



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**YENİ KARBONSU SENSÖR
ELEKTROTLARIN HAZIRLANMASI VE
KARAKTERİZASYONLARI:
ANTIOKSİDANLARIN ELEKTROKİMYASAL
ANALİZLERİ**

Nagihan DURMUŞ

DOKTORA TEZİ

Kimya Anabilim Dalı

**Ekim-2020
KONYA
Her Hakkı Saklıdır**

TEZ KABUL VE ONAYI

Nagihan DURMUŞ tarafından hazırlanan “*Yeni Karbonsu Sensör Elektrotların Hazırlanması ve Karakterizasyonları: Antioksidanların Elektrokimyasal Analizleri*” adlı tez çalışması 23/10/2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından **oy birliği / oy çokluğu** ile Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS/DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

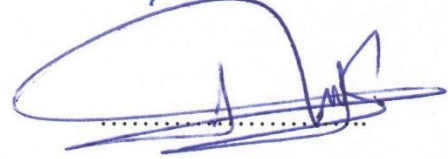
Başkan

Prof. Dr. Bedrettin MERCİMEK



Danışman

Prof. Dr. İbrahim Ender MÜLAZIMOĞLU



Üye

Prof. Dr. Zafer ÜSTÜNDAĞ

ONLINE

Üye

Prof. Dr. Ecir YILMAZ



Üye

Prof. Dr. M. Oğuzhan ÇAĞLAYAN

ONLINE

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. S. Savaş DURDURAN
FBE Müdürü

Bu tez çalışması NEÜ/BAP tarafından 191410001 nolu proje ile desteklenmiştir.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

İmza

Nagihan DURMUŞ

23/10/2020

ÖZET

DOKTORA TEZİ

YENİ KARBONSU SENSÖR ELEKTROTLARIN HAZIRLANMASI VE KARAKTERİZASYONLARI: ANTİOKSİDANLARIN ELEKTROKİMYASAL ANALİZLERİ

Nagihan DURMUŞ

Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. İbrahim Ender MÜLAZIMOĞLU

2020, 119 Sayfa

Jüri

Prof. Dr. İbrahim Ender MÜLAZIMOĞLU

Prof. Dr. Ecir YILMAZ

Prof. Dr. Zafer ÜSTÜNDAĞ

Prof. Dr. M. Oğuzhan ÇAĞLAYAN

Prof. Dr. Bedrettin MERCİMEK

Kuersetin, anti-inflamatuar özelliği, antihistaminik özelliği ve oksidatif stresi düşürme kabiliyeti nedeniyle birçok kanser türüne, kardiyovasküler rahatsızlıklara ve yaşlanmaya karşı etkili olduğu bilinen önemli bir flavonoiddir. Süper besin olarak nitelendirilen bir çok besinin yapısında Kuersetin bulunmaktadır. Özellikle doğal yollarla alınan Kuersetin'in bahsedilen bu rahatsızlıkları iyileştirdiği bilinmektedir. Yapılan bu çalışmada Kuersetin'in doğal numunelerde kantitatif tayini için yeni bir yöntem geliştirilmiştir. Tüm deneylerde çalışma elektrodu olarak oldukça geniş ve aktif yüzeye sahip, yenilenebilirliği yüksek olan kalem grafit elektrot (PGE) ve referans elektrot olarak da Ag/AgCl sulu ortam referans elektrodu kullanılmıştır. Destek elektrolit olarak Kuersetin'in sudaki çözünürlüğünün düşük olmasından dolayı % 20 etanol içeren PBS (pH 7.1) tamponu kullanılmıştır. Kuersetin'in elektrokimyasal davranışları dönüşümlü voltametri (CV) tekniği ile incelenmiştir. Girişim etkisi, konsantrasyon ve kantitatif tayin deneyleri ise kare dalga adsorptif sıyırma voltametrisi (SWAdSV) tekniği kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Geliştirilen metot ile doğal numunelerden Kuersetin tayininde Kuersetin'in molekül yapısına çok benzeyen analitik sinyal potansiyeli Kuersetin'in potansiyeline çok yakın olan Luteolin, Rutin, Morin ve Flavon'un interferans etki oluşturup oluşturmadığı incelenmiş ve herhangi bir interfereans etki oluşturmadıkları sonucuna ulaşılmıştır. Ayrıca çalışmada Luteolin, Rutin ve Morin'in Kuersetin ile ayrı ayrı eş zamanlı tayin edilebilirlikleri de incelenmiş ve birlikte buldukları takdirde Kuersetin'in tayin edilebileceği sonucuna ulaşılmıştır. Optimum cihaz parametrelerinin de belirlenmesinin ardından Kuersetin için kalibrasyon grafiği 9.67 ng mL^{-1} ile 411 ng mL^{-1} ($3.2 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ - $1.36 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) konsantrasyon aralığında çizilmiş, LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 0.51 ng mL^{-1} ($1.7 \times 10^{-9} \text{ M}$) ve 1.54 ng mL^{-1} ($15.1 \times 10^{-9} \text{ M}$) olarak hesaplanmıştır. Geliştirilen yöntem ile pancar suyu, siyah çay, elma suyu, elma sirkesi, vişne suyu, üzüm sirkesi, yeşil çay ve soğuk çay numunelerinde Kuersetin başarıyla tayin edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Eş zamanlı tayin, gerçek numuneler, interferans etki, flavonoid, Kuersetin, sensör elektrot, PGE, SWAdSV.

ABSTRACT

Ph.D THESIS

PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF NEW CARBONACEOUS SENSOR ELECTRODES: ELECTROCHEMICAL ANALYSIS OF ANTIOXIDANTS

Nagihan DURMUŞ

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF
NECMETTİN ERBAKAN UNIVERSITY

Advisor: Prof. Dr. İbrahim Ender MÜLAZIMOĞLU

2020, 119 Pages

Jury

Prof. Dr. İbrahim Ender MÜLAZIMOĞLU

Prof. Dr. Ecir YILMAZ

Prof. Dr. Zafer ÜSTÜNDAĞ

Prof. Dr. M. Oğuzhan ÇAĞLAYAN

Prof. Dr. Bedrettin MERCİMEK

Quercetin is an important flavonide that is known to be effective against many types of cancer, cardiovascular diseases and aging due to its anti-inflammatory properties, antihistamine properties and ability to reduce oxidative stress. There are Quercetin in the structure of many foods that are qualified as superfood. It is known that Quercetin, which is taken naturally, heals these ailments. In this study, a new method was developed for the quantitative determination of Quercetin from natural samples. In all experiments, the graphite electrode (PGE), which has a very wide and active surface, with high renewability, is used as the working electrode, and the Ag / AgCl aqueous medium reference electrode is used as the reference electrode. Due to the low solubility of Quercetin as the support electrolyte, PBS (pH 7.1) buffer containing 20% ethanol was used. Electrochemical behavior of quercetin was investigated by cyclic voltammetry (CV) technique. Interference, concentration and quantitative determination experiments were carried out using the square wave adsorptive stripping voltammetry (SWAdSV) technique. By developing method, in the determination of quercetin from natural samples, it was examined whether Luteolin, Rutin, Morin and Flavon, which are very close to the potential of quercetin, have interference effect and it is concluded that they do not have any interfering effect. In addition, in the study, the simultaneous determination of Luteolin, Rutin and Morin with Quercetin were examined and it was concluded that if they were found in solubility, Quercetin could be determined. After determining the optimum device parameters, the calibration graph for Quercetin was drawn in the concentration range of 9.67 ng mL^{-1} to 411 ng mL^{-1} ($3.2 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ - $1.36 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$), LOD and LOQ values was calculated as 0.51 ng mL^{-1} ($1.7 \times 10^{-9} \text{ M}$) and 1.54 ng mL^{-1} ($15.1 \times 10^{-9} \text{ M}$), respectively. With the developed method, Quercetin was successfully determined in beet juice, black tea, apple juice, apple cider vinegar, cherry juice, grape vinegar, green tea and ice tea samples.

Keywords: Simultaneous determination, real samples, interference effect, flavonoid, Quercetin, sensor electrode, PGE, SWAdSV.

ÖNSÖZ

Doktoraya başlama aşaması gibi dönüm noktası diyebileceğim bir noktada vermiş olduğu çok büyük destekle bu günlere gelmeme vesile olan, doktora süreci boyunca o desteğini hiç esirgemeyen, sahip olduğu değerli bilgilerini öğretme heyecanı ile paylaşan, çalışma konumu belirleme ve çalışmamın şekillenmesi aşamalarında yoluma ışık tutan, hazırcılığa alıştırmayan, çabayla bilgiye ulaşmanın ne kadar değerli olduğunu öğreten, üretmeye zorlayan, bunaldığım ve olmaz dediğim anlarda varlığını her zaman hissettiğim, sabır ve hoşgörüsüyle yıkıcı değil her zaman yapıcı olan, her konuda kendisinden çok şey öğrendiğim çok değerli tez danışmanım Prof. Dr. İbrahim Ender MÜLAZIMOĞLU'na

Doktora çalışmam boyunca her zaman desteğini gördüğüm, yapmış olduğu güzel yorumlar ve paylaşmış olduğu değerli bilgileriyle yardımlarını esirgemeyen, tez sistematığı adına kendisinden çok şey öğrendiğim değerli hocam Prof. Dr. Ecir YILMAZ'a

Engelleri kaldıran yapısıyla bu süreçte çok fazla destek ve yardımlarını gördüğüm, aynı Üniversite çatısı altında bulunamasak da özellikle elektrot geliştirme yöntemleri hususunda yaptığı çalışmalardan ilham aldığım Dumlupınar Üniversitesi Öğretim Üyesi Prof. Dr. Zafer ÜSTÜNDAĞ'a

Her ne kadar birebir çalışma imkanı bulamasam da çalışmalarım ile ilgili yaptığı öngörülü yorumları ve tıkanıp gittiğim noktalardaki doğru yönlendirmeleriyle desteklerini ve samimiyetini her zaman hissettiğim çok sevgili hocam Prof. Dr. Ayşen Demir MÜLAZIMOĞLU'na

Her fırsatta genç bilim insanlarının önünün açılması gerektiğini vurgulayan, gençlerin ön planda olması gerektiğini düşündüğü anlarda bir adım geride durmayı tercih eden, motive edici konuşmalarıyla bizleri cesaretlendiren saygı değer hocam Prof. Dr. Bedrettin MERCİMEK'e

Doktora çalışmamda çok ihtiyaç duyduğum bir zamanda, laboratuvarlarının kapılarını bana açan ve deneylerimi yapabilmem için ellerindeki tüm imkanları bana sunarak desteklerini esirgemeyen Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyesi Prof. Dr. Nafiz Öncü CAN'a ve çalışkanlığı, azmi ve pes etmeyen yapısıyla her zaman örnek aldığım, yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen, laboratuvar disiplini adına bana çok şey katan çok sevgili Dr. Saniye ÖZCAN'a

Çalışmamın tüm aşamalarında maddi manevi varlığıyla her daim yanımda hissettiğim, laboratuarda bana yoldaş olan, yapıcı yorumlarıyla her zaman beni cesaretlendiren, fedakar ve vefalı dostum Dr. Ezher DÜNDAR'a,

Her hususta sonsuz desteklerini her zaman hissettiğim, hayatta nasıl güçlü durmam gerektiğini en çok onlardan öğrendiğim, her zaman dimdik arkamda duran, zor anlarımda benimle beraber o zorlukları göğüsleyen, asla haklarını ödeyemeyeceğim canım annem Emine YURTSEVEN'e, biricik babam M. Faik YURTSEVEN'e ve fedakar kardeşim Yunus Emre YURTSEVEN'e,

Akademik hayatta yola çıkmamda bana öncülük eden, benden daha çok bana güvenen, çok zorlandığım ve bırakmayı düşündüğüm zamanlarda bile benden hiç tereddüt etmeyen, çalışma azmi ve isteğini her zaman örnek aldığım çok değerli eşim Fırat DURMUŞ'a,

Sabırla deneylerimi bitirmemi ve tezimi yazmamı bekleyen, bu uğurda haftalarca ayrı kaldığımız, birlikteyken bile hep anlayış gösterip isteklerini erteleyen, fedakarlığı daha bu yaşlarında öğrenen canım yavrularım Yasemin DURMUŞ ve Nalan DURMUŞ'a,

Sonsuz teşekkürlerimi ve minnetlerimi sunarım.

Nagihan Durmuş
KONYA-2020

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
ÖNSÖZ	vi
İÇİNDEKİLER.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	x
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Serbest Radikaller	1
1.1.1. Serbest radikal kaynakları.....	4
1.2. Antioksidanlar.....	6
1.2.1. Antioksidanların sınıflandırılması	7
1.2.2. Flavonoidler	10
1.3. Elektroanalitik Kimya.....	15
1.3.1. Elektroanalitik kimyada kütle aktarımı.....	15
1.3.2. Elektrokimyasal tabakalar.....	16
1.3.3. Elektrokimyasal teknikler	17
1.4. Voltametri	19
1.4.1. Voltametri sistemi.....	20
1.4.2. Voltametri de kullanılan destek elektrolit ve çözücüler	21
1.4.3. Referans elektrotlar	21
1.4.4. Çalışma elektrotları.....	23
1.4.5. Modifikasyon metotları.....	26
1.4.6. Modifiye yüzeylerin karakterizasyonu	29
1.5. Voltametik Teknikler.....	32
1.5.1. Dönüşümlü voltametri (CV).....	33
1.5.2. Diferansiyel puls voltametrisi (DPV)	38
1.5.3. Kare dalga voltametrisi (SWV)	39
1.5.4. Sabit potansiyelli elektroliz (Bulk elektroliz, BE).....	40
1.5.5. Sıyırma voltametrisi.....	40
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	44
2.1. Antioksidanların Elektrokimyasal Analizi.....	44
2.2. Antioksidanların Elektrokimyasal ve Kromatografik Metodlarla Analizi	55
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	65
3.1. Voltametri Deneyleri	65
3.1.1. Voltametri cihazı ve üç elektrotlu hücre sistemi	65
3.1.2. Kullanılan kimyasal maddeler, çözeltiler ve hazırlanışları.....	67
3.1.3. Referans elektrotların kalibrasyonları.....	71

3.1.4. Deneylerde kullanılan çalışma elektrotları ve temizliği	72
3.1.5. Deneylerde kullanılan elektrokimyasal teknikler	73
3.1.6. Gerçek numune çözeltilerinin temini ve hazırlanması	74
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	77
4.1. Que'in Elektrokimyasal Davranışlarının İncelenmesi	77
4.2. Tarama Hızının Etkisi	79
4.3. Puls Voltametri Çalışmaları	80
4.3.1. Çalışmada kullanılacak destek elektrolitin ve çözelti pH'sının belirlenmesi	80
4.3.2. Tayinde kullanılacak yöntemin belirlenmesi	84
4.3.3. Kare dalga değişkenlerinin incelenmesi	85
4.3.4. Biriktirme ve sıyırma parametrelerinin incelenmesi	87
4.4. Farklı Konsantrasyonlarda Que Çözeltilerinin PGE Yüzeyinde SWAdSV ile Tayini ve Kalibrasyon Eğrisinin Çizilmesi	88
4.5. Que Tayininde Girişim Etkisinin İncelenmesi	89
4.6. Eş Zamanlı Tayin Çalışmaları	93
4.6.1. Que ve Luteolin'in eş zamanlı tayin edilebilirliği	93
4.6.2. Que ve Rutin'in eş zamanlı tayin edilebilirliği	96
4.6.3. Que ve Morin'in eş zamanlı tayin edilebilirliği	99
4.7. Gerçek Numune Analizleri	102
4.7.1. Pancar suyunda Que tayini	102
4.7.2. Siyah çayda Que tayini	104
4.7.3. Elma sirkesinde Que tayini	105
4.7.4. Elma suyunda Que tayini	107
4.7.5. Üzüm sirkesinde Que tayini	109
4.7.6. Vişne suyunda Que tayini	110
4.7.7. Yeşil çayda Que tayini	111
4.7.8. Soğuk çayda Que tayini	113
4.8. Yöntem Validasyonu	114
4.8.1. Doğrusallık aralığı	114
4.8.2. Yöntemin kesinliği	115
4.8.3. Yöntemin tutarlılığı	115
4.8.4. Yöntemin duyarlılığı	116
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	117
KAYNAKLAR	119
ÖZGEÇMİŞ	128

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

A	Elektrodun yüzey alanı, cm^2
D	Difüzyon katsayısı, cm^2/s
i_p	Pik akımı, (A)
N	Elektrolizlenen maddenin mol sayısı, (mol)
C	Ana çözeltideki depolarizer konsantrasyonu, (mol/cm^3), (mol/L)
F	Faraday sabiti, (C/eg)
n	Aktarılan elektron sayısı, (eg/mol)
Q	Devreden geçen yük miktarı, (C)
E	Uygulanan potansiyel, (V)
E_p	Pik potansiyeli, (V)
$E_{p/2}$	Yarı pik potansiyeli, (V)
i_d	Difüzyon akımı, (A)
E^0	Standart potansiyel, (V)
R	İdeal gaz sabiti, (J/K mol)
T	Sıcaklık, (K)
α	Elektrot reaksiyonunun transfer katsayısı
Γ	Elektrot yüzeyine adsorbe olan madde miktarı, (mol/cm^2)
k_f	Katodik elektrot reaksiyonunun hız sabiti, (cm/s)
k_b	Anodik elektrot reaksiyonunun hız sabiti, (cm/s)
k_s	Elektrot reaksiyonunun standart hız sabiti, (cm/s)
v	Tarama hızı (V/s), (mV/s)
E_p^a	Anodik pik potansiyeli, (V)
E_p^k	Katodik pik potansiyeli, (V)
I	Akım (A/cm^2)
E	Potansiyel
K	Kimyasal basamağın denge sabiti
Ox	Yükseltgenen tür
e^-	Elektron
R	Ultramikro elektrodun yarıçapı
t	Zaman (sn)

mV	Milivolt
°C	Derece Santigrat
f	Frekans

Kısaltmalar

SHE	Standart hidrojen elektrot
NPV	Normal puls voltametri
DPV	Diferansiyel puls voltametrisi
SWV	Kare dalga voltametrisi
NPP	Normal puls polarografi
DPP	Diferansiyel puls polarografi
SCP	Merdiven polarografi
CV	Dönüşümlü voltametri
ASV	Anodik sıyırma voltametri
SWAdSV	Kare dalga adsorptif sıyırma voltametrisi
DPAdSV	Diferansiyel puls adsorptif sıyırma voltametrisi
KSV	Katodik sıyırma voltametrisi
LSASV	Doğrusal tarama anodik sıyırma voltametri
BE	Bulk elektroliz
CE	Kimyasal-Elektrokimyasal Mekanizma
EC	Elektrokimyasal-Kimyasal Mekanizma
ECE	Elektrokimyasal-Kimyasal-Elektrokimyasal Mekanizma
EIS	Elektrokimyasal impedans spektroskopisi
CA	Kronoamperometri
CC	Kronokulometri
EQCM	Elektrokimyasal kuartz kristal mikrobalans
SEM	Taramalı elektron mikroskopisi
HRTEM	Yüksek çözünürlüklü transmisyon elektron mikroskobu
AFM	Atomik kuvvet mikroskopisi
XPS	X-Işını fotoelektron spektroskopisi
HBF ₄	Tetrafloroborik asit
GC	Camsı karbon
SPE	Ekran baskılı elektrot

NBu ₄ BF ₄	Tetrabütülamonyum tetrafloroborat
CH ₃ CN	Asetonitril
BR	Britton-Robinson tampon çözeltisi
NaOH	Sodyum hidroksit
KCl	Potasyum klorür
H ₃ BO ₃	Borik asit
H ₃ PO ₄	Fosforik asit
CH ₃ COOH	Asetik asit
K ₃ Fe(CN) ₆	Potasyum ferrisiyanür
K ₄ Fe(CN) ₆	Potasyum ferrosiyanür
HCF (II)	Hegzasiyanoferrat II
HCF (III)	Hegzasiyanoferrat III
BHT	Bütillenmiş hidroksitoluen
TBHQ	Tersiyerbütüldihidrokinon
BHA	Bütillenmiş hidroksianisol
PGE	Kalem grafit elektrot
LOD	Alt tayin sınırı
LOQ	Tespit sınırı
MWCNT	Çok duvarlı karbon nanotüp
QUE	Kuersetin
ROT	Reaktif oksijen türleri
BHT	Bütillenmiş hidroksitoluen
BHA	Bütillenmiş hidroksianisol
TBHQ	Tersiyerbütüldihidrokinon
PG	Propil galat

ŞEKİL VE ÇİZELGELER DİZİNİ

Şekil 1.1.	Antioksidanların sınıflandırılması	9
Şekil 1.2.	Flavonoid türevlerinin sınıflandırılmasında kullanılan temel yapılar	11
Şekil 1.3.	Çalışmada kullanılan flavonoidler	12
Şekil 1.4.	Elektrot yüzeyindeki tabakaların şematize olarak gösterilmesi	17
Şekil 1.5.	Arayüzey elektrokimyasal teknikler	18
Şekil 1.6.	Voltametri sistemi	20
Şekil 1.7.	Üç elektrodun çeşitli destek elektrolitleri içindeki potansiyel aralığı.	23
Şekil 1.8.	Karbon pasta elektrot ve pasta karışımının elektroda doldurulması	24
Şekil 1.9.	Kalem grafit elektrot	25
Şekil 1.10.	Alkol oksidasyonu yöntemi ile elde edilen yüzey	27
Şekil 1.11.	Amin oksidasyonu yöntemi ile elde edilen yüzey	28
Şekil 1.12.	Diazonyum tuzu indirgenmesi ile elde edilen yüzey	29
Şekil 1.13.	Örnek bir elementin kaplanmadan önce (a) ve kaplandıktan sonra (b) alınmış impedans spektroskopisi	30
Şekil 1.14.	Yüzey spektrometrinin genel şeması	31
Şekil 1.15.	Voltametricde kullanılan uyarma sinyalleri	33
Şekil 1.16.	A) Dönüşümlü voltametri için kullanılan uyarma sinyali B) Dönüşümlü voltametriye ait bir voltamogram	33
Şekil 1.17.	A) Diferansiyel puls voltametrisi için kullanılan uyarma sinyali B) Diferansiyel puls voltametrisine ait bir voltamogram	38
Şekil 1.18.	A) Kare dalga voltametrisi için kullanılan uyarma sinyali B) Kare dalga voltametrisine ait bir voltamogram	39
Şekil 1.19.	Sıyırma tekniklerinde potansiyel-zaman profili	42
Şekil 2.1.	Adenin bazının GC elektrot yüzeyine immobilize edilmesi ve tasarlanan sensör elektrodun SWV voltamogramı. (a) blank sinyali (maks. pik akımı) (b) hidroksil radikali hasarı (c) bir antioksidan ortamında hidroksil radikali hasarı (Askorbik asit)	45
Şekil 2.2.	Guanin bazının GC elektrot yüzeyine immobilize edilmesi ve tasarlanan sensör elektrodun SWV voltamogramı. (a) blank sinyali (maks. pik akımı) (b) hidroksil radikali hasarı (c) bir antioksidan ortamında hidroksil radikali hasarı (Askorbik asit)	46
Şekil 2.3.	Farklı konsantrasyonlardaki Rutin'in kare dalga voltamogramları (a- p: 1.1×10^{-8} - 1.5×10^{-5})	47
Şekil 2.4.	Asetonitrilde çözülmüş 100 mM NBU_4BF_4 da hazırlanmış 1 mM Kuersetin, Galangin, 3HF ve Krisin'in +300 ve +1700 mV potansiyel aralığında GC/AHP elektrotla elde edilmiş voltamogramları. 100 mV s^{-1} tarama hızında Ag/Ag^+ (10 mM) referans elektroda karşı	48
Şekil 2.5.	Naringin için elektrot seçimi. 0.10 mol L^{-1} KCl içeren 5.0 mmol L^{-1} $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ çözeltisi içerisinde a) Modifiye olmamış PGE; (b) MWCNTs-PDDA/PGE ve (c) MWCNTs-PDDA/DNA/PGE için alınan EIS görüntüleri	50

Şekil 2.6.	ds-DNA/PDDA-MWCNTs/PGE yüzeyinde Guanin ve Adenin'in Naringin ile etkileşimi sonucu alınan DPV. (2.0, 20.0, 100.0, 400.0 ve 600.0 mg L ⁻¹ derişimlerinde, pH 4.8 asetat tamponu içerisinde, +0.40 V ve +1.40 V potansiyel aralığında)	50
Şekil 2.7.	0.1 mmol Baikalin çözeltisinin BDD (bor katkılı elmas) elektrot ile a) dönüşümlü voltamogramları (BR, pH 2, 100 mV/s) b) SWV ile farklı konsantrasyonlarda Baikalin tayini	52
Şekil 2.8.	a) 10 µM Baikalin'in Ürik asit varlığında ve yokluğunda alınan SW voltamogramları b) 10 µM Baikalin'in Dopamin varlığında ve yokluğunda alınan SW voltamogramları	53
Şekil 2.9.	Üre örneği içerisinde farklı derişimlerde (2, 3, 4 ve 5 µM) Baikalin standartı ilavesi ile elde edilmiş voltamogramlar	53
Şekil 2.10.	10 mmol/L PG and 6 mmol/L BHA'nın diferansiyel puls voltamogramları (a) bare GC, (b) GO/GCE, (c) NH ₂ -β-CD/rGO	55
Şekil 2.11.	NH ₂ -β CD/rGO/GC elektrodun BR (pH 5.72) tamponunda diferansiyel puls voltamogramları (A) 10 µmol/L BHA varlığında farklı konsantrasyonlarda PG: 0.1, 0.8, 1.0, 3.0, 5.0, 8.0, 10.0, 15.0, 20.0, 25.0 ve 30.0 µmol/L(a-k) ve (B) 6.0 µmol/L PG varlığında farklı konsantrasyonlarda BHA: 0.05, 0.5, 0.8, 3.0, 8.0, 10.0, 15.0, 20.0, 25.0 and 30.0 µmol/L(a-j)	55
Şekil 2.12.	0.4 µg L ⁻¹ derişimdeki BA çözeltisinin kare dalga voltamogramı. (BA'nın -1 V potansiyelde 30 s boyunca birikmesi sağlanmıştır.)	56
Şekil 2.13.	0.4 µg L ⁻¹ derişimdeki BA çözeltisinin 0 ile 1.7 V potansiyel aralığındaki (a) camısı karbon elektrot (b) ve kurşun film elektrot ile elde edilen anodik sıyırma kare dalga voltamogramları	57
Şekil 2.14.	HPLC kromatogramları: (a) bir bark ekstraktı; (b) 0.01 g L ⁻¹ BA; (c) 0.015 g L ⁻¹ BA; (d) 0.06 g L ⁻¹ BA	57
Şekil 2.15.	HPLC ayırımından sonra bir bark (B. Verrucosa) ekstraktından elde edilen kare dalga voltomogramları (a) 0.5 µg örnekte (b) 0.03 µg L ⁻¹ BA (c) 0.06 µg L ⁻¹ BA (d) 0.09 µg L ⁻¹ BA (BA, elektrot yüzeyinde -1.0 V potansiyelde 15 s boyunca doğrusal olarak biriktirilmiştir.)	58
Şekil 2.16.	SWV ile alınmış farklı konsantrasyonlarda Kuersetin çözeltilerinin FeNPs/2-AETGO/GC elektrot yüzeyinde tayini	59
Şekil 2.17.	5×10 ⁻⁵ M Ropinirol'ün dönüşümlü voltamogramları (a) Çıplak GCE, (b) NAF/GCE, (c) CNT/GCE, (d) CNT-NAF/GCE; 0.1 M H ₂ SO ₄ içerisinde	60
Şekil 2.18.	2×10 ⁻⁵ M Ropinirol ve Levodopa'nın kare dalga sıyırma voltamogramları. (a) 240 s önderiştirmeden sonra (b) önderiştirme yapmadan (c) destek elektrolit	60
Şekil 2.19.	Farklı konsantrasyonlardaki Ropinirol'ün (1×10 ⁻⁷ - 1×10 ⁻⁵ M) CNT-NAF/GCE ile adsorptif sıyırma kare dalga voltamogramları	61
Şekil 2.20.	1×10 ⁻⁶ M Ropinirol varlığında farklı konsantrasyonlarda (2.5×10 ⁻⁷ - 1×10 ⁻⁵ M) Levadopanin CNT-NAF/GC elektrot ile elde edilen adsorptif sıyırma kare dalga voltamogramları	61
Şekil 2.21.	1 mM (a) Kuersetin, (b) Kaemferol, (c) Kateşin, (d) Resveratrol çözeltilerinin dönüşümlü voltamogramları. 10 mV/s tarama hızında	64
Şekil 2.22.	LC/EC/ESI-MS/MS ile sarı soğan ekstraktının (a) amperogram, (b) toplam iyon kromatogramı (TIC), (c) Q3,4'G m/z 625, (d) Q3G m/z 463, (e) Q4'G m/z 463, and (f) Q as m/z 30. EC potansiyeli 1.4 V Ag/AgCl'e karşı	65

Şekil 3.1.	Deneyde kullanılan Elektrokimyasal Analizörler	66
Şekil 3.2.	Elektrokimyasal deneyler ve İmpedans deneylerinin gerçekleştirildiği sistem ve üç elektrotlu hücre düzeneği	67
Şekil 3.3.	Çıplak GC elektrodun kalibrasyon amaçlı a) susuz ortam ve b) sulu ortamda alınan voltamogramları	72
Şekil 4.1.	Temel Flavon iskelet yapısı ve Que	78
Şekil 4.2.	1.32×10^{-4} M Que molekülünün destek elektrolit içerisinde (SE)* PGE yüzeyine -100/+700 mV potansiyel aralığında 100 mV s^{-1} tarama hızında 30 döngülü CV voltamogramı	79
Şekil 4.3.	1.32×10^{-4} M Que'in SE içinde PGE yüzeyinde gerçekleşen modifikasyonunun difüzyon kontrollü olarak gerçekleşip gerçekleşmediğini anlamak için (a) 50, (b) 100, (c) 200, (d) 300, (d) 400 mV s^{-1} tarama hızlarıyla elde edilen voltamogramların çakıştırılmış görüntüleri	80
Şekil 4.4.	Que'e ait tarama hızı karekökü-pik akımı ilişkisi. Que derişimi, 1.32×10^{-4} M; yöntem, LSV; SE, (% 80 PBS (pH 7.1) +% 20 EtOH); elektrot, PGE	81
Şekil 4.5.	1.32×10^{-4} M Que'in PBS (pH 7.1) tamponu kullanılarak sırasıyla farklı oranlarda etil alkol içerisinde çözülmesiyle elde edilen SWV voltamogramları; a) % 80 EtOH +% 20 PBS, b) % 50 EtOH +% 50 PBS, c) % 20 EtOH +% 80 PBS; elektrot, PGE; tarama hızı, 100 mV s^{-1}	82
Şekil 4.6.	1.32×10^{-4} M Que için % 80 BR + % 20 EtOH içinde farklı pH'larda elde edilen SWS voltamogramları. a) pH 9.0, b) pH 8.0, c) pH 7.0, d) pH 6.0, e) pH 5.0, f) pH 4.0, g) pH 3.0, h) pH 2.0.	83
Şekil 4.7.	1.32×10^{-4} M Que çözeltisinin % 80 PBS + % 20 EtOH içinde farklı pH'larda alınan voltamogramları, a) pH 6.8, b) pH 6.9, c) pH 7.0, d) pH 7.1, e) pH 7.2, f) pH 7.3	84
Şekil 4.8.	A) (a) SE, (b) SE içerisinde hazırlanan 1.32×10^{-6} M Que çözeltisinin -1000/+1000 mV potansiyel aralığında DPV voltamogramları. B) (a) SE, (b) SE içerisinde hazırlanan 1.32×10^{-6} M Que çözeltisinin -1000/+1000 mV potansiyel aralığında DPAdSV voltamogramları	85
Şekil 4.9.	A) (a) SE, (b) SE içerisinde hazırlanan 1.32×10^{-6} M Que çözeltisinin -1000/+1000 mV potansiyel aralığında SWV voltamogramları. B) (a) SE, (b) SE içerisinde hazırlanan 1.32×10^{-6} M Que çözeltisinin -1000/+1000 mV potansiyel aralığında SWAdSV voltamogramları	85
Şekil 4.10.	A) 1.32×10^{-6} M Que ve B) 1.32×10^{-7} M Que'in PGE kullanılarak % 20 EtOH içeren PBS tamponu (pH 7.1) içinde farklı frekanslarda elde edilen SWAdSV voltamogramları, biriktirme süresi, 120 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V	86
Şekil 4.11.	A) 1.32×10^{-6} M Que ve B) 1.32×10^{-7} M Que'in PGE kullanılarak % 20 EtOH içeren PBS tamponu (pH 7.1) içinde farklı genliklerde elde edilen SWAdSV voltamogramları, biriktirme süresi, 120 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V	87
Şekil 4.12.	1.32×10^{-6} M Que'in PGE kullanılarak % 20 EtOH içeren PBS tamponu (pH 7.1) içinde farklı adım gerilimleri için elde edilen SWAdSV voltamogramları, biriktirme süresi, 120 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V	87
Şekil 4.13.	1.32×10^{-6} M Que'in PGE kullanılarak % 20 EtOH içeren PBS tamponu (pH 7.1) içinde A) farklı biriktirme süreleri ve B) farklı	88

	biriktirme gerilimleri (0.0-0.5 mV) için elde edilen SWAdSV voltamogramları, frekans, 25 Hz; adım gerilimi, 1 mV; genlik, 50 mV	
Şekil 4.14.	PGE kullanarak Que'in farklı konsantrasyonlarının SE içerisinde elde edilen karşılaştırılmış SWAdSV voltamogramları. (a) 9.67, (b) 19.82, (c) 49.26, (ç) 87.64, (d) 123.9 (e) 162.6, (f) 180.7, (g) 198.8, (h) 216.7, (i) 234.5, (i) 278, (j) 362.6, (k) 411 ng mL ⁻¹	89
Şekil 4.15.	Konsantrasyona karşılık elde edilen pik akımı değerleriyle çizilen kalibrasyon grafiği	90
Şekil 4.16.	% 20 EtOH içeren 0.1 M PBS (pH 7.1) içerisinde PGE kullanılarak (a) Que, (b) Luteolin, (c) Rutin (d) Morin ve (e) SE için alınan SWAdSV voltamogramları. Tarama hızı 100 mV s ⁻¹ . (Her bir madde için 1.32×10 ⁻⁴ M konsantrasyonunda)	91
Şekil 4.17.	% 20 EtOH içeren 0.1 M PBS (pH 7.1) tamponu içinde PGE kullanılarak Que, Luteolin, Rutin, Morin ve Flavon için alınan SWAdSV voltamogramları. Tarama hızı 100 mV s ⁻¹ . a) 10 mL SE içerisine sırasıyla b) 50 µL 1.32×10 ⁻⁷ M Morin ilavesi, c) 50 µL 1.32×10 ⁻⁶ M Que ilavesi, d) 50 µL 1.32×10 ⁻⁶ M Que ilavesi, e) 50 µL 6.55×10 ⁻⁶ M Rutin ilavesi, f) 50 µL 6.55×10 ⁻⁶ M Rutin ilavesi, g) 50 µL 1.39×10 ⁻⁷ M Luteolin ilavesi, h) 50 µL 1.32×10 ⁻⁶ M Que ilavesi, j) 50 µL 1.32×10 ⁻⁶ M Que ilavesi, k) 50 µL 1.32×10 ⁻⁶ M Que ilavesi, l) 50 µL 1.32×10 ⁻⁶ M Que ilavesi m) 50 µL 1.8×10 ⁻⁷ M Flavon ilavesi sonrasında alınan voltamogramlar	92
Fig.4.18.	% 20 EtOH içeren 0.1 M PBS (pH 7.1) tamponu içinde PGE kullanılarak siyah çay, Que, Luteolin, Rutin ve Morin için alınan SWAdSV voltamogramları. Tarama hızı 100 mV s ⁻¹ . a) 10 mL SE içerisine sırasıyla, b) 50 µL siyah çay çözelti ilavesi, c) 100 µL 1.32×10 ⁻⁶ M Que ilavesi, d) 100 µL 1.32×10 ⁻⁶ M Que ilavesi, e) 100 µL 1.39×10 ⁻⁶ M Luteolin ilavesi, f) 100 µL 1.39×10 ⁻⁶ M Luteolin ilavesi, g) 100 µL 6.55×10 ⁻⁷ M Rutin ilavesi, h) 100 µL 1.32×10 ⁻⁵ M Morin ilavesi, j) 100 µL 1.32×10 ⁻⁵ M Morin ilavesi, k) 100 µL 1.32×10 ⁻⁵ M Morin ilavesi	93
Şekil 4.19.	PGE kullanılarak 75.13 ng mL ⁻¹ (2.63×10 ⁻⁷ M) Luteolin'e karşılık farklı konsantrasyonlarda a) 19.94, b) 31.94, c) 43.52, d) 55.27, e) 66.49, f) 77.6, g) 88.55, h) 99.13, i) 109.7 ng mL ⁻¹ Que için elde edilen SWAdSV voltamogramları. Tarama hızı 100 mV s ⁻¹	95
Şekil 4.20.	Sabit miktarda Luteolin içeren çözeltide değişen Que konsantrasyonları ile elde edilen pik akımları arasında çizilen kalibrasyon grafiği	95
Şekil 4.21.	PGE kullanılarak 1.99 µg mL ⁻¹ (6.6×10 ⁻⁶ M) Que'e karşılık farklı konsantrasyonlarda a) 19.89 b) 39.2, c) 58.39, d) 77.25, e) 95.63, f) 113.66, g) 131.3, h) 148.7 ng mL ⁻¹ Luteolin için elde edilen SWAdSV voltamogramları. Tarama hızı 100 mV s ⁻¹	96
Şekil 4.22.	Sabit miktarda Que içeren çözeltide değişen Luteolin konsantrasyonları ile elde edilen pik akımları arasında çizilen kalibrasyon grafiği	97
Şekil 4.23.	PGE kullanılarak 2 µg mL ⁻¹ (3.28×10 ⁻⁶ M) Rutin'e karşılık farklı konsantrasyonlarda a) 76, b) 112, c) 152, d) 190, e) 226, f) 262, g) 297, h) 329 ng mL ⁻¹ Que için elde edilen SWAdSV voltamogramları. Tarama hızı 100 mV s ⁻¹	98

