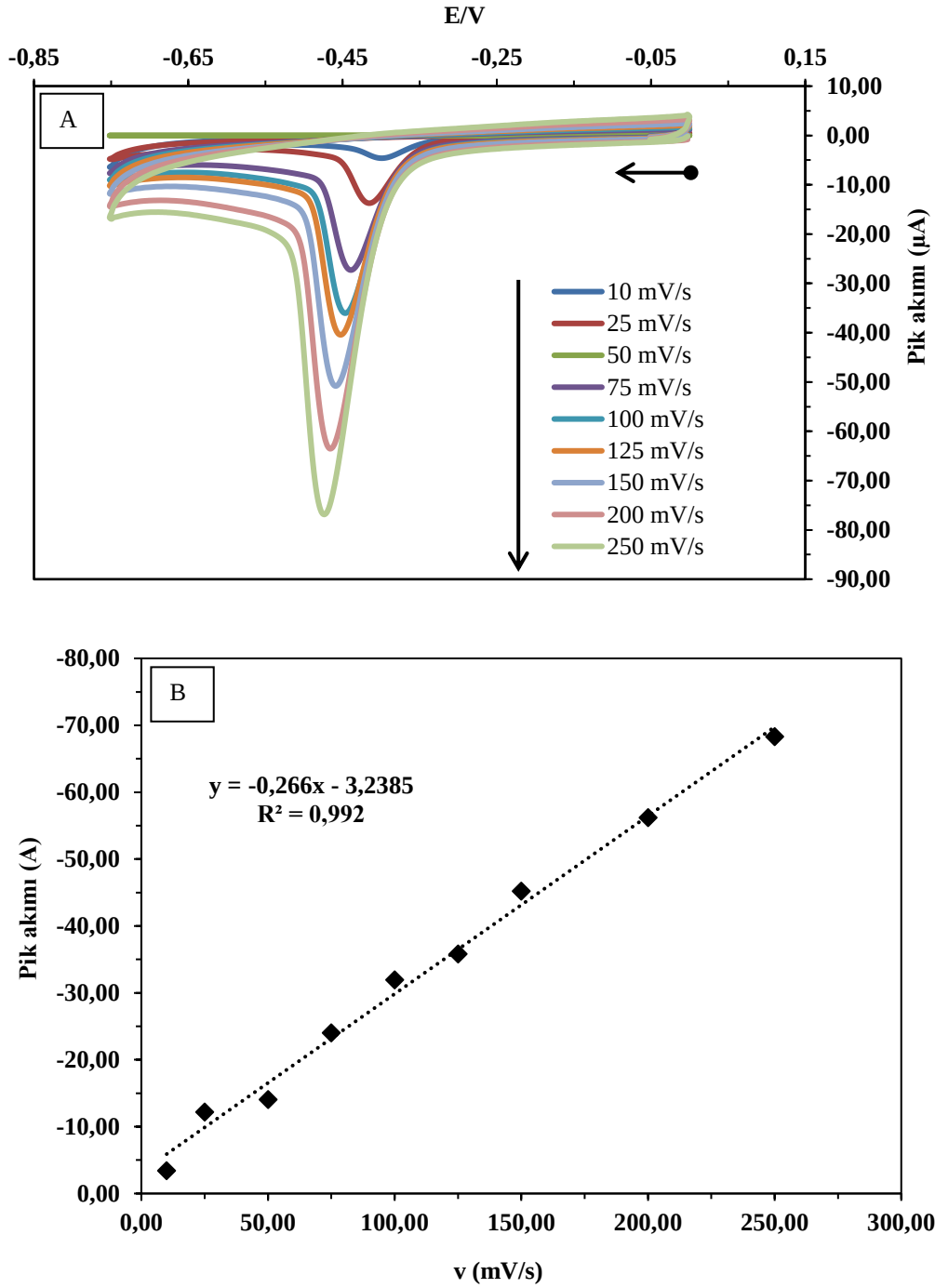
4.2.2. FNT molekülünün elektrokimyasal davranışının incelenmesi

Bu bölümde yalnız CK ve CK/TS@İGO elektrot ile DPV ve DV yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilen ölçümler sonucu FNT'nin elektrokimyasal davranışı incelenmiştir. FNT'nin yokluğunda ve 25 µM FNT varlığında CK ve CK/TS@İGO elektrotlar kullanılarak 0,1 M fosfat tamponu (pH 2) içinde dönüşümlü voltamogramlar kaydedilmiştir (Şekil 4.22). CK/TS@İGO elektrot kullanılarak 0,1 M fosfat tamponu (pH 2) içinde gerçekleştirilen dönüşümlü voltametri ölçümü sonucunda anodik ya da katodik pik gözlenmemiştir (Şekil 4.22A). Daha sonra 25 µM FNT varlığında CK ve CK/TS@İGO elektrotlar kullanılarak dönüşümlü voltametri ölçümleri sonucu voltamogramlar elde edilmiştir. CK elektrot ile gerçekleştirilen DV ölçümleri sonucunda -0,5346 V gerilim değerinde FNT'ye ait tersinmez bir indirgenme piki gözlenmiştir (Şekil 4.22B). Aynı koşullarda CK/TS@İGO elektrot ile gerçekleştirilen DV ölçümü sonucunda ise FNT'ye ait -0,4208 V gerilim değerinde FNT'ye ait oldukça şiddetli tersinmez bir indirgenme pik gözlenmiştir (Şekil 4.22C). Elde edilen voltamogramlar incelendiğinde, yalnız CK elektrodun TS@İGO modifikasyon ajanı varlığında FNT'nin indirgenme pik akımında önemli bir artışa neden olduğu gözlenmiştir. Ayrıca, indirgenme gerilimi yaklaşık 90 mv pozitif değere kaymıştır. Bu da kullanılan TS@İGO'nun FNT'nin indirgenmesinde elektrokatalitik etkiye sahip olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.22. CK/TS@İGO elektrodun FNT yokluğunda (A), CK (B) ve CK/TS@İGO (C) elektrodun $25 \mu\text{M}$ FNT varlığında $0,1 \text{ M}$ fosfat tamponu (pH 2) içinde elde edilen dönüşümlü voltametri voltamogramları (Tarama hızı: 50 mV/s ; karıştırma süresi: 60 s ; karıştırma hızı: 300 rpm)

Geliştirilen modifiye elektrodun FNT'nin pik akımını önemli derecede iyileştirdiği ölçüm sonuçlarından açıkça anlaşılmaktadır. Modifiye elektrot kullanılarak gerçekleştirilen farklı tarama hızlarında ($10 - 250 \text{ mV/s}$) dönüşümlü voltamogramları Şekil 4.23a'da gösterilmektedir. FNT'nin indirgenme pik akımının şiddeti tarama hızı ile doğrusal bir artış göstermektedir. Tarama hızına karşı indirgenme pik akım değerleri grafiğe geçirildiğinde regresyon katsayısı (R^2) $0,992$ olmak üzere $I_{pa} (\mu\text{A}) = -0,266 \text{ v (mV/s)} - 3,2385$ eşitliği elde edilmiştir. Bu sonuç FNT'nin CK/TS@İGO elektrot yüzeyinde gerçekleşen elektrokimyasal reaksiyonunun adsorpsiyon kontrollü olduğunu göstermektedir. Ayrıca tarama hızının artmasıyla, pik potansiyelinde gözlenen kayma indirgenme pikinin tersinmez olduğunu desteklemektedir [79].

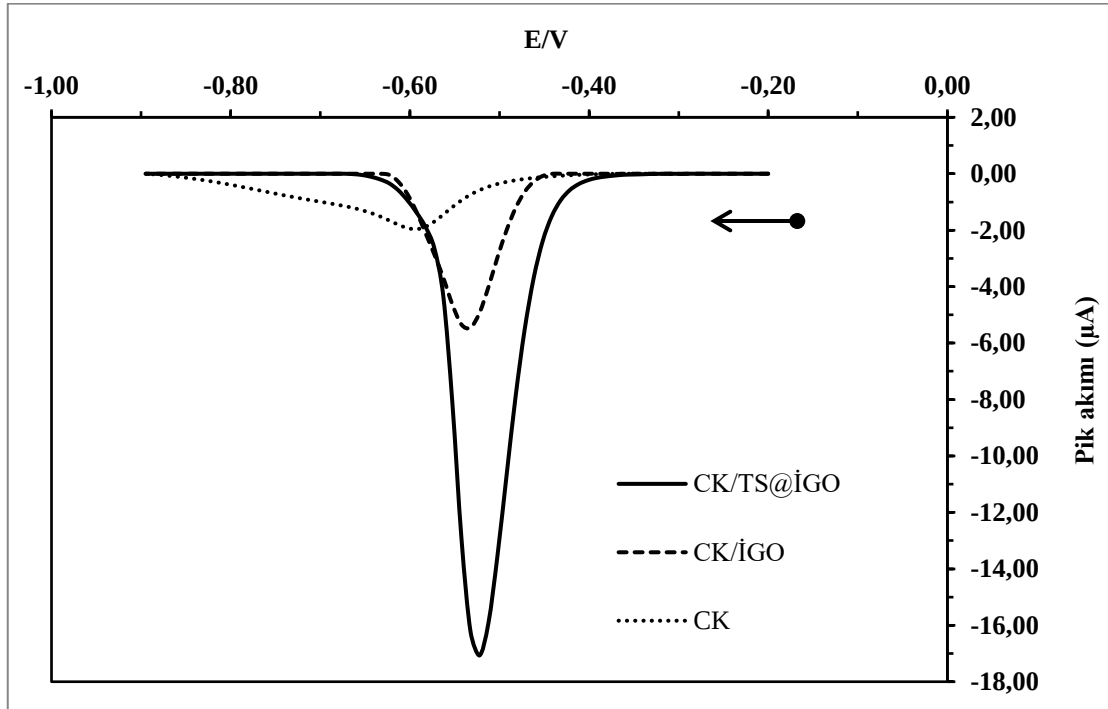


Şekil 4.23. (A) CK/TS@İGO elektrodun 25,0 μ M FNT içeren 0,1 M fosfat tamponunda (pH 2,0) farklı tarama hızlarında elde edilen dönüşümlü voltamogramları ve (B) Tarama hızına karşı pik akımları.

4.2.3. CK/TS@İGO elektrodun FNT'nin indirgenmesi üzerinde performansının incelenmesi

FNT'nin indirgenmesi üzerinde modifiye elektrotların ve yalın CK elektrodun etkisi incelenmesi amacıyla diferansiyel puls ölçümleri alınarak pik akım değerleri

karşılaştırılmıştır. CK/TS@İGO, CK/İGO ve yalın CK elektrodun diferansiyel puls voltamogramları Şekil 4.24’de gösterilmiştir. Yalın CK elektrot ile alınan ölçüm sonucunda $-0,5920$ V gerilim değerinde FNT’ye ait indirgenme piki gözlenmiştir. CK/İGO elektrot ile alınan ölçüm sonucunda $-0,5323$ V gerilim değerinde ve CK/TS@İGO elektrot ile alınan ölçüm sonucunda ise $-0,5223$ V gerilim değerinde FNT’ye ait indirgenme piki gözlenmiştir. Yalın CK ile karşılaştırıldığında, CK/İGO elektrodun FNT’nin pik akımını yaklaşık olarak 2,5 kat arttırdığı gözlenmiştir. FNT’nin indirgenme tepe akımına pozitif yönde en önemli katkıyı ise CK elektroda göre yaklaşık olarak 8,5 kat artış gösteren CK/TS@İGO elektrot yapmıştır. Görüldüğü gibi İGO ve TS@İGO modifiye CK elektrotlar farklı yüzey özelliklerine sahip olduklarından dolayı FNT’nin indirgenme tepe akımına etkisi farklı oranlarda olmuştur. Görüldüğü gibi TS@İGO kompozitin, yalın CK elektrodun yüzey alanını arttırarak, pik akım değerinin artmasına neden olmuştur. Bu sebeple FNT’nin elektrokimyasal tayinine yönelik deneysel süreçlerde TS@İGO modifiye elektrot kullanılmıştır.