Şekil 4.24.	Sabit miktarda Rutin içeren çözeltilerde değişen Que konsantrasyonları ile elde edilen pik akımları arasında çizilen kalibrasyon grafiği	98
Şekil 4.25.	PGE kullanılarak 199.4 ng mL ⁻¹ (6.6×10 ⁻⁷ M) Que'e karşılık farklı konsantrasyonlarda a) 1.3, b) 1.72, c) 2.1, d) 2.45, e) 2.80, f) 3.14, g) 3.47 µg mL ⁻¹ Rutin için elde edilen SWAdSV voltamogramları. Tarama hızı 100 mV s ⁻¹	99
Şekil 4.26.	Sabit miktarda Que içeren çözeltilerde değişen Rutin konsantrasyonları ile elde edilen pik akımları arasında çizilen kalibrasyon grafiği	99
Şekil 4.27.	PGE kullanılarak 24 ng mL ⁻¹ (7.94×10 ⁻⁶ M) Morin'e karşılık farklı konsantrasyonlarda a) 19.34, b) 37.77, c) 55, d) 74.2, e) 92.15, f) 110, g) 127.5 ng mL ⁻¹ Que için elde edilen SWAdSV voltamogramları. Tarama hızı 100 mV s ⁻¹	100
Şekil 4.28.	Sabit miktarda Morin içeren çözeltilerde değişen Que konsantrasyonları ile elde edilen pik akımları arasında çizilen kalibrasyon grafiği	101
Şekil 4.29.	PGE kullanılarak 19.34 ng mL ⁻¹ (6.4×10 ⁻⁸ M) Que'e karşılık farklı konsantrasyonlarda a) 76, b) 112, c) 152, d) 190, e) 226, f) 262, g) 297, h) 329 ng mL ⁻¹ Morin için elde edilen SWAdSV voltamogramları. Tarama hızı 100 mV s ⁻¹	102
Şekil 4.30.	Sabit miktarda Que içeren çözeltilerde değişen Morin konsantrasyonları ile elde edilen pik akımları arasında çizilen kalibrasyon grafiği	102
Şekil 4.31.	Pancar suyu numunesinin SE içerisinde kaydedilen SWAdSV voltamogramları (a) 10 mL SE, (b) 100 µL pancar suyu çözeltisi ilaveli, (c) 50 µL 1.32×10 ⁻⁶ M Que, (d) 50 µL 1.32×10 ⁻⁶ M Que, (e) 50 µL 1.32×10 ⁻⁶ M Que, (f) 50 µL 1.32×10 ⁻⁶ M Que, (g) 50 µL 1.32×10 ⁻⁶ M Que ilaveleri sonrası alınan SWAdSV voltamogramları. Elektrot, PGE; biriktirme süresi 150 s biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans, 25 Hz; adım gerilimi, 1 mV; adım potansiyeli, 50 mV	104
Şekil 4.32.	Değişen pancar konsantrasyonlarına karşı elde edilen pik akımları kullanılarak çizilen kalibrasyon grafiği	105
Şekil 4.33.	Siyah çay numunesinin SE içerisinde kaydedilen SWAdSV voltamogramları. (a) 10 mL SE, (b) 100 µL siyah çay çözeltisi ilaveli, (c) 100 µL 1.32×10 ⁻⁶ M Que, (d) 25 µL 1.32×10 ⁻⁵ M Que, (e) 50 µL 1.32×10 ⁻⁵ M Que, (f) 10 µL 1.32×10 ⁻⁴ M Que, (g) 10 µL 1.32×10 ⁻⁴ M Que, (h) 10 µL 1.32×10 ⁻⁴ M Que, (i) 5 µL 1.32×10 ⁻⁴ M Que ilaveleri sonrası alınan SWAdSV voltamogramları. Elektrot, PGE; biriktirme süresi 150 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans, 25 Hz; adım gerilimi, 1 mV; adım potansiyeli, 50 mV	106
Şekil 4.34.	Değişen siyah çay konsantrasyonlarına karşı elde edilen pik akımları kullanılarak çizilen kalibrasyon grafiği	106
Şekil 4.35.	Elma sirkesi numunesinin SE içerisinde kaydedilen SWAdSV voltamogramları (a) 10 mL SE, (b) 300 µL elma sirkesi çözeltisi ilaveli, (c) 25 µL 1.32×10 ⁻⁶ M Que, (d) 25 µL 1.32×10 ⁻⁵ M Que, (e) 50 µL 1.32×10 ⁻⁵ M Que, (f) 50 µL 1.32×10 ⁻⁵ M Que, (g) 50 µL 1.32×10 ⁻⁵ M Que ilaveleri sonrası SWAdSV voltamogramları. Elektrot, PGE; biriktirme süresi 150 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans, 25 Hz; adım gerilimi, 1 mV; adım potansiyeli, 50 mV	107
Şekil 4.36.	Değişen elma sirkesi konsantrasyonlarına karşı elde edilen pik akımları kullanılarak çizilen kalibrasyon grafiği	108

Şekil 4.37.	Elma suyu numunesinin SE içerisinde kaydedilen SWAdSV voltamogramları (a) 10 mL SE, (b) 200 µL elma suyu çözeltisi ilaveli, (c) 25 µL 1.32×10^{-6} M Que, (d) 25 µL 1.32×10^{-5} M Que, (e) 50 µL 1.32×10^{-5} M Que, (f) 10 µL 1.32×10^{-4} M Que, (g) 10 µL 1.32×10^{-4} M Que, (f) 10 µL 1.32×10^{-4} M Que ilaveleri sonrası SWAdSV voltamogramları. Elektrot, PGE; biriktirme süresi 150 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans, 25 Hz; adım gerilimi, 1 mV; adım potansiyeli, 50 mV	109
Şekil 4.38.	Değişen elma suyu konsantrasyonlarına karşı elde edilen pik akımları kullanılarak çizilen kalibrasyon grafiği	109
Şekil 4.39.	Üzüm sirkesi numunesinin SE içerisinde kaydedilen SWAdSV voltamogramları (a) 10 mL SE, (b) 50 µL üzüm sirkesi çözeltisi ilaveli, (c) 50 µL 1.32×10^{-6} M Que, (d) 50 µL 1.32×10^{-6} M Que, (e) 100 µL 1.32×10^{-6} M Que, (f) 100 µL 1.32×10^{-6} M Que ve (g) 50 µL 1.32×10^{-6} M Que ilaveleri sonrası SWAdSV voltamogramları. Elektrot, PGE; biriktirme süresi 150 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans, 25 Hz; adım gerilimi, 1 mV; adım potansiyeli, 50 mV	110
Şekil 4.40.	Değişen üzüm sirkesi konsantrasyonlarına karşı elde edilen pik akımları kullanılarak çizilen kalibrasyon grafiği	111
Şekil 4.41.	Vişne suyu numunesinin SE içerisinde kaydedilen SWAdSV voltamogramları (a) 10 mL SE, (b) 50 µL vişne suyu çözeltisi ilaveli, (c) 25 µL 1.32×10^{-6} M Que, (d) 25 µL 1.32×10^{-5} M Que, (e) 50 µL 1.32×10^{-5} M Que, (f) 10 µL 1.32×10^{-4} M Que ve (g) 10 µL 1.32×10^{-4} M Que, (h) 5.5 µL 1.32×10^{-4} M Que ilaveleri sonrası SWAdSV voltamogramları. Elektrot, PGE; biriktirme süresi 150 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans, 25 Hz; adım gerilimi, 1 mV; adım potansiyeli, 50 mV	111
Şekil 4.42.	Değişen vişne suyu konsantrasyonlarına karşı elde edilen pik akımları kullanılarak çizilen kalibrasyon grafiği	112
Şekil 4.43.	Yeşil çay numunesinin SE içerisinde kaydedilen SWAdSV voltamogramları (a) 10 mL SE, (b) 100 µL yeşil çay çözeltisi ilaveli, (c) 25 µL 1.32×10^{-6} M Que, (d) 25 µL 1.32×10^{-5} M Que, (e) 50 µL 1.32×10^{-5} M Que, (f) 5 µL 1.32×10^{-4} M Que, (g) 5 µL 1.32×10^{-4} M Que ve (h) 5 µL 1.32×10^{-4} M Que ilaveleri sonrası SWAdSV voltamogramları. Elektrot, PGE; biriktirme süresi 150 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans, 25 Hz; adım gerilimi, 1 mV; adım potansiyeli, 50 mV	113
Şekil 4.44.	Değişen yeşil çay konsantrasyonlarına karşı elde edilen pik akımları kullanılarak çizilen kalibrasyon grafiği	113
Şekil 4.45.	Soğuk çay numunesinin SE içerisinde kaydedilen SWAdSV voltamogramları (a) 10 mL SE, (b) 100 µL soğuk çay çözeltisi ilaveli, (c) 25 µL 1.32×10^{-6} M Que, (d) 25 µL 1.32×10^{-5} M Que, (e) 50 µL 1.32×10^{-5} M Que, (f) 50 µL 1.32×10^{-5} M Que, (g) 5 µL 1.32×10^{-4} M Que ve (h) 5 µL 1.32×10^{-4} M Que ilaveleri sonrası SWAdSV voltamogramları. Elektrot, PGE; biriktirme süresi 150 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans, 25 Hz; adım gerilimi, 1 mV; adım potansiyeli, 50 mV	114
Şekil 4.46.	Değişen soğuk çay konsantrasyonlarına karşı elde edilen pik akımları kullanılarak çizilen kalibrasyon grafiği	115

Şekil 4.47.	PGE kullanılarak 5.92×10^{-7} M Que'in ardı ardına üç kez alınan SWAdSV voltamogramlarının çakıştırılmış görüntüleri	116
Çizelge 1.1	Radikaller, simgeleri ve özellikleri	4
Çizelge 2.1.	Quercetin tayininde LC-MS ve SWV analiz sonuçları	59
Çizelge 2.2.	CNT-NAF/GCE ile ROP ve L-dopanin voltametrik tayininde SWV ve AdSWV tekniklerinin analiz sonuçları	62
Çizelge 2.3.	ROP ve L-dopa tayininde SWV ve HPLC tekniklerinin analiz sonuçları	62
Çizelge 3.1.	Çalışmalar süresince kullanılan kimyasal maddelerin listesi ve özellikleri	69
Çizelge 3.2.	Yapılan çalışmalar için hazırlanan çözeltiler ve hazırlanma şartları	70



1. GİRİŞ

1.1. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, dış orbitallerinde bir ya da daha çok ortaklanmamış elektron taşıyan molekül veya atomlardır (Mercan, 2004). Ortaklanmamış bu elektronlar atom veya molekülün üstüne konulan nokta ile gösterilirler (Akkuş, 1995). Atom veya molekülün eksik elektronunu tamamlama isteğinden dolayı serbest radikaller bağ yapmak ve bileşik oluşturmak için aktif yapıdadırlar (Deaton ve Marlin, 2003).

Bir bağın oluşabilmesi için iki elektrona ihtiyaç vardır ve bu elektronları spin yönü birbirine terstir. Bağ yapımına katılmış bu elektron çiftleri kararlı yapıdadır. İnsan vücudunda da elektronlar oluşturdukları bileşiklerden ötürü çiftler halinde bulunur. Bağ kopmasıyla elektronlar ya tek bir atomda kalır ya da ayrılarak farklı atomlarda kalır. Elektronların tek bir atomda kalmasıyla iyonlar oluşurken, farklı atomlara ayrılmasıyla ise serbest radikaller oluşur. Ortaklanmamış olan bu elektronlar çok yüksek enerjiye sahiptir ve elektronlardan eşleşmiş olanları da ayırıp işlevlerine engel olurlar (Nelson ve Cox, 2004; Bursal, 2009).

Bir atomun reaksiyon aktivitesi son yörüngedeki elektronlarıyla ilgilidir. Son yörüngesinde ortaklaşmamış elektron bulunduran atom veya moleküllerin reaksiyon aktivitesi oldukça yüksektir. Fakat soygazlar gibi son yörüngelerindeki elektronları tam dolu olan elementler kararlı atomlardır ve doğada serbest atomları halinde bulunurlar (He, Ne, Ar, ..). Bunun tersine bazı elementler de son yörüngelerinde ortaklanmamış elektron bulundurduklarından doğada molekülleri halinde bulunurlar (H₂, Cl₂, O₂..). Buradan yola çıkarak serbest radikaller dış orbitallerinde ortaklanmamış bir elektron bulundurduklarından reaksiyon aktiviteleri çok yüksektir (Kılınç ve Kılınç, 2002). Reaksiyon aktivitelerinin yüksek olması yarı ömürlerinin çok kısa olmalarına, proteinler, nükleit asitler ve lipidler gibi hücrelerin tüm molekülleriyle etkileşime geçip yıkıcı peroksidasyon reaksiyonları başlatmalarına sebep olur ve böylelikle metabolizmada dönüşü olmayan olumsuz neticeler doğurabilirler. Fakat serbest radikallerin bu olumsuz etkileri antioksidan sistemlerin varlığı ile daha başlamadan engellenebilir (Fantel, 1996; Stadtman, 2002).

Reaktif serbest radikaller, tahrip güçleri çok yüksek olduğundan, insan sağlığını tahrip eden hastalıkların ortaya çıkmasındaki rollerinden dolayı son zamanlarda oldukça önem kazanmışlardır (Kuntal ve ark., 2005).

Son yörüngelerindeki orbitalleri tam dolu olmayan ve ortaklanmamış elektronlara sahip Mn^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} gibi geçiş metalleri serbest radikal özelliği göstermezler ama serbest radikal oluşumunda etkilidirler (Hollszky, 1984). Bu durum atom veya moleküllerin serbest radikal olarak değerlendirilmesi için sadece elektron dizilimlerine bakmanın çok doğru olmadığını göstermektedir. Termodinamik yapıları ve lokal kinetik reaksiyon aktiviteleri de serbest radikal davranış sergilemelerinde etkilidir.

Serbest radikaller başlıca 3 temel mekanizma ile oluşurlar:

1. Kovalent bağların homolitik kırılması: Bir molekülü oluşturan kovalent bağın homolitik yıkılması sonucu, bağı oluşturan iki elektronun her birinin ayrı atomlar üzerinde kalması ile serbest radikaller meydana gelmektedir.



2. Bir molekülün elektron kaybetmesi: Radikal özelliği bulunmayan bir molekülün yapısındaki atomlardan birisinden elektron uzaklaştırılması sonucu oluşmaktadır.



3. Bir moleküle elektron transferi: Bir molekül yapısına elektron eklenmesi sonucu reaktif özellik taşıyan yapılar oluşmaktadır (Akkuş, 1995).



Organizmalarda serbest radikallerin oluşması kaçınılmazdır. Organizma yaşamsal faaliyetlerini gerçekleştirirken ve kendisi için gerekli enerji hücrelerinde üretilirken gerçekleşen reaksiyonlar sonucunda serbest radikaller de üretilir. Hızlı reaksiyon eğiliminde olan bu radikaller en kolay hücre zarlarıyla etkileşime geçerler ve elektron alarak hücre zarlarıyla eşleşirler. Böylelikle hücre zarının ve devamında hücrenin zarar görmesine sebep olurlar (Coyle, 1984).

Canlı organizmalarda yaşamsal faaliyetler sonucu sürekli oluşturulan serbest radikaller antioksidan maddelerin oluşturduğu savunma sistemini ortadan kaldırılmasına sebep olan

moleküllerdir. Oluşan serbest radikaller eğer antioksidan sistemlerce bertaraf edilebiliyorsa bir oksidatif dengenin varlığı söz konusudur. Bu durumda canlı organizmalar serbest radikallerin oluşturduğu yıkıcı etkilerden etkilenmezler. Fakat oksidatif dengede bozulmanın olduğu ve serbest radikal oluşumunun antioksidan savunma sistemine kıyasla daha fazla olduğu durumlarda denge serbest radikaller yönüne kayar ve oksidatif stres oluşur (Serafini ve Del Rio, 2004; Hermes-Lima ve ark., 2001).

Organizmalarda serbest radikaller aerobik metabolizma faaliyetleri sonucu, çevresel kirleticilerin ve karsinojenik bileşiklerin etkisiyle ve eksojen kaynaklı olmak gibi çok farklı şekillerde oluşmaktadırlar. Özellikle aerobik metabolizma faaliyetlerinde oksijenin kullanılmasıyla organizma için besinlerden ATP üretilir. Oksijenin kullanıldığı bu işlem sürecinde oksijen H_2O 'ya indirgenmektedir. Bu reaksiyon, zincirleme 4 basamakta gerçekleşmekte ve ara basamaklar sonucunda da reaktif oksijen türleri (ROT) oluşmaktadır. ROT türleri; süperoksit radikali ($O_2\cdot$), hidroksil radikali ($OH\cdot$) ve radikal olmayan hidrojen peroksit (H_2O_2) şeklindedir (Dizdaroglu ve Jaruga, 2012; Kalyanaraman, 2013).

Reaktif özelliklerinden dolayı çok kısa ömürlü olan bu türler çevrelerindeki moleküllerle etkileşime geçerek yeni radikallerin oluşmasına ve engelleyici bir faktörle karşılaşmadıkları müddetçe zincir reaksiyonlarının başlamasına ve devam etmesine neden olurlar (Sen, 2001).

Reaktif oksijen türlerinin mitokondriyal hasardan dolayı hücrenin ve tüm organizmanın yaşlanmasında önemli bir faktör oldukları düşünülmektedir (Cortopassi, 1999). Reaktif türlerden bazıları insan metabolizmasının vazgeçilmez bir parçasıdır ve anormal şartlarda konsantrasyona bağlı olarak artış gösterebilirler. Bunun yanı sıra insan vücudunda üretilmeyen, dış kaynaklı olup sonradan vücuda alınan bazı serbest radikallerin de varlığı söz konusudur. Bu reaktif türler, sigara dumanı, hava kirliliği, pestisitler, radyasyon ve serbest geçiş metali iyonları etkisiyle meydana gelebilir (Gülçin ve ark., 2003).

Çizelge 1.1. Radikaller, simgeleri ve özellikleri (Çöllü, 2007; Kıral, 2012).

Radikal	Simge	Özellikler
Hidrojen	H·	Bilinen en basit radikal
Hidrojen Peroksit	H ₂ O ₂	Moleküler hasar yeteneği zayıf, reaktivitesi çok düşük
Tekli oksijen	O ₂	Güçlü oksidatif oksijen formu, yarılanma ömrü hızlı
Süperoksit	O ₂ ^{-·}	Oksijen metabolizmasının ilk ara ürünü
Hidroksil	·OH	Oksijen metabolitlerinden en toksik olanı
Perhidroksi radikal	HO ₂ ·	Lipitlerde hızlı çözülerek lipit peroksidasyonu artırır
Peroksil radikal	ROO·	Daha zayıf etkili, lipitlerde lokalize olur
Tiol radikali	RS·	Eşleşmemiş elektron ve sülfür içeren türlerin genel adı
Alkoksil	RO·	Organik peroksitlerin parçalanmasıyla oluşan oksijen metabolitleri
Triklorometil	CCl ₃	CCl ₄ metabolizma ürünü bir radikal, karaciğerde üretilir
Azot monoksit	NO	L-arjinin amino asitinden üretilir
Azot dioksit	NO ₂	Oksijenin NO ile reaksiyonundan üretilir

1.1.1. Serbest radikal kaynakları

En önemli serbest oksijen radikalleri; O₂^{-·} (Süperoksit Radikali), ·OH (Hidroksil Radikali), H₂O₂ (Hidrojen peroksit) ve Singlet Oksijen (O₂↑↓) şeklinde sıralanabilir (Ercan, 2008).

Süperoksit radikali (O₂^{-·})

Bir elektron fazlası olan oksijen molekülüne süperoksit radikali denir (Günaydın ve Çelebi, 2003). Yarılanma süresinin uzun olmasına rağmen ortamdaki uzaklaşma yeteneği az olan bu radikal hücreye hasar veren bir radikal değildir.

Süperoksit radikali geçiş metallerini indirgeyici özellikte olması ve bir hidrojen peroksit kaynağı olması bakımından önem arzeder. Süperoksit radikali, hem oksitleyici hem de indirgeyici özelliğe sahiptir (Lee ve ark., 2004).



Hidrojen peroksit (H₂O₂)

Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması veya süperoksit radikaline bir elektron ilave edilmesiyle hidrojen peroksit oluşur (Akkuş, 1995). Oksidan özelliği gösteren hidrojen peroksit, ortaklanmamış elektrona sahip olmadığından serbest radikal özelliği göstermez.



Hidrojen peroksidi oksitleyici bir tür yapan husus, demir ve bakır gibi geçiş metallerinin varlığında hidrosil radikalının öncülü gibi hareket etmesidir. Hidrojen peroksit membrandan kolayca geçebilme özelliğine sahiptir. Bu özelliğinden dolayı doymamış yağ asitleriyle ve membran lipoproteinleriyle etkileşimi sonucu hücrelerde hasar oluştururlar.

Hidroksil Radikali (·OH)

Hidrojen perokside bir elektron eklenirse hidroksil radikali ve hidroksil anyonu (OH⁻) oluşur. Reaksiyon aktivitesi en yüksek serbest radikal olduğu için organizma için oldukça tehlikeli ve toksik kabul edilir. Organizma içindeki her molekül ile kolayca etkileşime geçer ve okside olabilir. (Günaydın ve Çelebi, 2003).



Yarılanma süresi çok kısa olan radikal organik asitler, şekerler, biyokimyasal maddeler, amino asitler, fosfolipitler ve nükleik asitlerle kolaylıkla reaksiyona girebilir (Memişoğulları,

2005) ve kendi gibi olan diğer reaktif oksijen türlerine (ROT) kıyasla çok daha fazla hasar vericidir (Betteridge, 2000).

Singlet Oksijen ($O_2\uparrow\downarrow$)

Oksijenin elektronlarından birinin enerji alarak kendi hareket yönünün tersi yönünde olan başka bir orbitale yer değiştirmesi veya oksijenin çiftleşmemiş elektronlarından birine enerji verilmesiyle olduğu orbitalden diğer bir orbitale geçmesiyle oluşur (Cross ve ark., 1987; Ames ve ark., 1993). Ortaklanmamış elektrona sahip olmadığı için serbest radikal özeliği göstermeyen bir reaktif oksijen türüdür (Min ve Boff, 2002; Lee ve ark., 2004). Serbest radikal reaksiyonları sonucu meydana gelebildiği gibi serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına da sebep olmaktadır.

Peroksil Radikali ($ROO\cdot$)

Karbon merkezli radikaller karbonhidrat, nükleik asit, lipit veya protein gibi yapılarında karbon atomu bulunduran biyolojik moleküllerle, okside edici hidroksil radikalinin etkileşimi sonucu oluşur. Bunlar çok hızlı bir şekilde peroksil radikalini ($ROO\cdot$) oluşturur. Peroksil radikali lipit peroksidasyonunu başlatır. Bu peroksil radikalinden alkoksil ($RO\cdot$) radikalleri de oluşabilir. Sülfür atomu serbest radikal merkezinde olursa tiyil radikali ($RS\cdot$) olarak adlandırılır (Alem, 2007).

1.2. Antioksidanlar

Antioksidanlar, sahip olduğu isminden de anlaşılacağı üzere oksidasyonu engelleyici maddelerdir. Antioksidanlar organizmalarda varolan serbest radikallerle kendileri etkileşime geçerek bu serbest radikalleri etkisiz hale getirir, başlayabilecek oksidasyonu engeller veya geciktirir ve yeni serbest radikallerin oluşumunu da engellerler (Kahkönen ve ark., 1999; Nagai ve ark., 2005; Sizer ve Whitney, 1997; Gür ve Altuğ, 2001). Reaktif oksijen türleri ve azot türleri serbest radikaller, organizmaların yapıtaşları üzerinde oksidatif hasara sebep olan birçok hastalığın oluşmasında etkili toksik maddelerdir.

Serbest radikallere karşı sahip olduğu bu etkilerden dolayı antioksidanlar yaşam için kaçınılmaz ve oldukça önemlidir. Antioksidanlar okside olma aktivitesi yüksek bu bileşiklere

kendi elektronlarını vererek serbest radikalleri nötralize ederler ve serbest radikal haline gelmezler (Cao ve Prior, 1999).

Antioksidan mekanizmalar; lipid, protein ve DNA gibi moleküllerde oluşan hasarın giderilmesinde, radikalik ürünlerin temizlenmesinde, hücredeki bazı enzim tiplerindeki kayıpların önlenmesinde, serbest radikallere sebep olan kimyasal tepkimelerin durdurulması ya da tepkime hızının baskılanması gibi pek çok durumda önemli görevler yaparlar (Gutteridge, 1995).

Pinchuk antioksidanların 'ROT oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı' dört ayrı sınıfta önlediğini belirtmektedir.

- *Süpürücü etki (Scavenging)*: Serbest oksijen radikalleri ile etkileyerek onları tutma veya daha az reaktif yeni bir moleküle dönüştürerek ortamdaki uzaklaştırma, "toplayıcı" etkidir. Bu etkiye örnek antioksidan enzimler (SOD, katalaz, GSH-Px vb.) verilebilir.
- *Bastırıcı Etki (Quenching)*: Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürme, "bastırıcı" etkidir. Askorbik asit (C vitamini), α - tokoferol (E vitamini), flavonoidler (kuersetin, kateşin, vb.) bu tarz bir etkiye sahiptirler.
- *Zincir reaksiyonlarını kırma etkisi (Chain Breaking)*: Serbest oksijen radikallerini kendilerine bağlayarak zincir reaksiyonlarını kırıp fonksiyonlarını engelleyici, "zincir kırıcı" etkidir. Hemoglobin, seruloplazmin, albumin gibi bileşikler bu şekilde etki ederler.
- *Onarma etkisi (Repair)*: Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması "onarıcı" etkidir (Pinchuk, 2002).

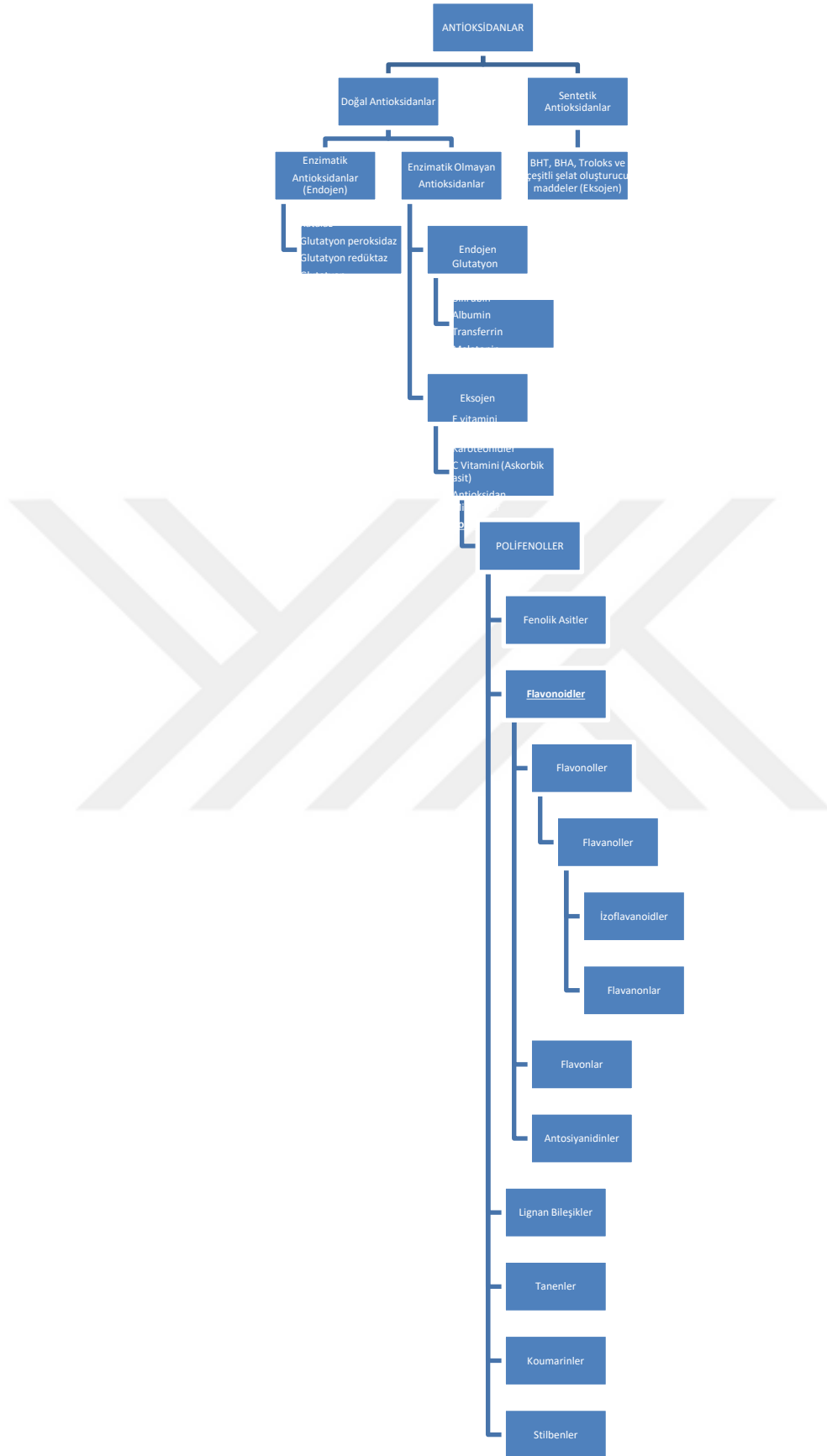
1.2.1. Antioksidanların sınıflandırılması

Doğal ve sentetik olmak üzere iki sınıfa ayrılan antioksidanlar, vücut içerisinde üretilmeleri (endojen) ve dışarıdan diyet yoluyla vücuda alınmaları (eksojen) açısından da temel sınıflandırmaya tabi tutulurlar.

Endojen antioksidanlar vücut içerisinde daha çok enzim ve hormon olarak görev yapan maddeler olabildiği gibi farklı nitelikteki maddeler de endojen antioksidan özellik gösterirler. Bunlar; fosfolipaz gibi enzimler, antioksidan enzimler, glutatyon, hasarlı molekülleri uzaklaştırıcı proteazlar, ürik asit ve çeşitli metal bağlayıcılar şeklinde sıralanabilir (Bursal E., 2009). Dışarıdan diyet yoluyla vücuda alınan eksojen antioksidanlar doğal ve sentetik olmak üzere iki sınıfta incelenirler. Doğal antioksidanlar, gıdalarda bulunan ve organizmayı zararlı

serbest radikallerden koruyucu özellikte olan antioksidanlardır. Vitaminler içerisinde daha çok E ve C vitamini, fenolik bileşikler (basit fenolik bileşikler ve flavonoidler) ve karotenoidler doğal antioksidanlardandır. Yapılan bir çok araştırma bu molekülleri içeren gıdaları tüketen insanlarda kanser ve kalp rahatsızlığı oluşum vakalarının azlığına dikkat çekmektedir (Rice-Evans ve ark., 1997). Bu moleküller ve bunlar içerisinde ayrıntılı şekilde açıklanacak polifenoller serbest radikallere karşı gösterdikleri süpürücü etki ile oksijen konsantrasyonunu düşürebilirler veya hidroksil radikali, süperoksit anyon radikali gibi ROT türlerini sönmeye uğrattırır. Yine bu etki ile hidroksil radikalleri gibi birincil radikallerin zincir reaksiyonlarını başlatmasını önlerler ve metal iyonu katalizörlerini bağlarlar (Shahidi, 1996).

Sentetik oksidanlar daha çok gıdalarda koku oluşumu, tat bozulması gibi gıdaların oksidasyonu sonucu oluşan bozulmaları, vitamin miktarlarında meydana gelen azalmaları önlemek amacıyla ve raf ömürlerini uzatma amacıyla kullanılırlar. Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), bütillenmiş hidroksianisol (BHA), tersiyerbütillhidrokinon (TBHQ), propil galat (PG) ve troloks gibi maddeler sentetik antioksidan sınıfındadırlar. Sentetik antioksidanlarla ilgili yapılan araştırmalar sentetik antioksidanların kanserojen ve toksik olabileceğini gösterdiğinden son yıllarda kullanımlarına ciddi kısıtlamalar getirilmiştir (Bursal ve ark., 2013).



Şekil 1.1. Antioksidanların sınıflandırılması

Polifenoller

Dışarıdan diyet yoluyla alınan doğal antioksidan sınıfında yer alan ve sınıfı içerisinde en aktif antioksidan kabul edilen polifenoller ağırlıklı meyveler olmak üzere tüm meyve ve sebzelerde bulunurlar.

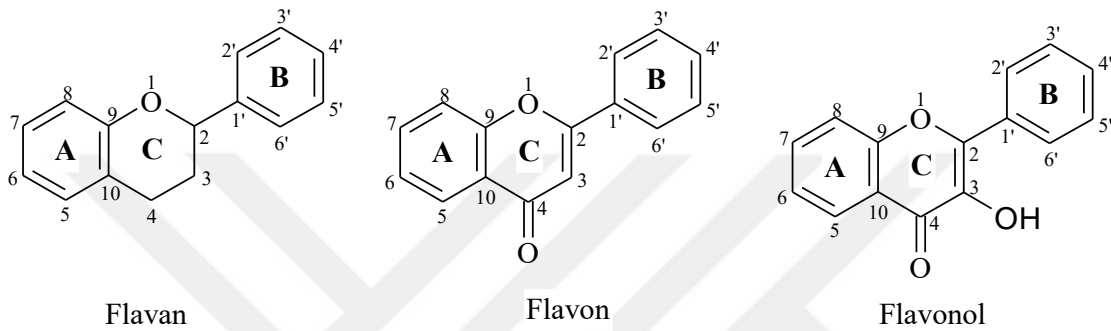
Sebze ve meyvelerin renk ve tat oluşumları üzerinde etkili olan polifenoller aynı zamanda serbest radikallere karşı gösterdikleri antioksidan aktivitelerinden dolayı günlük tüketimde oldukça önemli bir yer almıştır. Sahip oldukları antioksidan aktiviteleri ise serbest radikalleri bağlama kapasitelerine ve demiri indirgeme güçlerine dayanmaktadır (Yoshino ve Murakami, 1998; Pulido ve ark., 2000). Günlük kullanımlarındaki 1 g'lık tüketimleri C vitamini tüketimlerinin 10 katı değerindedir (Scalbert ve ark., 2005). Son yıllarda yapılan çalışmalarda polifenollerin canlı hücre ortamında endotelial fonksiyon artırıcı (Caton ve ark., 2010), hücrel sinyal iletimine katkı sağlayıcı ve iltihap önleyici özellikleri gibi çok daha önemli etkilerinin olabileceği ortaya konulmuştur (Williams ve ark., 2004; Sies ve ark., 2005; Ramos, 2008). Kalp rahatsızlıklarını engellemeye olan etkisi, kılcal dolaşım sisteminde geçirgenliği düzenleyici ve kan basıncını düşürücü özelliğinden kaynaklanmaktadır. Bu yüzden fenolik bileşiklere P faktörü (Permeabilite Faktörü) veya P vitamini de denilmektedir.

1.2.2. Flavonoidler

İnsan vücudunda sentezlenmeyen flavonoidler önemli düzeyde antioksidan ve şelatlama özelliklerine sahip difenilpropanoidler olup genellikle bitkilerde bulunmaktadır. Flavonoidler bitki ekolojisinde farklı rollere sahiptir. Örneğin, çiçeklerdeki ve meyvelerdeki sarıdan kırmızıya hatta koyu mora kadar çeşitli renklerden sorumludurlar. Flavonoidler serbest radikal savar olmaları, enzim aktivitelerini düzenleyici, hücre çoğalmasını inhibe edici, antibiyotik ve antiallerjen özellik taşımaları, ishal, ülser ve iltihabı önleyici ilaç gibi görev almalarından dolayı önem taşımaktadırlar (Çapanoğlu ve Boyacıoğlu, 2009).

15 karbon atomlu 2-fenil benzopiran yapısına sahip flavonoidler sarı renkli olmalarından dolayı sahip oldukları isimlerini Latince 'flavus' (sarı) kelimesinden almışlardır. Bu molekül yapısına sahip olan bileşikler flavonoid sınıfına dahil edilirler. Doğal veya sentez yoluyla üretilmiş olmaları ve farklı renge sahip olmaları bu grupta olmalarını engellemez. Fakat ilerleyen yıllarda meydana gelen çeşitlenmeler farklı sınıflandırmaların oluşmasında etkili olmuştur.

Flavonoidler bitkilerin sekonder metabolitlerinin önemli bir sınıfıdır. Günümüze kadar bitkilerden izole edilen beşbinden fazla flavonoid özellikli bileşik bilinmektedir. Flavonoidlerin karbon iskeletini, iki fenil halkasının propan zinciri ile birleşmesinden oluşan ve 15 karbon atomu içeren, difenilpropan ($C_6 - C_3 - C_6$) yapısı teşkil eder. Fenil halkalarının propan zincirine farklı pozisyonlarda bağlanması nedeniyle, flavonoidler alt sınıflara ayrılırlar. Bunlardan birisi 2-fenilkroman veya fenilbenzopiran iskeletine sahip **flavan**, diğeri ise 2-fenilbenzo- γ -piron iskeleti içeren **flavon**dur. C-3 pozisyonunda bir OH bulunması yapıyı **flavonol** haline getirir (Şekil 1.19).



Şekil 1.2. Flavonoid türevlerinin sınıflandırılmasında kullanılan temel yapılar

Genellikle flavon türevlerine flavonoidler, flavan türevlerine ise flavanoidler denir. Flavan ve flavon yapılarındaki aromatik halkalar **A** ve **B**, hetero halka ise **C** ile gösterilir. A ve C halkalarındaki (benzopiran çekirdeğinde) karbon atomları oksijen atomundan başlayarak numaralandırılır. B halkasındaki atomlar ise, üssü (') rakamlarla numaralandırılır (Mülazımoğlu, 2008).

Aşağıdaki özelliklerden bir ya da daha fazlasına sahip yapıda olan flavonoidler oldukça yüksek antioksidan etki gösterirler.

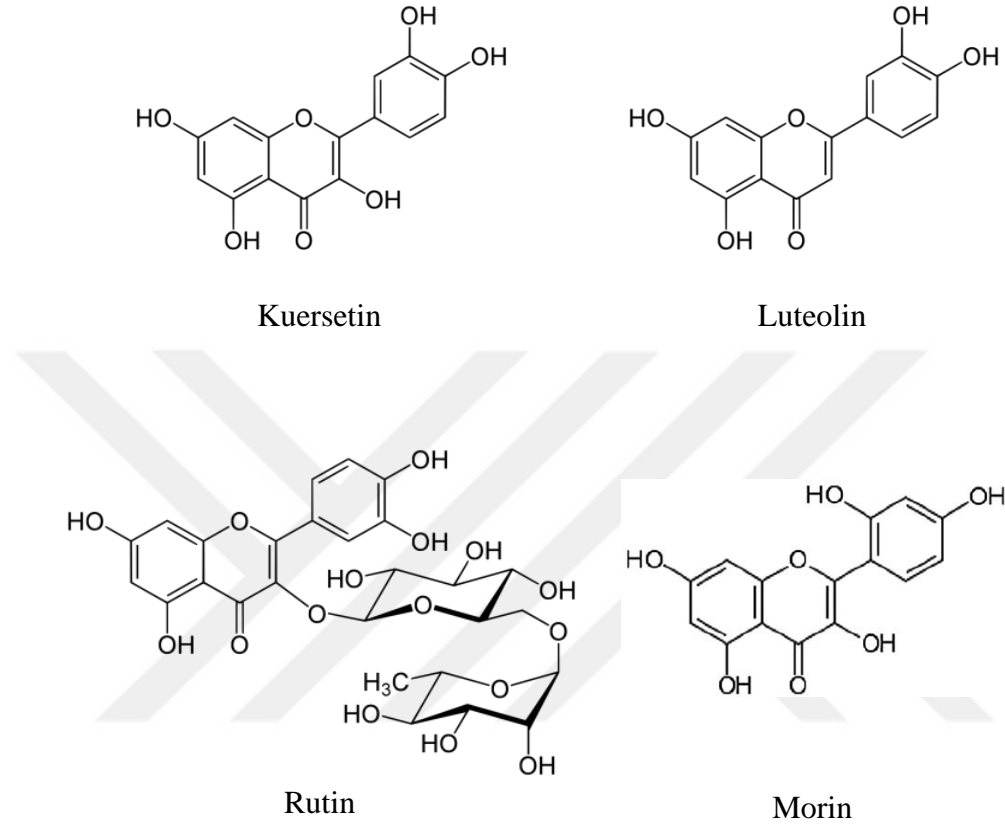
a) Radikal formun daha yüksek kararlılığını sağlayan ve elektron delokalizasyonuna katılan, B halkasındaki *o*-dihidroksi yapısına sahip flavonoidler (Aynı zamanda bu yapıdan kararlı 3',4'-dikinonlar oluşur.).

b) 2. ve 3. karbon atomları arasındaki çift bağ, C halkasının 4. karbon atomunda keto grubunun oluşmasını sağlar ve bu da B halkasında radikalın elektron delokalizasyonunu artırır. Antioksidan güç, aromatik çekirdeğin elektron delokalizasyonuna bağlıdır. Bu bileşikler serbest radikallerle reaksiyona girdiğinde üretilen fenoksil radikalleri aromatik çekirdeğin rezonans etkisiyle kararlı hale getirilir. 2,3-çifte bağ, tüm moleküldeki rezonansı artırır.

c) C halkasının 4. karbon atomunda keto grubu ile beraber C ve A halkalarındaki 3. ve 5. pozisyonundaki hidroksil grupları maksimum radikal süpürme potansiyeli için gereklidir. Aynı

zamanda 5-hidroksi-4-keto grubu güçlü bir metal şelatlayıcı olarak da antioksidan etkinliğe katkıda bulunur (Cos ve ark., 1998; Yıldız, 2007).

Aşağıda çalışmamızda kullandığımız flavonoidlerin molekül yapıları verilmiştir.



Şekil 1.3. Çalışmada kullanılan flavonoidler

1.2.2.1. Kuersetin

Beslenmede önemli bir flavanoid olan Kuersetin, birçok bitkinin kabuklarında yaygın olarak bulunan kimyasal bir pigmenttir. Bir 3-hidroksi türevi olan ve flavonoller içinde en baskını kabul edilen Kuersetin (3, 3', 4', 5, 7-pentahidroksiflovon); siyah ve yeşil çay, kırmızı ve sarı soğan, kızılçık, yaban mersini, koyu kiraz, vişne, frenk üzümü, elma, kırmızı üzüm, brokoli, biber ve kereviz gibi birçok kırmızı, yeşil ve mor pigmentli sebze ve meyvelerde yüksek oranda bulunmaktadır. Kuersetin çeşitli bitkilerin antioksidan kapasitesini belirlemede de referans olarak kullanılmaktadır. Ayrıca birçok ilaç içeriğinde ve diyet takviyelerinde kullanılmaktadır. Birçok kanser türüne, kardiyovasküler rahatsızlıklara ve yaşlanmaya karşı oldukça etkili olan bu

antioksidan maddenin ticari olarak aşırı dozda alınmasının böbrek kanserine yol açtığını vurgulamak gerekir (Boots ve ark., 2008; Russo ve ark., 2012).

Araştırmalar Kuersetin içeren gıdaların; serbest radikal hasarı, yaşlanmanın ve inflamasyonun etkileri ile mücadele, kalp rahatsızlığı ve kardiyovasküler problemler, alerjiler, enfeksiyonlar, kronik yorgunluk ve artirit gibi otoimmün bozukluklar gibi bir dizi iltihaplı sağlık sorununu yönetmesine yardımcı olabileceğini göstermektedir.

Kuersetin'in bu başarısı antioksidan gıdaların "serbest radikalleri süpürme" yeteneğine dayanmaktadır. Doğru beslenmeyle gelen Kuersetin, oksidatif stresin etkilerini azaltarak yaşlanmanın ilerlemesini yavaşlatmaya yardımcı olmaktadır.

Kuersetin'in Faydaları Nelerdir?

1. İnflamasyonu düşürür

Kuersetin de dahil olmak üzere flavonoidler önemli anti-inflamatuarlardır. Yaşlandıkça gerçekleşen "oksidasyon" süreciyle tam anlamıyla mücadele eder. Kuersetin hücre zarlarını parçalayan, DNA'nın çalışma şeklini değiştiren, hücre mutasyonlarını arttıran ve sağlıklı hücrelerin işleyişini olumsuz şekilde etkileyen ve serbest radikal olarak bilinen vücuttaki zararlı parçalanmaları durdurmaya yardımcı olmaktadır.

İnflamasyon; kalp hastalığı, kanser, bilişsel düşüş, bazı zihinsel bozukluklar gibi çoğu hastalığın oluşmasında temel neden olarak kabul edilmektedir. Vücutta varolan bu enfeksiyonla mücadelede Kuersetin'in doğal yollardan (özellikle flavonoid ve diğer polifenollerini içeren meyve ve sebzelerden) alınması önem arz etmektedir. Dahası ticari olarak üretilen tablet alımlarında daha fazla araştırılmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

2. Alerji ile savaşır

Kuersetin doğal bir antihistaminiktir. Histaminler, vücut bağışıklık sistemi bir alerji veya hassaslık tespit ettiğinde salınan kimyasal maddelerdir ve vücudumuzun alerjik reaksiyona karşı verdiği tepki ile bizi rahatsız eden belirtilere neden olmaktadır. Kuersetin, belirli bağışıklık hücrelerinden histaminlerin salınmasına, öksürük, sulanmış göz, burun akıntısı, şişkin dudak veya dilde şişme ve hazımsızlık gibi semptomların azalmasına yardımcı olmaktadır. Doğal

olarak vücuda alınan Kuersetin herhangi bir yan etki içermeyen bu alerjik durumlarla mücadele edebilmektedir.

3. Kalp sağlığını destekler

Kuersetin oksidatif dengenin serbest radikaller yönüne kaymasıyla oluşan oksidatif stresi dengeleme ve oksidatif stresin vücut hücrelerinde oluşturduğu hasarlardan kaynaklı oluşan inflamasyonu düşürme kabiliyetinden dolayı kardiyovasküler bozukluklarda da tedavi edicidir.

Flavonoidleri içeren çok sayıda renkli meyve ve sebze tüketen yaşlı erişkinlerde kardiyovasküler rahatsızlık ve bu rahatsızlık kaynaklı ölüm riski oldukça azalmaktadır. Yapılan çalışmalar, Kuersetin, Resveratrol ve Kateşinler gibi çeşitli flavonoid türlerinin arterlerdeki plak oluşumunun neden olduğu tehlikeli bir durum olan ateroskleroz riskini azaltmaya yardımcı olduğunu göstermektedir (Birman, 2012). Arterlerde oluşan plak oluşumları kan akışının kesilmesine ve bunun bir sonucu olarak da kalp krizi ve felç gibi risk teşkil eden rahatsızlıkların oluşumuna sebep olmaktadır.

4. Dayanıklılığı geliştirir

Kuersetin bazı sporcu takviyelerinde de kullanılmaktadır. Çünkü muhtemelen kan akışındaki olumlu etkileri nedeniyle atletik performansı ve dayanıklılığı artırmaya yardımcı olmakta ve yorgunluğa maruz kalındığında ortaya çıkan semptomları önleyebilmektedir.

5. Kansere karşı savaşır

Flavonoidler, hücre mutasyonu, tümörlerin büyümesi ve radyasyon veya kemoterapi gibi tipik kanser tedavileri ile ilgili semptomlarla ilgili süreçlerin durdurulmasına yardımcı olmaktadır. Kuersetin ve diğer antioksidanlar bakımından zengin besin içeriği bulunan bir beslenme ile kanser riskinin azaltılabilmesi mümkündür. Fakat yine de Kuersetin'in insan kanserli hücreleri üzerindeki spesifik etkilerini ortaya çıkarmak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır (Tolga, 2020).

1.3. Elektroanalitik Kimya

Elektroanalitik kimya, elektrokimyasal hücrede bulunan çözeltilerin potansiyel ve akım gibi elektriksel özelliklerinin değiştirilmesiyle çözelti içerisinde bulunan analit hakkında bilgi edinmeyi, bu bilgilerden yararlanarak analitin kalitatif ve kantitatif olarak analiz edilmesini araştırılan tekniklerin genel adı olup analitik kimyanın ise bir alt koludur (Yılmaz, 2012).

1.3.1. Elektroanalitik kimyada kütle aktarımı

Elektrokimyasal hücre içerisinde bulunan türlerin (iyon veya moleküller) dışarıdan yapılan elektriksel etki ile çalışma elektrodu yüzeyine taşınması difüzyon, migrasyon ve konveksiyon olmak üzere üç farklı şekilde gerçekleşir.

Difüzyon: Temel difüzyon yasasına uygun olarak konsantrasyon farkından yararlanılarak gerçekleşen kütle aktarım türüdür. Kütle aktarımı konsantrasyonun yoğun olduğu bölgeden daha az yoğun olduğu bölgeye doğrudur ve gerçekleşen bu kütle aktarımı yüzeylerin konsantrasyonu eşit oluncaya kadar devam eder. Konsantrasyon farkı ne kadar fazla ise oluşan difüzyon hızı o kadar fazladır yani aralarında doğru bir orantı vardır. Fakat oluşan difüzyon hızı sadece konsantrasyon farkına değil bunun yanı sıra çözelti içerisinde bulunan analitin ve çözücünün türüne de bağlıdır.

Migrasyon: Elektrostatik çekim kuvvetinin etkisiyle gerçekleşen bir kütle aktarım türüdür. Çözelti içerisinde önceden varolan iyon veya potansiyel uygulanmasıyla yükseltgenebilen veya indergenebilen türün elektrostatik alanın etkisiyle katot ile anot arasındaki hareketine dayanır. İyonların hareketi her zaman anottan (elektron verme eğilimi fazla olan elektrot) katota (elektron verme eğilimi az olan elektrot) doğrudur. Gerçekleşen bu iyon hareketinin hızı iyon yarıçapı ve yüküne bağlıdır. Daha küçük yarıçapa ve yüke sahip olan iyonların hareket hızları daha fazladır. Bu yüzden migrasyonun istenmediği, difüzyonla kütle aktarımının istendiği durumlarda çözelti içerisinde analit dışında bulunan destek elektrolit olarak bilinen türlerin daha büyük iyon yarıçapına ve yüküne sahip, daha ağır iyonlardan oluşması istenir. Böylelikle analit bu iyonlar tarafından yavaşlatılacak ve kütle aktarımı migrasyon etkisi altında gerçekleşmeyecektir (Bard ve Faulkner, 2001; Skoog ve ark., 1996).

Konveksiyon: Konveksiyonla kütle aktarımında çözelti içerisinde bulunan türler çözeltinin karıştırılmasıyla elektrot yüzeyine taşınır ve böylelikle elektrot yüzeyinde bir biriktirme işlemi gerçekleşir. Bu biriktirme işlemi çalışmanın ve çözelti içerisinde bulunan analitin türüne göre farklı şekillerde uygulanır. Karıştırma ve potansiyel uygulama aşamasının tek basamakta gerçekleştirildiği sistemler, potansiyel altında (elektrokimyasal olarak) veya potansiyel uygulanmaksızın (adsorptif olarak) karıştırmanın yapıldığı ve ardından belli bir potansiyelde sıyrmanın gerçekleştirdiği iki basamaklı sistemler. Difüzyon kontrollü sistemlerde tek basamakta gerçekleştirilen karıştırma işleminden uzak durulur. Çünkü karıştırma sonucu difüzyon ile elektrot yüzeyinde biriktirilen analit tekrardan sıyrılabilir. Fakat iki basamaklı sistemlerde karıştırma ilk basamakta olduğu için difüzyon kontrollü akımı olumsuz etkilemez. Şunu unutmamak gerekir ki konveksiyon sadece karıştırma ile değil sıcaklık ve yoğunluk farkı ile de meydana gelmektedir.

1.3.2. Elektrokimyasal tabakalar

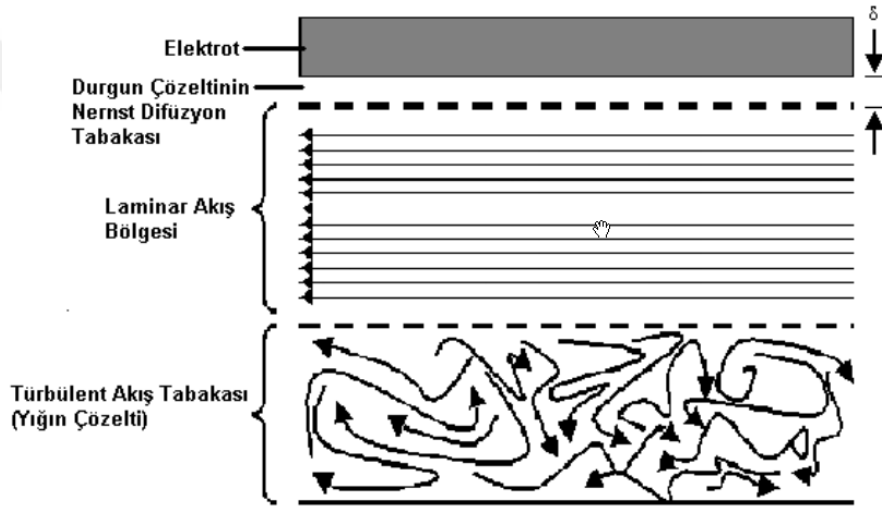
Elektrokimyasal sistemlerde çözelti içerisinde birbirinden farklı özellikte sıvı tabakaları oluşmaktadır. Bu tabakalar karıştırılmayan durgun çözeltilerde; elektrot; elektrotla temas halinde olan çözelti arayüzeyi ve ana çözelti tabakası şeklindedir. Karıştırılan dinamik çözeltilerde ise; türbülent akış tabakası, laminer akış bölgesi ve Nernst difüzyon tabakası şeklindedir. Her iki elektrokimyasal sistemde de analit ile elektrot arasındaki elektron aktarımı elektroda bitişik birkaç nanometre kalınlığındaki tabakada gerçekleşir.

Durgun sistemler için;

- **Ana çözelti bölgesi:** Çözelti arayüzeyine doğru kütle aktarımının gerçekleştirildiği, elektrottan uzak olan tabakadır.
- **Çözelti arayüzeyi:** Bu tabaka elektron aktarımının ve çözelti içerisinde meydana gelen kimyasal reaksiyonun gerçekleştiği tabakadır. Bu tabakada elektrot kendisine yakın olan bölgedeki zıt yüklü iyonları çekerken, aynı yüklü iyonları da tabakanın diğer ucuna doğru iter.
- **Elektrot tabakası:** Analitin elektrot ile temas halinde olduğu ve elektroda bağlandığı tabakadır.

Karıştırılan sistemler için;

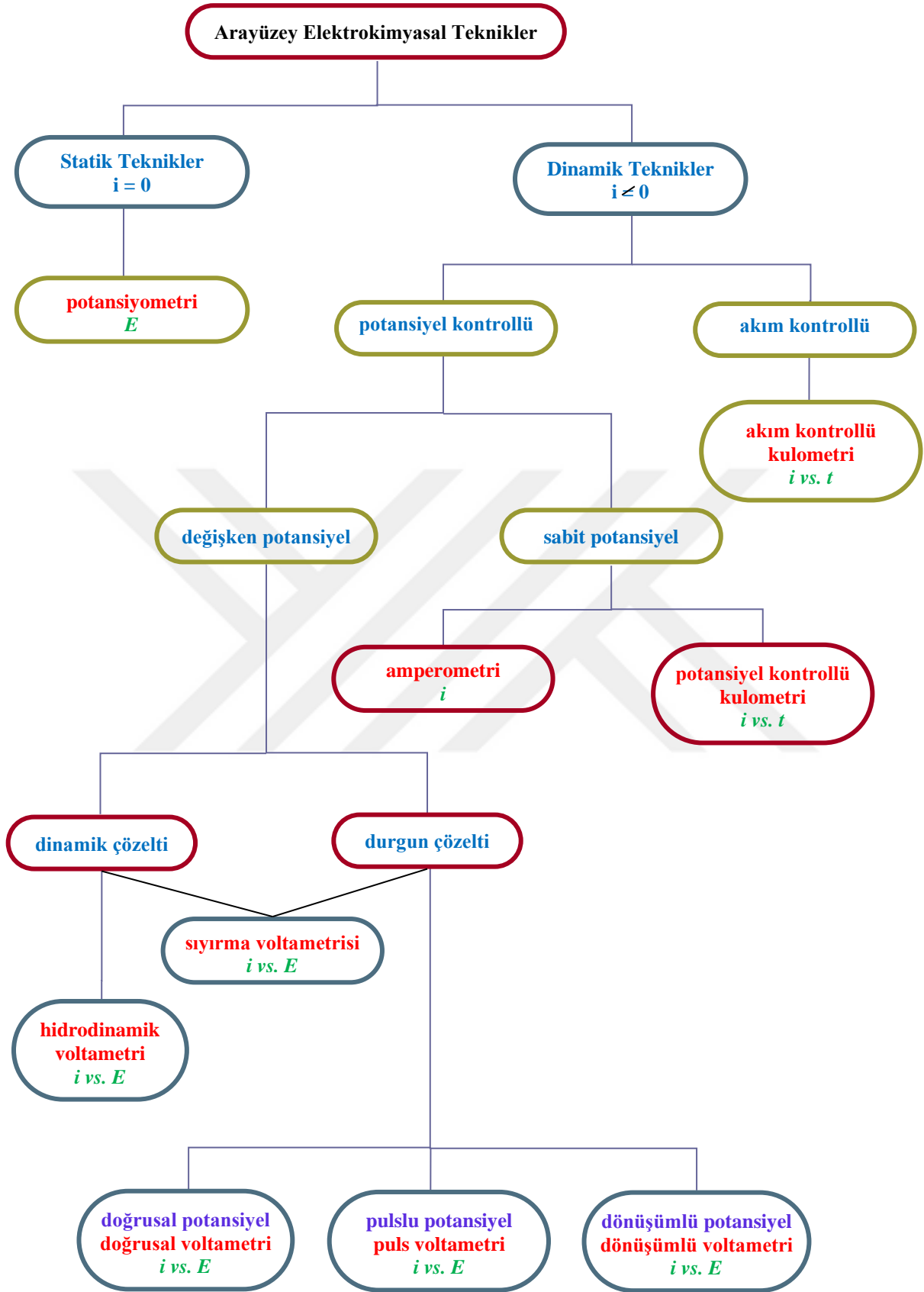
- **Türbülent akış tabakası:** Karıştırılan ana çözelti tabakasında gözlenir.
- **Laminer akış bölgesi:** Elektrot yüzeyine yaklaştıkça türbülent akıştan kurtulan sıvı tabakalarının birbirine karışmadan paralel olarak aktıkları bölgedir.
- **Nernst difüzyon tabakası (arayüzey):** Elektrot yüzeyine en yakın (δ cm) tabakadır. İki yüzey arasında oluşan sürtünmenin etkisiyle sıvı akış hızının sıfıra indiği kabul edilir. Elektrot yüzeyinde oluşan bu tabaka oldukça incedir. Elektron aktarımının gerçekleştiği tabakadır (Skoog ve ark., 1996). Şekil 1.4'de karıştırılan sistemler için tabakaların bileşimleri verilmiştir.



Şekil 1. 4. Elektrot yüzeyindeki tabakaların şematize olarak gösterilmesi

1.3.3. Elektrokimyasal teknikler

Elektrokimyasal teknikler, potansiyel, akım ve zaman parametrelerinin kullanılmasıyla sistem özellikleri hakkında bilgi edinildiği tekniklerdir.



Şekil 1.5. Arayüzey elektrokimyasal teknikler (Spesifik teknikler kırmızı ile, deneysel koşullar mavi renkle ve analitik sinyaller yeşil renkte gösterilmiştir.) (Harvey, 2019)

Elektrokimyasal tekniklerin çoğu yukarıda da bahsettiğimiz Nernst difüzyon tabakasında gerçekleşen olayları temel alır. Nernst difüzyon tabakası elektrokimyada arayüzey olarak da adlandırılmaktadır. Şekil 1.5'te arayüzey elektrokimyasal tekniklerin sınıflandırılması deneysel koşullara ve alınan analitik sinyallere göre şema halinde verilmiştir.

Elektroanalitik teknikler son yıllarda kimyanın birçok alanında önem arz etmekte ve yaygın olarak kullanılmaktadır. Kullanım alanları içerisinde; kantitatif analizler, kalitatif analizler, adsorpsiyon olaylarının incelenmesi, elektrot reaksiyonlarının ve mekanizmalarının belirlenmesi, standart indirgenme potansiyellerinin belirlenmesi, elektrokimyasal ve kimyasal reaksiyonların kinetiklerinin incelenmesi, denge sabitlerinin bulunması, difüzyon katsayılarının bulunması gibi birçok alan sayılabilmektedir.

Sayıdığımız tüm bu alanlarda kullanılabilen elektrokimyasal tekniklerin aynı zamanda birçok avantajı da bulunmaktadır. En önemli avantajlarının başında gerek çalışılan cihaz ve elektrotlar gerekse az numune ile çalışmaya imkan sağlaması açısından diğer tekniklere göre çok daha ucuz teknikler olması gelir. Bunun yanında, sonuca hızlı ulaşılabilen teknikler olması, LOD sınırının düşük olması, çalışılan konsantrasyona göre birden fazla doğrusallık aralığının olabilmesi, seçici ve duyarlı olması da elektrokimyasal teknikleri diğer tekniklere göre tercih edilebilir kılmaktadır (Yılmaz, 2012).

Bölüm 1.4'te çalışmamızda kullandığımız, elektrokimyasal teknikler içerisinde önemli bir yere sahip olan voltametri tekniği hakkında bilgi verilmektedir.

1.4. Voltametri

Voltametrinin temelinde polarografi bulunmaktadır. İlk olarak Çek kimyacı Jaroslav Heyrovsky 1920'lerin başında polarografi tekniğini geliştirirken polarizasyonunun yüksek olduğu bilinen civa damlasından yararlanmıştır. Bu yöntem ile birçok madde analizi yapmış ve yaptığı çalışmalardan dolayı 1959 yılında Nobel ödülüne layık görülmüştür.

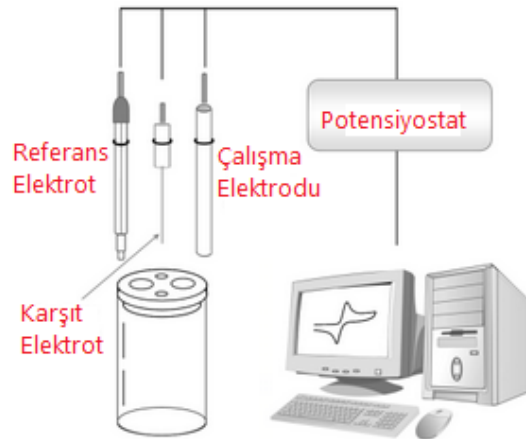
Voltametri, akım-potansiyel arasındaki ilişkiden yararlanarak sistem hakkında bilgi edinilen elektrokimyasal bir tekniktir. Güç kaynağı, sisteme seri bağlanmış bir batarya ve ayarlanabilir bir R direncinden oluşur. Bağımsız değişken olarak potansiyelin kullanıldığı voltametricte, değişen potansiyelle bağlı olarak sistemde bir akım oluşur. Sistemin tekrar dengeye gelme çabası olarak nitelendirebileceğimiz bu akımın ölçülmesi ve değerlendirilmesi ile sistem hakkında bilgi edinilir. Sistemde potansiyel çalışma elektrodu ve referans elektrot arasına uygulanır. Potansiyelinin sabit kalması istenilen referans elektroda karşılık sistemde meydana

gelen gerilim farkından dolayı çalışma elektrodu ve karşıt elektrot arasında sistemi tekrar dengeye sokmak için bir akım oluşur ve sistem oluşan bu akımı ölçer. Bu potansiyel için gerekli olan denge derişimine erişilince, akım difüzyonu karşılayacak bir seviyeye düşer ki, buna “difüzyon kontrollü akım” denir (Skoog ve ark., 1998). Değişen potansiyelle karşılık ölçülen akım değerlerinden elde edilen eğrilere *voltamogram* denir.