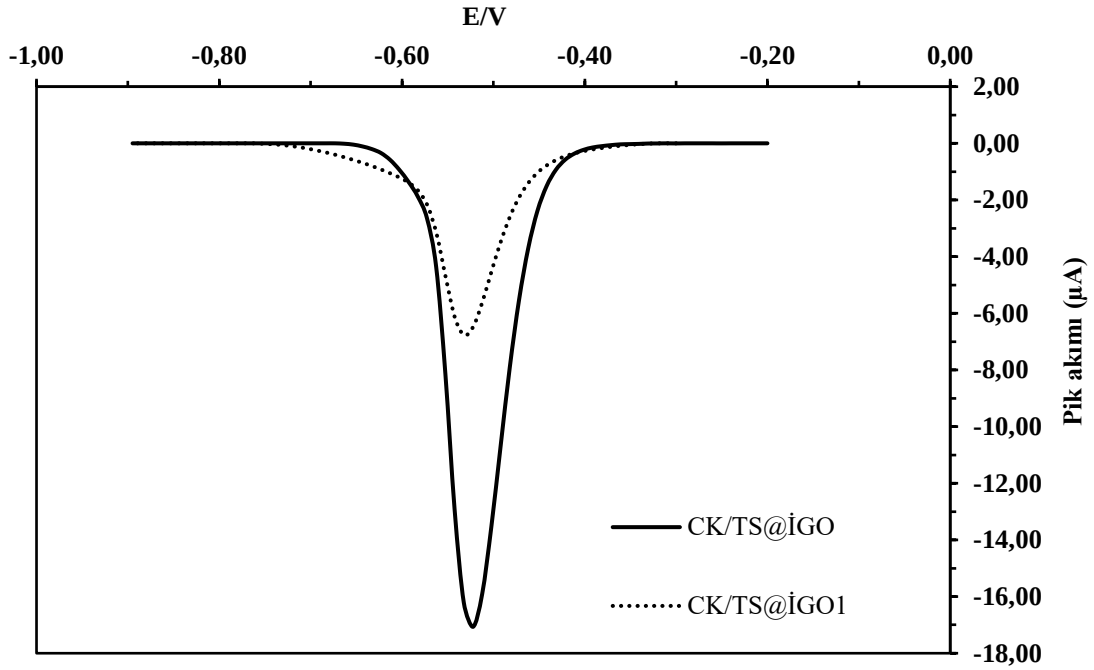
Şekil 4.24. CK, CK/İGO ve CK/TS@İGO elektrotlar kullanılarak $5 \mu\text{M}$ FNT içeren $0,1$ M fosfat tamponunda (pH 5) elde edilen diferansiyel puls voltamogramları (Karıştırma süresi: 60 s; karıştırma hızı: 300 rpm).

4.2.4. CK/TS@İGO elektrodun hazırlanma koşullarının optimizasyonu

Tez çalışması kapsamında tütsülenmiş silika yüzeyinde grafen oksitin indirgenmesiyle oluşan kompozitin hazırlanma aşaması optimize edilmiştir.

Modifiye edici ajan olan grafen oksit ve tütsülenmiş silikadan oluşan kompozitin sentezlenmesi sırasında aynı koşullar altında 2 farklı hacimde grafen oksit eklenmesiyle iki farklı kompozit oluşturulmuştur. İlk olarak 2 mg/mL grafen oksitten 1 mL alınarak 50 mL ultra saf su içinde 50 mg tütsülenmiş silika kullanılarak NaBH_4 ile indirgenmesiyle TS@İGO₁ olarak kodlanan modifiye edici ajan elde edilmiştir. Elde edilen bu kompozitten 1 mg/mL olacak şekilde sulu homojen süspansiyon oluşturulmuştur.

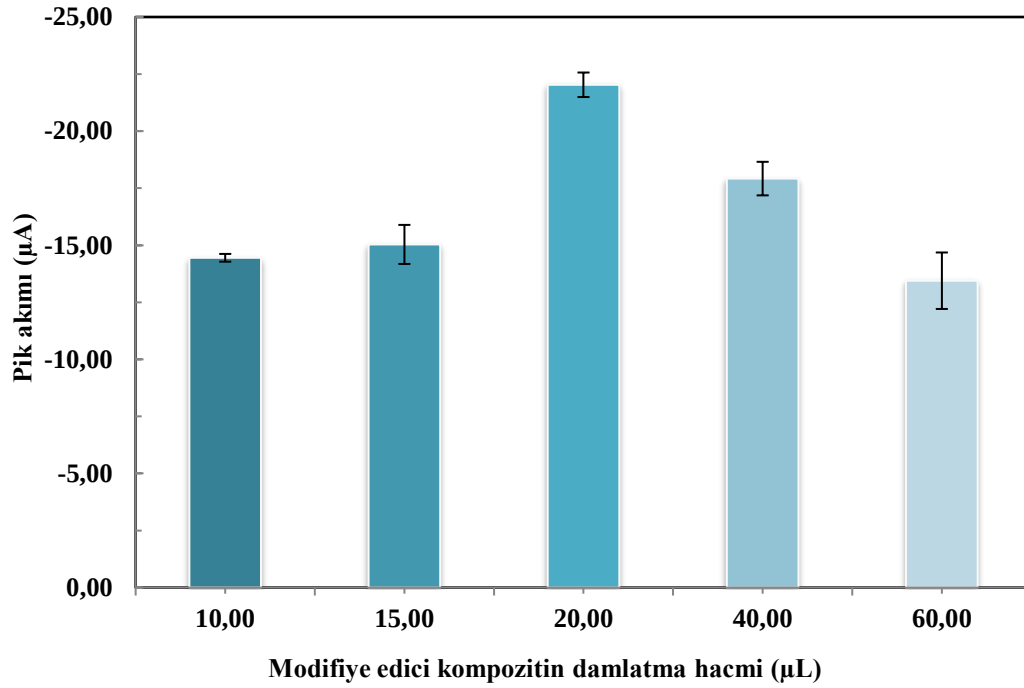
İkinci aşamada ise 2 mg/mL grafen oksitten 2 mL alınarak diğer koşullar değiştirilmeden TS@İGO modifiye edici ajan elde edilmiş ve elde edilen kompozitten 1 mg/mL olacak şekilde sulu homojen süspansiyonu hazırlanmıştır. TS@İGO₁ ve TS@İGO modifiye edici ajanlarından camı karbon elektrot yüzeyine 20 μL damlatılarak her iki elektrodun aynı çözelti içinde FNT'nin indirgenme tepe pik akım değerine etkileri DPV yöntemi kullanılarak incelenmiştir (Şekil 4. 25). Şekil 4.25'de görüldüğü gibi CK/TS@İGO elektrot, CK/TS@İGO₁ elektroduna göre FNT'nin pik tepe akımını yaklaşık 3 kat arttırmış ve kuyruksuz bir pik elde edilmiştir. Bu sebeple çalışmalarda TS@İGO modifiye edici ajan camı karbon elektrodun modifikasyonunda tercih edilmiştir.



Şekil 4.25. CK/TS@İGO ve CK/TS@İGO₁ elektrotları kullanılarak 5 μ M FNT varlığında 0,1 M fosfat tamponu (pH 5) içinde gerçekleştirilen diferansiyel puls ölçümleri. (Bekleme süresi: 60 s; karıştırma hızı: 300 rpm)

4.2.4.1. Modifikasyon süspansiyonunun hacminin optimizasyonu

Modifiye edici TS@İGO kompozitin elektrot yüzeyine damlatma hacmi tepe pik akım değerini etkileyen parametrelerden biridir. Bu amaçla farklı hacimlerde (10; 15; 20; 40; 60 μ L) modifiye edici kompozitin elektrot yüzeyine damlatılarak 0,1 M fosfat tamponu (pH 5) içinde 0 ile -0,85 V gerilim değeri arasında 5 μ M FNT'ye ait indirgenme pik akım değerleri karşılaştırılmıştır (Şekil 4.26). FNT'ye ait optimum indirgenme pik akım değeri 20 μ L TS@İGO kompozitin, yalın elektrot yüzeyine damlatılmasıyla elde edilmiştir. Modifiye edici ajan olan TS@İGO kompozitin 20 μ L hacimden yüksek miktarlarda damlatılması sonucu elektrodun film kalınlığının artmasıyla elektrodun iletkenliğinin düşmesine neden olduğu düşünülmektedir.



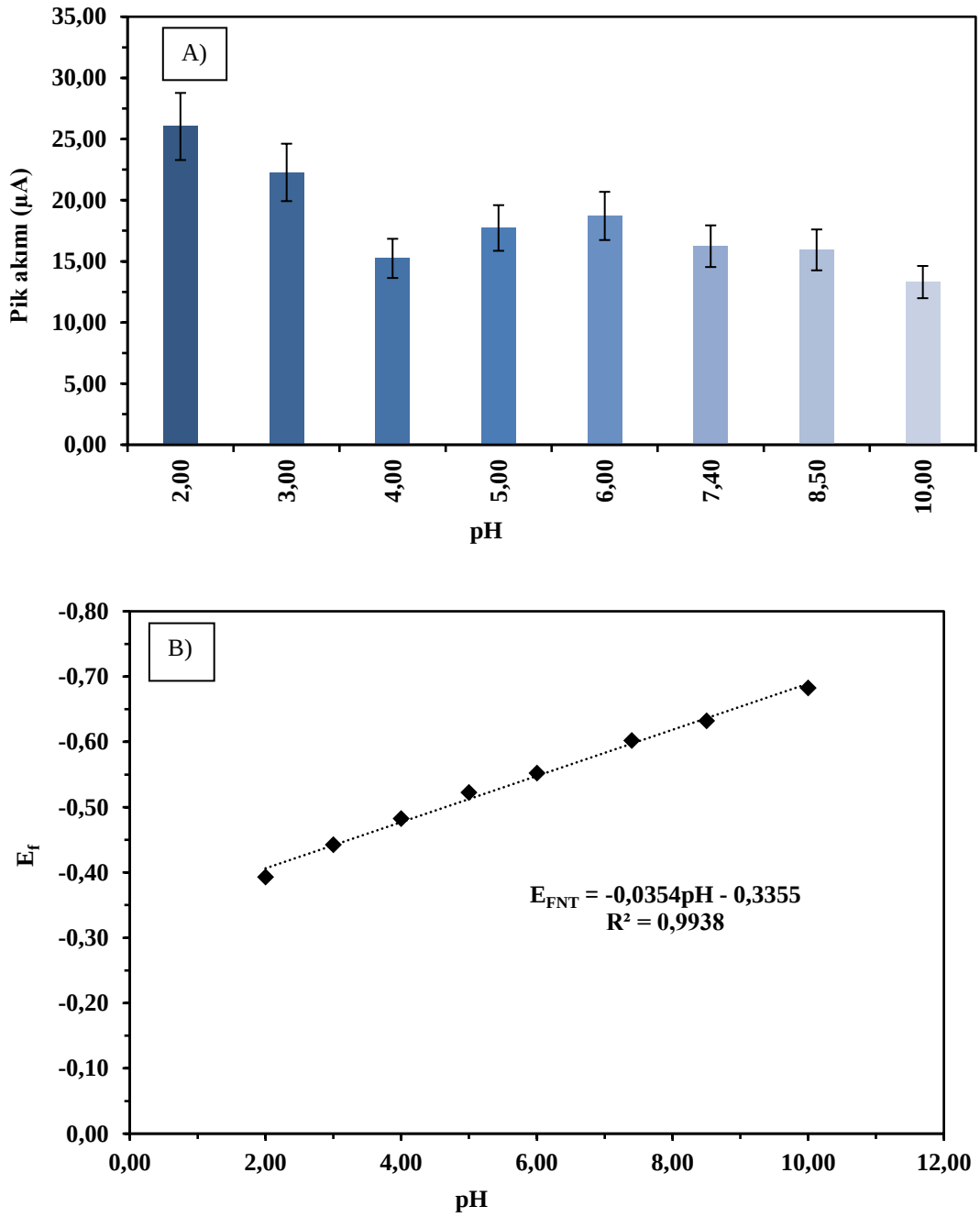
Şekil 4.26. CK elektrot yüzeyine farklı miktarlarda TS@İGO kompozit damlatılması sonucu 5 µM FNT varlığında elde edilen pik akım değerlerinin karşılaştırılması. (Bekleme süresi: 60 s; karıştırma hızı: 300 rpm)

4.2.5. FNT tayini için ölçüm parametrelerinin optimizasyonu

FNT'nin elektrokimyasal tayinine yönelik yapılan çalışmalarda CK/TS@İGO elektrot kullanılarak temas süresi ve ölçüm ortamının pH'sı optimize edilmiştir.

Çözelti ortamının pH'sının optimizasyon çalışmalarında 0,1 M fosfat tamponu içinde farklı pH (2; 3; 4; 5; 6; 7,4; 8,5; 10) değerlerinde gerçekleştirilen ölçümler sonucu 5 µM FNT'ye ait indirgenme pik akım değerleri Şekil 4.27A'da gösterilmektedir. FNT'ye ait optimum indirgenme pik akım değeri 0,1 M fosfat tamponunun pH'sı 2 olduğu koşullarda elde edilmiştir.

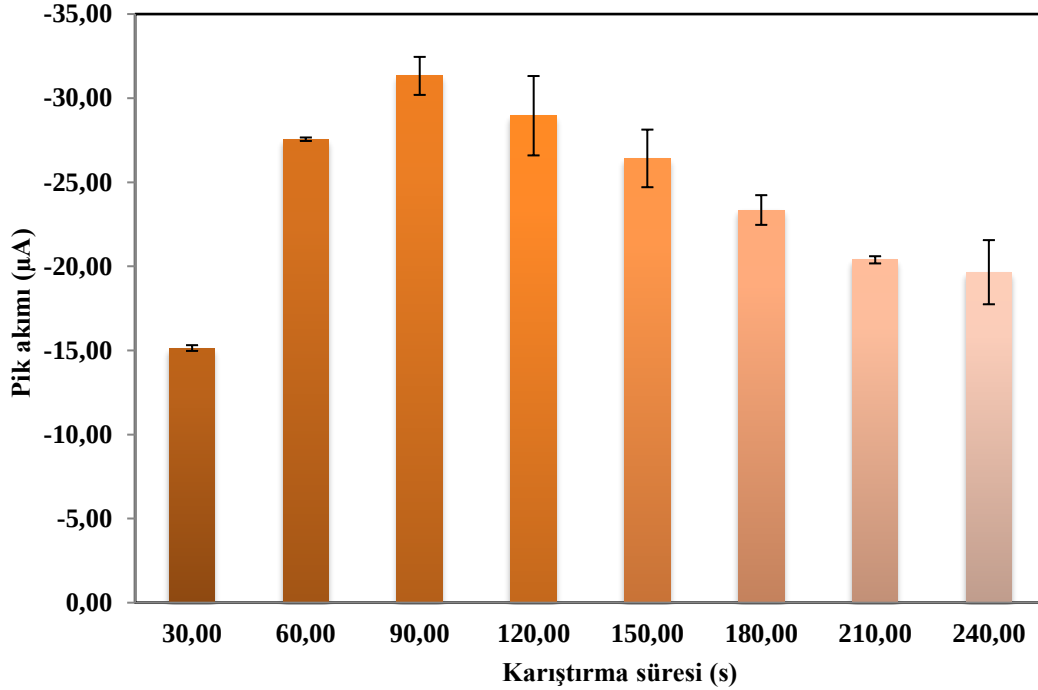
Ölçüm ortamının pH'sına karşı fenitrotiyon indirgenme pik gerilim değerlerinin grafiği Şekil 4.27B'de verilmiştir. Şekil 4.27B'de görüldüğü gibi indirgenme pik akım değerleri ile pH değerleri arasında doğrusal bir ilişki bulunmaktadır. Elde edilen doğrunun eğimi -0,0354 V olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.27. Çözelti ortamının pH'sının 5 μ M FNT'nin pik akım değerleri üzerine (A) ve pik potansiyelleri üzerine (B). (Bekleme süresi : 60 s; karıştırma hızı: 300 rpm)

CK/TS@İGO elektrodun performansını etkileyen parametrelerden çözelti ortamının pH'sı optimize edildikten sonra temas süresinin optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, CK/TS@İGO elektrot kullanılarak 5 μ M FNT içeren fosfat tamponu içinde (pH 2) farklı sürelerde (30; 60; 90; 120; 150; 180; 240 s) bekletilmiş ve DPV ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Modifiye elektrot ile gerçekleştirilen ölçüm sonucunda elde edilen pik akım değerleri, temas sürelerine karşı grafiğe

geçirilmiştir (Şekil 4.28). Karıştırma süresi 30 ile 90 s aralığında akım değerlerinde belirgin bir artış gözlenmiştir. Ancak 90 s den sonra pik akımında düşme gözlenmiştir. Bu nedenle FNT için indirgenme pik akımı en yüksek değere ulaşan 90 s optimum karıştırma süresi olarak seçilmiştir.



Şekil 4.28. CK/TS@İGO elektrot kullanılarak fosfat tamponunda (pH 2) farklı bekleme sürelerinde gerçekleştirilen ölçümlerde elde edilen 5,0 µM FNT'ye ait yükseltgenme pik akımları.

4.2.6. Analizlerde girişim yapması muhtemel türlerin etkilerinin incelenmesi

FNT'nin elektrokimyasal tayinini için geliştirilen TS@İGO modifiye camısı karbon elektrodun performansını etkileyebilecek olan türlerin pik akımına etkileri incelenmiştir. Bu amaçla, 5 µM FNT'nin tayini için, öncelikle temel iyonik bileşikler araştırılmıştır. Temel iyonik bileşiklerden CaCl₂, KCl ve NaNO₂ incelenmiştir. Bu bileşikler varlığında FNT'ye ait pik akımının önemli derecede etkilenmediği gözlenmiştir. Ayrıca vücut sıvılarında muhtemel girişim etkisi gösterebilen türler olan glukoz, askorbik asit, üre ve ürik asidin CK/TS@İGO elektrodun performansına etkisi incelenmiştir (Tablo 4.9). Ek olarak, bazı organofosfat bileşikleri ve nitro grubu içeren organik bileşiklerin FNT'nin pik akımına etkisi de araştırılmıştır. Fenol bileşiğinin girişim etkisi göstermediği ancak, 2-nitrofenol, 4-nitrofenol, ve fenthion moleküllerinin FNT tayini için girişim etkisi gösterdikleri görülmüştür.

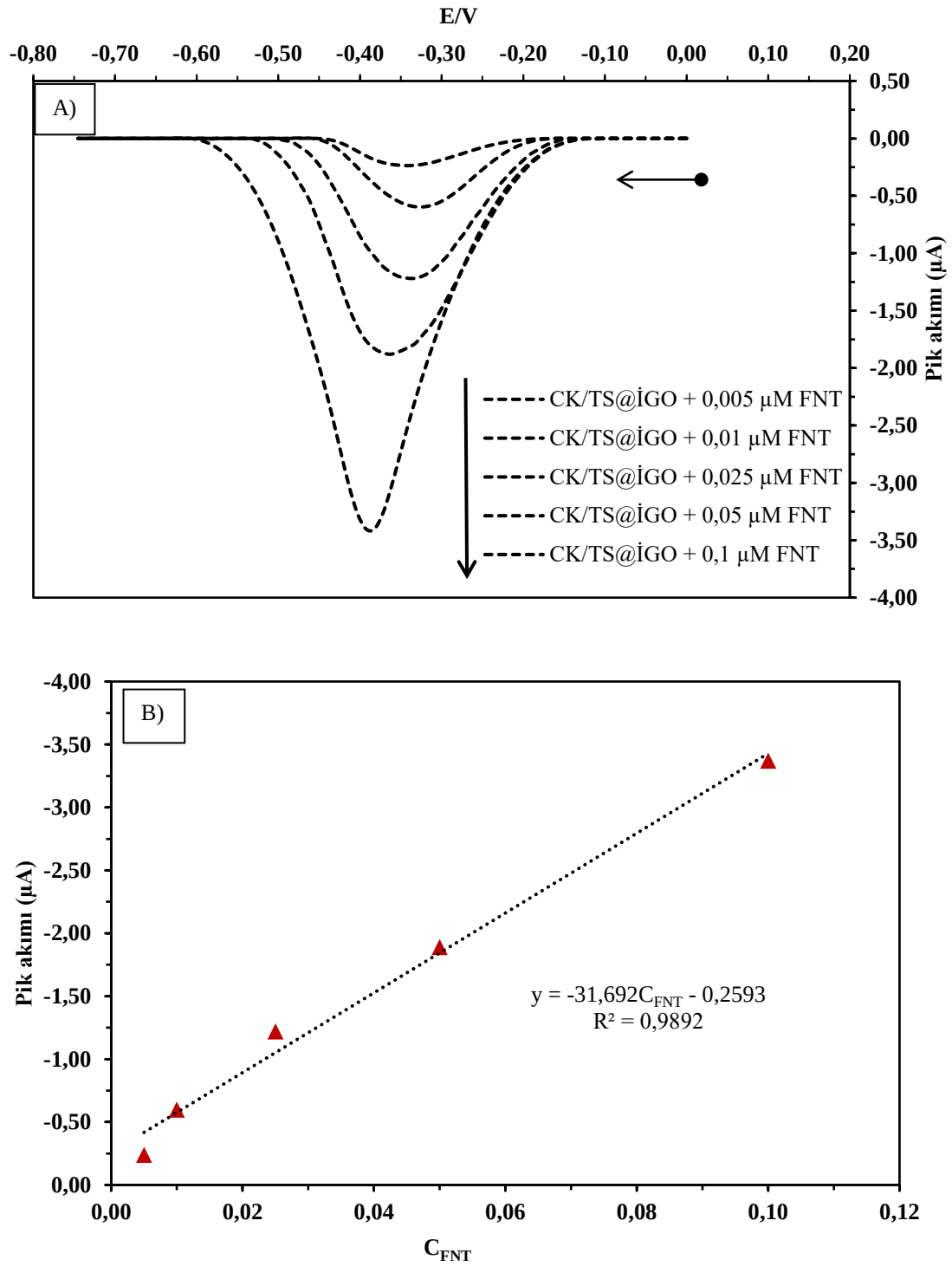
Tablo 4.7. FNT'nin indirgenme pik akımına girişim etkisi incelenen türlerin maksimum izin verilen derişimleri ve bu türlerin varlığında yüzde pik akımı değışimleri.

Girişim etkisi incelenen türler	Girişim etkisine izin verilen maksimum derişim / μM	$*YAD = \left(\frac{I_{p2} - I_{p1}}{I_{p1}} \right) \times \%100$
Glikoz	2000	-3,28
Üre	200	0,55
Ürik asit	50	0,92
Askorbik asit	2000	0,93
CaCl_2	1000	-2,39
KCl	2000	2,03
Fenol	2000	-6,1
*YAD: Yüzdece akım değışımi. I_{p1}: 5,0 μM fenitrotiyon girişim yapan türler yokluğundaki yükseltgenme pik akımı. I_{p2}: 5,0 μM fenitrotiyon girişim yapan türler varlığundaki yükseltgenme pik akımı.		

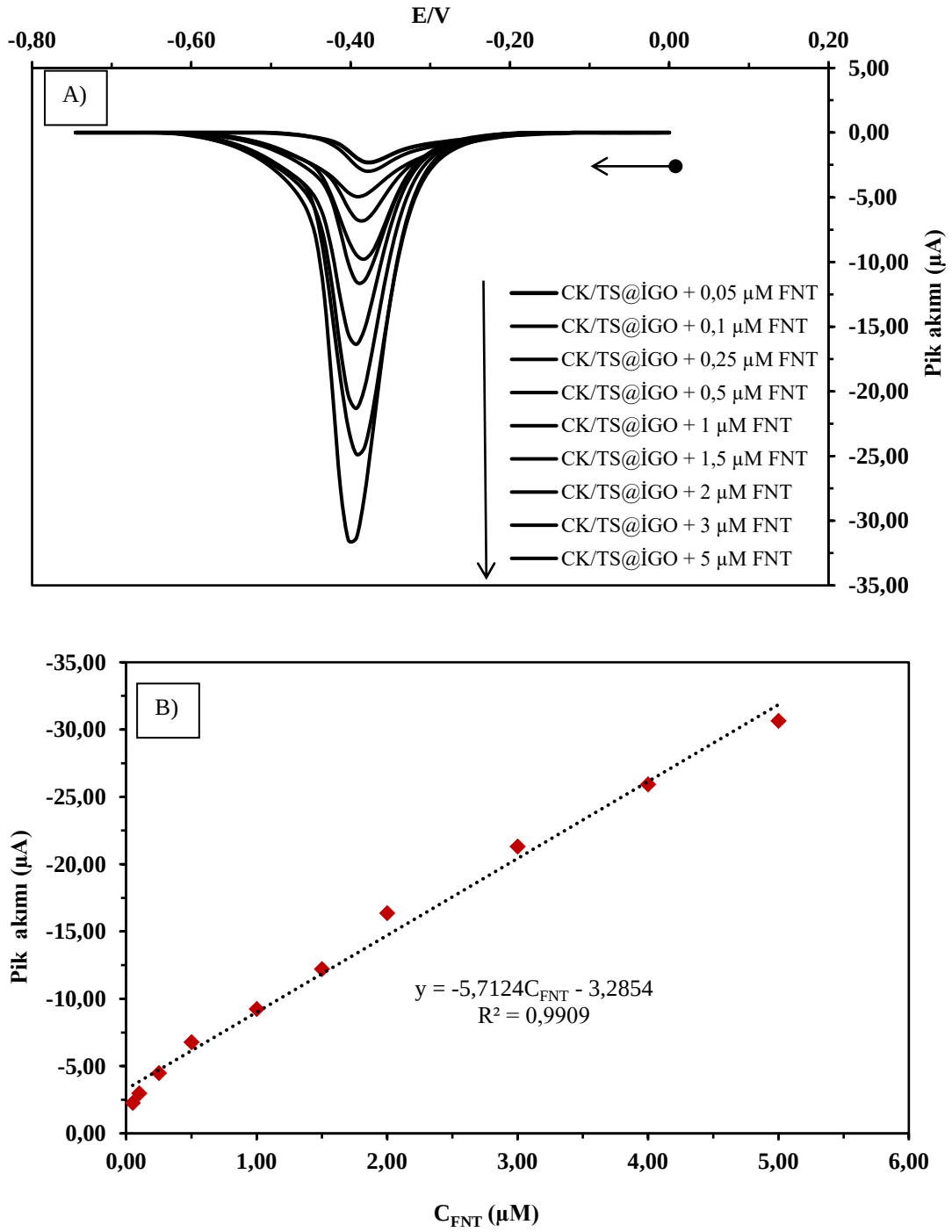
4.2.7. FNT tayini için analitik parametrelerin belirlenmesi