Voltametri, elektrokimyasal sistem içerisinde potansiyelin değişmesiyle meydana gelen yükseltgenme ve indirgenme tepkimelerinden yararlanarak analitin elektrokimyasal özellikleri hakkında bilgi edinme, elektrot yüzeyinde oluşan kimyasal bağlanma, kovalent bağlanma ve adsorpsiyon olaylarını inceleme, bu bağlanma sırasında analitte meydana gelen elektron aktarım mekanizmalarını araştırma ve birçok değerli maddenin kalitatif ve kantitatif analizlerinde kullanılmaktadır (Skoog ve ark., 1998).

1.4.1. Voltametri sistemi

Şekil 1.6’da voltametri deneylerinin yapıldığı üç elektrotlu hücre ve voltametrik ölçme sistemi verilmiştir. Sistem, analiti içeren bir çözelti içerisine daldırılmış bir mikro (veya ultramikro) çalışma elektrodu, bir referans elektrot ve bir karşıt elektrottan oluşmaktadır.



Şekil 1.6. Voltametri sistemi

Çalışma elektrodu; Değişen potansiyel ile beraber yüzeyinde indirgenme ve yükseltgenme olaylarının meydana geldiği elektrottur. Çalışma elektrodunda oluşacak polarizasyonu artırmak için elektrot boyutları ufak tutulur.

Referans elektrot; potansiyeli, değiştirilen sistem potansiyelinden etkilenmeden deney süresince sabit kalan ve daldırıldığı çözelti bileşiminden etkilenmeyen elektrottur.

Karşıt elektrot; helezon şeklinde ya da düz şekilde bir Pt tel olabilir. Aktif bir metal olmamasından dolayı oluşacak akıma bir katkısı yoktur. Sadece akımı ölçmek için bir referans nokta oluşturur.

Potansiyel referans ve çalışma elektrotları arasında uygulanmakta, çalışma elektrodu ile karşıt elektrot arasında oluşan doğru akım ölçülmektedir. Sinyal kaynağı, değişken bir R direnci ile seri bağlanmış bir bataryadan meydana gelen değişken bir güç kaynağıdır (Skoog ve ark., 1996).

1.4.2. Voltametri de kullanılan destek elektrolit ve çözücüler

Elektrokimyada kütle aktarımı bölümünde de bahsedilgi gibi analitin elektrot yüzeyine taşınması difüzyon, migrasyon ve konveksiyon ile gerçekleşmektedir. Difüzyon kontrollü bir kütle aktarımının istendiği durumda migrasyon yani iyonik göç ve konveksiyon etkinin en aza indirilmesi gerekmektedir. Çözelti karıştırılmadığı ve sıcaklık sabit tutulduğu müddetçe konveksiyon büyük ölçüde engellenmektedir. Fakat iyonik göçü potansiyelden bağımsız hale getirip büyük ölçüde engellemek için çözelti içerisine büyük iyon yarıçapına sahip iyonlar ilave etmek gerekir. Çoğunlukla alkali metal tuzlarından tercih edilen bu iyonlar analit konsantrasyonuna göre çok daha büyük konsantrasyonlara sahip olduklarından anot ve katot görevi görecek elektrotların itme ve çekme kuvvetlerine karşı direnç gösterir, analiti kendi aralarında tutarak iyonik göç kaynaklı hareketini ihmal edilecek düzeye indirir ve kütle aktarımını büyük ölçüde difüzyon kontrollü olmasını sağlarlar.

Bir çalışmaya başlarken kalibrasyon işlemlerinden sonraki ilk aşama çözücü ve destek elektrolit çözeltilerinin belirlenmesidir. Destek elektrolit belirlenirken; analiti iyi çözebilen bir çözücü olmasına, analit ile kimyasal inertlik göstermesine, çözelti içerisinde oluşturduğu iyonik şiddete ve analit ile uyum içerisinde olmasına ve kolay temin edilebilir olmasına dikkat edilmelidir (Yılmaz, 2012). Özellikle tamponların kullanıldığı sulu ortam destek elektrolitlerinin analiti yeterince çözemediği durumlarda alkol türevlerinden çözelti iyonik şiddetini olumsuz etkilemeyecek ölçüde yararlanır.

1.4.3. Referans elektrotlar

Karşılaştırmalı elektrotlar da denilen referans elektrotlar sabit bir potansiyele sahiptirler. Elektrokimyasal hücreye dışarıdan potansiyeli değişecek şekilde bir etki yapıldığında bu

potansiyel değişikliği çalışma elektrodu üzerinden yapılır. Referans elektrotların, potansiyelin arttırılması ve azaltılması sonucu zelti içerisinde meydana gelen yükseltgenme veya indirgenme reaksiyonlarından ve değişen iyon konsantrasyonlarından etkilenmeleri ve zeltideki herhangi tür ile reaksiyona girmeleri istenmez. Bunun için elektrotların u kısmında membran bulunmaktadır. Çalışma sonrasında u kısmındaki membranın tıkanabilmesi ihtimallerine dikkat etmek gerekir. Aksi takdirde yapılan deneyler yanlış sonuçlar verebilir ve elektrotlara kalibrasyon işlemi gerekebilir. Bu durum; Referans elektrotların su veya asetonitril içerisinde tutulmasıyla nlenebilir.

İyi bir referans elektrot Nernst eşitliğine uymalı, küçük akım oluşumları ve sıcaklık değişimlerine karşı potansiyellerinde büyük bir fark gözlenmemelidir.

Sıklıkla kullanılan referans elektrotlar; standart hidrojen elektrot, kalomel referans elektrot, Ag/AgCl, Hg/HgCl ve Ag/Ag⁺ gibi birden fazla farklı referans elektrot vardır. Çalışmalarımızda sulu ortam için Ag/AgCl referans elektrodu kullanılırken susuz ortamlar için Ag/Ag⁺ referans elektrodu kullanılmıştır.

1.4.3.1. Ag/AgCl referans elektrot

Üzücü veya destek elektrolit olarak su içeren zeltelerin kullanıldığı ortamlarda iyonların göstermiş olduğu iyonik şiddeti dengelemek amaçlı yaygın olarak Ag/AgCl referans elektrodu kullanılmaktadır. Bu elektrodu avantajlı kılan ≈ 275 °C'ye kadar yüksek sıcaklıklarda kullanılabilmeye olanak sağlamasıdır.

Elektrot, AgCl ile doyorulmuş KCl içerisine Ag metali daldırılmasıyla hazırlanır. Elektrot potansiyelini Cl⁻ iyonları belirlediği için potansiyel elektrodun içerisindeki KCl konsantrasyonuna bağlıdır. Elektrotta meydana gelen reaksiyonlar;



şeklindedir. Bilinen elektrot potansiyeli 25 °C'de 0.199 V'tur.

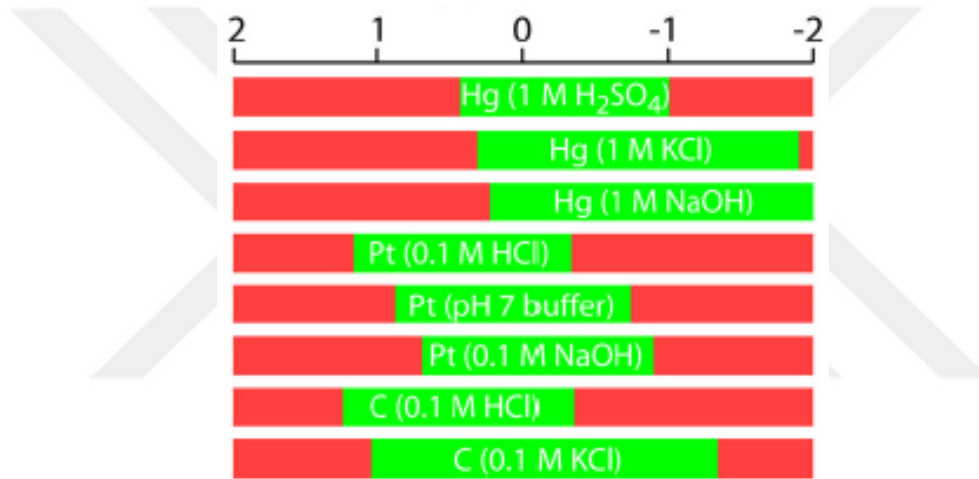
1.4.3.2. Ag/Ag⁺ referans elektrot

AgNO₃ zeltisi içeren NBu₄BF₄ zeltisine Ag telin daldırılması ile hazırlanır. Üzücü ve destek elektrolitin su içermediği susuz ortam çalışmalarında kullanılır.

1.4.4. Çalışma elektrotları

Birkaç milimetrekare gibi oldukça küçük yüzey alanına sahip çalışma elektrotları sistem dışından uygulanan potansiyelden direkt etkilenen elektrotlardır. Çözelti içerisinde bulunan analit çalışma elektrodunun yüzeyinde indirgenir veya yükseltgenir. Farklı potansiyel aralıklarına göre farklı çalışma elektrotları bulunmaktadır (Skoog ve ark., 2004)..

Altın, gümüş, cıva, platin, camısı karbon, karbon pasta, grafen, grafen oksit, indirgenmiş grafen oksit, karbon nanotüpler ve kalem grafit elektrot en sık kullanılan çalışma elektrotlarıdır. Aşağıda farklı potansiyel aralıklarında kullanılan çalışma elektrotları verilmiştir.



Şekil 1.7. Üç elektrodun çeşitli destek elektrolitler içindeki çalışma potansiyel aralığı

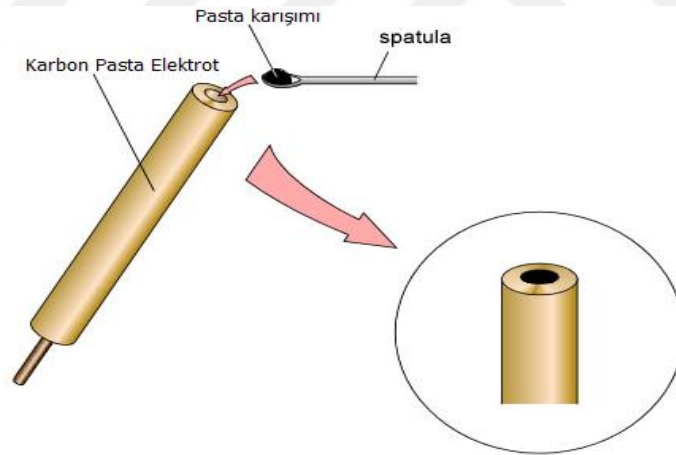
1.4.4.1. Platin, altın ve diğer soy metal (Pd, Rh, Ir) elektrotlar

Soy metal elektrotların çalışma elektrodu olarak tercih edilme sebepleri hava ortamına mağruz kaldıklarında oksitlenmemeleri, inert özellik göstermeleri ve kolay şekil verilebiliyor olması şeklinde sıralanabilir. Pt ve Au en çok tercih edilen soy metal elektrotlardır. Bir çalışmada kullanılacak çalışma elektrodu belirlenirken çalışmanın içeriği ve analitin niteliği göz önünde bulundurularak istenilen doğrultuda farklı metaller tercih edilebilir.

Örneğin, Au'nun hidrojeni fazla absorbe etmemesinden dolayı Au daha çok katodik çalışmalar için tercih edilen bir elektrotken Pt'in hidrojeni kolaylıkla absorbe edebilme özelliği onu anodik reaksiyonlar için daha uygun kılmaktadır.

1.4.4.2. Karbon pasta elektrot

Mineral yağ gibi organik bağlayıcılar ve grafit tozunun karıştırılmasıyla hazırlanan karbon pasta elektrotların oldukça fazla kullanım alanı bulunmaktadır. Kolay yenilenebilir bir yüzeye sahip olması karbon pasta elektrotları avantajlı kılmaktadır. Modifiye karbon pasta elektrotlar modifiye edilmek istenen maddenin çamur içine karıştırılması ile hazırlanır. Karbon pasta elektrotların çamurunun hazırlanmasında bir karbon kaynağı olan grafit tozunun, modifiye edicinin ve bağlayıcı olarak kullanılan mineral yağın oranlarına ve elde edilen çamurun homojenliğine dikkat etmek gerekir. Çünkü bağlayıcı maddeler elektrot yüzeyinin analite karşı olan aktifliğini düşürürken, yeteri kadar homojen olmayan yüzeylerden elde edilen sonuçlarda ise kesinlik azalacaktır (İsbir, 2007; Yalçın, 2007). İdeal bir karbon pastasında; % 2-15 oranında modifiye edici, % 63-50 oranında grafit tozu ve % 35 oranında da mineral yağı bulunmaktadır (Gang, 1991). Karbon pasta elektrotlarda dikkat edilmesi gereken bir diğer husus da deney esnasında uygulanan potansiyelin karbon pasta yüzeyinde herhangi bir bozunmaya sebep olup olmamasıdır. Aşağıda, hazırlanmış karbon pastanın elektroda doldurulması gösterilmiştir.



Şekil 1.8. Karbon pasta elektrot ve pasta karışımının elektroda doldurulması (Mülazımoğlu ve Yılmaz, 2010; Svancara ve ark., 2001)

1.4.4.4. Camsı karbon elektrot

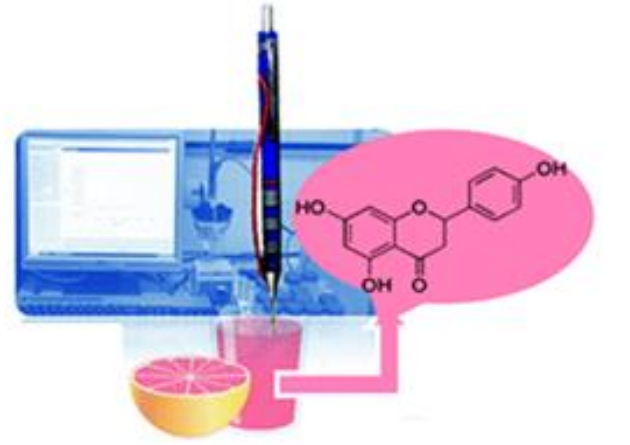
Mikrometre boyutlu grafit tozu partiküllerinin, sert ve yapıştırıcı madde ile inert malzemedan yapılmış, elektrot gövdesi içerisine sıkıştırılmasıyla elde edilmiş elektrotlardır. Çözelti içerisinde çözünmemesi, yüzeyin daha stabil ve kolay yenilenebilir olması analitik uygulamalarda sıklıkla tercih edilme sebebidir. Fakat karbonun kolay okside olması ve çalışma

esnasında çözelti içinde bulunan türlerin sisteme uygulanan potansiyel ile karbon yüzeyine adsorbe olmasından dolayı yapılan her çalışma öncesinde karbon materyal temizlenmelidir. Camsı karbon elektrotlarda karbon pasta elektrotlara kıyasla elektrot yüzeyleri daha düzgün ve pürüzsüzdür. Ayrıca elektrodun fiziksel dayanıklılığı daha fazladır (Yılmaz, 2012; İsbir, 2007; Yalçın, 2007).

1.4.4.5. Kalem grafit elektrot

Katı elektrotlarla çalışılırken analiz esnasında elektrot yüzeyine sadece istenilen tür değil yine çözelti içerisinde bulunan farklı türler de ince bir tabaka halinde birikebilir. Diğer taraftan her yeni deneye başlarken temiz yüzeye sahip bir katı elektroda ihtiyaç vardır.

Yukarıda bahsedilen elektrotlarda olduğu gibi yapılan her çalışma öncesinde elektrot yüzeylerine temizleme işlemi uygulansa bile özellikle elektrot yüzeyinin çizilmesinden kaynaklanan iyi temizlenememelerden dolayı tekrarlanabilirlik kayıpları oluşmaktadır. Kalem grafit elektrotlar bu avantajı ortadan kaldıran tek kullanımlık olma özelliklerinin yanı sıra tekrar edilebilirliklerinin yüksek olması ve hesaplı olmalarından dolayı 1990'lerden bu yanada tercih edilir olmuşlardır (Wang ve ark., 2000).



Şekil 1.9. Kalem grafit elektrot

Kalem uçları, grafitin kil ve balmumu karışımı içerisine dağılması ve ardından da ısı işlem uygulanması ile üretilir. Selüloz kil yerine alternatif olarak kullanılan bir diğer maddedir. Oksijensiz ortamda ısı işleme tabi tutulan selülozlu karışımda selüloz karbona dönüşür. Oluşan yapı oldukça esnektir. 1990'lı yıllardan bu yana PGE'lerin uygulaması literatürde sıklıkla görülmektedir. İz metal tayinleri (Demetriades ve ark., 2004), hepatit B virüs DNA'sının

saptanması (Erdem ve ark., 2005) ve nitrit, serotonin ve dopaminin eş zamanlı tayini (Miyazaki ve ark., 1999) kalem grafit elektrodun kullanıldığı çalışmalara örnek olarak verilebilir.

1.4.4.6. Modifiye elektrotlar

Elektrot yüzeyini daha elektroaktif hale getirme amaçlı üretilen modifiye elektrotlar katı elektrotların yüzeyinin ince bir film ile kaplanmasıyla elde edilir. Elektroanaliz gibi yaygın kullanım alanının yanı sıra elektrokataliz ve enerji dönüşümü alanlarında da sıkça kullanılmaktadır. Elektrot yüzeyine yapılan modifiye işlemi ile çözelti içerisindeki analitin analizine uygun, elektrokimyasal özellikleri birbirinden farklı ve özgün elektrotlar üretilir. Daha aktif hale gelen elektrot yüzeyleri ile analit arasında elektron transfer hızları değiştirilebilir ve yüzeyler analit için daha duyarlı hale getirilebilir. Modifiye elektrotlar, analizi yapılmak istenen madde için seçiciliği yüksek özellikte elektrotlardır.

Modifikasyon işleminde kullanılacak maddenin elektrokimyasal özellik göstermesi yani elektriksel olarak iletken özelliğe sahip olması gerekir. Bu özellikteki maddeler katı (karbon, platin, altın vb.) elektrotların yüzeyine modifiye edilebilirler. Modifikasyon işleminin daha başarılı olması için modifiye edilecek yüzeyin de bazı özelliklere sahip olması gerekir.

Bunlar;

- Elektriği iletebilme özelliğine sahip olması,
- Çözelti içerisindeki diğer maddelerle etkileşime geçmemesi,
- Yüzey aşınmalarına karşı dayanıklı olması,
- Kovalent bağlarla gerçekleşecek bağlanma işlemleri için uygun bir yapıya sahip olması,
- Tekrarlanabilirliği yüksek bir yüzeye sahip olması,
- Mekanik ve kimyasal olarak kararlı olması şeklinde sıralanabilir.

Karbon, altın ve platin gibi kimyasal olarak aktif olmayan metaller yukarıda bahsedilen özelliklere sahip olduklarından modifikasyon işlemlerinde katı elektrot olarak yaygın olarak kullanılırlar. Her modifikasyon işleminden önce elektrot yüzeylerinin temizlenmesi gerekir. Temizleme işleminde alümina tozu kullanılarak önce yüzey parlatılır, sonrasında da su ve asetonitril içerisinde ve sonikatörde tutularak elektrot yüzeyi küçük kalıntılardan arındırılır.

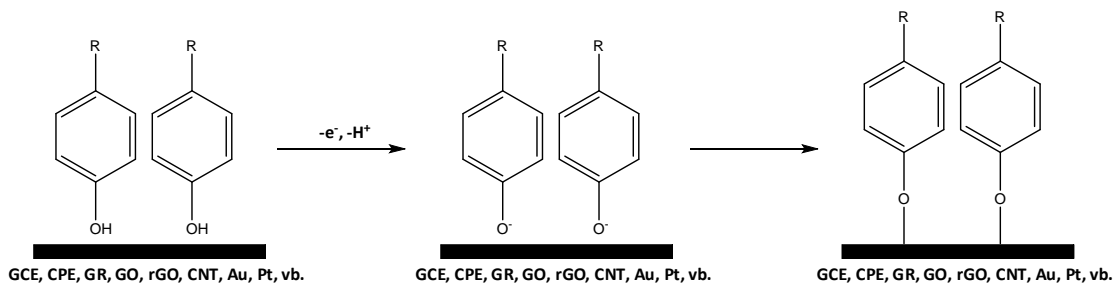
1.4.5. Modifikasyon metotları

Modifikasyon işlemi modifikasyonu gerçekleştirilen maddenin sahip olduğu fonksiyonel gruba göre üç farklı şekilde gerçekleştirilir. Bunlar

- Alkol oksidasyonu modifikasyonu,
- Amin oksidasyonu modifikasyonu,
- Diazonyum tuzu indirgenmesi modifikasyonu şeklindedir.

1.4.5.1. Alkol oksidasyonu modifikasyonu

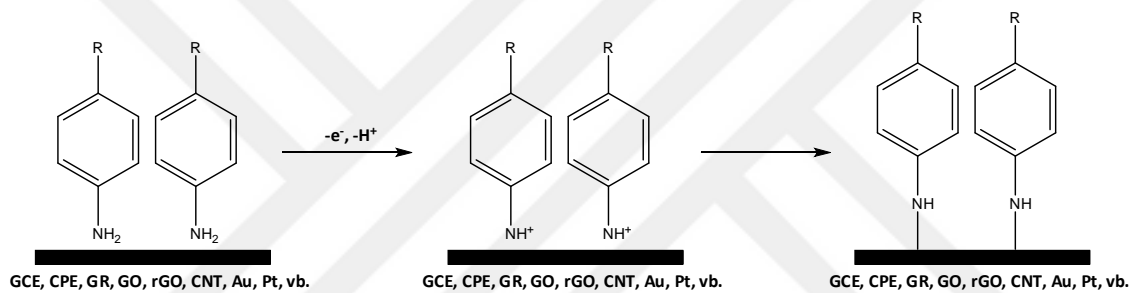
Bu modifikasyon metodunda yüzeye modifikasyonu yapılmak istenen molekülün hidroksil grubuna sahip olması gerekir. Sistem dışından yapılan elektriksel etki ile önce hidroksil grubundaki hidrojenin oksidasyonu gerçekleştirilir. Burada elektrot anot görevi görmektedir. Radikal haline gelen oksijen kararlı hale gelebilmek ve bağ kurabilmek için ihtiyaç duyduğu elektronu elektrot arayüzeyinden alır ve böylelikle molekül oksijen üzerinden elektroda bağlanmış olur (Şekil 1.10). Modifikasyon işlemi dönüşümlü voltametri tekniği kullanılarak gerçekleştirilir. Elde edilen voltamogram üzerinde önce daha düşük potansiyelde oksidasyon piki, sonra daha büyük bir potansiyelde bağlanma omuzu gözlenir. Katodik yönde yapılan taramada herhangi bir pik gözlenmez. Bu reaksiyonun tersinmez olduğunu ve molekülün yüzeye modifiye olduğunu gösterir. Modifikasyonun daha düzgün gerçekleştirilmesi için birden fazla döngülü dönüşümlü voltamogramlar alınır. Hem sulu ortam hem de susuz ortam çalışmalarında gerçekleştirilebilir.



Şekil 1.10. Alkol oksidasyonu yöntemi ile elde edilen yüzey

1.4.5.2. Amin oksidasyonu modifikasyonu

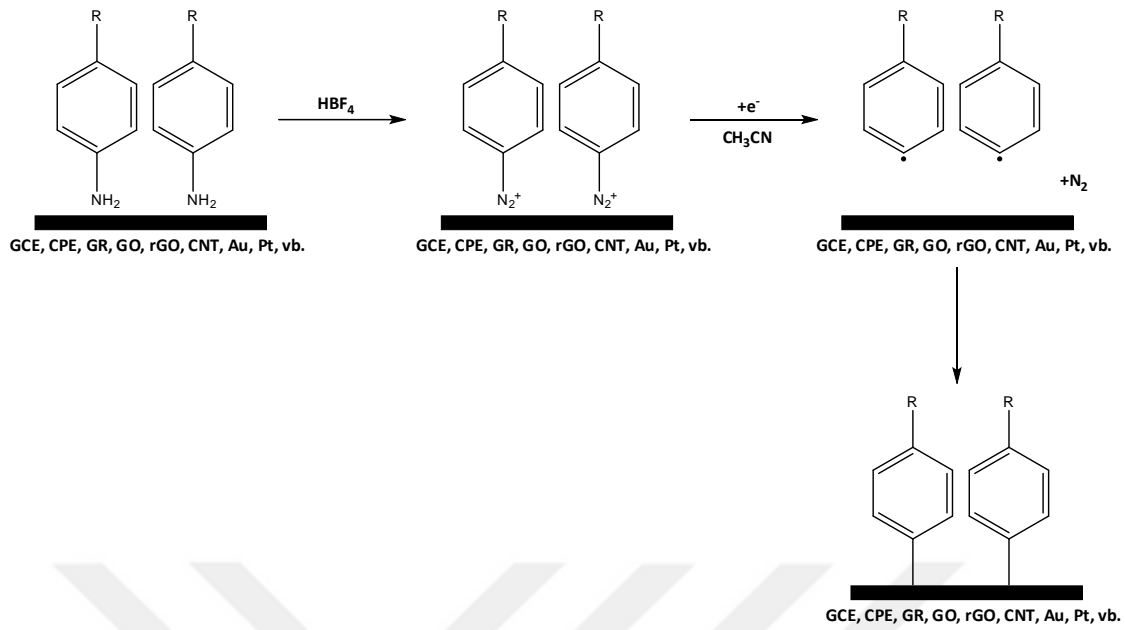
Bu modifikasyon metodunda ise yüzeye modifikasyonu yapılmak istenen molekül amin grubuna sahip olmalıdır. Alkol oksidasyonu metodunda olduğu gibi molekül sistem dışından yapılan elektriksel etki ile amin grubu üzerinden önce okside edilir. Elektrot yine anot görevi görmektedir. Okside edilen molekül ihtiyaç duyduğu bağ elektronunu elektrot arayüzeyinden temin eder ve böylelikle molekülün elektroda modifikasyonu azot atomu üzerinden gerçekleştirilmiş olur. Amin oksidasyonu metodunda da önce keskin bir oksidasyon piki daha sonra ise bir bağlanma omuzu oluşur. Alkol oksidasyonu metodunda olduğu gibi gerçekleşen reaksiyon tersinmezdir ve katodik yönde herhangi bir pik oluşumu gözlenmez. Fakat bu metotta elektrot üzerinde çoklu tabakalar oluşabilir ve elektrot yüzeyi bu yüzden kararlı değildir.



Şekil 1.11. Amin oksidasyonu yöntemi ile elde edilen yüzey

1.4.5.3. Diazonyum tuzu indirgenmesi (DAS) modifikasyonu

DAS indirgenmesi modifikasyonu metodunda, modifiye edilecek molekülün süstitüent olarak amin grubu içeren bir molekül olması istenir. Öncelikle bu molekülün diazonyum tuzu hazırlanır. DAS eldesi için sıcaklığın 0 °C'nin altında tutulmasına dikkat edilmelidir. Ekzotermik olan çıkış maddesinin tetrafloroborik asitte (HBF₄) içinde çözünmesiyle diazonyum tuzunun tetrafloroborat anyonlu tuzu elde edilir. Elde edilen diazonyum tuzundan aminler ayrılmış ve molekülde elektrona ihtiyaç duyan iki karbon atomu bulunmaktadır. Karbon atomları ihtiyaç duydukları elektronları elektrot arayüzeyinden alırlar ve molekülün elektroda bağlanması karbon atomları üzerinden gerçekleştirilir (Şekil 1.12). Bu modifikasyon işlemi susuz ortamda gerçekleştirilir (Mülazımoğlu, 2008; Pinson ve Podvorica, 2005). Yine dönüşümlü voltametrinin kullanıldığı modifikasyon işlemi yüzeyin tamamen kaplanması için birden fazla döngülü olarak gerçekleştirilir. Çalışmaların izin verdiği ölçüde, kararlılığının yüksek olmasından dolayı, alkol ve amin oksidasyonu modifikasyonu yöntemlerine göre daha çok tercih edilir.



Şekil 1.12. Diazonyum tuzu indirgenmesi ile elde edilen yüzey

Tüm modifikasyon işlemleri sonrasında elektrot temizliği yukarıda anlatıldığı şekilde yapıp tekrardan modifikasyona hazır hale getirilmelidir.

1.4.6. Modifiye yüzeylerin karakterizasyonu

Modifiye yüzeylerin karakterizasyonu işleminde amaç; modifiye olmuş yüzey ile modifiye olmamış yüzey arasındaki farklılıkları ortaya çıkarmak ve modifikasyon işleminin gerçekleşip gerçekleşmediğini kontrol etmektir. Karakterizasyon işlemleri üç farklı şekilde gerçekleştirilir.

1.4.6.1. Elektrokimyasal yöntemlerle modifiye yüzeylerin karakterizasyonu

Elektrokimyasal yöntemlerle yapılan karakterizasyon işlemleri özellikle sonuca kısa sürede ulaşılabilirliği ve pratik olması bakımından sıkça tercih edilen yöntemlerdendir.

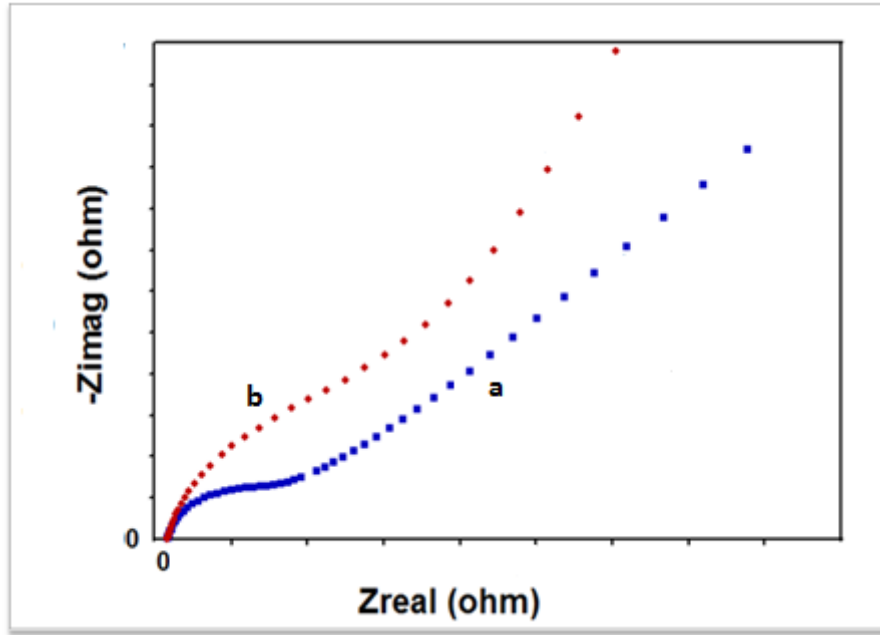
Elektrokimyasal yöntemlerle yüzey karakterizasyonunda; dönüşümlü voltametri (CV), elektrokimyasal impedans spektroskopisi (EIS), elektrokimyasal kuartz kristal mikrobals (EQCM), kronoamperometri (CA) ve kronokulometri (CC) yöntemleri kullanılmaktadır.

Çalışmamızda karakterizasyon çalışmalarında dönüşümlü voltametri tekniği ve elektrokimyasal impedans spektroskopisi yöntemlerinden yararlanılmıştır. Dönüşümlü

voltametri tekniği voltametrik teknikler bölümünde açıklanmıştır. Bu bölümde elektrokimyasal impedans spektroskopisinden bahsedilmiştir.

Elektrokimyasal impedans spektroskopisi

En sık kullanılan elektrokimyasal karakterizasyon tekniklerinden birisidir. Yöntem temel olarak Ohm kanununa dayanır. Yüksek frekans değişimleri elektrot yüzeyinde kapasitans ve indüktif değişiklikler meydana getirir. Elektrot yüzeyinin kendi üzerinde meydana gelen bu değişikliklerin sebep olduğu akıma karşı gösterdiği direnç (impedans) ölçümlerinin kıyaslanması ile karakterizasyon işlemi yapılır. Devre elemanlarına gösterilen direncin haricinde oluşan akıma gösterilen direnç impedans olarak adlandırılır.



Şekil 1.13. Örnek bir elementin kaplanmadan önce (a) ve kaplandıktan sonra (b) alınmış impedans spektroskopisi

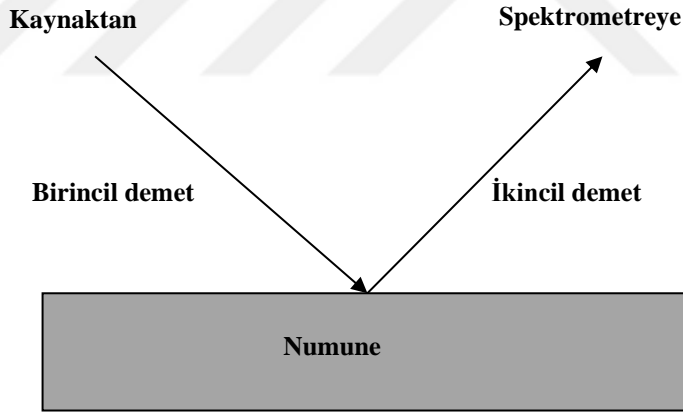
Bu teknikte sisteme dışarıdan yapılan etki 5 mV gibi çok düşük potansiyel değerine sahip bir AC potansiyelidir. Uygulanan bu düşük potansiyel, elektrot yüzeyinde herhangi bir değişikliğe sebep olmaz ve böylelikle sistemde var olan denge de bozulmadan kalır. Bu durum sistemin hassaslığının bir göstergesidir (Bard ve Faulkner, 2001). Fakat bunun yanı sıra, yapılan ölçümlerin uzun sürmesi, dengeyi bozacak istenmeyen etkilerin sebep olduğu hatalar tekniğin dezavantajlarındandır. İstenmeyen etkiler; çözeltideki farklı türlerin elektrot yüzeyine tutunması, oksitlenmiş bir tabakanın oluşumu, uygulanan potansiyelin etkisiyle reaksiyon ürünlerinin

oluşumu, sıcaklığın beklenmedik oranda değişmesi, modifiye yüzeyin zarar görmesi şeklinde sıralanabilir.

Elektrokimyasal impedans spektroskopisi korozyon çalışmalarında, asitlik sabiti tayinlerinde, modifiye elektrotların yüzey özelliklerinin incelenmesinde, metal kaplama çalışmalarında, yarı iletken elektrotların ve polimerlerin özelliklerinin incelenmesinde biyosensör çalışmalarında, bataryalarda yaygın olarak kullanılır.

1.4.6.2. Spektroskopik yöntemlerle modifiye yüzeylerin karakterizasyonu

Spektroskopik yöntemlerle yapılan karakterizasyon işlemlerinde ışın demetlerinden yararlanır. Modifiye olmuş elektrot yüzeyi ve modifiye olmamış elektrot yüzeylerine gönderilen ışın demetlerinden elde edilen sonuçlardan yararlanılarak yüzey hakkında bilgi edinilir. Spektroskopik yöntemler sayesinde modifikasyon işlemi sonrasında yüzeyde meydana gelen tabakalaşmalar ve yüzey kalınlaşmaları ile ilgili edinilen bilgilere göre molekülün yüzeye modifiye olup olmadığı test edilir.



Şekil 1.14. Yüzey spektrometri gösterimi

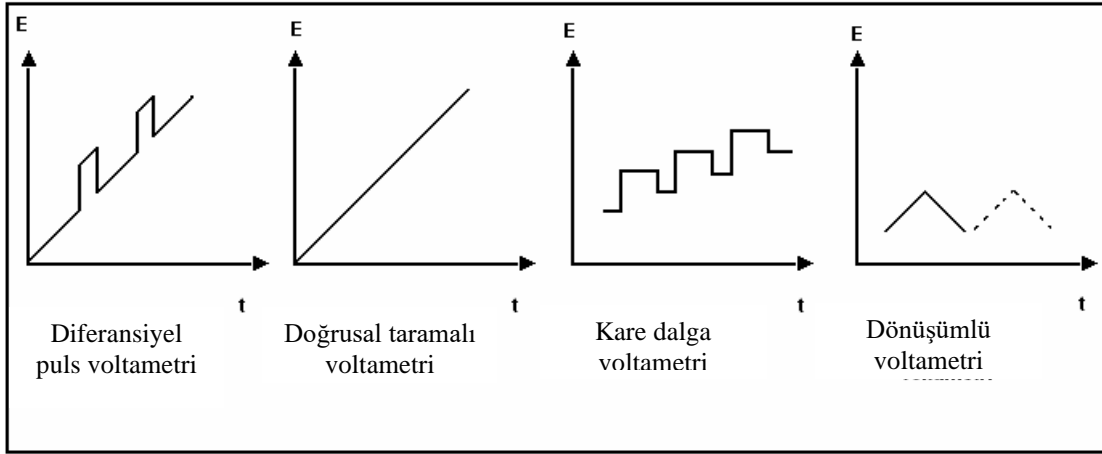
Şekil 1.14'te görüldüğü gibi yüzeye gönderilen ışınlar birincil demet, yüzeyden yansıyan ışınlar ise ikincil demet olarak gösterilir. Elektrot yüzeyine gönderilen, nötral molekül, iyon, elektron ve fotonlardan oluşan ışın demetinin yüzeyden yansıması yüzeyin özelliğine göre farklı şekillerde olmaktadır. Yüzey üzerinde emisyon, tozlaşma, saçılma ve ışınma olayları hep birlikte meydana gelebilir. Tüm bu olaylar farklı spektroskopik yöntemlerle incelenir ve yüzey hakkında ayrıntılı bilgi edinilebilir.

1.4.6.3. Mikroskopik yöntemlerle modifiye yüzeylerin karakterizasyonu

Katı yüzeylerin fiziksel özellikleri hakkında bilgi edinmede kullanılan bir diğer yöntem de mikroskopik yöntemlerdir. Elektron demetinin raster düzeninde elektrot yüzeyini taraması ile bir yüzey görüntüsü elde edilir. Birçok alanda (kimya, malzeme bilimi, jeoloji ve biyoloji) sıklıkla tercih edilen mikroskopik bir yöntemdir. Taramalı elektron mikroskopisi (SEM), atomik kuvvet mikroskopisi (AFM) ve elipsometri mikroskopik yöntemlerdendir (Mülazımoğlu, 2008).

1.5. Voltametrik Teknikler

Voltametrik tekniklerde elektrokimyasal hücre içerisine daldırılmış bir çalışma elektrodu, bir referans elektrot ve bir karşıt elektrot bulunur. Bu hücre içerisinde analizi yapılmak istenen analit ile analiti çözebilme özelliğine sahip bir destek elektrolit çözeltisi vardır. Voltametri de amaç, denge halinde bulunan bu çözeltiye sistem dışından dengeyi bozacak şekilde bir etki yapılması ve gerçekleşecek kimyasal reaksiyonla sistemin tekrardan dengeye gelmesinin sağlanmasıdır. Dışarıdan yapılan bu etki zamanla değiştirilebilen potansiyellerde uyarma sinyalleri şeklindedir. Uyarma sinyalleri farklı şekillerde uygulanabilir ve uygulanan farklı uyarma sinyallerine göre de farklı bir akım cevabı oluşur. Uyarma sinyallerinin farklı şekillerde uygulanmasıyla farklı voltametrik teknikler geliştirilmiştir. Bu voltametrik teknikler dönüşümlü voltametri, doğrusal taramalı voltametri, diferansiyel puls voltametri ve kare dalga voltametridir. Potansiyel değerine karşılık elde edilen akım değerleriyle çizilen eğriye voltamogram denir. Elde edilen voltamogramlar uygulanan voltametri tekniğinin türüne göre değişir. Elde edilen bu voltamogramlardan, analitin elektrokimyasal davranışlarını belirleme, elektron aktarım mekanizmasını teklif etme, elektrot yüzeyinin karakterizasyon işlemleri, modifiye yüzeylerin kararlılık işlemleri, kalitatif tayin ve kantitatif tayin gibi birçok çalışmada yararlanılmaktadır. Şekil 1.15'te bu tekniklere ait uyarma sinyalleri verilmiştir.

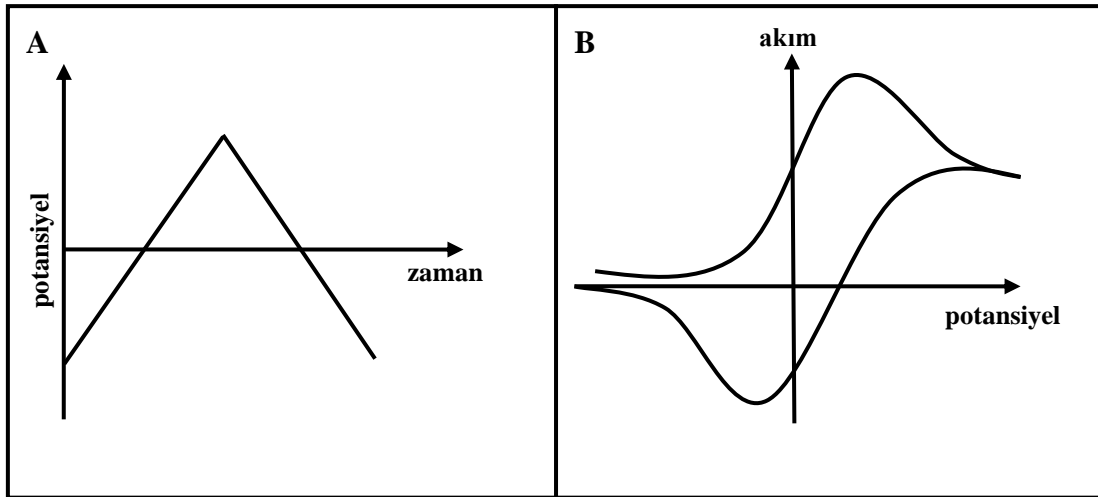


Şekil 1.15. Voltametri de kullanılan uyarma sinyalleri

En çok kullanılan uyarma sinyalleri; doğrusal taramalı, diferansiyel puls, kare dalga ve üçgen dalgadır (Skoog ve ark., 1998).

1.5.1. Dönüşümlü voltametri (CV)

Dönüşümlü voltametri özellikle elektrokimyasal karakterizasyon işlemlerinde yaygın olarak kullanılan voltametrik bir tekniktir. Dönüşümlü voltametri tekniği ile elektriksel tepkiye yanıt veren analitin, uygulanan potansiyel değişimi ile elektrot yüzeyindeki davranışı incelenir ve analitin sahip olduğu problemlerin modifiye yüzeyde meydana getirdiği farklar araştırılır.



Şekil 1.16. A) Dönüşümlü voltametri için kullanılan uyarma sinyali B) Dönüşümlü voltametriye ait bir voltamogram

Sıcaklık, derişim ve tarama hızı gibi bazı parametrelerin değiştirilmesiyle analitin davranışı hakkında bilgi edinilir (Üstündağ, 2008). Elde edilen voltamogramlardan analitin çözelti içerisinde potansiyel değişiminin etkisiyle yükseltgenip yükseltgenmediğini veya indirgenip indirgenmediğini, yükseltgenme veya indirgenme gerçekteşiyorsa hangi potansiyelerde gerçekteştiğini, kaç basamakta gerçekteştiğini ve ara ürünün oluşup oluşmadığını, indirgenme veya yükseltgenme ürünlerinin kararlı olup olmadığını anlayabiliriz (Mülazımoğlu, 2008).

Dönüşümlü voltametri tekniği daha çok kalitatif amaçlı (son yıllarda kantitatif kullanımı da oldukça artmıştır) kullanılmaktadır. Dönüşümlü voltametri tekniğinin elektrokimyasal reaksiyonlar hakkında kalitatif bilgi edinilmesinde yaygın olarak kullanılan bir teknik olmasının nedeni, kimyasal reaksiyonlar ve adsorpsiyon olaylarıyla ilgili güvenilir bilgilere hızlı bir şekilde ulaşılabilmesidir. Elektroanalitik çalışmalarda analitin elektrokimyasal davranışının incelenmesi için genellikle ilk olarak uygulanan deneysel basamaktır. Özellikle elektroaktif türlerin okside olup olmadığının, oluyorsa redoks potansiyellerinin yerinin hızlı bir şekilde belirlenmesini ve ortamın redoks reaksiyonuna etkisinin değerlendirilmesini sağlar. Dönüşümlü voltametriye zamana karşı uygulanan potansiyel ve buna bağlı olarak elde edilen voltamogram Şekil 1.16'da verilmiştir

Teknik uygulanırken, analitin bulunduğu elektrolit çözelti içerisinde bulunan çalışma elektroduna belli potansiyel aralığında (başlangıç potansiyeli-sınır potansiyeli) önce zamanla doğrusal olarak artan daha sonra da aynı aralıkta doğrusal olarak azalan bir gerilim uygulanır. Bu gerilime karşı oluşun akım arasında bir eğri elde edilir. Bu eğriye dönüşümlü voltamogram denir.

Dönüşümlü voltametriye negatif potansiyel yönünde tarama yapılırken madde indirgenmiş ise bir katodik pik (E_{pk}), pozitif potansiyel yönünde potansiyel taramasında da bu indirgenmiş maddenin elektrotta tekrar yükseltgenmesinden dolayı bir anodik pik (E_{pa}) gözlenebilir. Tersinir bir elektrot tepkimesi için anodik pik potansiyeli ile katodik pik potansiyeli arasında teorik olarak $0.0592/n$ V'luk bir potansiyel farkı olmalıdır.

$$\Delta E_P = E_{pa} - E_{pk} = 59/n \text{ mV.} \quad (1.9)$$

Negatif potansiyel yönündeki tarama sırasında oluşun ürün kararlı ise katodik pik akımı, anodik pik akımına eşittir. Ürünün kararlı olmadığı ve farklı bir ürüne dönüşebildiği durumlarda

katodik pik akımının değeri, anodik pik akımının değerine göre daha küçük olur. Ürünün çok hızlı olarak tüketildiği durumlarda ise katodik pik tamamen kaybolur.

Elektrot tepkimesinin tersinirliği azaldıkça anodik ve katodik pikler birbirinden daha uzak potansiyellerde ve daha yaygın olarak gözlenir.

a) Tersinir sistemler

Başlangıçta çözeltide yalnız Ox maddesinin olduğu, tersinir bir indirgenme reaksiyonunda elektrot reaksiyonunun;



şeklinde olduğunu varsayalım. Böyle bir reaksiyon için dönüşümlü voltametri de pik akımı Randles-Sevcik eşitliği ile elde edilir. CV'de pik akımının değeri (I_p) için sınır durumları ve tarama hızı göz önüne alınarak ve $D_{\text{Ox}} = D_{\text{Red}} = D$ kabul edilerek Fick yasasının ikinci kanunundan matematiksel olarak aşağıdaki Randles-Sevcik eşitliği türetilir.

$$I_p = 0.4463 nF (nF/RT)^{1/2} C_0^\infty D^{1/2} \nu^{1/2} \quad (1.11)$$

Sıcaklığın 25 °C olduğu değer de Randles-Sevcik eşitliği aşağıdaki şekilde ifade edilir.

$$I_p = -(2.69 \times 10^5) n^{3/2} C_0 D^{1/2} \nu^{1/2} \quad (1.12)$$

Yukarıda verilen eşitliklerdeki terimlerin anlamları aşağıdaki şekildedir:

I_p : Akım yoğunluğu, A cm⁻²

D: Difüzyon katsayısı, cm² s⁻¹

ν : Tarama hızı, V s⁻¹

C_0 : O_x'un ana çözelti konsantrasyonu, mol cm⁻³

Bir reaksiyonun tersinir olup olmadığını anlayabilmek için farklı tarama hızları için elde edilen dönüşümlü voltamogram verilerinden faydalanılabilir. Eğer Randles-Sevcik eşitliğinden elde edilen I_p - $\nu^{1/2}$ grafiği doğrusal ise ve orijinden geçerse sistem tersinirdir. Ancak bir

reaksiyonun tersinir olup olmadığını anlamada sadece bu yeterli değildir. Böyle bir sistemin tersinirliği için farklı bazı şartlar da vardır.

➤ *Tersinir bir dalganın aşağıdaki kriterlerin tümüne uyması gerekir.*

1. $\Delta E_p = E_{pa} - E_{pk} = 59/n \text{ mV}$
2. $|E_p - E_{p/2}| = 59/n \text{ mV}$
3. $|I_{pa}/I_{pk}| = 1$
4. $I_p \propto v^{1/2}$
5. E_p, v den bağımsızdır.
6. E_p 'den daha negatif (veya daha pozitif) potansiyellerde $I^2 \propto t$ 'dir.

Tarama hızı sabit tutulduğu durumlarda pik akımı (I_p) madde derişimi (C) ile doğru orantılıdır. Bu durumda dönüşümlü voltametri ile maddelerin kantitatif analizleri de yapılabilir. Fakat dönüşümlü voltametri yöntemi nicel analiz için çok da pratik bir yöntem değildir. Bu yöntem daha çok analitin elektrokimyasal özelliklerinin ve elektrokimyasal tepkimelerin mekanizmalarının belirlenmesinde kullanılır.

Tersinir sistemlerde bütün potansiyellerde elektron aktarım hızı kütle aktarım hızından büyüktür ve elektrot yüzeyinde Nernst eşitliği geçerlidir.

b) Tersinmez ve Yarı Tersinir Sistemler

Tersinmez sistemlerde elektron aktarım hızı yeteri kadar büyük olmadığından Nernst eşitliği geçerli değildir. Bu durumda CV voltamogramının şeklinde tersinir durumdakine göre farklılık gözlenir. Tersinmez durumlarda, potansiyel tarama hızı çok düşük ise elektron aktarım hızı kütle aktarım hızından daha yüksektir ve sistem tersinir gibi gözlenebilir. Tarama hızı arttıkça kütle aktarım hızı artar ve elektron aktarım hızı ile aynı seviyeye gelir. Tarama hızı arttıkça anodik ve katodik pik potansiyelleri birbirinden uzaklaşır.

Tamamen tersinmez bir sistemin en önemli belirtisi anodik pikin gözlenmemesidir. Ancak unutmamak gerekir ki bunun tersi her zaman doğru değildir. Örneğin, elektron basamağını takip eden çok hızlı bir kimyasal reaksiyonda meydana gelen ürün hızlı bir şekilde başka bir maddeye dönüşeceği için anodik pik gözlenmeyebilir.

➤ *Tersinmez bir dalganın aşağıdaki kriterlerin tümüne uyması gerekir.*

1. Anodik pik gözlenmez
2. $I_{pk} \propto v^{1/2}$

3. E_{pk} kayması $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de tarama hızındaki 10 birimlik artmada $30 / \alpha_C n \alpha$ mV dur.
4. Tarama hızı 10 kat artarsa $|E_p - E_{p/2}| = 48 / (\alpha_C n \alpha)$ mV' dur.
 - *Bir reaksiyon aşağıdaki kriterleri sağlarsa yarı tersinirdir.*
1. I_p , $v^{1/2}$ ile artar ancak doğrusal değildir.
2. $I_{pa}/I_{pk} = 1$ 'dir. (Eğer $\alpha_C = \alpha_a = 0.5$ ise)
3. $\Delta E_p > 59/n$ mV ve ΔE_p , v ile artar.
4. E_{pk} , v nin artması ile negatif değerlere kayar (Wang, 2000; Bard and Faulkner, 2001).

1.5.1.1. Elektrot mekanizmasının CV ile incelenmesi

Yukarıda da bahsettiğimiz gibi dönüşümlü voltametri ile çözelti arayüzünde gerçekleşen kimyasal reaksiyonların mekanizmaları hakkında bilgi edinilebilir. En yaygın oluşan mekanizmalar CE, EC ve ECE'dir. Burada E; elektrot üzerinde tek elektron transferini, C; elektron transferine eşlik eden kimyasal reaksiyonu belirtmektedir.

➤ CE mekanizması

Bir elektrot reaksiyonunda önce elektroaktif maddenin oluşması daha sonrada elektron aktarım basamağının meydana gelmesi "CE mekanizması" olarak adlandırılır.

Böyle bir mekanizmada C basamağının hızı çok yavaş ve E basamağı tersinir ise CV'de pik gözlenmez ve akım değişen potansiyel ile sınır değerine ulaşır. Kimyasal reaksiyonun hızının çok yüksek olması durumunda CV voltamogramı, normal difüzyon kontrollü durum ile aynıdır.

➤ EC mekanizması

Bir elektrot reaksiyonu ilk önce elektron aktarım basamağından ve ardından bir kimyasal basamaktan oluşuyorsa EC mekanizması olarak adlandırılır.

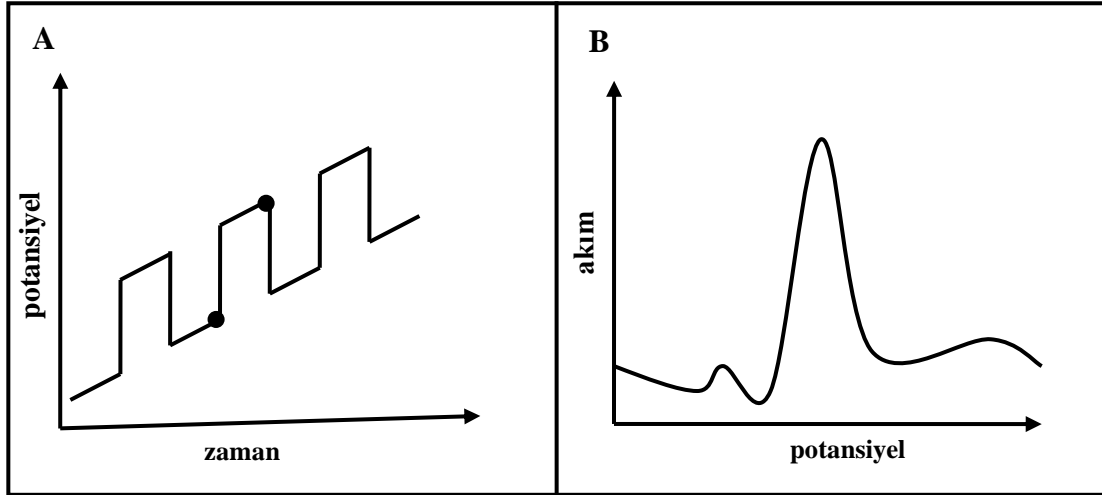
Eğer elektrokimyasal basamak tamamen tersinmez ise kimyasal basamağın voltamogramda hiçbir etkisi bulunmayacağı için veriler kinetik açıdan incelenemez. Elektrokimyasal basamağın tersinir olduğu durumda kimyasal reaksiyon basamağının hız sabiti büyük ise yani hızlıysa anodik pik gözlenmez. Ancak kimyasal basamağın hızı küçük ise anodik pik gözlenir.

➤ ECE mekanizması

Bir elektrot reaksiyonunda elektron aktarım basamağını devamında homojen bir kimyasal reaksiyon ve bu homojen reaksiyonu takip eden de elektrokimyasal bir reaksiyon var ise, bu mekanizmaya ECE mekanizması denir. ECE mekanizması dönüşümlü voltametri tekniği kullanarak belirlenebilir (Bard ve Faulkner, 2001).

1.5.2. Diferansiyel puls voltametri (DPV)

Elektrodun dışarıdan farklı uyarma sinyalleri ile uyarılmasıyla analitin elektrotla olan etkileşimi arttırılabilir. Diferansiyel puls voltametri potansiyel artışının pulslu bir şekilde gerçekleştirildiği voltametrik bir teknik olup Barker ve Jenkin tarafından 1952’de geliştirilmiştir. Burada uygulanan pulslar doğrusal artış gösteren ve sabit büyüklükte uygulanan pulslardır. Bu pulslar çalışma elektroduna belirli aralıklarla ve belirli sürelerde (dE/dt) uygulanır (Şekil 1.17). Ardışık artan vuruşlar şeklinde gerçekleşen potansiyel değişimine karşı ölçülen akım değerleri iki noktada ölçülür. Ölçümlerin ilki puls başlangıcında, diğeri ise pulsun bitimine yakın bir noktadadır. Ölçülen iki değer arasındaki fark ΔI_{puls} olarak gösterilir. Potansiyel ile bu akım farkları arasında elde edilen grafiğe diferansiyel puls voltamogramı denir (Wang, 2000).

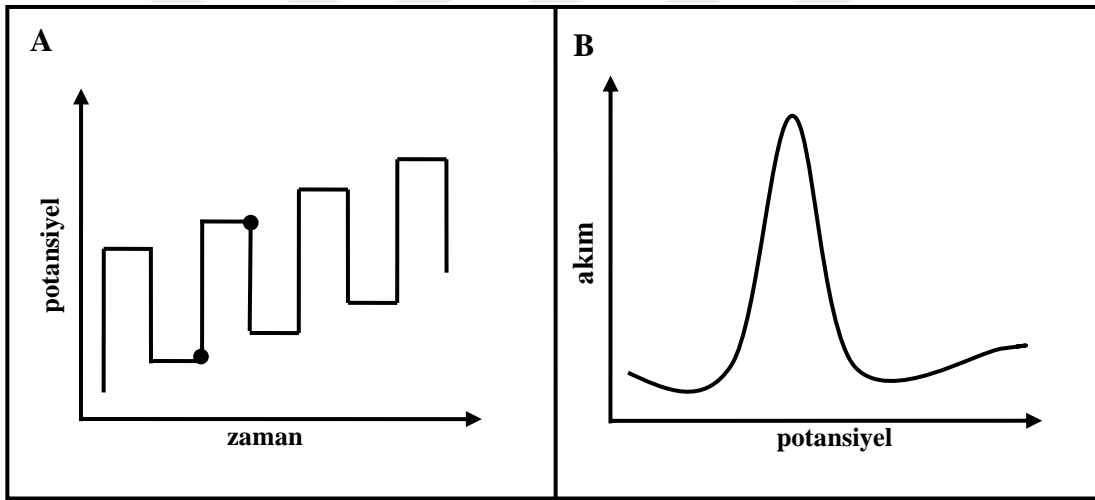


Şekil 1.17. A) Diferansiyel puls voltametri için kullanılan uyarma sinyali B) Diferansiyel puls voltametrisine ait bir voltamogram

Daha çok kalitatif ve kantitatif analiz amaçlı kullanılan diferansiyel puls yöntemiyle oldukça düşük tayin sınırlarında analizler yapılabilir.

1.5.3. Kare dalga voltametri (SWV)

Sahip olduğu hassasiyet ve analiz süresinin kısa sürmesi kare dalga voltametriyi avantajlı kılan özellikleridir. Yöntemde kullanılan uyarma sinyalleri ardışık olarak artan kare dalgalar şeklindedir. Her ne kadar diferansiyel puls yönteminde uygulanan uyarma sinyallerine benzese de dalga içerisinde ani potansiyel artışından sonra doğrusal bir artış gözlenmezken dalgalar arasında sistematik ve kademeli bir artış vardır. Potansiyel değişikliğine karşı oluşan akım değerleri potansiyel uygulanmadan önce ve ani potansiyel artışının sonunda gelen bekleme süresinden sonra ölçülür. Bu iki akım arasındaki fark ise uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak grafiğe geçirildiğinde kare dalga voltogramı elde edilir. Eser miktarda madde analizlerinde tercih edilir (Özcan, 2014).



Şekil 1.18. A) Kare dalga voltametri için kullanılan uyarma sinyali B) Kare dalga voltametrisine ait bir voltamogram

Kare dalga voltametri uygulanırken cihaz üzerinde kare dalga değişkenleri üzerinde bazı değişiklikler yapılarak elde edilen pik akımları iyileştirilebilir. Bu parametreler; genlik, frekans ve bekleme potansiyeli şeklindedir. Genellikle frekans ve genlik arttırıldığında pik akımı değerlerinde artış görülür. Fakat bunlarla birlikte artan pikteki yayılmaya dikkat etmek gerekir. Bu durum düşük konsantrasyonlarda pik belirginliğini etkilemektedir.

Analiz süresinin kısa olması tekrarlı deneyler yapılabilmesine imkan sağlar ve böylelikle çalışmanın kesinliği arttırılmış olur.

Kare dalga voltametrisi diferansiyel puls voltametrisine kıyasla elde edilen pik akımları açısından ortalama 4 kat kadar daha büyük değere sahiptir (Turan, 2008).

1.5.4. Sabit potansiyelli elektroliz (Bulk elektroliz, BE)

Çözelti içerisinde bulunan elektroaktif maddenin elektrolizine dayalı bir yöntem olup bir reaksiyonda aktarılan elektron sayısını bulmak için kullanılır. Çalışmaya önce elektrolizi yapılacak maddenin indirgendiği veya yükseltildiği potansiyel aralığını belirleyerek başlanır. Bu aralık CV, SCP, NPP, NPV, DPP, DPV, SWV gibi teknikler kullanılarak belirlenebilir. Potansiyel aralığın belirlenmesi işleminden sonra bu aralıkta elektroaktif maddenin belli bir süre elektroliz yapılır. Elektroliz esnasında potansiyel sabit tutulur. Yöntem ismini buradan almaktadır.

Bu yöntemde çalışma süresi diğer yöntemlere kıyasla daha uzundur ve çalışma elektrodunun yüzey alanı ise daha büyüktür. Elektroliz işleminin tamamlanabilmesi için çözelti içerisindeki elektroaktif türün derişiminde meydana gelen değişime bakılır. Derişim başlangıç değerinin % 1'ine ulaştığında elektroliz işlemi tamamlanmıştır (İsbir, 2007).

1.5.5. Sıyırma voltametrisi

Çevre ve klinik örneklerdeki maddelerin tayini için duyarlı yöntemlere duyulan ihtiyaç günden güne artmaktadır. Sıyırma voltametrisi bu ihtiyaçtan doğmuş ve son yıllarda hızlı bir şekilde gelişmekte olan bir yöntemdir. Karışım analizlerine uygulanabilirliği, cihazların ucuzluğu ve ölçüm kolaylığı sebebiyle analizcilerin tercih ettiği bir yöntemdir.

Sıyırma voltametrisi kromatografik, florometrik, atom absorpsiyon ve nötron aktivasyon gibi duyarlılığı yüksek kabul edilen yöntemlere eş değerde kabul edilmekte ve eser madde analizlerinde başvuru alan beş yöntemden biri olarak sayılmaktadır. Hem organik hem de anorganik madde analizlerinde kullanılan sıyırma voltametrisi sadece organik madde analizlerinde kullanılan atomik absorpsiyon yöntemine göre daha çok avantaja sahiptir. Bunun dışında aynı çözeltiyi çok defa kullanım imkanı sağlaması açısından tercih edilen bir yöntemdir. Elektroanalitik yöntemler içerisinde kıyaslandığında da duyarlılığı en yüksek yöntemdir. Sıyırma voltametrisi sisteme dışarıdan potansiyel uygulayarak çözelti içerisindeki elektroaktif maddenin kimyasal olarak elektrot yüzeyinde biriktirilmesi ve herhangi bir kimyasal etki yapmaksızın sabit potansiyelle elektroaktif maddenin elektrot yüzeyine adsorpsiyonla biriktirilmesi olmak üzere iki

farklı şekilde uygulanmaktadır. Her iki uygulamada da işlem iki basamakta gerçekleşir. Birinci basamak biriktirme basamağı, ikinci basamak ise sıyırma basamağıdır.

Potansiyel uygulayarak gerçekleştirilen birinci uygulamanın ilk aşamasında çözelti içerisinde bulunan elektroaktif tür indirgenme veya yükseltgenmenin olduğu bir kimyasal reaksiyonla elektrot yüzeyine biriktirilir. Bu işlem sabit potansiyel altında gerçekleştirilir. Böylelikle indirgenen veya yükselten madde elektrot yüzeyinde çözünmez duruma dönüştürülür.

İkinci aşamada ise elektrot yüzeyinde biriktirilen madde dışarıdan potansiyel uygulanmasıyla indirgenerek veya yükseltgenerek elektrot yüzeyinden sıyırılır ve tekrardan çözeltilmeye kazandırılır. Bu işlem maddenin indirgendiği katodik yönde yapılırsa katodik sıyırma voltametri (KSV), maddenin yükseltgendiği anodik yönde yapılırsa anodik sıyırma voltametri (ASV) olarak adlandırılır. İndirgenme veya yükseltgenmenin olduğu bir kimyasal reaksiyonla elektrot yüzeyinde biriktirilen maddenin yüzeyden sıyırılıp tekrardan çözeltilmeye karıştırılması ters yönde bir reaksiyonla gerçekleşir. Bundan dolayı anodik ve katodik sıyırma voltametrisinde gerçekleşen reaksiyonlar tersinir olmalıdır. Oluşan ürünün bozunduğu veya aktif olmayan bir hale dönüştüğü durumlarda anodik ve katodik sıyırma voltametri uygulanamaz (Wang, 200; Turan, 2015).

Maddenin çözeltilmeye tekrardan kazandırıldığı, yükseltgenme veya indirgenmenin gerçekleştiği anda meydana gelen akım ölçülerek kantitatif analiz yapılır. Yöntem ismini bu basamaktan almaktadır.

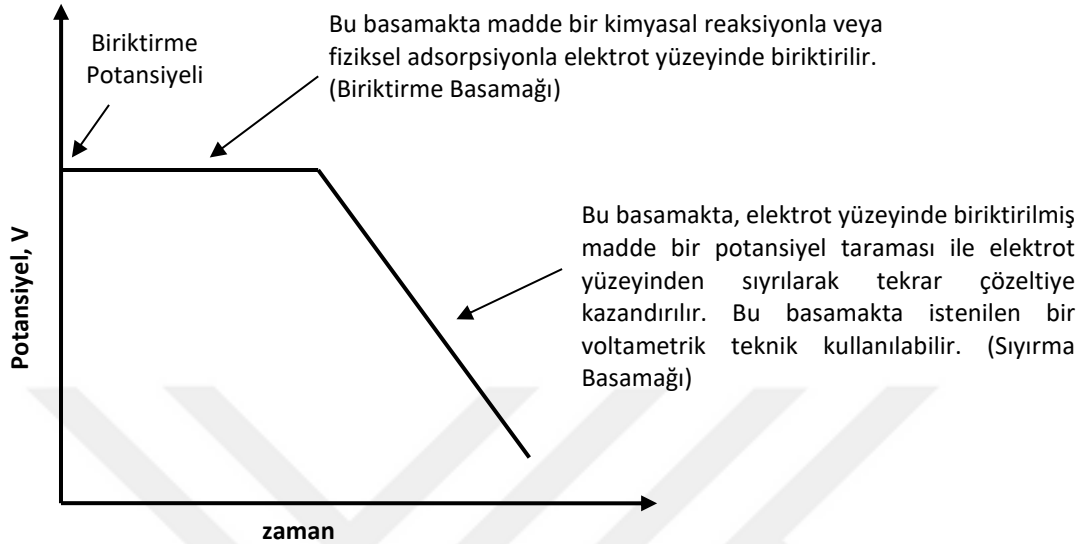
İkinci uygulama ise, adsorptif sıyırma voltametri (AdSV) dir. Bu yöntemin biriktirme basamağında çözeltildeki elektroaktif madde sabit potansiyel altında herhangi bir kimyasal reaksiyon olmaksızın fiziksel adsorpsiyon yolu ile elektrot yüzeyinde biriktirilir. İkinci basamakta ise potansiyel uygulanmasıyla yüzeydeki maddenin indirgenmesi veya yükseltgenmesi sağlanır ve oluşan akım ölçülür. Son yıllarda geliştirilen bu yöntem ile hem çok duyarlı bir analitik yöntem elde edilmiş hem de voltametride istenilmeyen adsorpsiyon olayı bir avantaj haline dönüştürülmüştür.

Biriktirme basamağında elektroaktif maddenin elektrot yüzeyindeki derişim değeri sıyırma analizinin duyarlılığının bir ölçüsüdür. Madde derişimi ne kadar yüksekse duyarlılık o kadar fazladır.

Sıyırma basamağında istenilen farklı voltametrik yöntemler kullanılabilir. Yapılan potansiyel taramasına göre yöntem de sıyırma voltametri, doğrusal taramalı sıyırma

voltametrisi, diferansiyel puls sıyırma voltametrisi veya kare dalga sıyırma voltametrisi vb. gibi farklı isimler alır (Wang, 2000).

Şekil 1.19’da her iki teknik için potansiyel-zaman profili verilmiştir.



Şekil 1.19. Sıyırma tekniklerinde potansiyel-zaman profili

1.5.5.1. Anodik sıyırma voltametrisi (ASV)

‘Anodik sıyırma voltametrisinde biriktirme işlemi katodik yönde, potansiyel taraması ise anodik yönde yapılır.’