CK/TS@İGO elektrodun performans özelliklerinin değeriendirilmesi amacıyla doğrusal çalışma aralığı, gözlenebilme sınırı, tayin sınırı, tekrarlanabilirlik ve kararlılık gibi analitik parametreler saptanmıştır.

Farklı derişimlerde hazırlanan (0,005 – 5,0 μM) standart FNT çözeltileri ile elde edilen indirgenme pik akım değeri, derişime karşı grafiğe geçirilmiştir. Artan FNT derişimiyle elde edilen analitik cevaplar arasında iki farklı doğrusal çalışma aralığı gözlenmiştir. Birinci doğrusal çalışma aralığı 0,005 – 0,1 μM FNT derişim aralığında gözlenmiştir (Şekil 4.29). Birinci doğrusal aralık için regresyon eşitliği $I_p (\mu\text{A}) = -31,692 C_{\text{FNT}} (\mu\text{M}) - 0,2593$ olarak belirlenmiş ve elde edilen eşitliğin regresyon katsayısı (R^2) 0,9892 olarak hesaplanmıştır. Bu çalışmada gözlenebilme sınırı (LOD) ve tayin sınırı (LOQ) değeri sırasıyla 0,17 nM ve 0,58 nM olarak hesaplanmıştır. İkinci doğrusal çalışma aralığı FNT derişiminin 0,05 – 5,0 μM olduğu aralıkta elde edilmiştir (Şekil 4.30). FNT için ikinci olarak elde edilen doğrusal regresyon eşitliği $I_p (\mu\text{A}) = -5,7124 C_{\text{FNT}} (\mu\text{M}) - 3,2854$ ve regresyon katsayısı (R^2) 0,9909 olarak hesaplanmıştır. Bu çalışmada elde edilen doğrusal çalışma aralığı ve tayin sınırı literatürde daha önce yapılan çalışmalar ile karşılaştırılmıştır (Tablo 4.8).



Şekil 4.29. (A)CK/TS@İGO elektrot ile 0,005 μM ile 0,1 μM derişim aralığında FNT'ye ait 0,1 M fosfat tamponu içinde (pH 2) gerçekleştirilen DPV ölçümleri sonucu elde edile voltamogramlar (Bekleme süresi: 90 s; Karıştırma hızı: 300 rpm). (B) FNT için kalibrasyon eğrisi.



Şekil 4.30. (A)CK/TS@İGO elektrot ile 0,05 μM ile 5,0 μM derişim aralığında FNT'ye ait 0,1 M fosfat tamponu içinde (pH 2) gerçekleştirilen DPV ölçümleri sonucu elde edile voltamogramlar (Bekleme süresi: 90 s; Karıştırma hızı: 300 rpm). (B) Modifiye elektrot ile elde edilen FNT için kalibrasyon eğrisi.

Tablo 4.8. Geliştirilen CK/TS@İGO elektrodun doğrusal ölçüm aralığı ve gözlenebilme sınırının literatürde yer alan diğer elektrokimyasal yöntemler ile karşılaştırılması.

Elektrot	Doğrusal ölçüm aralığı (µM)	Gözlenebilme sınırı (nM)	Kaynak
^a PGCE	0,4 – 50,0	78	[79]
^b GCE/Nano-TiO ₂	0,02 – 10,0	10	[80]
^c GCE/AuNPS@GMIP	0,01 – 5,0	8	[123]
^d GCE/Nano-TiO ₂ -Nafion	0,20 – 4,0	90	[124]
^e GCE/MWCNT	0,2 – 60,0	80	[84]
^f GCE/CeO ₂ /rGO	0,02 – 2,0	3	[83]
^g CK/TS@İGO	0,005 – 0,1	0,176	Bu çalışmada
a: camısı karbon elektrot – ön işlem uygulanmış (+1,75 V, 200 s) b: camısı karbon elektrot – Nano TiO ₂ polimer c: camısı karbon elektrot – altın nano partikül@aşılama moleküler baskılı polimer d: camısı karbon elektrot – Nano TiO ₂ /Nafyon kompozit e: camısı karbon elektrot – çok duvarlı karbon nanotüp f: camısı karbon elektrot – seryum oksit/indirgenmiş grafen oksit nano kompozit g: camısı karbon elektrot- tütsülenmiş silika ve grafen nano kompozit			

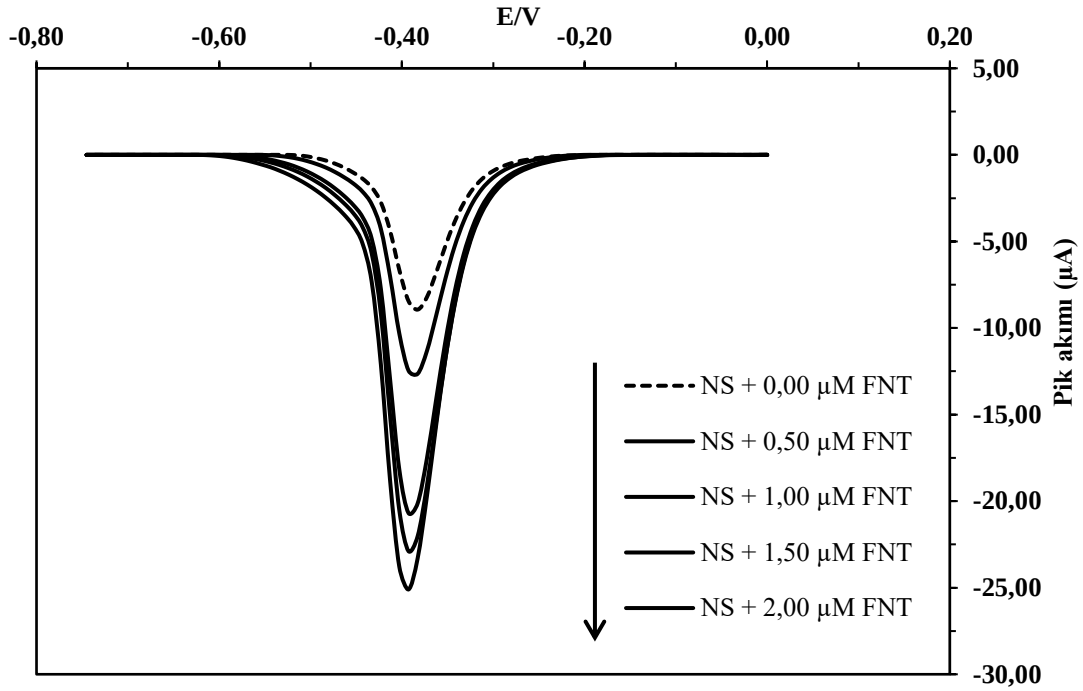
CK/TS@İGO elektrodun tekrar üretilebilirliği farklı günlerde yeni olarak hazırlanan elektrotlar ile 10 kez gerçekleştirilen ölçümler sonucunda belirlenmiştir. Hazırlanan elektrotlar ile gerçekleştirilen ölçümlerde 5,0 µM FNT varlığında DPV ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Ölçümler sonucunda bağıl standart sapma (RSD) değeri %1,34 olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar, tekrar üretilebilirliğinin yüksek olduğunu göstermektedir.

CK/TS@İGO elektrodun tekrar kullanılabilirliğinin belirlenmesi amacıyla aynı çözelti içinde aynı elektrodun ard arda ölçümleri sonucu pik akım değişimi gözlenmiştir. Bu amaçla 5,0 µM FNT varlığında 0,1 M fosfat tamponu (pH 2) içinde DPV ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Ölçümler sonucunda bağıl standart sapma (RSD) değeri %1,12 olarak hesaplanmıştır.

4.2.8. FNT tayininin gerçek örneklerde araştırılması

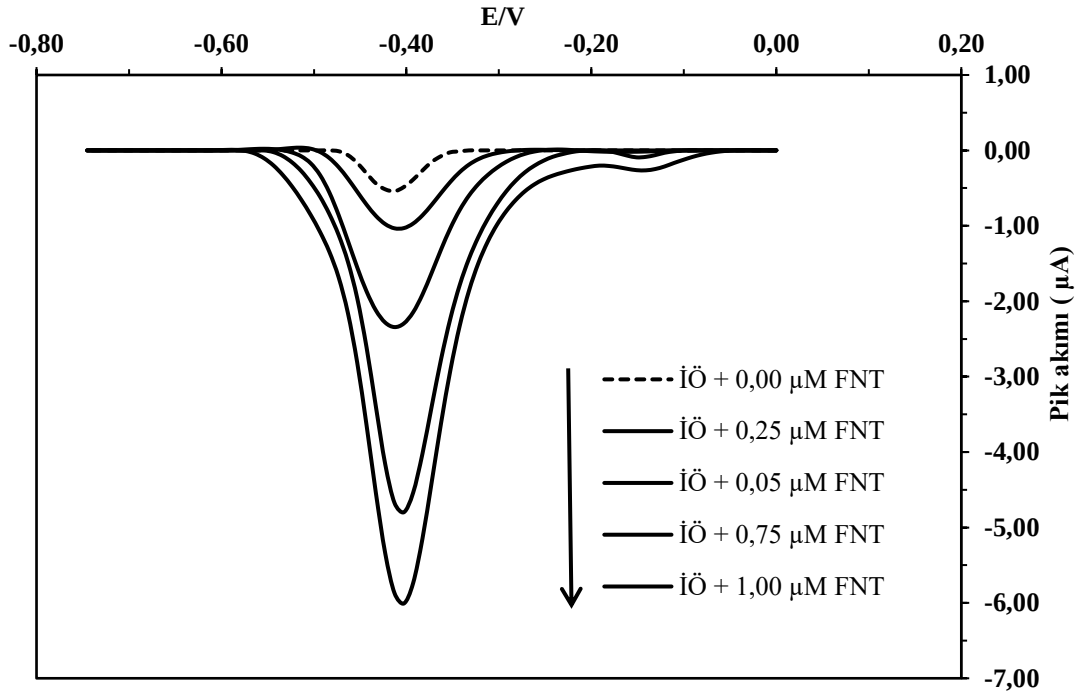
FNT'nin elektrokimyasal tayinine yönelik gerçek örnek çalışmalarında CK/TS@İGO elektrot kullanılarak optimum koşullar altında elektrokimyasal ölçümler gerçekleştirilmiştir. Nehir suyu, idrar örneği, domates, portakal ve kuru üzüm örneklerinde FNT varlığı araştırılmıştır.

İlk olarak FNT eklenmiş nehir suyu örneğinin (10 kat seyreltilmiş) 0,1 M fosfat tamponu (pH 2) içinde gerçekleştirilen diferansiyel puls voltamogramında -0,3943 V gerilim değerinde FNT'ye ait indirgenme piki gözlenmiştir (Şekil 4.31). Eklenen FNT derişimine karşı pik akımı doğrusal bir şekilde artmıştır. Nehir suyu örneğinde fenitrotiyon tayini herhangi bir ön işlem uygulanmadan başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir.