Yukarıda da bahsedildiği gibi anodik sıyırma voltametrisinde biriktirme işlemi sabit bir potansiyel altında yapılır. Bu sabit potansiyel katodik yönde ve belli bir süre (t) uygulanır. Biriktirmenin yapıldığı süre boyunca çözelti karıştırılır. Potansiyelin küçük olması ve elektrot yüzeyinin mikro boyutta olmasından dolayı bu basamakta akım değişikliğinin olmadığı varsayılır. Biriken maddenin elektrot yüzeyine ulaşma hızı, maddenin derişimine, elektrolit çözeltisinin difüzyon özelliklerine ve kullanılan elektrodun yüzey alanına bağlı olarak değişir. Doğru sonuçlar alabilmek için biriktirme koşullarının (karıştırma hızı, biriktirme süresi ve sıcaklık) analiz boyunca sabit kalması gereklidir (Copeland ve Skogerboe, 1974; Bond, 1980).

Katodik reaksiyonun gerçekleştiği biriktirme basamağından sonra anodik reaksiyonun olduğu bir sıyırma basamağı gerçekleşir. Yüzeyde biriken maddenin yükseltgenmesiyle hem sıyırma işlemi gerçekleşir hem de bir akım oluşur. Elektrot potansiyelinin bir fonksiyonu olan sıyırma akımı çözelti içindeki ve elektrot yüzeyindeki maddenin derişimi ile doğru orantılıdır (Copeland ve Skogerboe, 1974; Bard ve Faulkner, 1980; Bond, 1980).

1.5.5.2. Katodik sıyırma voltametrisi (KSV)

‘Katodik sıyırma voltametrisinde biriktirme işlemi anodik yönde, sıyırma ise katodik yönde yapılır.’

Anyon ve moleküllerin tayin edilebildiği katodik sıyırma voltametrisinin biriktirme basamağında çözelti içerisindeki maddenin iyonlarına yükseltgenmesi ile bir anodik reaksiyon gerçekleşir. Oluşan bu iyonlar elektrot yüzeyinde maddenin çözünmeyen tuzları halinde birikir. Sıyırma basamağında gerçekleştirilen katodik sıyırma voltametrisi ile yüzeyde biriken bu tuzların çözeltiliye tekrardan karıştırılması sağlanır. İlaç ve pestisit olarak kullanılan organik bileşiklerin analizinde kullanılan katodik sıyırma voltametrisinde elektrot üzerinde biriken tuz tabakasının kalınlığına dikkat etmek gerekir. Aksi takdirde sıyırma basamağında elde edilen sıyırma pikinde bozulmalar meydana gelebilir. Bu sorunu ortadan kaldırmak için çok düşük konsantrasyonlu çözeltiler ile çalışılmalıdır (Wang, 2000).

1.5.5.3. Adsorptif sıyırma voltametrisi (AdSV)

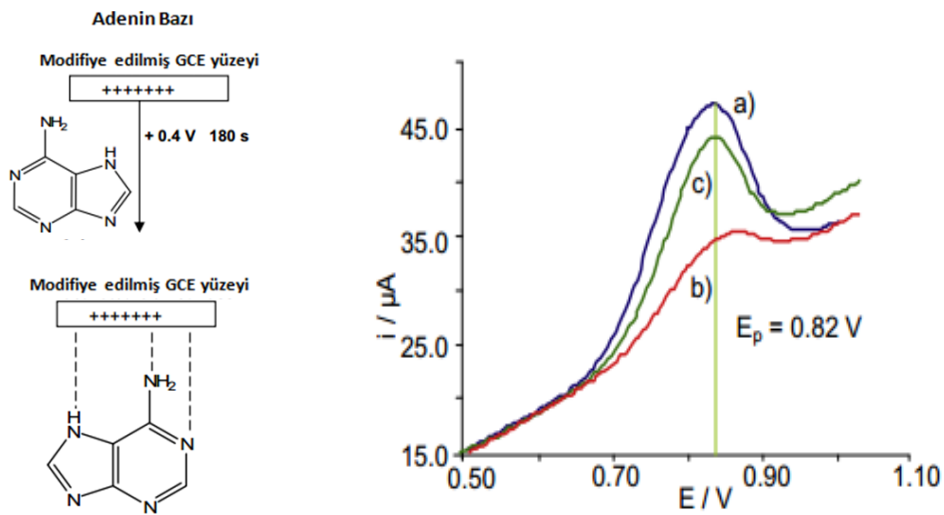
Voltametik analiz yöntemleri içerisinde duyarlılığı en yüksek yöntemdir. Düşük maliyetli olması ve tayin edilebilmesi çok zor, eser miktardaki maddelerin tayininde dahi etkili olması AdSV’ni hem diğer voltametik yöntemlere hem de ASV ve KSV’ne kıyasla tercih edilmiştir. Yöntem, organik maddelerin yanı sıra anorganik maddelerin tayininde de kullanılmaktadır. Adsorpsiyon olayının bir dezavantaj olarak algılandığı voltametri için durumun tamamen avantaja dönüştürüldüğü bir yöntemdir. Elektrot yüzeyine bağlanma adsorptif olarak gerçekleştirildiği için yöntemin uygulanmasında gerçekleşen reaksiyonun tersinir olma zorunluluğu yoktur. Birinci basamakta çözelti sabit potansiyelde karıştırılır ve çözelti içerisindeki elektroaktif türün elektrot yüzeyine adsorpsiyon ile tutunması sağlanır. Sıyırma basamağında ise ani olarak uygulanan potansiyel ile elektrot yüzeyindeki türün indirgenme veya yükseltgenme yoluyla çözeltiliye tekrardan karıştırılması sağlanır (Wang, 2000). Yöntemin uygulanmasında sıyırma parametrelerine de dikkat etmek gerekir. Optimum parametrelerin belirlenmesiyle yöntemin duyarlılığı daha da artırılır. Yöntemin uygulanmasındaki en büyük avantaj; bir deney serisi için kullanılan elektrodu sabitleyebilmektir. Elektrodun sabitlenmesi ve belirli bir süre sonra stabil hale gelmesiyle, eser madde tayinlerinde sistemin dengesini bozacak şekilde yapılan çok küçük dış etkilerin dahi sistemde oluşturduğu tepki çok net bir şekilde gözlemlenebilmektedir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Bunaciu ve arkadaşları (2016), otomatik oksidasyonu durdurma ve antioksidan kapasite tahlillerinin kimyasal ilkelerini analiz etme hakkında antioksidanlarla ilgili birçok çalışma yapmışlardır. Çalışmalarında birbirinden farklı metotlar (elektroanalitik metotlar, kromatografik metotlar, spektroskopik metotlar, florimetrik metotlar, kemilüminesans metotlar, vs.) kullanmış ve sonuçlarını birçok açıdan kıyaslama imkanı bulmuşlardır. Böylelikle literatüre oldukça fazla katkı sağlamışlardır. Farklı laboratuvarlar tarafından elde edilen sonuçlardaki belirgin uyumsuzlukları göz önüne alarak karşılaştırmalı değerlendirilmenin ve standardizasyonun ne kadar gerekli olduğunu göstermişlerdir.

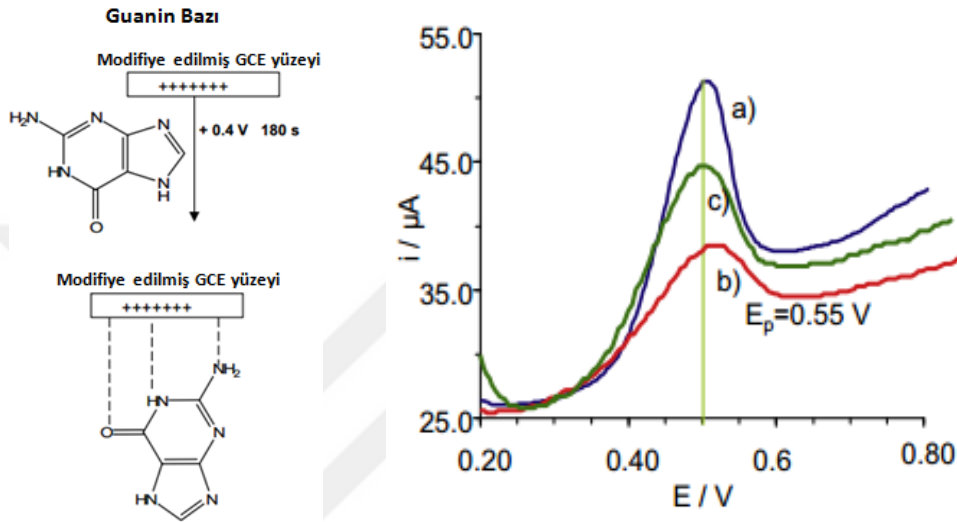
2.1. Antioksidanların Elektrokimyasal Analizi

Barosso ve arkadaşları (2012), elektrokimyasal sensör kullanarak bazı içeceklerin antioksidan kapasitelerini değerlendirmişlerdir. Biyosensör elektrotlarını GC elektrot yüzeyine Purin (Guanin veya Adenin) bağlayarak oluşturmuşlardır. Fenton tipi reaksiyonla oluşan hidroksil radikalının Purin (Guanin veya Adenin) bazlarına verdiği hasarın etkisini incelemişlerdir. Hidroksil radikalının verdiği zararları etkisiz hale getirmek için 5 antioksidan ile çalışmışlardır. Bunlar; Askorbik asit, Gallik asit, Kafeik asit, Kumarik asit ve Resveratrol'dür.



Şekil 2.1. Adenin bazının GC elektrot yüzeyine immobilize edilmesi ve tasarlanan sensör elektrodun SWV voltamogramı. (a) blank sinyali (maks. pik akımı) (b) hidroksil radikali hasarı (c) bir antioksidan ortamında hidroksil radikali hasarı (Askorbik asit)

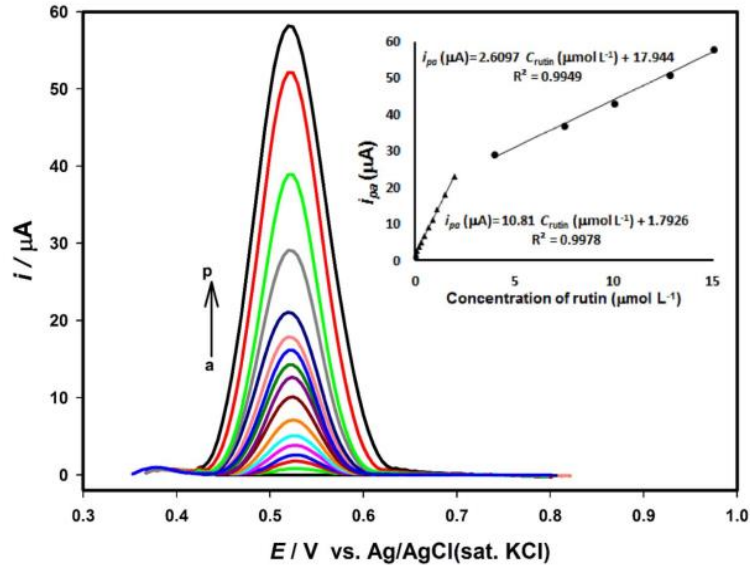
Bu antioksidanlar GC elektrot yüzeyine modifiye edilmiş Adenin ve Guanin bazını korumada ve hidroksil radikalının olumsuz etkisini yok etmede etkilidirler. Antioksidanların varlığında ve yokluğunda modifiye edilen Pürin bazı ile serbest radikalın etkileşimlerini SWV ile elde ettikleri Adenin ve Guanin bazı piklerindeki değişimlere bakarak değerlendirmişlerdir. Elde ettikleri sonuçlarla Pürin biyosensörün içeceklerdeki toplam antioksidan kapasitesini ölçmede etkin olduğunu göstermişlerdir.



Şekil 2.2. Guanin bazının GC elektrot yüzeyine immobilize edilmesi ve tasarlanan sensör elektrodun SWV voltamogramı. (a) blank sinyali (maks. pik akımı) (b) hidroksil radikali hasarı (c) bir antioksidan ortamında hidroksil radikali hasarı (Askorbik asit)

Ulubay Karabiberlioğlu ve arkadaşları (2018), geliştirdikleri elektrokimyasal metotla grafen oksit kompoziti ile zenginleştirilmiş nikel nanoparçacıkları ile modifiye ettikleri camı karbon elektrodu (Ni-GO/GCE) Rutin tayininde kullanmışlardır. Hazırlanan elektrotların yüzey morfolojisini, yüzey kimyasını ve iletkenliğini, taramalı elektron mikroskobu (SEM), yüksek çözünürlüklü transmisyon elektron mikroskobu (HRTEM), X-Işını fotoelektron spektroskopisi (XPS) ve elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) ile karakterize etmişler. Ni-GO/GCE yüzeyindeki Rutin'in elektrokimyasal davranışını dönüşümlü voltametri tekniği ile incelemişler, kare dalga voltametri tekniği ile de Rutin tayini yapmışlardır.

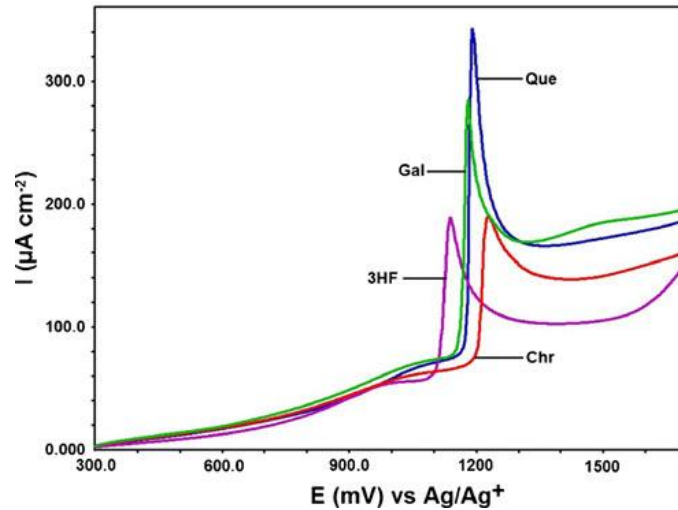
Sonuçlar, optimize edilmiş koşullar altında, Rutin'in anodik pik akımının (I_{pa}), iki konsantrasyon aralığında ($1.1 \times 10^{-8} - 1.0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ ve $2.2 \times 10^{-6} - 1.5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) doğrusal olduğunu göstermiştir (Şekil 2.3). Geliştirdikleri elektrot ile tayin sınırını $3.2 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ olarak gözlemlemişlerdir.



Şekil 2.3. Farklı konsantrasyonlardaki Rutin'in kare dalga voltamogramları (a-p: 1.1×10^{-8} - 1.5×10^{-5})

Demir Mülazımoğlu ve Mülazımoğlu (2013), bu çalışmada 4-4'-metilendianilin (MDA) ile modifiye edilmiş elektrodun Kuersetin, Kaempferol, Luteolin, Galangin tespitinde kullanılabilirliği ayrı ayrı ve eş zamanlı olarak incelenmiştir. GC elektrot yüzeyinin MDA ile modifiyesi dönüşümlü voltametri ile gerçekleştirilmiş aynı zamanda bu sensör elektrodun karakterizasyonunda dönüşümlü voltametri, elektrokimyasal impedans spektroskopisi ve taramalı elektron mikroskopisi teknikleri kullanılmıştır. Sonuç olarak MDA modifiye GC sensör elektrotla flavonoid türevleri ayrı ayrı ve eş zamanlı kolayca tayin edilebilmektedir.

Demir Mülazımoğlu ve Mülazımoğlu (2013), bu çalışmada Kuersetin (Que), Galangin (Gal), Hidroksiflavon (Flv) ve Krisin (Chr)'in tayininde camı karbon elektrodun 2-amino-3-hidroksipiridin (AHP) ile modifikasyonu sonrası kullanılabilirliğinin belirlenmesi dönüşümlü voltametri tekniği ile incelenmiştir. Modifiye edilmiş elektrot yüzeyinin karakterizasyonu dönüşümlü voltametri, elektrokimyasal impedans spektroskopisi ve taramalı elektron mikroskopisi teknikleri ile gerçekleştirilmiştir. AHP'nin camı karbon elektrot yüzeyine modifikasyonu -150 ile +600 mV potansiyel aralığında 100 mV s^{-1} tarama hızında ve 30 döngülü yapılmıştır. Modifiye edilmiş yüzeye flavonoid türevlerinin bağlanması +300 ile +1700 mV potansiyel aralığında 100 mV s^{-1} tarama hızında ve 10 döngülü olarak gerçekleştirilmiştir. Kare dalga voltametri tekniği ile bazı flavonoidlerin belirlenmesiyle modifiye elektrodun kullanılabilirliği incelenmiştir. Sonuç olarak AHP modifiye camı karbon elektrotla Que, 3HF ve Chr; Gal, 3HF ve Chr; 3HF ve Chr'in eş zamanlı olarak tayin edilebilirliği belirlenmiştir.



Şekil 2.4. Asetonitrilde çözülmüş 100 mM NBu_4BF_4 da hazırlanmış 1 mM Kuersetin, Galangin, 3HF ve Krisin'in +300 ve +1700 mV potansiyel aralığında GC/AHP elektrotla elde edilmiş voltamogramları. 100 mV s^{-1} tarama hızında Ag/Ag^+ (10 mM) referans elektroda karşı

Wong ve arkadaşları (2015), Tetrasiklin tayininde kullanmak üzere bir sensör elektrot geliştirmişlerdir. Bunun için öncelikle karbon pasta elektrodu karboksil (COOH) grubu ile fonksiyonlaştırılmış çok duvarlı karbon nano tüp (MWCNTs) ve grafen oksit (GO) ile modifiye etmişlerdir. Elektrokimyasal sensörü, karbon pasta elektroda % 2.6 (w/w) oranında MWCNT-COOH ve % 3.1 (w/w) oranında GO kullanarak geliştirmişlerdir. Karakterizasyon işlemleri için diferansiyel puls adsorptif sıyırma voltametrisini (DPAdSV) kullanmışlar ve Tetrasiklin için $3.6 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ tayin sınırında doğrusal cevap aralığını 2.0×10^{-5} ve $3.1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ olarak tespit etmişlerdir. Karbon pasta üzerine GO ve MWCNT-COOH'un modifikasyonu ile elektrodun duyarlılığının, seçiciliğinin ve kararlılığının arttığını gözlemlemişler ve geliştirdikleri bu sensör elektrodu inceledikleri numunelere herhangi bir ön işlem uygulamadan nehir suyunda, yapay numunede ve farmakolojik örneklerde Tetrasiklin tayini için kullanmışlardır. Elektrokimyasal ölçümler için hesapladıkları bağıl sapmanın % 6'dan ($n=3$) az olduğunu belirtmişlerdir.

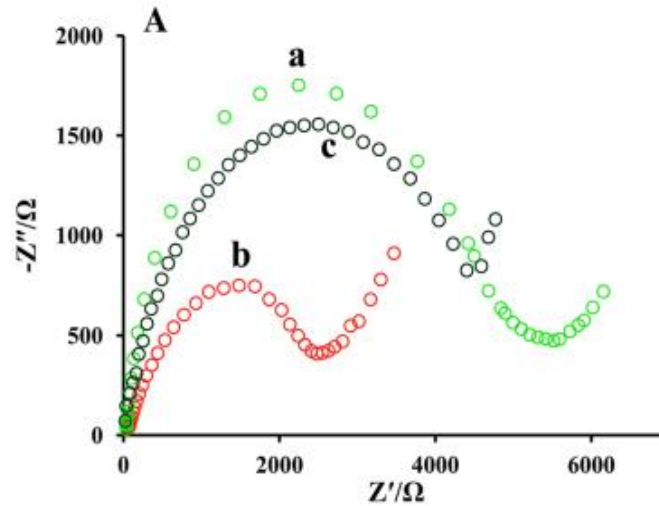
Mülazımoğlu ve arkadaşları (2011), Kuersetin'in, 3- Hidroksiflavon'un ve Baikalin'in dönüşümlü voltametri yöntemiyle camı karbon elektrot yüzeyinde elektrokimyasal yükseltgenmelerini incelemişlerdir. Elektrokimyasal çalışmalarını üç elektrotlu hücre sisteminde gerçekleştirmişlerdir. Modifikasyon işlemlerini susuz ortamda gerçekleştirirken karakterizasyon işlemlerini hem sulu hem de susuz ortamda gerçekleştirmişlerdir. Susuz ortam deneyleri için asetonitril içinde 0.1 M tetrabutilamonyum tetrafloroborat çözeltisini kullanırken sulu ortam deneylerinde pH'sı 2 olan Britton-Robinson tampon çözeltisi ve 0.1 M KCl çözeltisi kullanmışlardır. Tüm bileşiklerin modifikasyon işlemlerini CV ile gerçekleştirmişlerdir. Yüzey

karakterizasyonlarında ise CV, EIS, temas açısı metodu (CAM), Elipsometri ve AFM yöntemlerini kullanmışlardır.

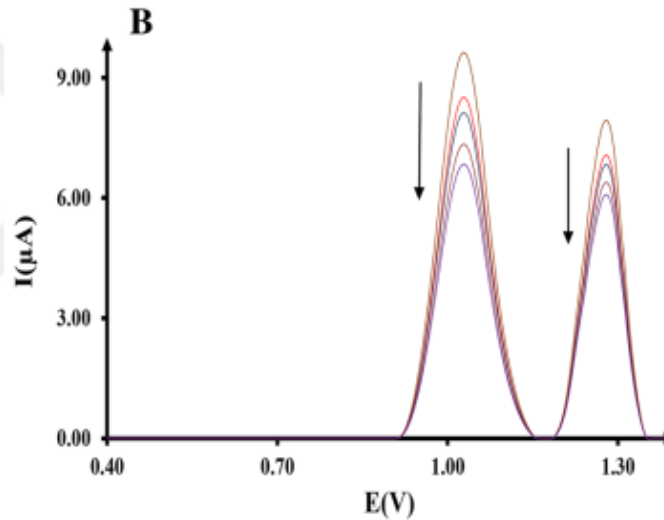
Liu ve arkadaşları (2015), Metronidazol tayini için moleküler baskılı polimer ve çok duvarlı karbon nanotüpün oluşturduğu kompozit yapıyı bir sensör elektrot olarak geliştirmişlerdir. Karakterizasyon işlemlerini SEM ile gerçekleştirmişler ve MWCNTs üzerinde biriken mükemmel bir polimerik tabaka gözlemlemişlerdir. Elde ettikleri bu yüzeyin Metronidazol'e karşı verdiği elektriksel sinyallerde belirgin bir artış olduğunu bulmuşlardır. Uyguladıkları metot ile herhangi bir yardımcı ayırma metoduna ihtiyaç duymadan ilaçlarda ve balık dokusunda Metronidazol miktarı tayininin rahatlıkla yapılabileceğini vurgulamışlardır.

Devi ve arkadaşları (2015), balık, kümes hayvanları ve koruyucu gıdalar gibi hayvansal gıdalarda koruyucu olarak bulunan Etoksikuin (EQ) ile çalışmış ve koruyucu olarak EQ'nin aşırısının (>75 ppm) çeşitli sağlık sorunlarına neden olduğuna değinmişlerdir. Gıda numunelerinden EQ'nun tayini için daha önceleri kullanılan metotların karmaşık ve pahalı olmasından dolayı geliştirdikleri metot ile EQ tayini yapmışlardır. Yaptıkları çalışmada GC elektrot yüzeyine pH'sı 7 olan 0.1 M fosfat tamponunda (PBS) çok duvarlı karbon nanotüp (MWCNT) modifiye ederek seçici ve enzimatik olmayan elektroanalitik bir yöntem ile yeni bir modifiye elektrot geliştirmişlerdir. GCE/MWCNT elektrot ile etanol de çözülmüş EQ çözeltisinde -0.2 V potansiyelde kinolin türevine bağlı bir redoks piki gözlemlemişler, modifiye yapmadıkları GC elektrotta herhangi bir pike rastlamamışlar, modifiye elektrodun karakterizasyonunu ise Raman ve FTIR ile yapmışlardır.

Ensafi ve arkadaşları (2016), modifiye ettikleri kalem grafit elektrot (PGE) ile Naringin-DNA etkileşimini inceledikleri ve Naringin tayini üzerinde çalıştıkları bir elektrokimyasal sensör geliştirmişlerdir. Kullandıkları biosensörü DNA ilaveli dialildimetilamonyum klorür ve MWCNT parçacıklarını (dsDNA/PDDA-MWCNTs/PGE), PGE yüzeyine modifiye ederek hazırlamışlardır. Hazırladıkları biosensörün değerlendirmesinde diferansiyel puls votametri tekniğini kullanmışlar, Adenin ve Guanin oksidasyon sinyallerindeki değişikliklerden yararlanmışlardır. Optimum koşullarda, $0.010 \mu\text{g mL}^{-1}$ tayin sınırında, Naringin ölçümlerini $0.058-580.0 \mu\text{g mL}^{-1}$ arasında yapmışlardır. $0.58 \mu\text{g mL}^{-1}$ Naringin'in Guanin ve Adenin ile etkileşiminden kaynaklanan sinyallerine dayalı beş ölçümü için hesaplanan standart sapmaları sırasıyla % 3.7 ve % 4.2'dir. Geliştirdikleri biosensörü Naringin tayini için seçici bir sensör olarak kullanmışlardır. Modifiye edilen ve modifiye edilmeyen PGE'nin yük transfer direncini ise EIS ile değerlendirmişlerdir. Son olarak yüksek kararlılıktaki elektrokimyasal biosensörü çeşitli narenciye sularında Naringin analizi için kullanmışlardır.



Şekil 2.5. Naringin için elektrot seçimi. 0.10 mol L^{-1} KCl içeren 5.0 mmol L^{-1} $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ çözeltisi içerisinde a) Modifiye olmamış PGE; (b) MWCNTs-PDDA/PGE ve (c) MWCNTs-PDDA/DNA/PGE için alınan EIS görüntüleri



Şekil 2.6. ds-DNA/PDDA-MWCNTs/PGE yüzeyinde Guanin ve Adenin'in Naringin ile etkileşimi sonucu alınan DPV. ($2.0, 20.0, 100.0, 400.0$ ve 600.0 mg L^{-1} derişimlerinde, pH 4.8 asetat tamponu içerisinde, $+0.40 \text{ V}$ ve $+1.40 \text{ V}$ potansiyel aralığında)

Moleküler baskı teknolojisi, molekülleri tanımaya dayanır. Bu hedef molekül çevresinde oluşan bir polimerizasyon türüdür. Çapraz bağlı polimerik matrislerin içindeki boşluklardan dolayı bu teknik oluşmuştur. Bu makalede Gupta ve arkadaşları (2014), Kamferol'ün (KAE) gerçek zamanlı tayini için kuvars kristal mikrobalsı (QCM) ile bir nanosensör tasarlamışlardır. Öncelikle çip yüzeyinde çift bağların polimerizasyonunu gösterebilmek için alil merkaptanın kendiliğinden birleşebilen tek katmanlı oluşumuyla altın yüzeyin QCM çipi ile modifikasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Daha sonra altın yüzey üzerinde KAE baskılı poli (2-hidroksietilmetakrilat-metakriloilamidoaspartik asit) [p(HEMA-MAAsp)] filmini

oluşturmuşlardır. Modifiye edilmemiş ve KAE baskılı p(HEMA–MAAsp) ile modifiye edilmiş yüzeylerin karakterizasyonunu atomik kuvvet mikroskopi (AFM), Fourier dönüşüm infrared spektroskopi (FTIR) ve elipsometri ile gerçekleştirmişlerdir. Derişim için doğrusal aralığı 2.0×10^{-10} - 1.5×10^{-9} M şeklinde ve tayin sınırını 6.0×10^{-11} M olarak bulmuşlardır. Geliştirdikleri metodu portakal ve elma suyu gibi gerçek numunelerde Kuersetin (QR), Mirisetin (MYR) ve Apigenin (API) varlığında KAE tayininde kullanmışlardır.

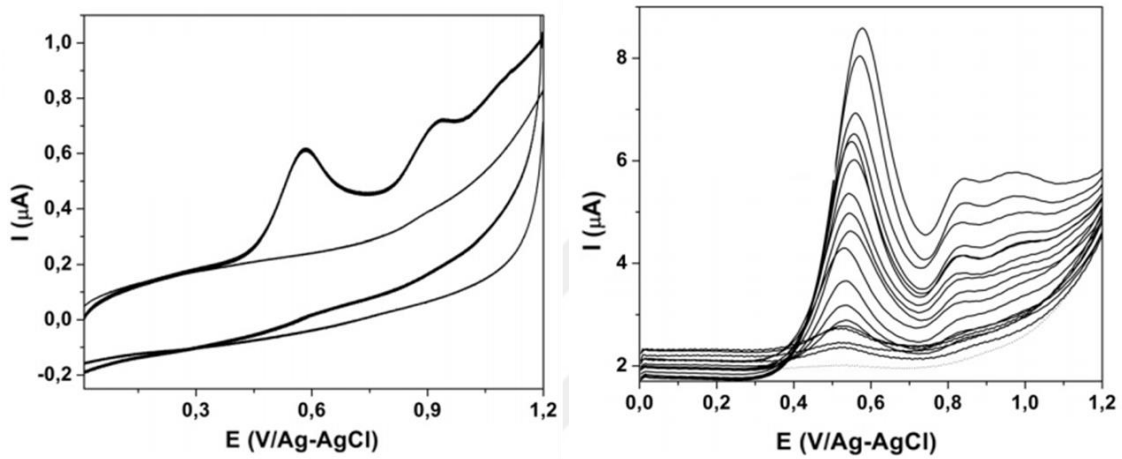
Wang ve arkadaşları (2015), farmakolojik enjeksiyonlarda ve sulandırılmış insan kanı numunelerinde Epirubisin (EPI) ve Metotreksat (MTX) tayini üzerinde çalışmışlardır. Çalışmalarında perde baskılı elektrot (SPE) kullanmışlardır. SPE elektrodu sırasıyla; çok duvarlı karbon nanotüp (MWCNTs), ZnO parçacıkları ve altın (Au) nano parçacıkları ile kademeli olarak modifiye etmişler ve modifiye edilen elektrodun elektrokimyasal davranışlarının kademeli modifikasyona bağlı olarak büyük oranda geliştiğini tespit etmişlerdir. Maddelerin tayini için optimum deney koşullarını belirlemişler ve kare dalga voltametri (SWV) kullanarak EPI ve MTX için elde ettikleri piklerin konsantrasyon artışı ile doğrusal artış gösterdiği sonucuna ulaşmışlardır. Optimum koşullarda EPI ve MTX için sırasıyla 2.5 nM ve 10 nM tayin sınırında, doğrusal aralıklarını 0.005–0.200 μ M and 0.02–1.00 μ M olarak belirlemişlerdir. Farmakolojik enjeksiyonlarda ve insan kanında EPI ve MTX tayininde tatmin edici sonuçlara ulaşmışlardır.

Liang ve arkadaşları (2017), setiltrimetil amonyum bromür-karboksilik ile zenginleştirdikleri çok duvarlı karbon nanotüp kompozitlerini çok duvarlı karbon pastasına karıştırarak ürettikleri elektrot ile flavonoidlerin tayini için eşsiz özelliklere sahip, hassas bir elektrokimyasal sensör geliştirmişlerdir.

Mülazımoğlu ve Demir Mülazımoğlu (2012), tarafından yapılan bu çalışmada, yapıları farklı olan 10 farklı flavonoid'in (Kuersetin, Galangin, Krisin, 3-Hidroksiflavon, Naringenin, Luteolin, Apigenin, Flavon, Kaemferol ve Naringin) camsı karbon elektrot yüzeyinde dönüşümlü voltametri ile elektrokimyasal davranışları incelenmiştir. Bu çalışmada nitrofenil diazanyum tuzu oluşturulmuş, elektrokimyasal olarak elektrot yüzeyinde aminofenil sentezlenmiştir. Hazırlanan 1 mM nitrofenil diazanyum tuzu (100 mM tetrabütülamonyum tetrafloroborat içerisinde çözülmüş), asitonitril içinde camsı karbon elektrodu modifiye etmek için kullanılmıştır. Diazo grubu üzerinden modifikasyon yapılmış ve sonrasında asidik ortamda indirgenerek nitro-amin dönüşümü sağlanmıştır. Camsı karbon elektrot yüzeyine modifiye edilen aminofenil dönüşümlü voltametri tekniği ile flavonoid türevlerinin tayini için kullanılmıştır. Sonuç olarak yapısal olarak farklı olan flavonoidlerin aktivite dizilişi şu sırayı izlemektedir:

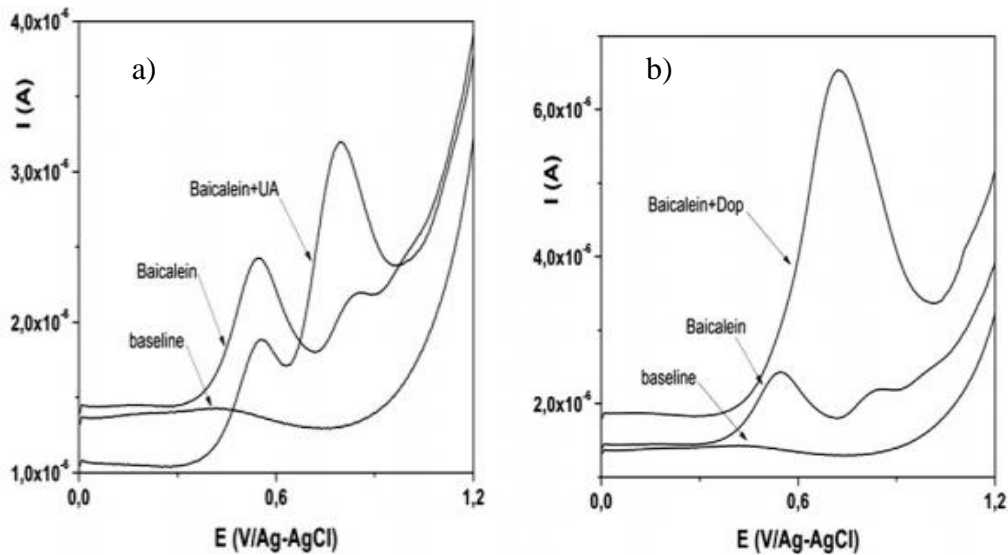
Kuersetin > Galangin > Krisin > 3-Hidroksiflavon > Naringenin > Luteolin > Apigenin > Flavon > Kaempferol > Naringin.