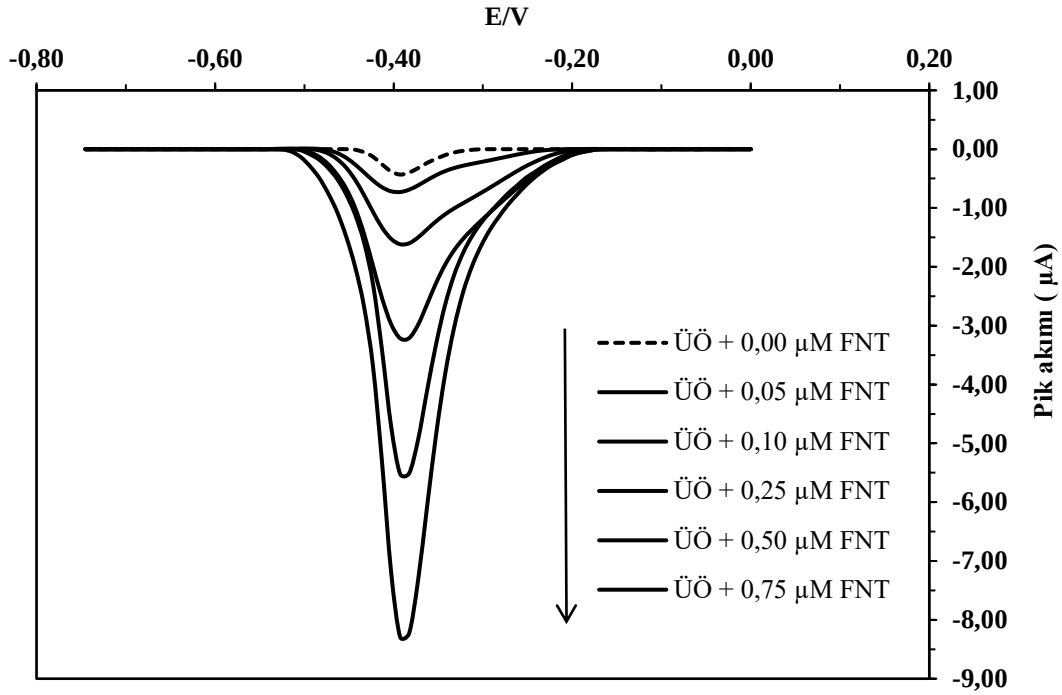
Şekil 4.31. CK/TS@İGO elektrot kullanılarak belirli miktarda FNT içeren nehir suyu örneğinin 0,1 M fosfat tamponunda (pH 2,0) artan derişimlerde FNT eklenerek elde edilen diferansiyel puls voltamogramları (Bekleme süresi: 90 s; karıştırma hızı: 300 rpm).

İkinci olarak CK/TS@İGO elektrodun performansının incelenmesi amacıyla idrar örneğinde FNT'nin geri kazanım testi gerçekleştirilmiştir. Bilindiği üzere idrar örnekleri geniş matriks ortamı içermektedir. CK/TS@İGO elektrot yüksek seçicilik göstererek geniş matriks ortamına sahip olduğu bilinen idrar örneğinde FNT'nin tayini başarıyla gerçekleştirmiştir. Bu amaçla, 40 kat seyreltilmiş ve FNT içeren idrar örneği varlığında elde edilen diferansiyel puls voltamogramlarında -0,4129 V değerinde FNT'ye ait indirgenme piki görülmektedir (Şekil 4.32). Ölçüm ortamına eklenen standart FNT çözeltileri ile kalibrasyon eğrisi oluşturularak örnekteki FNT derişimi başarıyla hesaplanmıştır.



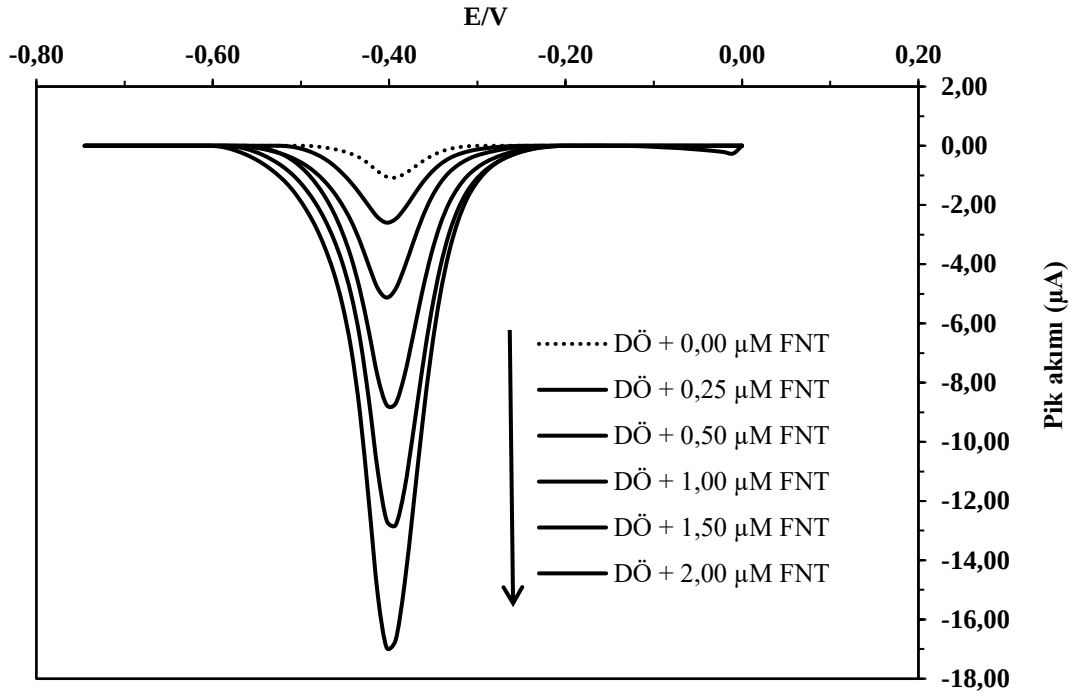
Şekil 4.32. CK/TS@İGO elektrot kullanılarak belirli miktarda FNT içeren idrar örneğinin 0,1 M fosfat tamponunda (pH 2,0) artan derişimlerde FNT eklenerek elde edilen diferansiyel puls voltamogramları (Bekleme süresi: 90 s; karıştırma hızı: 300 rpm).

Diğer gerçek örnek çalışmaları ise kuru üzüm, domates ve portakal gibi meyve ve sebzeler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu örneklerden ilk olarak 100 kat seyreltilmiş FNT içeren kuru üzüm örneğinin diferansiyel puls ölçümlerinde -0,3927 V değerinde FNT'ye ait indirgenme piki gözlenmiştir (Şekil 4.33). CK/TS@İGO elektrot kullanılarak başarılı bir şekilde kurutulmuş üzüm örneğinde FNT tayini gerçekleştirilmiştir.



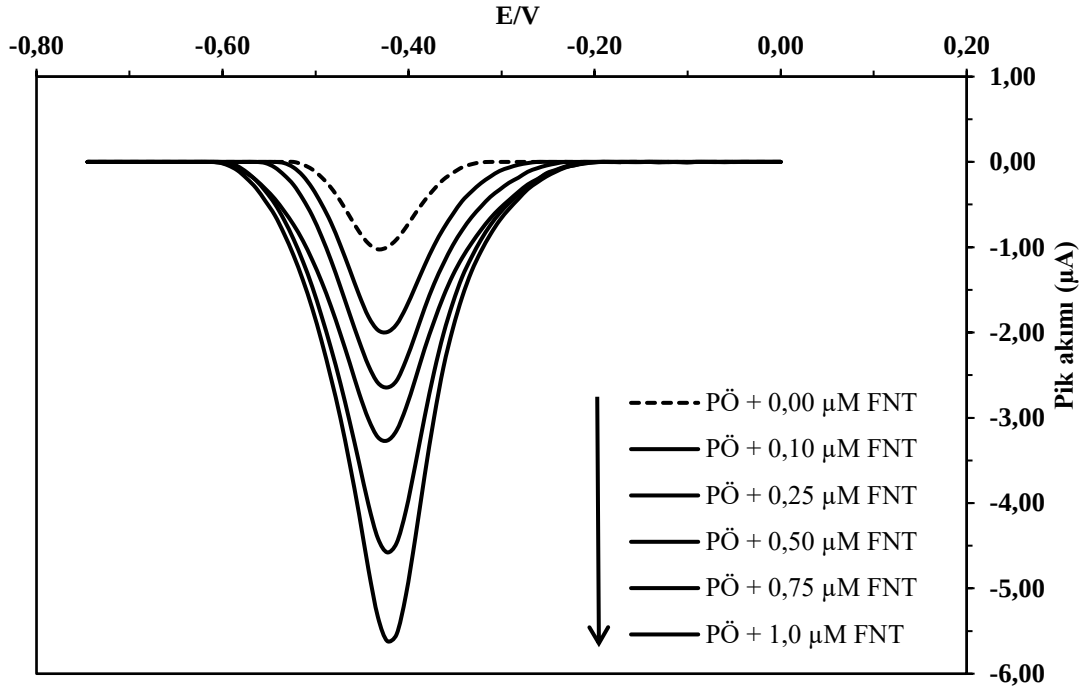
Şekil 4.33. CK/TS@İGO elektrot kullanılarak belirli miktarda FNT içeren kuru üzüm örneğinin 0,1 M fosfat tamponunda (pH 2,0) artan derişimlerde FNT eklenerek elde edilen diferansiyel puls voltamogramları (Bekleme süresi: 90 s; karıştırma hızı: 300 rpm).

Bir sonraki gerçek örnek çalışması QuEChERS yöntemiyle elde edilen domates ekstraktı örneği içinde gerçekleştirilmiştir. CK/TS@İGO elektrot kullanılarak FNT içeren 40 kat seyreltilmiş domates ekstraktı varlığında elde edililen diferansiyel puls voltamogramlarında -0,4028 V gerilim değerinde FNT'ye ait indirgenme piki gözlenmiştir. Yapılan çalışmalarda FNT içermeyen domates ekstraktında herhangi bir pik gözlenmemiştir (Şekil 4.34).



Şekil 4.34. CK/TS@İGO elektrot kullanılarak belirli miktarda FNT içeren domates ekstraktı örneğinin 0,1 M fosfat tamponunda (pH 2,0) artan derişimlerde FNT eklenerek elde edilen diferansiyel puls voltamogramları (Bekleme süresi: 90 s; karıştırma hızı: 300 rpm).

Son olarak QuEChERS yöntemiyle elde edilen portakal suyu ekstraktı içinde FNT tayin edilmek üzere incelenmiştir. 40 kat seyreltilmiş FNT içeren portakal suyu ekstraktı örneği varlığında elde edilen diferansiyel puls voltamogramlarında -0,4129 V gerilim değerinde FNT'ye ait indirgenme piki gözlenmiştir (Şekil 4.35). -0,4129 V gerilim değerinde elde edilen katodik pikin standart FNT çözeltilerinin eklenmesiyle artması, gözlenen pikin FNT'ye ait olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.35. CK/TS@İGO elektrot kullanılarak belirli miktarda FNT içeren portakal ekstraktı örneğinin 0,1 M fosfat tamponunda (pH 2,0) artan derişimlerde FNT eklenerek elde edilen diferansiyel puls voltamogramları (Bekleme süresi: 90 s; karıştırma hızı: 300 rpm).

Tablo 4.9’da çeşitli örneklerde gerçekleştirilmiş geri kazanım testlerine ait sonuçlar gösterilmektedir. Tablo 4.9’da görüldüğü gibi CK/TS@İGO elektrotla çeşitli örneklerde gerçekleştirilen geri kazanım çalışmalarında elde edilen değerler % 90 - 115,0 aralığındadır. Bu da geliştirilen CK/TS@İGO elektrodu ile farklı örneklerde FNT tayininin başarılı bir şekilde gerçekleştirilebileceğini göstermektedir.