Kuzmanoviç ve arkadaşları (2015), bor katkılı elmas elektrot kullanarak *Skutellaria Baikalensis*'in temel aktif flavonoidi olan Baikalin'in elektrokimyasal davranışları ve tayini üzerinde çalışmışlardır. BR tamponunda pH 2'de baikalin için +0.5 V ve +0.8 V potansiyel değerlerinde iki oksidasyon piki elde etmişler, kare dalga voltametri metodunu kullanarak Baikalin tayini yapmışlardır.

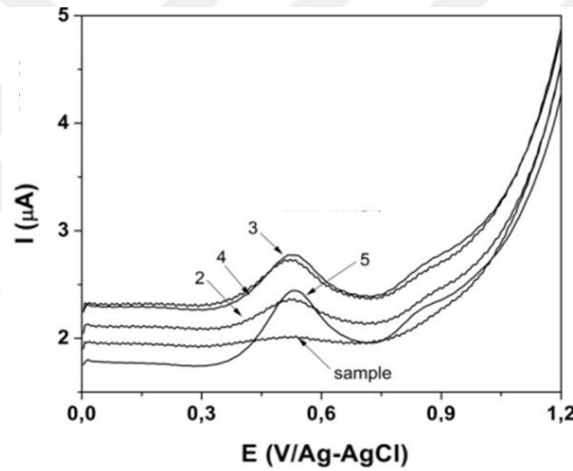


Şekil 2.7. 0.1 mmol Baikalin çözeltisinin BDD (bor katkılı elmas) elektrot ile a) dönüşümlü voltamogramları (BR, pH 2, 100 mV/s) b) SWV ile farklı konsantrasyonlarda Baikalin tayini

Optimum parametrelerde 0.26 μM tayin sınırında 1-95 μM doğrusal aralığında kalibrasyon grafiğini çizmişlerdir. Sekiz başarılı ölçümden sonra tekrarlanabilirliği % 37 bulmuşlardır. Önerdikleri metodu mükemmel geri kazanımla gerçek numunelerde *Baikalensis* tayininde kullanmışlardır. Geliştirdikleri yaklaşımın, biyolojik numunelerde flavonoid analizinde yaygın olarak kullanılabilceğini önermişlerdir.



Şekil 2.8. a) $10 \mu\text{M}$ Baicalin'in Ürik asit varlığında ve yokluğunda alınan SW voltamogramları b) $10 \mu\text{M}$ Baicalin'in Dopamin varlığında ve yokluğunda alınan SW voltamogramları



Şekil 2.9. Üre örneği içerisinde farklı derişimlerde (2, 3, 4 ve $5 \mu\text{M}$) Baicalin standardı ilavesi ile elde edilmiş voltamogramlar

Pan ve arkadaşları (2015), Klebsiella Pnömoni Karbapenemaz (KPC) tayininde kullanılmak üzere hassas duyarlılıkta bir elektrokimyasal DNA biyosensörü yapımı üzerinde çalışmışlardır. GC elektrodun üzerine altın nanoparçacıklar (Au-NPs) ve grafen (Gr) modifiye etmişlerdir. Çalışmalarında karakterizasyon işlemleri için taramalı elektron mikroskopi (SEM), dönüşümlü voltametri (CV) ve elektrokimyasal impedans spektroskopisi (EIS) yöntemlerini kullanmışlardır. Hibridizasyon tayini ölçümlerini metilen mavisi kullanarak diferansiyel puls voltametri (DPV) yöntemi ile yapmışlardır. Hedef DNA dizisi için $2 \times 10^{-13} \text{ mol L}^{-1}$ tayin sınırı ile dinamik aralığı 1×10^{-12} ile $1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ aralığında belirlemişlerdir. Çalışmaları süresince oluşturdukları DNA biyosensörün tamamlanmamış veya eşlenmemiş DNA dizilerinin arasından tamamlanmış DNA dizilerini tespit etmede mükemmel özellikte olduğunu gözlemlemişlerdir.

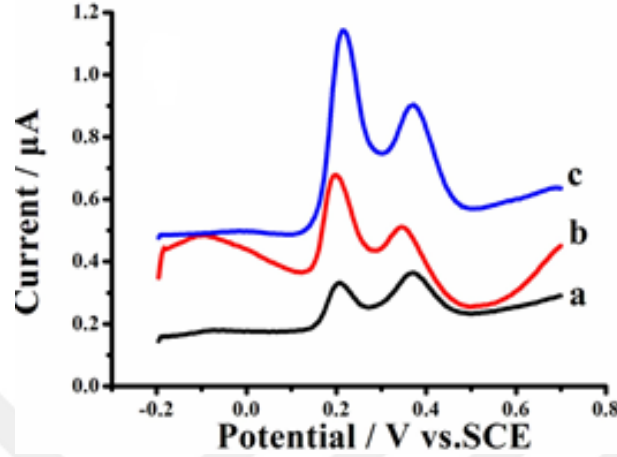
Elde ettikleri sonuçlar yüksek performans elektrokatalizörlerin gelişmesi için Au-NPs/Gr nano kompozitinin umut verici bir yüzey oluşturduğunu göstermiştir.

Shahrokhian ve arkadaşları (2014), çalışmalarında Seftriakson (CFX) tayini için sensör elektrot oluşturmuşlardır. Camsı karbon (GC) elektrodu çok duvarlı karbon nanotüple geliştirilmiş platin nano parçacıkları ile modifiye etmişlerdir. CFX'in camsı karbon üzerinde, çok duvarlı karbon nanotüple modifiye edilmiş camsı karbon üzerinde (MWCNT/GC) ve çok duvarlı karbon nanotüple geliştirilmiş platin nano parçacıkları ile modifiye edilmiş camsı karbon (PtNPs/MWCNT/GC) üzerindeki elektrokimyasal davranışlarını incelemişlerdir. Optimize edilmiş koşullar altında, tayin sınırının 9.01 nM olduğu ve 0.01-10.00 μ M çalışma aralığında CFX' in konsantrasyonu ile oluşan oksidasyon pikinin doğrusal olarak arttığını gözlemlemişlerdir. Elde ettikleri sonuçların modifiye edilen elektrodun farmakolojik ve klinik numunelerdeki CFX tayininde kullanılabileceğini destekler nitelikte olduğunu belirtmişlerdir.

Zhang ve arkadaşları (2014), Askorbik asit, Ürik asit ve Dopamin içerisinde bulunan Siprofloksasin (CPFX)'i tayin edebilmek için bir sensör elektrot geliştirmişlerdir. Bunun için öncelikle camsı karbon elektrodu poliyalizerin kırmızısı (PAR) ile elektrokimyasal olarak biriktirilmiş grafen (EGR) kompozit film ile modifiye etmişlerdir. PAR/EGR filminin şekil ve arayüzey özelliklerini taramalı elektron mikroskopi (SEM) ve elektrokimyasal impedans spektroskopisi (EIS) ile incelemişler, PAR/EGR film üzerindeki CPFX'in elektrokatalitik olarak yükseltgenmesini ise dönüşümlü voltametri (CV) ve diferansiyel puls voltametri (DPV) yöntemlerini kullanarak araştırmışlardır. 0.01 μ M tayin sınırında doğrusal aralığı 4×10^{-8} ile 1.2×10^{-4} M olarak belirlemişlerdir.

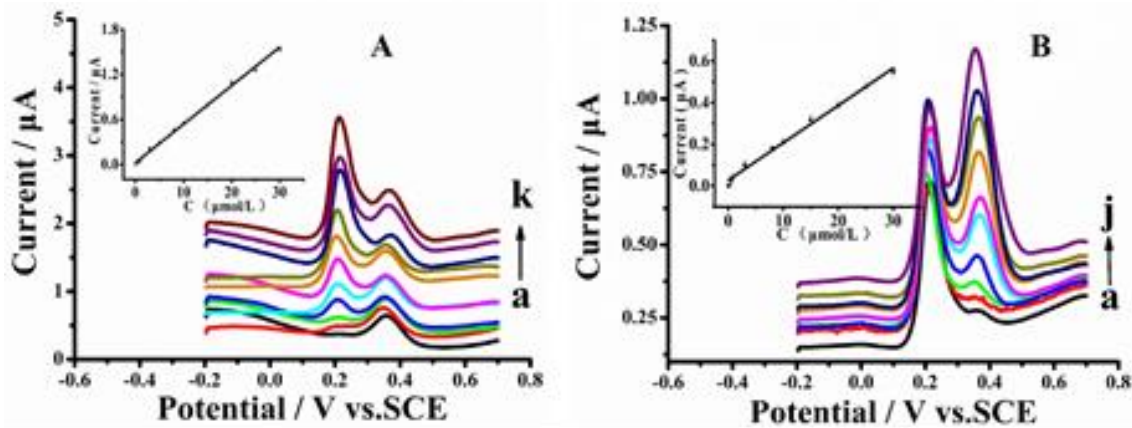
Zhai ve arkadaşları (2015), sülfatlanarak fonksiyonunu arttırdıkları grafeni gümüş nano parçacıkları ile etkileştirerek (AgNPs/SF-GR/GC) camsı karbon elektrot yüzeyine modifiye etmişlerdir. Bu modifiye elektrodu sırasıyla Kloramfenikol ve Metronidazol tayininde kullanmışlardır. Sülfonik grubun avantajıyla AgNPs, GC elektrot üzerine tutturulan grafende kolaylıkla birikmişlerdir. Çıplak camsı karbona veya sadece sülfatlanmış grafene kıyasla oluşturulan AgNPs/SF-GR/GC elektrot Kloramfenikol ve Metronidazol tayininde mükemmel indirgenme pikleri göstermişlerdir. İlave olarak bu antibakteriyel iki maddeyi pH'sı 4 olan, 0.10 M sitrik asit-sodyum sitrat tampon çözeltisinden diferansiyel puls sıyırma voltametri yöntemiyle tamamen ayırmışlar hatta yine bu iki maddeyi sulu ortamda da eşzamanlı ayırma çalışmaları yapmışlardır.

Shi ve arkadaşları (2018), sofraya yağında bulunan sentetik antioksidan olan Propilgallet (PG) ve Bütilhidroksianisolün (BHA) eş zamanlı tayini için grafen oksit/ β -siklodekstrin (GO/ β -CD) kompozitini sentezleyerek bir elektrokimyasal sensör geliştirmişlerdir.



Şekil 2.10. 10 mmol/L PG and 6 mmol/L BHA'nın diferansiyel puls voltamogramları (a) bare GC, (b) GO/GCE, (c) NH_2 - β -CD/rGO

Yeni geliştirdikleri elektrotla PG ve BHA'nın oksidasyon piklerinde belirgin bir artış olduğunu gözlemlemişlerdir.



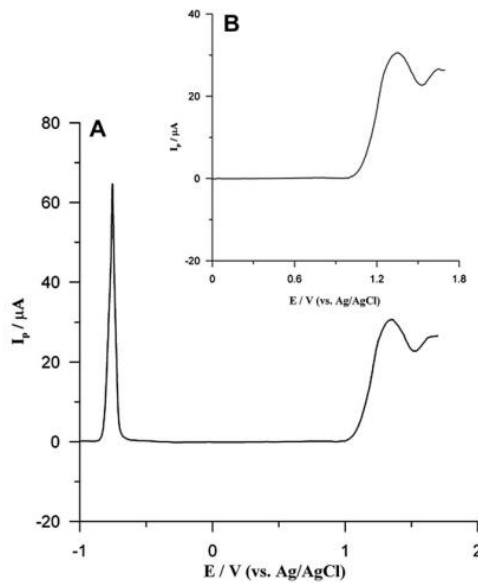
Şekil 2.11. NH_2 - β CD/rGO/GC elektrodun BR (pH 5.72) tamponunda diferansiyel puls voltamogramları (A) 10 $\mu\text{mol/L}$ BHA varlığında farklı konsantrasyonlarda PG: 0.1, 0.8, 1.0, 3.0, 5.0, 8.0, 10.0, 15.0, 20.0, 25.0 ve 30.0 $\mu\text{mol/L}$ (a-k) ve (B) 6.0 $\mu\text{mol/L}$ PG varlığında farklı konsantrasyonlarda BHA: 0.05, 0.5, 0.8, 3.0, 8.0, 10.0, 15.0, 20.0, 25.0 and 30.0 $\mu\text{mol/L}$ (a-j)

PG ve BHA için tayin sınırını sırasıyla 0.01 $\mu\text{mol/L}$ ve 0.03 $\mu\text{mol/L}$ olarak ölçmüşlerdir. Geliştirdikleri sensörü sofraya yağı analizinde eş zamanlı PG ve BHA tayininde başarılı bir şekilde kullanmışlardır.

2.2. Antioksidanların Elektrokimyasal ve Kromatografik Metodlarla Analizi

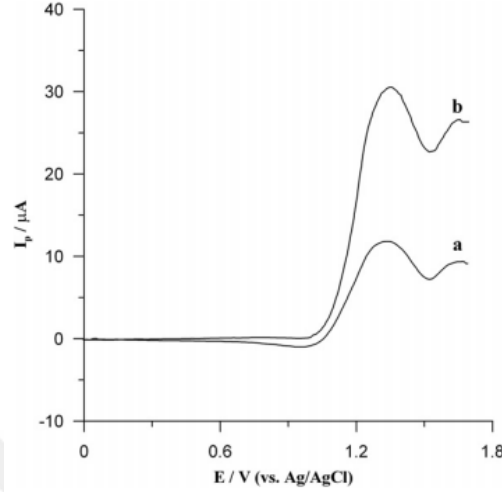
Cortina-Puig ve arkadaşları (2012), farklı metotlarla fenolik bileşiklerin tayinleri üzerinde çalışmışlardır. Fenolik bileşikler pek çok meyve, sebze ve içeceklerde önemli bir bileşen olup bunların lezzet, renk ve duyu özelliklerine katkıda bulunurlar. Ayrıca oksidatif baskı ile ilgili olduğu düşünülen kardiyovasküler hastalıklar, kanser ve inflamasyon hastalıklarının önlenmesinde etkili oldukları düşünülmekte ve biyoaktif fonksiyonları nedeniyle son yıllarda özel ilgi görmektedirler. Bu çalışmada fenolik bileşiklerin tayinleri için farklı analitik yöntemler kullanmışlar bu yöntemlerden sıvı kromatografisini (LC) gaz kromatografisine (GC) kıyasla türevlendirme gerekmediğinden ve daha düşük bir opsiyona sahip olmasından dolayı tercih etmişlerdir. LC metodunu yalnız başına değil de elektrokimyasal tayin (ECD) veya kütle spektroskopisi dedektörleri (MS) ile birlikte ele aldıklarında fenolik bileşiklerin tayin etmede daha hassas, seçici ve tekrarlanabilir yöntem haline geldiğini görmüşlerdir.

Tyszcuk-Rotko ve arkadaşları (2013), yüksek performans sıvı kromatografisi (HPLC) ile birlikte kullanılacak bir elektrokimyasal tayin sistemi geliştirmişlerdir. Çalışma elektrodu olarak kurşun film elektrot kullanmışlardır. Bu elektrodu Betülinik asitin (BA) adsorptif sıyırma voltametrik tayininde potansiyel sensör olarak test etmişlerdir. Uygulanan elektrokimyasal yöntemin duyarlılığı gümüş film elektrodun yüzeyinde oluşan adsorptif birikimden kaynaklanmaktadır. Çalışmalarında destek elektrolit olarak sodyum hidroksit çözeltisi kullanmışlardır.



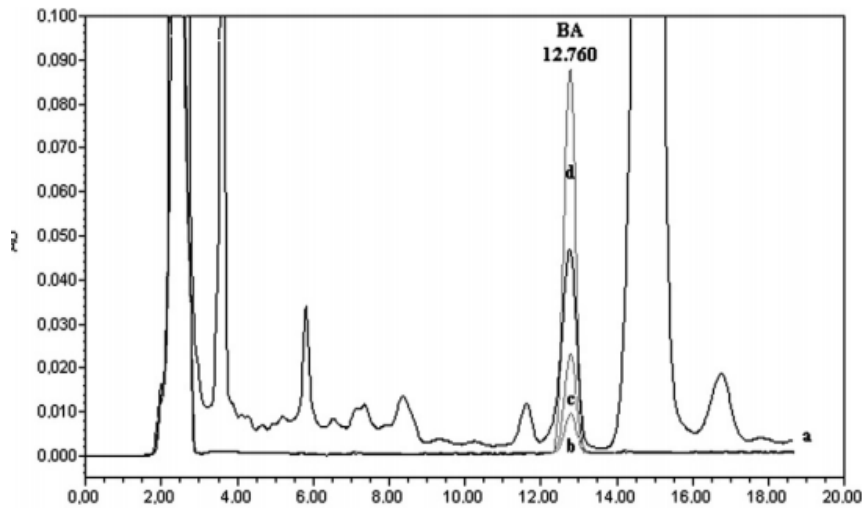
Şekil 2.12. 0.4 $\mu\text{g L}^{-1}$ derişimdeki BA çözeltisinin kare dalga voltamogramı. (BA'nın -1 V potansiyelde 30 s boyunca birikmesi sağlanmıştır.)

Adsorptif sıyırma voltametri ile BA için oksidasyon pikinin 0.02-0.5 $\mu\text{g L}^{-1}$ aralığında BA konsantrasyonu ile orantılı olduğunu ve tayin sınırının da 0.009 $\mu\text{g L}^{-1}$ olduğunu bulmuşlardır.

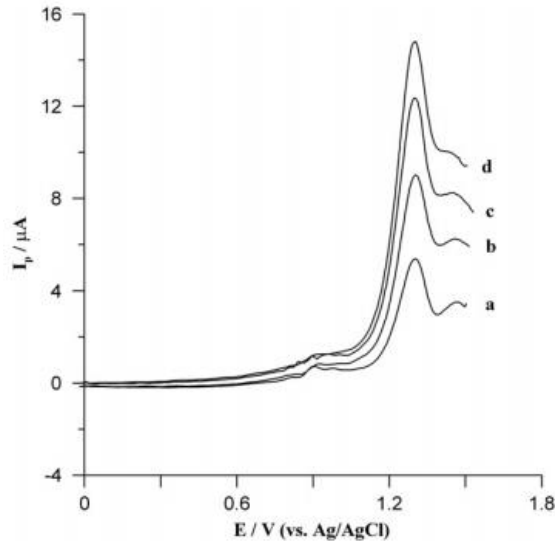


Şekil 2.13. 0.4 $\mu\text{g L}^{-1}$ derişimdeki BA çözeltilisinin 0 ile 1.7 V potansiyel aralığındaki (a) camış karbon elektrot (b) ve kurşun film elektrot ile elde edilen anodik sıyırma kare dalga voltamogramları

BA ekstraktına HPLC ayırma tekniğini uyguladıktan sonra voltametrik tayin uygulayarak mükemmel bir sonuç elde etmişlerdir. Önerdikleri metotla elde ettikleri sonucun HPLC-PAD detektörüyle elde edilen sonuçlarla kıyasladıklarında sonuçların birbirine çok yakın olduğunu görmüşlerdir. Pentasayklik tiriterpinin tayininde HPLC ile beraber yapılan ilk elektrokimyasal çalışmadır.



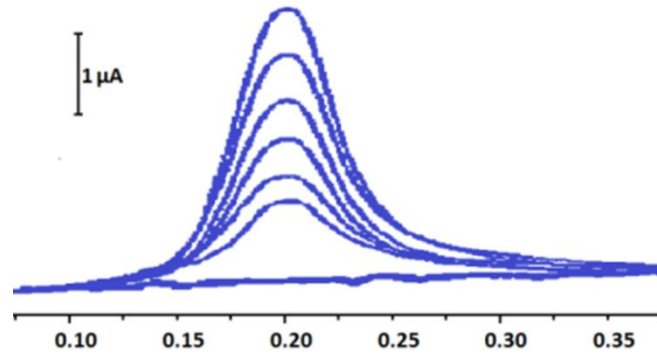
Şekil 2.14. HPLC kromatogramları: (a) birc bark ekstraktı; (b) 0.01 g L^{-1} BA ; (c) 0.015 g L^{-1} BA; (d) 0.06 g L^{-1} BA



Şekil 2.15. HPLC ayırımından sonra birç bark (*B. Verrucosa*) ekstraktından elde edilen kare dalga voltomogramları. (a) 0.5 μg örnekte (b) 0.03 $\mu\text{g L}^{-1}$ BA (c) 0.06 $\mu\text{g L}^{-1}$ BA (d) 0.09 $\mu\text{g L}^{-1}$ BA (BA, elektrot yüzeyinde -1.0 V potansiyelde 15 s boyunca doğrusal olarak biriktirilmiştir.)

Tesio ve arkadaşları (2014), çalışmalarında farmakolojik formüllerde bulunan iki flavonoid örneği olan Luteolin ve Rutin'in elektroanalitik metodla miktarlarının belirlenmesi üzerinde durmuşlardır. Çalışmaları polietilamin içine dağılmış çok duvarlı karbon nanotüp ile modifiye edilmiş camı karbon elektroda kare dalga voltametri uygulanması temeline dayanmaktadır. Her iki flavonoid türü de % 10 etanol + 1 mol/L HClO₄ sulu çözeltisi içinde yarı tersinir reaksiyon göstermekte ve birbirine çok yakın potansiyel değerlerinde belirlenmektedirler. Flavonoidlerin modifiye elektrot yüzeyine adsorpsiyonu 0.55 V potansiyelde ve 20 dk. sürede gerçekleştirilmiştir. Çalışmalarında; yapay sinirsel ağ kullanarak elektrokimyasal sinyal uygulamışlar ve Luteolin ve Rutin'in elektrokimyasal tepkilerinin büyük ölçüde örtüştüğünü gözlemlemişlerdir. Yapay sinirsel ağ metoduyla her tablette Luteolin ve Rutin için sırasıyla 92.6 \pm 4 ve 92 \pm 1 mg değer tespit etmişler ve ulaştıkları sonuçların HPLC ile elde ettikleri sonuçları destekler nitelikte olduğunu belirtmişlerdir.

Akyıldırım ve arkadaşları (2015), demir nanoparçacıkları (FeNPs) ve 2-aminoetantiyol (2-AET) ile fonksiyonelleştirilmiş grafen oksit (2-AETGO) bazlı yeni bir elektrokimyasal sensör ile çalışmışlardır. Nanokompozitlerin karakterizasyonu için geçirimli elektron mikroskopi (TEM), taramalı elektron mikroskopi (SEM), X-ışını fotoelektron spektroskopi-(XPS), yansıma emilim kızılötesi spektroskopi (RAIRS), elektrokimyasal impedans spektroskopi-(EIS) ve x-ışını difraksiyonu (XRD) gibi metotları kullanmışlardır.



Şekil 2.16. SWV ile alınmış farklı konsantrasyonlarda Kueretin çözeltilerinin FeNPs/2-AETGO/GC elektrot yüzeyinde tayini

Doğrusallığı 1.0×10^{-8} - 1.0×10^{-7} M, Kueretin tayin sınırını 2.0×10^{-9} M olarak bulmuşlar ve modifiye edilmiş GC elektrodu (FeNPs/2-AETGO/GCE) elma suyu gibi gıda örneklerine Kueretin tayini için kullanmışlardır.

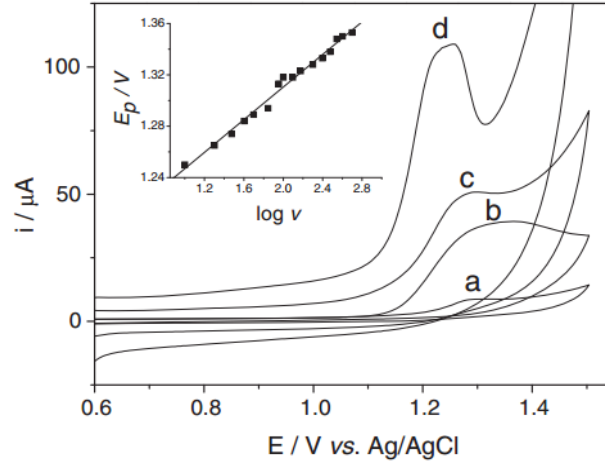
Çizelge 2.1. LC-MS/MS ve SWV analiz sonuçları

Örnek	SWV	LC-MS/MS
Elma Suyu	$2.10 \pm (0.02) \times 10^{-8}$	$2.12 \pm (0.04) \times 10^{-8}$
SD	0.02	0.02
RSD	0.95	0.94

Yaptıkları çalışmalar sonunda LC-MS/MS ve SWV tekniklerini uygulayarak elde ettikleri verilerin birbirinden çok farklı olmadığını görmüşler ve basit, daha ucuz ve hızlı bir teknik olan SWV tekniğinin kullanımının daha avantajlı olduğunu belirtmişlerdir.

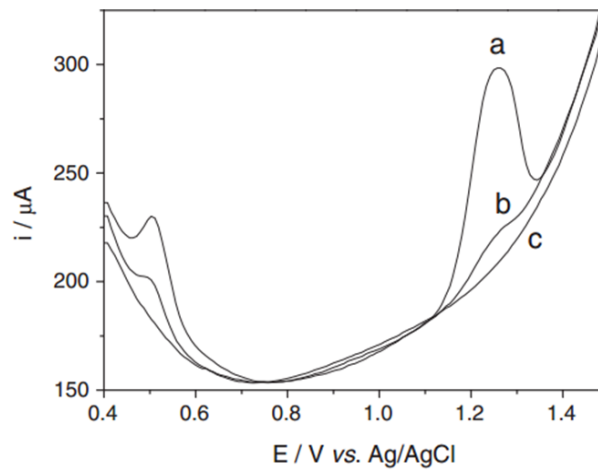
Jungbluth ve arkadaşları (2000), Flavonol, okside olmuş Flavonol ve Flavon içeren 12 bileşiği ayırmak için UV, DAD, elektrosprey-MS ve ECD dedektörlerini kullanarak LC teknikleri geliştirmişlerdir. LC-ECD tekniği ile fenolik bileşiklerin tayininde, miktarını belirlemede ve aynı zamanda redoks potansiyeli ve aktarılan elektron sayısı gibi fizikokimyasal özellikleri belirlemede etkin sonuçlar elde etmişlerdir. Buna karşılık LC-MS tekniğinin de fenolik bileşiklerin tayini ve yapısal karakterizasyon çalışmalarında etkili olduğunu gözlemlemişlerdir. Her iki yöntemi de ele aldıklarında antioksidanların özelliklerini aydınlatmada oldukça başarılı oldukları sonucuna ulaşmışlardır

Sadikoviç ve arkadaşları (2014), gerçek farmasötik ve biyolojik numunelerde yeni bir yöntem ile Ropinirol ve Levodopa ölçümlerini yapmak için Nafion polimer filmi karbon nanotüp ile türevlendirmiş ve yüksek seçicilikli bir nano yapılı elektrokimyasal sensör geliştirmişlerdir.



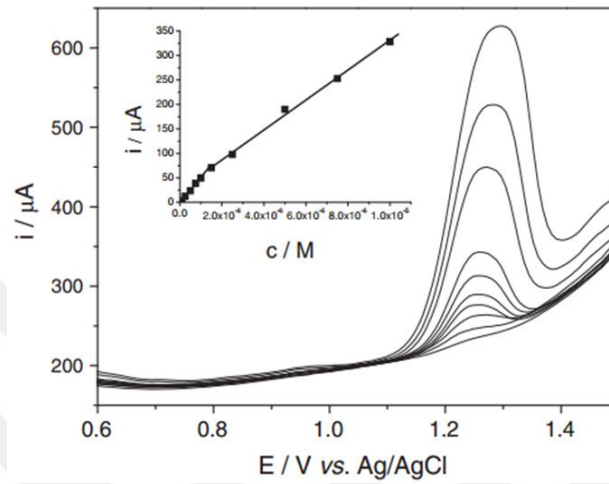
Şekil 2.17. 5×10^{-5} M Ropinirol'ün dönüşümlü voltamogramları. (a) Çıplak GCE, (b) NAF/GCE, (c) CNT/GCE, (d) CNT-NAF/GCE; 0.1 M H_2SO_4 içerisinde

Öncelikle modifiye elektrotlarının yüzey morfolojisini taramalı elektron mikroskobu ile karakterize etmişlerdir. Çalışmalarında çıplak GC, Nafion modifiyeli GC ve CNT ile türevlendirdikleri Nafion modifiyeli GC elektrot ile Ropinirol varlığında dönüşümlü voltamogramlarını elde etmişler ve çıplak GC elektroda kıyasla geliştirdikleri sensör elektrodun Ropinirol'e çok daha duyarlı olduğunu görmüşlerdir.



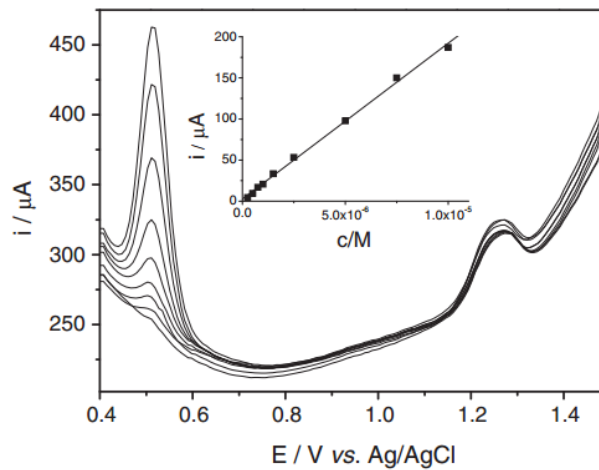
Şekil 2.18. 2×10^{-5} M Ropinirol ve Levodopa'nın kare dalga sıyırma voltamogramları. (a) 240 s önderiştirmeden sonra (b) önderiştirme yapmadan (c) destek elektrolit

Sonraki adımda 2.5×10^{-5} M derişimdeki Ropinirol ve Levodopa karışımına kare dalga voltametri tekniğini ve kare dalda adsorptif sıyırma voltametri tekniğini uygulamışlar ve tayin piklerini elde etmişlerdir. Kare dalga voltametri tekniğine kıyasla kare dalga adsorptif sıyırma voltametri tekniğinin duyarlılığının daha iyi olduğunu yapmış oldukları deneylerle göstermişlerdir



Şekil 2.19. Farklı konsantrasyonlardaki Ropinirol'ün (1×10^{-7} - 1×10^{-5} M) CNT-NAF/GCE ile adsorptif sıyırma kare dalga voltamogramları

Bu deneylerde Levodopa yokluğunda ve Levodopa varlığında farklı derişimlerde Ropinirol tayini yapmışlar ve elde ettikleri verilerle kalibrasyon grafiklerini çizmişlerdir.



Şekil 2.20. 1×10^{-6} M Ropinirol varlığında farklı konsantrasyonlarda (2.5×10^{-7} - 1×10^{-5} M) Levodopanım CNT-NAF/GC elektrot ile elde edilen adsorptif sıyırma kare dalga voltamogramları

Çalışmanın diğ er aşamasında SWAdSV ile elde ettikleri sonuçları HPLC tekniği ile elde ettikleri sonuçlarla kıyaslamışlar ve istatistik olarak yapılan f ve t testi sonuçlarında belirgin bir

fark görmemişlerdir. Yeni geliştirdikleri metodun ucuz ve hızlı olmasından dolayı farmasötik bileşenlerin ve dozajlarının kontrollerinde başarıyla uygulayabilecekleri sonucuna ulaşmışlardır.

Çizelge 2.2. CNT-NAF/GCE ile ROP ve L-dopanın voltametrik tayininde SWV ve SWAdSV tekniklerinin analiz sonuçları

	ROP		L-dopa		
	SWV	AdSWV		SWV	AdSWV
Doğrusal aralık (M)	1×10^{-6} - 5×10^{-5}	1×10^{-7} - 1.5×10^{-6}	1.5×10^{-6} - 1×10^{-5}	1×10^{-6} - 1×10^{-5}	2.5×10^{-7} - 1×10^{-5}
Eğim ($\mu\text{A M}^{-1}$)	2.22×10^6	4.81×10^7	3.04×10^7	1.46×10^7	1.89×10^7
Alıkonma (μA)	0.20	0.28	26.78	-4.45	2.64
$S_{x/y}$^a	2.16	1.86	7.40	5.62	3.52
S_b^b	4.63×10^4	1.62×10^6	1.05×10^6	6.99×10^5	3.55×10^5
S_a^c	0.19	0.27	1.30	0.79	0.33
Korelasyon katsayısı	0.999	0.998	0.998	0.995	0.999
Tespit sınırı	2.6×10^{-7}	1.6×10^{-8}	1.3×10^{-7}	1.6×10^{-7}	5.2×10^{-8}
Tayin sınırı	8.7×10^{-7}	5.5×10^{-8}	4.3×10^{-7}	2.6×10^{-11}	1.7×10^{-7}

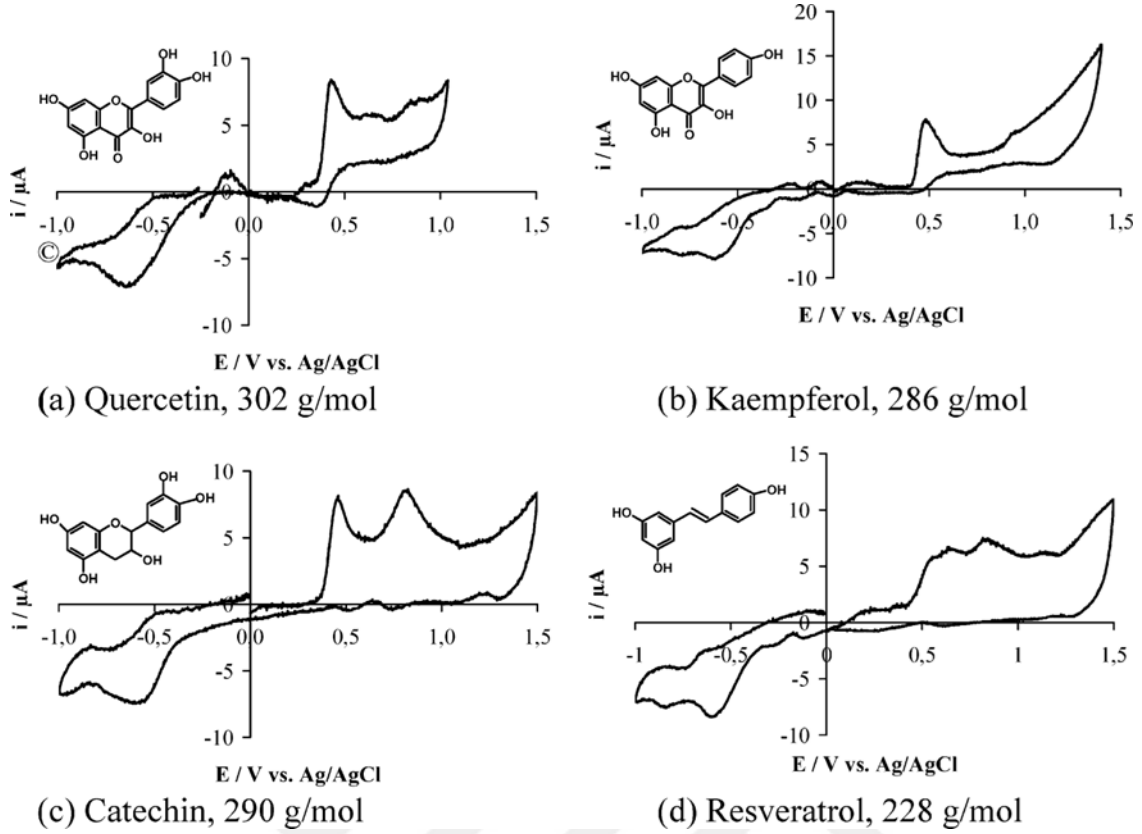
Çizelge 2.3. ROP ve L-dopa tayininde SWV ve HPLC tekniklerinin analiz sonuçları

Örnekler	ROP		L-dope	
	SWV	HPLC	SWV	HPLC
Etiket miktarı	2	2	100	100
Tayin miktarı	2.02	2.06	95.23	95.04
%RSD	1.16	0.49	1.25	0.06
% Bias	0.95	2.85	-4.77	-4.96
İlave edilen (M)	5.00×10^{-6}	5.00×10^{-5}	2.50×10^{-6}	1.00×10^{-3}
Bulunan (M)	4.96×10^{-6}	5.03×10^{-5}	2.48×10^{-6}	1.02×10^{-3}
% Geri kazanım	99.2	100.6	99.4	101.8
% RSD	1.65	0.28	2.23	0.44
% Bias	-0.76	0.64	-0.72	1.80
F^b	5.41		4.21	
tb	1.54		1.99	

Ryan ve arkadaşları (1998), zeytin bitkisindeki ve zeytin yağındaki fenolik bileşiklerin kalitatif tayini üzerinde çalışmışlardır. Bunun için birçok farklı yöntem kullanmışlardır. Ayırmanın en iyi şekilde olması için farklı çözücü, iyonlaşma ünitesi ve dedektörler ile çalışmışlardır. Yaptıkları çalışma sonucunda fenollerin ayırımında HPLC ye kıyasla LC-MS in oldukça etkin olduğunu gözlemlemişlerdir.