Tablo 4.9. Fenitrotyonun gerçek örneklerde elde edilen geri kazanım değerleri.

rnek	[Fenitrotyon] _{eklenen} / μM	[Fenitrotyon] _{bulunan} / μM	E _r %
N.. – 1	5	5,31	106,2
N.. – 2	10	11,21	112,1
İ. . - 1	5	5,11	102,3
İ. . - 2	10	10,98	109,8
D.. -1	5	4,61	92,3
D.. - 2	10	11,22	112,2
P..-1	5	4,63	93,5
P..-2	10	9,70	97,0
.S-1	5	4,66	93,3
.S-2	10	10,01	94,2

5. SONUÇLAR

Endokrin bozucu kimyasallar, endokrin sistemin gelişimi ve fonksiyonlarını etkileyerek organizmada birtakım olumsuz etki yaratan madde veya karışımlardır. Bu maddeler, hormonların üretim, salınım, taşınma, bağlanma yıkım ve organizmadan uzaklaştırılma gibi süreçler üzerine etki etmektedirler Bu maddelerin toksik etkilerinden dolayı hızlı ve düşük derişimlerde tayinleri oldukça önemlidir. Bu tez çalışmasında endokrin bozucu kimyasal olarak kabul edilen estradiol ve fenitrotyon maddeleri elektrokimyasal tayini gerçekleştirilmek amacıyla seçilmiştirler. Bu kapsamda her iki endokrin bozucu kimyasal için elektrokimyasal sensör geliştirilmiştir. Her iki endokrin bozucu kimyasal için geliştirilen elektrokimyasal sensörlerin karakterizasyon çalışmaları CV, EIS ve SEM yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ayrıca GNŞ, TS-Au-SA ve TS@İGO kompozitlerin karakterizasyonu amacıyla Raman spektroskopisi analizleri gerçekleştirilmiştir. Gerçekleştirilen analizler sonucunda modifiye edici ajanların başarıyla elde edildiği gözlenmiştir.

Tez çalışmasının birinci bölümünde endokrin sistem bozucu kimyasal grubundan çevresel östrojenlerden olan estradiolün yükseltgenmesinin elektrokimyasal tayini gerçekleştirmek amacıyla 1 mg GNŞ ve 0,5 mg TS-Au-SA nano kompozit içeren modifiye edici ajan kullanılarak modifiye sensör geliştirilmiştir. Modifiye elektrot yüzeyinde estradiolün elektrokimyasal yükseltgenmesi diferansiyel puls voltametri ve dönüşümlü voltametri yöntemleri kullanılarak incelenmiştir. Dönüşümlü voltametri ölçümleri sonucunda estradiolün modifiye elektrot yüzeyinde tersinmez adsorpsiyon kontrollü gerçekleştiği gözlenmiştir. Modifiye elektrodun, yalın karbon pasta elektroda göre pik akım değerini yaklaşık olarak 17 kat arttırdığı gözlenmiştir. Estradiolün pik akımının iyileştirilmesi amacıyla ölçüm ortamının pH'sının ve temas süresinin optimizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. KP/GNŞ-TS-Au-SA elektrot ile estradiol için gerçekleştirilen diferansiyel puls ölçümleri sonucunda modifiye elektrodun 0,1 μM ile 5 μM derişim aralığında (R^2 : 0,9913) doğrusallık gösterdiği gözlenmiş ve estradiol için gözlenebilme sınırı $S/N= 3$ formülü kullanılarak 7,4 nM olarak hesaplanmıştır. Geliştirilen modifiye elektrot ile girişim etkisi muhtemel türlerin varlığında süt ve ilaç örneklerinde estradiol tayini başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma sonucunda elde edilen veriler SCI kapsamında taranan “Sensors and Actuators B: Chemical” isimli uluslararası dergide yayınlanmıştır [125].

İkinci kısımda, endokrin sistem bozucu kimyasalların bir başka grubu olan pestisit grubunda bulunan fenitrotiyonun elektrokimyasal tayinin gerçekleştirilmesi amacıyla elektrokimyasal sensör geliştirilmiştir. Camsı karbon elektrodun yüzeyi fenitrotiyon tayini amacıyla TS@İGO olarak adlandırılan kompozit ile modifiye edilmiştir. Geliştirilen CK/TS@İGO elektrodun FNT'nin indirgenmesine karşı davranışı diferansiyel puls voltametrisi yöntemiyle incelenmiştir. TS@İGO modifiye elektrot kullanılarak yalın CK elektroda göre FNT'nin indirgenme pik akım değerinde 8,5 kat artış sağlanmıştır. CK/TS@İGO elektrot kullanılarak gerçekleştirilen fenitrotiyon ölçümleri sonucunda 0,005 ile 0,1 μM ve 0,05 ve 5,0 μM derişim aralıklarında iki tane doğrusal çalışma aralığı gözlenmiştir. Fenitrotiyon için gözlenebilme sınırı 0,178 nM olarak hesaplanmıştır. CK/TS@İGO elektrot kullanılarak FNT'nin elektrokimyasal tayini nehir suyu, kuru üzüm, portakal, domates ve idrar örneklerinde başarıyla gerçekleştirilmiştir.

Son yıllarda endüstrinin gelişmesiyle birlikte birçok zararlı kimyasal grubu günlük hayatın birçok alanında kullanılmaya başlamıştır. Bu zararlı kimyasallar kozmetik malzemelerinde, zirai tarım ilaçlarında, plastiklerde, temizlik malzemelerinde, hormonal ilaçların içinde sentetik olarak ve gıda ürünlerinde bulunmaktadır. Bu kimyasalların uzun süreli veya yüksek dozda alınımı sonucu endokrin sistem üzerine etki ederek kanser oluşumu, üreme sağlığının bozulması, hormon sisteminin bozulmasına bağlı olarak birçok probleme neden olmaktadır. Bu kimyasalların eser miktarda tayinleri bu noktada oldukça önem kazanmaktadır. Klasik yöntemler uzun analiz süresi, pahalı cihazlar kullanılması, uzun ve karmaşık örnek hazırlama süreci gerektirmesi nedeniyle yerini hızlı, basit ve direk numune analizine olanak veren elektrokimyasal yöntemlere bırakmıştır. Tez kapsamında elektrokimyasal sensör sistemlerinin geliştirilmesiyle birlikte EST ve FNT moleküllerinin hızlı, seçici, düşük tayin limitinde ve hassas bir şekilde tayinlerinin gerçekleştirilmesi ve diğer EBK'ların da aynı şekilde tayinlerinin gerçekleştirilmesine katkıda bulunacağını savunmaktayız. Bu sayede yüksek toksisiteye sahip söz konusu kimyasalların tayinini başarıyla gerçekleştirilerek, bu kimyasalların endokrin sistem üzerindeki bozucu etkilerinin azaltılabileceğini düşünmekteyiz.

KAYNAKÇA

- [1] Zhang, Y. and J.L. Zhou. (2008). Occurrence and removal of endocrine disrupting chemicals in wastewater. *Chemosphere*. 73(5), 848-853.
- [2] Moraes, F.C., B. Rossi, M.C. Donatoni, K.T. de Oliveira, and E.C. Pereira. (2015). Sensitive determination of 17 β -estradiol in river water using a graphene based electrochemical sensor. *Analytica Chimica Acta*. 881, 37-43.
- [3] Sumpter, J.P. and A.C. Johnson. (2005). Lessons from endocrine disruption and their application to other issues concerning trace organics in the aquatic environment. *Environmental Science & Technology*. 39(12), 4321-4332.
- [4] Ingerslev, F., E. Vaclavik, and B. Halling-Sørensen. (2003). Pharmaceuticals and personal care products-A source of endocrine disruption in the environment? *Pure and Applied Chemistry*. 75(11-12), 1881-1893.
- [5] Han, X., V.K. Balakrishnan, G.W. vanLoon, and E. Buncel. (2006). Degradation of the pesticide fenitrothion as mediated by cationic surfactants and α -nucleophilic reagents. *Langmuir*. 22(21), 9009-9017.
- [6] Sreedhar, N., P. Reddy, C. Reddy, and K. Prasad. (2011). Electrochemical analysis of fenitrothion in human urine samples using polyaniline nanosensor based electrode. *International Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. 1(6).
- [7] Fildes, K., L.B. Astheimer, and W.A. Buttemer. (2009). The effect of acute fenitrothion exposure on a variety of physiological indices, including avian aerobic metabolism during exercise and cold exposure. *Environmental toxicology and chemistry*. 28(2), 388-394.
- [8] Liu, R., J. Zhou, and A. Wilding. (2004). Simultaneous determination of endocrine disrupting phenolic compounds and steroids in water by solid-phase extraction–gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1022(1), 179-189.
- [9] Yu, Y., Q. Huang, J. Cui, K. Zhang, C. Tang, and X. Peng. (2011). Determination of pharmaceuticals, steroid hormones, and endocrine-disrupting personal care products in sewage sludge by ultra-high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Analytical and bioanalytical chemistry*. 399(2), 891-902.

- [10] Regan, F., A. Moran, B. Fogarty, and E. Dempsey. (2003). Novel modes of capillary electrophoresis for the determination of endocrine disrupting chemicals. *Journal of Chromatography A*. 1014(1), 141-152.
- [11] Green, N.P.O., G.W. Stout, and D.J. Taylor, *Biological Science* 2. 1985, New York, USA: Cambridge University Yayınları.
- [12] Güneş, T., *Genel Biyoloji*. 2010, Ankara: Anı Yayıncılık.
- [13] Simon, E.J. 2015, Ankara: Nobel Akademik Yayıncılık.
- [14] Bergman, Å., J. Heindel, S. Jobling, K. Kidd, and R.T. Zoeller. (2012). State-of-the-science of endocrine disrupting chemicals, 2012. *Toxicology Letters*. 211, S3.
- [15] Durmaz, E. and B.K. Giray. (2013). Çevresel bir endokrin bozucu: Bisfenol A ve toksik etkilerinin değerlendirilmesi. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*. 56, 192-9.
- [16] Donato, M.D., G. Cernera, P. Giovannelli, G. Galasso, A. Bilancio, A. Migliaccio, and G. Castoria. (2017). Recent advances on bisphenol-A and endocrine disruptor effects on human prostate cancer. *Molecular and Cellular Endocrinology*.
- [17] Dodds, E.C., L. Goldberg, L. Lawson, and B. Robinson. (1938). Estrogenic activity of certain synthetic compounds. *Nature*. (141), 247-248.
- [18] Gore, A.C., D. Crews, L.L. Doan, M. La Merrill, H. Patisaul, and A. Zota. (2014). INTRODUCTION TO ENDOCRINE DISRUPTING CHEMICALS (EDCs).
- [19] Sifakis, S., V.P. Androutsopoulos, A.M. Tsatsakis, and D.A. Spandidos. (2017). Human exposure to endocrine disrupting chemicals: effects on the male and female reproductive systems. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. (51), 56-70.
- [20] Birkett, J.W. and J.N. Lester, *Endocrine disruptors in wastewater and sludge treatment processes*. 2002: IWA Publishing.
- [21] Kabir, E.R., M.S. Rahman, and I. Rahman. (2015). A review on endocrine disruptors and their possible impacts on human health. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. (40), 241-258.
- [22] Polyzos, S.A., J. Kountouras, G. Deretzi, C. Zavos, and C.S. Mantzoros. (The Emerging Role of Endocrine Disruptors in Pathogenesis of Insulin Resistance: A

- Concept Implicating Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Current Molecular Medicine*. 1(12), 68-82.
- [23] Çetinkaya, S. (2009). Endokrin çevre bozucular ve ergenlik üzerine etkileri. *Dicle Tıp Dergisi*. 36(1), 59-66.
- [24] Darbre, P.D., *Endocrine Disruption and Human Health*. 2015: Academic Press.
- [25] HR, C., W. SL, L. LY, L. WJ, and O. Papke. (2007). Placental transfer of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans, and biphenyls in Taiwanese mothers in relation to menstrual cycle characteristics. *Food and Chemical Toxicology*. 45(2), 259-265.
- [26] Farr, S.L., J.W. Cai, D.A. Savitz, D.P. Sandler, J.A. Hoppin, and G.S. Cooper. (2006). Pesticide exposure and timing of menopause: The agricultural health study. *American Journal of Epidemiology*. 163(8), 731-742.
- [27] Vos, T., A.D. Flaxman, M. Naghavi, R. Lozano, C. Michaud, M. Ezzati, K. Shibuya, and J.A. Salomon. (2013). Years lived with disability (YLDs) for 1160 sequelae of 289 diseases and injuries 1990–2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *The Lancet*. 380(9859), 2163-2196.
- [28] Tsutsumi, O. (2005). Assessment of human contamination of estrogenic endocrine-disrupting chemicals and their risk for human reproduction. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 93(2-5), 325-330.
- [29] WY, H., G.B. Shi, D.P. Hu, J.L. Nelles, and G.S. Prins. (2012). Actions of estrogens and endocrine disrupting chemicals on human prostate stem/progenitor cells and prostate cancer risk. *Mol Cell Endocrinol*. 1-2(354), 63-73.
- [30] Alavanja, M.C.R.C.R., C. Samanic, M. Dosemeci, J. Lubin, R. Tarone, C.F. Lynch, C. Knott, K. Thomas, J.A. Hoppin, J. Barker, J. Coble, D.P. Sandler, and A. Blair. (2003). Use of Agricultural Pesticides and Prostate Cancer Risk in the Agricultural Health Study Cohort. *Am J Epidemiol*. 9(157), 800-814.
- [31] Berbel, P., J.L. Mestre, A. Santamaría, I. Palazón, A. Franco, M. Graells, A.G. Torga, and G.M. Escobar. (2009). Delayed Neurobehavioral Development in Children Born to Pregnant Women with Mild Hypothyroxinemia During the First Month of Gestation: The Importance of Early Iodine Supplementation. *Thyroid*. (19), 511–519.

- [32] Ogden, C.L., S.Z. Yanovski, M.D. Carroll, and K.M. Flegal. (2007). The Epidemiology of Obesity. *Gastroenterology*. 6(132), 2087-2102.
- [33] Goncharov, A., R.F. Haase, A. Santiago-Rivera, G. Morse, R.J. McCaffrey, R. Rej, and D.O. Carpenter. (2008). High serum PCBs are associated with elevation of serum lipids and cardiovascular disease in a Native American population. *Environ Res*. 2(106), 226-239.
- [34] Vasiliu, O., L. Cameron, J. Gardiner, P. DeGuire, and W. Karmaus. (2006). Polybrominated biphenyls, polychlorinated biphenyls, body weight, and incidence of adult-onset diabetes mellitus. *Epidemiology*. 4(17), 352-359.
- [35] Nezami, A., R. Nosrati, B. Golichenari, R. Rezaee, G.I. Chatzidakis, A.M. Tsatsakis, and G. Karimi. (Nanomaterial-based Aptasensors and bioaffinity sensors for quantitative detection of 17 β -estradiol. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*.
- [36] Akingbemi, B.T. (2005). Estrogen regulation of testicular function. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 3(1), 51.
- [37] Sato, T., S. Miyagawa, and T. Iguchi, *Subchapter 94H - Estrone A2 - Takei, Yoshio*, in *Handbook of Hormones*, H. Ando and K. Tsutsui, Editors. 2016, Academic Press: San Diego. p. 523-524.
- [38] da Silveira, J.P., J.V. Piovesan, and A. Spinelli. (2017). Carbon paste electrode modified with ferrimagnetic nanoparticles for voltammetric detection of the hormone estriol. *Microchemical Journal*. 133, 22-30.
- [39] Lahcen, A.A., A.A. Baleg, P. Baker, E. Iwuoha, and A. Amine. (2017). Synthesis and electrochemical characterization of nanostructured magnetic molecularly imprinted polymers for 17- β -Estradiol determination. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 241, 698-705.
- [40] Hall, J.M., J.F. Couse, and K.S. Korach. (2001). The Multifaceted Mechanisms of Estradiol and Estrogen Receptor Signaling. *J Biol Chem*. 40(276), 36869-36872.
- [41] Havlíková, L., L. Nováková, L. Matysová, J. Šícha, and P. Solich. (2006). Determination of estradiol and its degradation products by liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 1119(1), 216-223.
- [42] Li, Y., J. Xu, M. Jia, Z. Yang, Z. Liang, J. Guo, Y. Luo, F. Shen, and C. Sun. (2015). Colorimetric determination of 17 β -estradiol based on the specific

- recognition of aptamer and the salt-induced aggregation of gold nanoparticles. *Materials Letters*. 159, 221-224.
- [43] Janegitz, B.C., F.A. dos Santos, R.C. Faria, and V. Zucolotto. (2014). Electrochemical determination of estradiol using a thin film containing reduced graphene oxide and dihexadecylphosphate. *Materials Science and Engineering: C*. 37, 14-19.
- [44] Ni, X., B. Xia, L. Wang, J. Ye, G. Du, H. Feng, X. Zhou, T. Zhang, and W. Wang. (2017). Fluorescent aptasensor for 17 β -estradiol determination based on gold nanoparticles quenching the fluorescence of Rhodamine B. *Analytical Biochemistry*. 523, 17-23.
- [45] Stopforth, A., B.V. Burger, A.M. Crouch, and P. Sandra. (2007). The analysis of estrone and 17 β -estradiol by stir bar sorptive extraction–thermal desorption–gas chromatography/mass spectrometry: Application to urine samples after oral administration of conjugated equine estrogens. *Journal of Chromatography B*. 856(1), 156-164.
- [46] Quintana, J.B., J. Carpinteiro, I. Rodríguez, R.A. Lorenzo, A.M. Carro, and R. Cela. (2004). Determination of natural and synthetic estrogens in water by gas chromatography with mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*. 1024(1), 177-185.
- [47] Zhong, Q., Y. Hu, Y. Hu, and G. Li. (2012). Dynamic liquid-liquid-solid microextraction based on molecularly imprinted polymer filaments on-line coupling to high performance liquid chromatography for direct analysis of estrogens in complex samples. *Journal of Chromatography A*. 1241, 13-20.
- [48] Yilmaz, B. and Y. Kadioglu. (2017). Determination of 17 β -estradiol in pharmaceutical preparation by UV spectrophotometry and high performance liquid chromatography methods. *Arabian Journal of Chemistry*. 10, S1422-S1428.
- [49] Silva, C.P., D.L.D. Lima, R.J. Schneider, M. Otero, and V.I. Esteves. (2013). Development of ELISA methodologies for the direct determination of 17 β -estradiol and 17 α -ethinylestradiol in complex aqueous matrices. *Journal of Environmental Management*. 124, 121-127.
- [50] Arvand, M. and S. Hemmati. (2017). Analytical methodology for the electro-catalytic determination of estradiol and progesterone based on graphene

- quantum dots and poly(sulfosalicylic acid) co-modified electrode. *Talanta*. 174, 243-255.
- [51] Lin, X. and Y. Li. (2006). A sensitive determination of estrogens with a Pt nano-clusters/multi-walled carbon nanotubes modified glassy carbon electrode. *Biosensors and Bioelectronics*. 22(2), 253-259.
- [52] Song, J., J. Yang, and X. Hu. (2008). Electrochemical determination of estradiol using a poly (L-serine) film-modified electrode. *Journal of Applied Electrochemistry*. 38(6), 833-836.
- [53] Hao, G., D. Zheng, T. Gan, C. Hu, and S. Hu. (2011). Development and application of estradiol sensor based on layer-by-layer assembling technique. *Journal of Experimental Nanoscience*. 6(1), 13-28.
- [54] Ji, L., Y. Wang, K. Wu, and W. Zhang. (2016). Simultaneous determination of environmental estrogens: Diethylstilbestrol and estradiol using Cu-BTC frameworks-sensitized electrode. *Talanta*. 159, 215-221.
- [55] Yuan, L., J. Zhang, P. Zhou, J. Chen, R. Wang, T. Wen, Y. Li, X. Zhou, and H. Jiang. (2011). Electrochemical sensor based on molecularly imprinted membranes at platinum nanoparticles-modified electrode for determination of 17 β -estradiol. *Biosensors and Bioelectronics*. 29(1), 29-33.
- [56] Hu, S., K. Wu, H. Yi, and D. Cui. (2002). Voltammetric behavior and determination of estrogens at Nafion-modified glassy carbon electrode in the presence of cetyltrimethylammonium bromide. *Analytica Chimica Acta*. 464(2), 209-216.
- [57] Liu, X. and D.K. Wong. (2007). Electrocatalytic detection of estradiol at a carbon nanotube| Ni (Cyclam) composite electrode fabricated based on a two-factorial design. *Analytica chimica acta*. 594(2), 184-191.
- [58] Tao, H., W. Wei, X. Zeng, X. Liu, X. Zhang, and Y. Zhang. (2009). Electrocatalytic oxidation and determination of estradiol using an electrode modified with carbon nanotubes and an ionic liquid. *Microchimica Acta*. 166(1-2), 53-59.
- [59] Maksymiv, I. (2015). Pesticides: Benefits and Hazards. *Journal of Vasyl Stefanyk Precarpathian National University*. (2, no. 1), 71-77.

- [60] Mnif, W., A.I.H. Hassine, A. Bouaziz, A. Bartegi, O. Thomas, and B. Roig. (2011). Effect of endocrine disruptor pesticides: a review. *International Journal of Environmental Research and public health*. 8(6), 2265-2303.
- [61] Pimentel, D. (1995). Amounts of pesticides reaching target pests: Environmental impacts and ethics. *Journal of Agricultural and Environmental Ethics*. 8(1), 17-29.
- [62] Chen, F., L. Zeng, Y. Zhang, X. Liao, Y. Ge, X. Hu, and L. Jiang. (2009). Degradation behaviour of methamidophos and chlorpyrifos in apple juice treated with pulsed electric fields. *Food Chemistry*. 112(4), 956-961.
- [63] Subrahmanyam, P., B. Krishnapriya, K. Suvardhan, D. Rekha, Y. Suneeta, B. Jayaraj, and P. Chiranjeevi. (2007). RETRACTED: Simple, selective and sensitive spectrophotometric determination of fenitrothion using novel chromogenic reagent. *Journal of Hazardous Materials*. 146(1), 51-57.
- [64] Canevari, T.C., T.M. Prado, F.H. Cincotto, and S.A.S. Machado. (2016). Immobilization of ruthenium phthalocyanine on silica-coated multi-wall partially oriented carbon nanotubes: Electrochemical detection of fenitrothion pesticide. *Materials Research Bulletin*. 76, 41-47.
- [65] Ricciardi, F., A. Binelli, and A. Provini. (2006). Use of two biomarkers (CYP450 and acetylcholinesterase) in zebra mussel for the biomonitoring of Lake Maggiore (northern Italy). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 63(3), 406-412.
- [66] MacFarlane, E., G. Benke, A. Del Monaco, and M.R. Sim. (2010). Causes of Death and Incidence of Cancer in a Cohort of Australian Pesticide-Exposed Workers. *Annals of Epidemiology*. 20(4), 273-280.
- [67] Roh, J.-Y. and J. Choi. (2011). Cyp35a2 gene expression is involved in toxicity of fenitrothion in the soil nematode *Caenorhabditis elegans*. *Chemosphere*. 84(10), 1356-1361.
- [68] Hu, C., M. He, B. Chen, and B. Hu. (2013). A sol–gel polydimethylsiloxane/polythiophene coated stir bar sorptive extraction combined with gas chromatography-flame photometric detection for the determination of organophosphorus pesticides in environmental water samples. *Journal of Chromatography A*. 1275, 25-31.

- [69] Rossi, S., A.P. Dalpero, S. Ghini, R. Colombo, A.G. Sabatini, and S. Girotti. (2001). Multiresidual method for the gas chromatographic analysis of pesticides in honeybees cleaned by gel permeation chromatography. *Journal of Chromatography A*. 905(1), 223-232.
- [70] dos Anjos, J.P. and J.B. de Andrade. (2014). Determination of nineteen pesticides residues (organophosphates, organochlorine, pyrethroids, carbamate, thiocarbamate and strobilurin) in coconut water by SDME/GC–MS. *Microchemical Journal*. 112, 119-126.
- [71] Sánchez-Ortega, A., M.C. Sampedro, N. Unceta, M.A. Goicolea, and R.J. Barrio. (2005). Solid-phase microextraction coupled with high performance liquid chromatography using on-line diode-array and electrochemical detection for the determination of fenitrothion and its main metabolites in environmental water samples. *Journal of Chromatography A*. 1094(1), 70-76.
- [72] Tuan, S.-J., H.-M. Tsai, S.-M. Hsu, and H.-P. Li. (2009). Multiresidue analysis of 176 pesticides and metabolites in pre-harvested fruits and vegetables for ensuring food safety by gas chromatography and high performance liquid chromatography. *Journal of Food and Drug Analysis*. 17(3).
- [73] García-Ruiz, C., G. Álvarez-Llamas, Á. Puerta, E. Blanco, A. Sanz-Medel, and M.L. Marina. (2005). Enantiomeric separation of organophosphorus pesticides by capillary electrophoresis. *Analytica Chimica Acta*. 543(1), 77-83.
- [74] Diaz, A.N., F.G. Sanchez, A. Aguilar, A.B.M. de Vicente, and A. Bautista. (2015). Fast stopped-flow enzymatic sensing of fenitrothion in grapes and orange juice. *Journal of Food Composition and Analysis*. 42, 187-192.
- [75] Hernández, S.E., C. Sernia, and A.J. Bradley. (2014). Effect of atrazine and fenitrothion at no-observed-effect-levels (NOEL) on amphibian and mammalian corticosterone-binding-globulin (CBG). *Toxicology Letters*. 230(3), 408-412.
- [76] Larki, A. (2017). A novel application of carbon dots for colorimetric determination of fenitrothion insecticide based on the microextraction method. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 173, 1-5.
- [77] Andreu, V. and Y. Picó. (2004). Determination of pesticides and their degradation products in soil: critical review and comparison of methods. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 23(10), 772-789.

- [78] Ferrer, I., J.F. García-Reyes, and A. Fernandez-Alba. (2005). Identification and quantitation of pesticides in vegetables by liquid chromatography time-of-flight mass spectrometry. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 24(7), 671-682.
- [79] Geremedhin, W., M. Amare, and S. Admassie. (2013). Electrochemically pretreated glassy carbon electrode for electrochemical detection of fenitrothion in tap water and human urine. *Electrochimica Acta*. 87, 749-755.
- [80] Li, C., C. Wang, Y. Ma, and S. Hu. (2004). Voltammetric determination of trace amounts of fenitrothion on a novel nano-TiO₂ polymer film electrode. *Microchimica Acta*. 148(1), 27-33.
- [81] Kumaravel, A. and M. Chandrasekaran. (2011). A biocompatible nano TiO₂/nafion composite modified glassy carbon electrode for the detection of fenitrothion. *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 650(2), 163-170.
- [82] Surucu, O., G. Bolat, and S. Abaci. (2017). Electrochemical behavior and voltammetric detection of fenitrothion based on a pencil graphite electrode modified with reduced graphene oxide (RGO)/poly(E)-1-(4-((4-(phenylamino)phenyl)diazenyl)phenyl)ethanone (DPA) composite film. *Talanta*. 168, 113-120.
- [83] Ensafi, A.A., R. Noroozi, N. Zandi, and B. Rezaei. (2017). Cerium (IV) oxide decorated on reduced graphene oxide, a selective and sensitive electrochemical sensor for fenitrothion determination. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 245, 980-987.
- [84] Salehzadeh, H., M. Ebrahimi, D. Nematollahi, and A.A. Salarian. (2016). Electrochemical study of fenitrothion and bifenox and their simultaneous determination using multiwalled carbon nanotube modified glassy carbon electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 767, 188-194.
- [85] Justino, C.I.L., A.C. Freitas, R. Pereira, A.C. Duarte, and T.A.P. Rocha Santos. (2015). Recent developments in recognition elements for chemical sensors and biosensors. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 68, 2-17.
- [86] Hulanicki, A., S. Glab, and F. Ingman. (1991). Chemical sensors: definitions and classification. *Pure and Applied Chemistry*. 63(9), 1247-1250.
- [87] Kökbaş, U., L. Kayrın, and A. Tuli. (2013). Biosensors and their medical applications. *Archives Medical Review Journal*. 22(4), 499-513.

- [88] Skoog, D.A., F.J. Holler, and T.A. Nieman. (1998). Enstrümantal Analiz İlkeleri (E. Kılıç ve F. Köseoğlu, H. Yılmaz, Çev.). Ankara: Bilim Yayıncılık.
- [89] Tural, H., H.İ. Gökçel, and F.N. Ertaş, *Enstrümantal analiz I: elektroanalitik yöntemler*. 2003: Ege Üniversitesi.
- [90] Yılmaz, S.K. Sakkarin varlığında ve yokluğunda Mefenamik asit ile Cd (II) ve Cu (II) iyonları arasındaki etkileşimin voltametrik yöntemle incelenmesi, 2016, *Ondokuz Mayıs Üniversitesi* : Samsun
- [91] Uchiyama, S. and S. Suzuki. *Electroanalytical method*. 1991, Google Patents.
- [92] Bard, A.J., L.R. Faulkner, J. Leddy, and C.G. Zoski, *Electrochemical methods: fundamentals and applications*. Vol. 2. 1980: wiley New York.
- [93] Brodie, B. (1860). Sur le poids atomique du graphite. *Ann. Chim. Phys.* 59(466), 472.
- [94] Chen, D., H. Feng, and J. Li. (2012). Graphene oxide: preparation, functionalization, and electrochemical applications. *Chemical reviews*. 112(11), 6027-6053.
- [95] Zhu, Y., S. Murali, W. Cai, X. Li, J.W. Suk, J.R. Potts, and R.S. Ruoff. (2010). Graphene and graphene oxide: synthesis, properties, and applications. *Advanced materials*. 22(35), 3906-3924.
- [96] Dong, L., R.R.S. Gari, Z. Li, M.M. Craig, and S. Hou. (2010). Graphene-supported platinum and platinum-ruthenium nanoparticles with high electrocatalytic activity for methanol and ethanol oxidation. *Carbon*. 48(3), 781-787.
- [97] Akhavan, O., M. Abdolabad, A. Esfandiar, and M. Mohataashamifar. (2010). Photodegradation of graphene oxide sheets by TiO₂ nanoparticles after a photocatalytic reduction. *The Journal of Physical Chemistry C*. 114(30), 12955-12959.
- [98] Xu, Y., Z. Liu, X. Zhang, Y. Wang, J. Tian, Y. Huang, Y. Ma, X. Zhang, and Y. Chen. (2009). A graphene hybrid material covalently functionalized with porphyrin: synthesis and optical limiting property. *Advanced Materials*. 21(12), 1275-1279.
- [99] Zhang, K., L.L. Zhang, X. Zhao, and J. Wu. (2010). Graphene/polyaniline nanofiber composites as supercapacitor electrodes. *Chemistry of Materials*. 22(4), 1392-1401.

- [100] Zhang, J., F. Zhang, H. Yang, X. Huang, H. Liu, J. Zhang, and S. Guo. (2010). Graphene oxide as a matrix for enzyme immobilization. *Langmuir*. 26(9), 6083-6085.
- [101] Seger, B. and P.V. Kamat. (2009). Electrocatalytically active graphene-platinum nanocomposites. Role of 2-D carbon support in PEM fuel cells. *The Journal of Physical Chemistry C*. 113(19), 7990-7995.
- [102] Fan, F.-R.F., S. Park, Y. Zhu, R.S. Ruoff, and A.J. Bard. (2008). Electrogenerated chemiluminescence of partially oxidized highly oriented pyrolytic graphite surfaces and of graphene oxide nanoparticles. *Journal of the American Chemical Society*. 131(3), 937-939.
- [103] Li, J., S. Guo, Y. Zhai, and E. Wang. (2009). Nafion–graphene nanocomposite film as enhanced sensing platform for ultrasensitive determination of cadmium. *Electrochemistry Communications*. 11(5), 1085-1088.
- [104] Liu, K., J.-J. Zhang, C. Wang, and J.-J. Zhu. (2011). Graphene-assisted dual amplification strategy for the fabrication of sensitive amperometric immunosensor. *Biosensors and Bioelectronics*. 26(8), 3627-3632.
- [105] Lin, L., Y. Liu, L. Tang, and J. Li. (2011). Electrochemical DNA sensor by the assembly of graphene and DNA-conjugated gold nanoparticles with silver enhancement strategy. *Analyst*. 136(22), 4732-4737.
- [106] Son, Y.-W., M.L. Cohen, and S.G. Louie. (2006). Half-metallic graphene nanoribbons. *arXiv preprint cond-mat/0611600*.
- [107] Zhang, R., C.-L. Sun, Y.-J. Lu, and W. Chen. (2015). Graphene nanoribbon-supported PtPd concave nanocubes for electrochemical detection of TNT with high sensitivity and selectivity. *Analytical chemistry*. 87(24), 12262-12269.
- [108] Mehmeti, E., D.M. Stanković, A. Hajrizi, and K. Kalcher. (2016). The use of graphene nanoribbons as efficient electrochemical sensing material for nitrite determination. *Talanta*. 159, 34-39.
- [109] Govindasamy, M., V. Mani, S.-M. Chen, T.-W. Chen, and A.K. Sundramoorthy. (2017). Methyl parathion detection in vegetables and fruits using silver@graphene nanoribbons nanocomposite modified screen printed electrode. *Scientific Reports*. 7, 46471.

- [110] Cochrane, H. and C. Lin. (1993). The influence of fumed silica properties on the processing, curing, and reinforcement properties of silicone rubber. *Rubber Chemistry and Technology*. 66(1), 48-60.
- [111] Barthel, H., L. Rösch, and J. Weis. (1996). Fumed Silica-Production, Properties, and Applications. *Organosilicon Chemistry Set: From Molecules to Materials*. 761-778.
- [112] Stauber, J.L. and T.M. Florence. (1990). Fumed silica for the direct determination of lead in urine by differential-pulse anodic stripping voltammetry. *Analytica Chimica Acta*. 237, 177-180.
- [113] Kaushik, A., P.R. Solanki, K. Sood, S. Ahmad, and B.D. Malhotra. (2009). Fumed silica nanoparticles–chitosan nanobiocomposite for ochratoxin-A detection. *Electrochemistry Communications*. 11(10), 1919-1923.
- [114] Luo, L., F. Li, L. Zhu, Y. Ding, and D. Deng. (2013). Electrochemical sensing platform of natural estrogens based on the poly (L-proline)-ordered mesoporous carbon composite modified glassy carbon electrode. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 187, 78-83.
- [115] Lehotay, S.J., K.A. Son, H. Kwon, U. Koesukwiwat, W. Fu, K. Mastovska, E. Hoh, and N. Leepipatpiboon. (2010). Comparison of QuEChERS sample preparation methods for the analysis of pesticide residues in fruits and vegetables. *Journal of Chromatography A*. 1217(16), 2548-2560.
- [116] Sharma, R.K. and L. Zhai. (2009). Multiwall carbon nanotube supported poly (3, 4-ethylenedioxythiophene)/manganese oxide nano-composite electrode for super-capacitors. *Electrochimica Acta*. 54(27), 7148-7155.
- [117] Lin, T.-C., Y.-S. Li, W.-H. Chiang, and Z. Pei. (2017). A high sensitivity field effect transistor biosensor for methylene blue detection utilize graphene oxide nanoribbon. *Biosensors and Bioelectronics*. 89(Part 1), 511-517.
- [118] Wong, L.S., V.L. Vilker, W.T. Yap, and V. Reipa. (1995). Characterization of mercaptoethylamine-modified gold electrode surface and analyses of direct electron transfer to putidaredoxin. *Langmuir*. 11(12), 4818-4822.
- [119] Abdelsalam, M., P.N. Bartlett, A.E. Russell, J.J. Baumberg, E.J. Calvo, N.G. Tognalli, and A. Fainstein. (2008). Quantitative electrochemical SERS of flavin at a structured silver surface. *Langmuir*. 24(13), 7018-7023.

- [120] Ma, X. and M. Chen. (2015). Electrochemical sensor based on graphene doped gold nanoparticles modified electrode for detection of diethylstilboestrol. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 215, 445-450.
- [121] Moraes, F.C., L.F. Gorup, R.S. Rocha, M.R. Lanza, and E.C. Pereira. (2016). Photoelectrochemical removal of 17 β -estradiol using a RuO₂-graphene electrode. *Chemosphere*. 162, 99-104.
- [122] Wang, Z., P. Wang, X. Tu, Y. Wu, G. Zhan, and C. Li. (2014). A novel electrochemical sensor for estradiol based on nanoporous polymeric film bearing poly {1-butyl-3-[3-(N-pyrrole) propyl] imidazole dodecyl sulfonate} moiety. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 193, 190-197.
- [123] Zhao, L., F. Zhao, and B. Zeng. (2014). Synthesis of water-compatible surface-imprinted polymer via click chemistry and RAFT precipitation polymerization for highly selective and sensitive electrochemical assay of fenitrothion. *Biosensors and Bioelectronics*. 62, 19-24.
- [124] Kumaravel, A. and M. Chandrasekaran. (2011). A biocompatible nano TiO₂/nafion composite modified glassy carbon electrode for the detection of fenitrothion. *Journal of electroanalytical chemistry*. 650(2), 163-170.
- [125] Özcan, A. and D. Topçuoğulları. (2017). Voltammetric determination of 17- β -estradiol by cysteamine self-assembled gold nanoparticle modified fumed silica decorated graphene nanoribbon nanocomposite. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 250, 85-90.