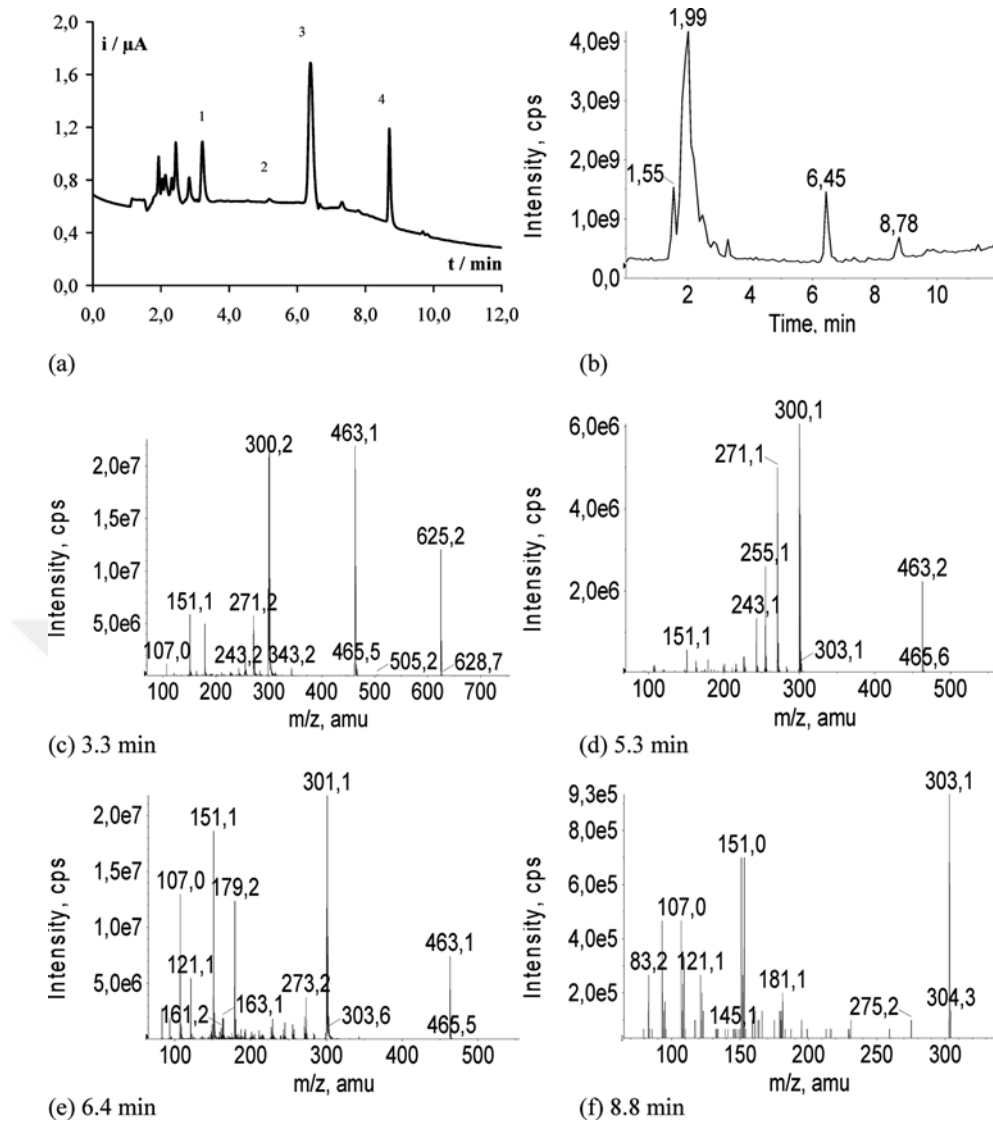
Csupor ve arkadaşları (2016), yüzyıllardır bilinen, karaciğer ve safra kesesi hastalıklarının tedavisinde kullanılan, süt dikenli bir bitki olan *Silybum Marianum*'un ekstratları üzerinde çalışmışlardır. Süt dikenli meyvelerin aktif bileşenleri flavonolignanlar olup, bunlar kollektif olarak Silymarin olarak bilinir. *Silybum Marianum*'un yapısal olarak mor ve beyaz çiçek açan varyantlarından 23 çeşit flavonolignan izole etmişlerdir. Flavonolignanlar geniş bir biyolojik etkinlik spektrumuna sahiptirler ve Silymarin, derin farmakolojik aktiviteleri için yoğun araştırma konusu olmuştur. Silymarin, bileşenleri ve Silymarin içeren ürünlerin kapsamlı bir analizi, süt dikenli bazlı ürünlerin kalite kontrolünde kilit bir role sahiptir. Analitlerin düşük konsantrasyonundan ötürü, özellikle farmakolojik ve farmakokinetik çalışmalar daha fazla seçici, hassas ve gelişmiş teknikler gerektirir. Csupor ve arkadaşları çalışmalarında *Silybum Marianum* özütlerinin kimyasal kompozisyonu, izolasyonu ve saflaştırılması gibi son gelişmeleri değerlendirerek Flavonolignanların tanımlanması, numune hazırlama, nitel ve nicel analiz için kullanılan çeşitli analitik yaklaşımları incelemiş ve bunların avantajlarını ve tayin limitlerini tartışmışlardır.

Zettersen ve arkadaşları (2009), Kateşin, Kaemferol, Resveratrol, Kuersetin ve Kuersetin glikozitlerini içeren fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesi (yükseltgenme potansiyeli) ve kapasitesi (miktar) hakkında bilgi edinmek için elektrokimyasal (EC) dedektörle birleştirdikleri sıvı kromatografisi (LC) ve elektrosprey iyonizasyon tandem kütle spektrometresi (LC/EC/ESI-MS/MS) kullanmışlardır. Uyguladıkları LC/EC/ESI-MS/MS metoduyla bireysel antioksidanların ve oksidasyon ürünlerinin elde edilen m/z değerlerinin kombinasyonlarına, iyon yoğunluklarına bağlı potansiyel değişimlerine ve LC, EC ve MS kromatogramlarındaki alıkonma süreleri arasındaki korelasyonlarına dayanan tespit ve karakterizasyon işlemlerini yapmışlardır. Elde ettikleri sonuçlar yöntemin kompleks örneklerdeki toplam antioksidan kapasitesini tespit etmede yaygın olarak kullanılabileceğini göstermiştir. Fenolik bileşik karışımlarında toplam antioksidan kapasitesinin redoks potansiyeline bağlı olduğunu aynı zamanda fenolik bileşiklerin antioksidan kapasitesinin artan hidroksil grubu sayısına bağlı olarak arttığını göstermişlerdir.



Şekil 2.21. 1 mM (a) Kuersetin, (b) Kaemferol, (c) Kateşin, (d) Resveratrol çözeltilerinin dönüşümlü voltamogramları. 10 mV/s tarama hızında

Çalışmalarında dönüşümlü voltametri tekniğini kullanarak Kuersetin, Kaemferol, Kateşin ve Resveratrolün elektrokimyasal davranışlarını incelemiş ve fenolik antioksidanların oksidasyon potansiyellerini belirlemiş ve potansiyel değerlerine bakarak antioksidan aktifliklerini kıyaslamışlardır. Fakat sadece voltametri yöntemini kullanarak karışımlar içinde bireysel antioksidan tayini yapamamışlardır. Bu yüzden çalışmalarına kromatografi ile birleştirdikleri EC/ESI-MS yöntemi ile devam etmişlerdir. Doğal numune olarak soğan ekstratının analizini yapmışlardır. Uyguladıkları yöntemle numune içerisindeki Kuersetin glikozitlerinin ayırımını başarılı bir şekilde yapmışlardır.



Şekil 2.22. LC/EC/ESI-MS/MS ile sarı soğan ekstraktının (a) amperogram, (b) toplam iyon kromatogramı (TIC), (c) Q3,4'G m/z 625, (d) Q3G m/z 463, (e) Q4'G m/z 463, and (f) Q as m/z 30. EC potansiyeli 1.4 V Ag/AgCl'e karşı

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Voltametri Deneyleri

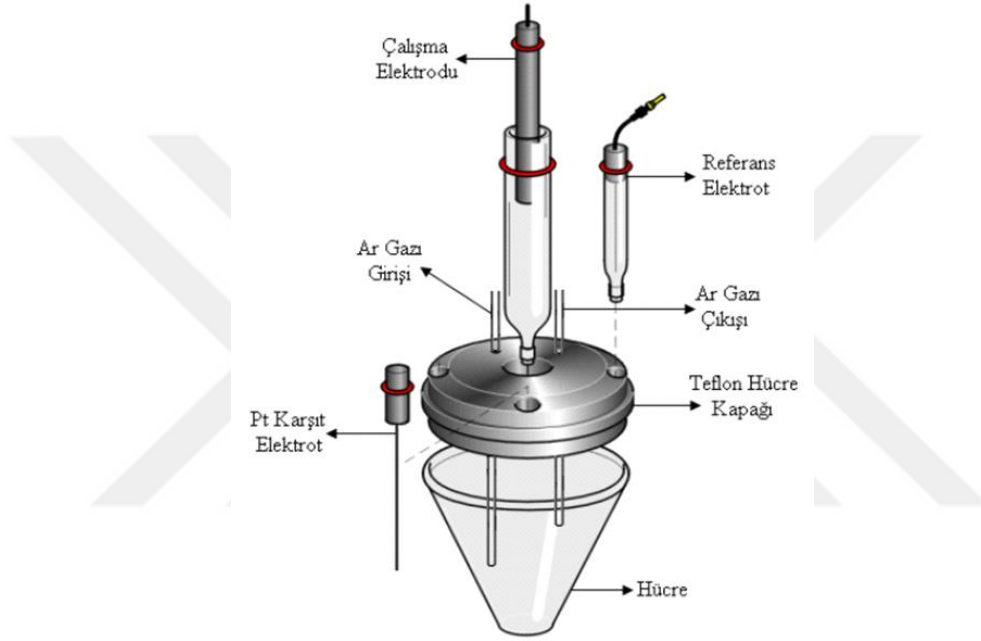
3.1.1. Voltametri cihazı ve üç elektrotlu hücre sistemi

Analizlerde kullanılan puls voltametri, dönüşümlü voltametri ve elektrokimyasal impedans spektroskopisi yöntemlerinin tüm deneyleri GAMRY Reference 600+ ve Series 750 potansiyostat/galvanostat/ZRA (Gamry Instruments, Warminster, USA) cihazlarında yapılmıştır. Şekil 3.1’de görülen GAMRY Reference 600+ cihazı ile 1 nA’lık akım okunabilirken, Series 750 ile 750 mA’lık akım okunabilmektedir. Her iki cihazda da impedans ölçümlerinde uygulanan frekans, 1 MHz’e kadar yükselbilmektedir. Bu cihazlarda Gamry Framework, Echem Analyst, PHE200 Physical Electrochemistry System ve EIS300 Electrochemical Impedance Spectroscopy System gibi yazılımlar kullanılmıştır.



Şekil 3.1. Deneyde kullanılan Elektrokimyasal Analizörler

Bütün voltametri ve impedans ölçümleri için Şekil 3.2’de görülen BAS (Bioanalytical Systems Inc., West Lafayette, USA) marka C3 hücre sistemi kullanılmıştır. Üç elektrotlu hücre sistemi elektroanalitik kimyada yaygın olarak kullanılan geleneksel bir sistemdir. Sistem, içerisinde çözelti bulunan küçük bir cam hücre, bu hücreye daldırılmış çalışma elektrodu, referans elektrot ve karşıt elektrottan oluşmaktadır.



Şekil 3.2. Elektrokimyasal deneyler ve İmpedans deneylerinin gerçekleştirildiği sistem ve üç elektrotlu hücre düzeneği

Üç elektrotlu hücre sisteminde kullanılan elektrotlar;

- Susuz ortam çalışmaları için referans elektrot olarak Ag/Ag^+ referans elektrodu (BAS Model MF-2052) kullanılmıştır. (0.1 M NBu_4BF_4 içinde 0.01 M $AgNO_3$ 'ün çözülmesiyle hazırlanan çözeltiye daldırılmış Ag tel)
- Sulu ortam çalışmaları için referans elektrot olarak $Ag/AgCl$ referans elektrodu (BAS Model MF-2063) kullanılmıştır. (3 M KCl çözeltisine daldırılmış Ag tel)
- Yardımcı elektrot olarak platin tel elektrot (BAS Model MW-1034) kullanılmıştır.
- Çalışma elektrodu olarak; 0.071 cm^2 yüzey alanına sahip BAS marka MF-2012 camsı karbon çalışma elektrodu ve 0.7 mm çaplı Faber Castel marka kalem grafit elektrot (PGE) kullanılmıştır.

Kullanılan diğ er cihaz ve malzemeler aşağıda verilmiştir.

- Sulu ortam çalışmalarında, ortamın pH'sını ölçmek Thermo Orion 9106BNWP kombine cam pH elektrodu ve onun bağlı bulunduğu VWR Int Geldenaaksebaan 464 B-3001 Leuven pH 1100 L model pH iyon metre kullanılmıştır.
- zelteleri karıştırmak için Isolab GmbH marka magnetik karıştırıcı kullanılmıştır.
- Sulu zelteler, "Minipure Dest-up" ultra saf su cihazından elde edilen 18.2 MΩ iletkenliğe sahip ultra saf su ile hazırlanmıştır.
- Tartımlar D0031 model A&D Company marka, 0.1 mg duyarlılıkla tartım yapan elektronik terazi ile yapılmıştır.
- Karıştırma ve çözme işlemleri Bandelin SONOREX marka Ultrasonik banyoda yapılmıştır.
- Voltametri sisteminin az da olsa meydana gelen g değişimlerinden fazla etkilenmesinden dolayı sistemin sürekli bağlı olduğu OR120 marka UPS güç kaynağı kullanılmıştır.
- Kullanılan zımpara kâğıtları Buehler P2400 ve P4000'dir. Alümina tozu olarak 1.0 μm, 0.3 μm ve 0.05 μm tanecik boyutuna sahip Alfa Aesar marka süspansiyonlar kullanılmıştır.

3.1.2. Kullanılan kimyasal maddeler, zelteler ve hazırlanışları

Tüm deneyler ve çalışmalar oda koşullarında (25±1 C) yapılmıştır. Kullanılan çeşitli konsantrasyonlardaki antioksidan zelteleri standart zeltelerin kademeli olarak seyreltilmesi ile elde edilmiştir. zelteler günlük hazırlanmış ve kullanılmadığı zamanlarda gün boyu karanlıkta muhafaza edilmiştir. Çalışma sonucunda artan zelteler sadece çözelti stabilitesini ölçmek amaçlı önceden belirlenmiş sürelerde bekletilerek kullanılmış, analitik tayinlerde kesinlikle tekrar kullanılmamıştır. Çalışma süresince kullanılan kimyasal maddeler ve özellikleri izelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmalar süresince kullanılan kimyasal maddelerin listesi ve özellikleri

Kullanılan Kimyasal Madde	Safılık Derecesi	Temin Edildiği Firma
Tetrabütülamonyum tetrafloroborat	Analitik Saflıkta	Aldrich
Potasyum Ferrisiyanür	≥% 99,0	Merck
Potasyum Ferrosiyanür	≥% 99,0	Sigma-Aldrich
Ferrosen	% 98	Sigma-Aldrich
Potasyum Klorür	Analitik Saflıkta	Merck
Asetonitril	% 99,9	Sigma-Aldrich
Sodyum Hidroksit	Analitik Saflıkta	Merck
Asetik Asit	% 100	Merck
Borik Asit	% 100	Merck
Sülfürik Asit	% 100	Sigma-Aldrich
Fosforik Asit	% 99	Sigma-Aldrich
Hidroklorik Asit	% 99	Merck
Kuersetin	% 95	Sigma-Aldrich
Luteolin	% 99	Sigma-Aldrich
Rutin	% 99	Sigma-Aldrich
Morin	% 99	Sigma-Aldrich

Yukarıda verilen kimyasallar kullanılarak çalışma için gerekli çözeltiler ve hazırlanma koşulları Çizelge 3.2’de verilmiştir. Antioksidan çözeltileri hazırlanırken çözünürlükleri göz önünde bulundurulmuş ve herbiri için uygun derişimlerde hazırlanmıştır.

Çizelge 3.2. Yapılan çalışmalar için hazırlanan çözeltiler ve hazırlanma şartları

Madde	Konsantrasyon	Çözelti Hacmi (mL)	Alınan Miktar	Çözücü
NBu ₄ BF ₄	0,1 M	1000	32,927 g	CH ₃ CN
KCl	0,1 M	500	3,727 g	Su
K ₃ Fe(CN) ₆	1 mM	50	0,0165 g	BR Tamponu
K ₃ Fe(CN) ₆ / K ₄ Fe(CN) ₆ *	1 mM	50	0,0165 g 0,0211 g	0,1 M KCl
Ferrosen	1 mM	50	0,0164 g	CH ₃ CN/0,1M NBu ₄ BF ₄
Kuersetin	0.04 mg/mL	50	2 mg	% 20 EtOH + %80 PBS (pH 7.1)
Luteolin	0.04 mg/mL	50	2 mg	% 20 EtOH + %80 PBS (pH 7.1)
Rutin	0.04 mg/mL	50	2 mg	% 20 EtOH + %80 PBS (pH 7.1)
Morin	0.04 mg/mL	50	2mg	% 20 EtOH + %80 PBS (pH 7.1)
Flavon	0.04 mg/mL	50	2 mg	% 20 EtOH + %80 PBS (pH 7.1)

* EIS ile yapılan impedans ölçümlerinde kullanılan K₃Fe(CN)₆/K₄Fe(CN)₆ için 1:1 oranında karışım kullanılmıştır.

Tampon çözelti seçiminde antioksidan miktarları her bir antioksidan için Çizelge 3.2’de belirtilen miktarlarda alınmış fakat çözeltileri farklı tampon ortamlarında oluşturulmuştur. Çizelge 3.2.’de ise çalışmaya devam edilen PBS tampon ortamında hazırlanma şartları verilmiştir.

3.1.2.1. Britton-Robinson (BR) tampon çözeltisinin hazırlanması

Britton-Robinson (BR) tampon çözeltisi geniş pH aralığında (pH 1.81- pH 11.98) çalışma imkanı sağladığı için çoğu çalışmada tercih edilmektedir. Çalışmamızda tayin yöntemimiz için en uygun destek elektrolit çözeltisini belirlemede BR tampon çözeltisi de kullanılmıştır.

Bu tampon çözeltiyi hazırlamak için 1 litrelik balon joje alınır ve içerisine bir miktar saf su koyulduktan sonra 2.69 mL fosforik asit (H_3PO_4), 2.29 mL asetik asit (CH_3COOH) ve 2.472 g borik asit (H_3BO_3) ilave edilir. Bir miktar daha saf su ilave edildikten sonra iyonik şiddetin sabit tutulması amacıyla 0.1 M KCl eklenir ve saf su ile 1 litreye tamamlanır. Hazırlanan bu çözeltiye 0.1 M’lık NaOH ilavesiyle, istenilen pH ayarlanır (Perrin ve Dempsey, 1974).

3.1.2.2. Asetat tampon çözeltisinin hazırlanması

pH aralığının çok geniş olmaması ve bu aralıkların istenilen pH aralığı dışında olması asetat tamponunun dezavantajlarından biridir. Çalışmamızda asetat tamponu kullanarak elde ettiğimiz pik akımı değerleri yüksek olsa da pH aralığı istenilen pH değerinin dışında kaldığı için analizlerde tampon olarak denenmiş fakat tercih edilmemiştir.

Bu tampon çözelti hazırlanırken 500 ml’lik bir balon joje alınır, içerisine bir miktar su konulur. 0.1 M’lık asetat tamponu hazırlamak için yoğunluğu 1.05 g/mL olan % 100 saflıkta asetik asitten 2.86 mL alınarak balon jeye ilave edilir ve 500 mL’ye tamamlanır. Elde edilen çözeltinin pH ayarı 0,1 M veya 1 M’lık NaOH kullanılarak yapılır. Çalışmamızda pH’sı 4 olan asetat tamponu kullanılmıştır.

3.1.2.3. Fosfat tampon çözeltisinin (PBS) hazırlanması

Çalışmamızda antioksidanların analizi için belirlenen en ideal tampon çözelti PBS tamponudur ve çalışmalara bu tampon ile devam edilmiştir.

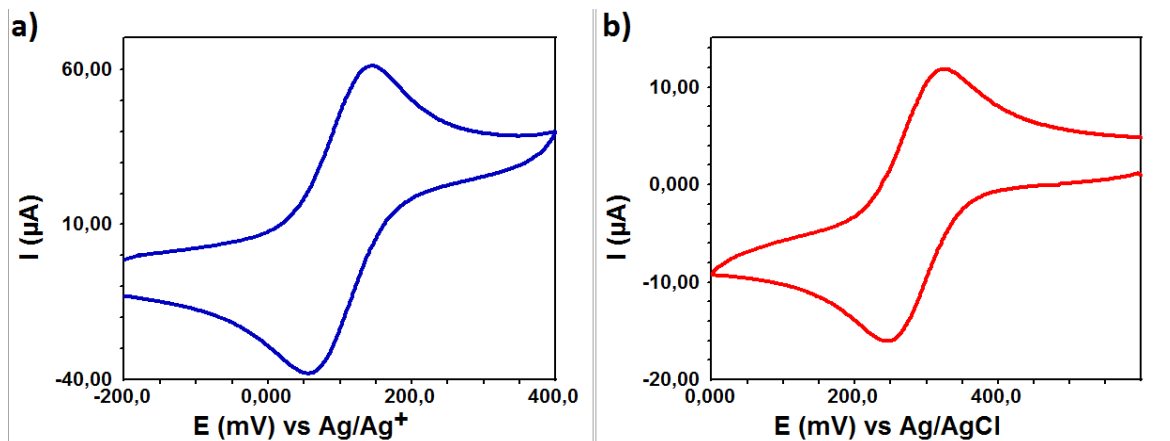
Bu çözeltiyi hazırlamak için 500 mL'lik balon joje alınır. 6.8045 g potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4) ve 8.709 g potasyum bifosfat (K_2HPO_4) tuzları tartılır, balon jojeye koyulur ve saf su ilave edilerek 500 mL'ye tamamlanır. Hazırlanan çözeltinin pH'sı 6.8 ile 7.1 arasındadır. İstenilen pH ayarı için 0.1 M veya 1 M'lık NaOH kullanılır.

3.1.2.4. Destek elektrolit (SE) çözeltisinin hazırlanması

Çalışmada kullanılan tüm antioksidanlar sudaki çözünürlüklerinin düşük olmasından dolayı önce etil alkol içerisinde çözülmüş daha sonra üzerine PBS (pH 7.1) tamponu ilave edilmiştir. İstenilen iyonik şiddetin oluşması için bu oran Bölüm 4.3.1'de gösterildiği üzere % 20 etil alkol ve % 80 PBS tamponu olarak belirlenmiştir.

3.1.3. Referans elektrotların kalibrasyonları

Referans elektrotların kalibrasyonu elektrokimyasal indirgenme veya yükseltgenmelerde deneyin tekrarlanabilirliği açısından oldukça önemlidir. Bu yüzden voltametrik ölçümlere başlamadan önce çalışma elektrotlarının yeterince temizlenip temizlenmediğini, sulu ve susuz ortam referans elektrotların ölçümlerinin doğruluğunu test etmek amacı ile kalibrasyon yapılmalıdır. Bunun için pik potansiyelleri arasındaki farkı belli ve tersinir olan redoks proplar kullanılarak pik potansiyelindeki kayma belirlenmelidir. Redoks prob olarak susuz ortam için ferrosen ve sulu ortam için de hegzasiyonaferat çözeltileri (1 mM) kullanılmıştır. Bu çalışma ile ilgili veriler Şekil 3.3'te verilmiştir.



Şekil 3.3. Çıplak GC elektrodun kalibrasyon amaçlı a) susuz ortam ve b) sulu ortamda alınan voltamogramları

Susuz ortamda Ag/Ag^+ referans elektrodu kullanılarak asetonitrilde çözülmüş 0.1 M NBu_4BF_4 içerisinde hazırlanan 1 mM ferrosen çözeltisi için önce pozitif tarama daha sonra negatif tarama yapılarak dönüşümlü voltamogramları alınmış ve anot potansiyeli (E_{pa}) ile katot potansiyeli (E_{pc}) arasındaki fark ölçülmüştür.

Sulu ortamda ise Ag/AgCl referans elektrodu kullanılarak 0.1 M H_2SO_4 'de hazırlanmış 1 mM HCF (III) (hegzasiyanoferrat) çözeltisi için önce negatif daha sonra da pozitif tarama yapılarak dönüşümlü voltamogramları alınmış ve hegzasiyanoferrat maddesinin anot potansiyeli (E_{pa}) ile katot potansiyeli (E_{pc}) arasındaki fark ölçülmüştür.

Hem ferrosen hem de hegzasiyanoferrat çözelti ortamlarında elektrot arayüzeyi ile çözelti arasında $1 e^-$ transferi olduğu için ölçülen potansiyel farkın teorik olarak 59 mV olması gerekir. Deneysel çalışmalarda ise potansiyel farkın teorik değerden daha farklı olarak yaklaşık 65-90 mV aralığında olması beklenir. Meydana gelen bu farkın sebebi; referans elektrodun gözenekli membranında kirlilik sebebiyle meydana gelen tıkanmalar, iç çözelti konsantrasyonundaki değişimler, çalışma ortamı çözeltisinin elektrot iç çözeltisine sızması gibi sebeplerdir. Nernst eşitliği esas alındığında, pratik olarak 118 mV'a kadar potansiyel farklarında elektron transferinin $1e^-$ için olduğunu, 118 mV'tan büyük değerlerde ise $2e^-$ transferinin yapıldığını ve sonucun doğruluğunu yitirdiğini söyleyebiliriz. Potansiyel farkın artmasına sebep olan faktörler deney sonuçlarını da olumsuz olarak etkileyebileceğinden kalibrasyon işleminin her voltametik çalışma öncesinde tekrar edilmesi ve istenilen aralıkta bir değer çıkmadığı takdirde varolan hatanın kaynağının tespit edilmesi ve gerekli düzeltmelerin yapılması gerekir (Mülazımoğlu, 2008). Çalışmamızda deneylere başlamadan önce günlük olarak kalibrasyon işlemi yapılmıştır.

3.1.4. Deneylerde kullanılan çalışma elektrotları ve temizliği

Çalışmamızda kalibrasyon işleminde kullandığımız GC çalışma elektrodunun temizlenmesi ve elektrot yüzeyinin parlatılıp, düzgünleştirilmesi gerekir. Bunun için GC elektrot önce zımpara kâğıtları ile temizlenmiştir. Zımpara kâğıdı olarak 2400 ve 4000'lik Buehler zımpara kâğıtları ve alümina tozu olarak ta 1.0 μm , 0.3 μm ve 0.05 μm tanecik boyutlarında alümina tozları kullanılmıştır. Alümina tozları kullanılarak zımparalama yapıldıktan sonra elektrot yüzeyi saf su ile yıkanmış sonrasında elektrot önce saf suda 10 dakika daha sonra da asetonitril/izopropil alkol (1:1) ortamında 10 dakika sonikasyon işlemine tâbi tutulmuştur. Bu işlem ile GC çalışma elektrodu kalibrasyona hazır hale getirilmiştir.

3.1.5. Deneylerde kullanılan elektrokimyasal teknikler

3.1.5.1. Dönüşümlü voltametri deneyleri

Dönüşümlü voltametri deneyleri; çalışmada kullanılan elektrotların kalibrasyonunda ve Kuersetin (Que) maddesinin elektrokimyasal davranışlarının belirlenmesinde kullanılmıştır. Elektrot kalibrasyonları bölüm 3.1.3'te anlatılmıştır.

Elektrokimyasal davranışların incelenmesi için 2 mg Que önce 5 mL etil alkolde çözülmüş ve çözelti PBS (pH 7.1) tamponu ile 25 mL'ye tamamlanmıştır. 0.04 mg mL⁻¹ Que stok çözeltisinin seyreltilmesiyle elde edilen 4 µg mL⁻¹ konsantrasyonundaki Que çözeltisinin CV tekniği kullanılarak -100 mV/+700 mV potansiyel aralığında, 100 mV s⁻¹ tarama hızında ve 10 döngülü olarak dönüşümlü voltamogramları alınmıştır. Böylelikle maddenin çözelti içerisinde okside olduğu potansiyel aralığı tespit edilmiş ve sistemin tersinir olup olmadığı incelenmiştir.

3.1.5.2. Diferansiyel puls voltametri deneyleri

Çalışma metodunu belirlemek için gerçekleştirilen diferansiyel puls voltametri deneyleri, çalışılan tüm antioksidan maddeleri için denenmiştir. DPV deneyleri farklı çalışma elektrotları ve farklı tampon çözeltileri kullanılarak belirlenen uygun derişimdeki Que çözeltilerinde, Ag/AgCl referans elektrot varlığında gerçekleştirilmiştir. DPV kullanılarak antioksidan çözeltilerinin puls voltametri ve diferansiyel puls adsorptif sıyırma voltametri ile analizinde elde edilen voltamogramlar kıyaslanarak DPV tekniğinin kendi içinde değerlendirilmesi yapılmıştır.

3.1.5.3. Kare dalga voltametri deneyleri

Çalışmanın yöntemini geliştirmede kullandığımız diğer bir teknik de kare dalga voltametri tekniğidir. Kare dalga voltametri deneyleri farklı tampon çözeltileri kullanılarak belirlenen uygun derişimdeki Que çözeltilerinde, Ag/AgCl referans elektrot varlığında gerçekleştirilmiştir. SWV kullanılarak antioksidan çözeltilerinin kare dalga voltametri ve adsorptif kare dalga voltametri ile analizinde elde edilen voltamogramlar hem kendi içinde değerlendirilmiş hem de DPV tekniğinden elde edilen sonuçlarla karşılaştırılarak maddenin en çok duyarlılık gösterdiği voltametrik teknik belirlenmiş ve hangi teknik ile analizlere devam edileceğine karar verilmiştir. DPV ile alınan voltamogramlarda elde edilen pik akımları SWV ile

elde voltamogramlara göre daha yaygın ve zayıftır. Bu yüzden analitik çalışmalara SWV tekniği kullanılarak devam edilmiştir.

3.1.6. Gerçek numune çözeltilerinin temini ve hazırlanması

3.1.6.1. Pancar suyu

Pancar suyu tamamen doğal hazırlanmıştır. İlk olarak, pancarlar yıkanmış, doğranmış ve üzerine 3 litre sıcak su konulmuştur. Su soğutulduktan sonra 1 bardak elma sirkesi, 10 diş sarımsak ve 3 yemek kaşığı kaya tuzu ilave edilmiştir. Hazırlanan karışım 10 gün boyunca güneşe maruz kalmayan bir yerde tutulmuş ve 10 gün sonra serin bir yerde muhafaza edilmiştir. 1 mL numune, 25 mL'lik bir şişeye konulmuş üzerine 5 mL etanol ilave edilmiş ve çözelti PBS (pH 7.1) tamponu ile 25 mL'ye tamamlanmıştır.

3.1.6.2. Siyah çay

Piyasada yaygın olarak kullanılan bir siyah çay markası satın alınıp iki küçük demleme paketi 20 dakika boyunca 500 mL sıcak su ile demlenmiştir. 25 mL'lik balon joje içerisine hazırlanan demlenmiş çay çözeltilisinden 5 mL konulmuş, üzerine 5 mL etanol ilave edilmiş ve çözelti PBS (pH 7.1) tamponu kullanılarak 25 mL'ye tamamlanmıştır.

3.1.6.4. Elma sirkesi

1 L'lik kavanoz içerisine sapı ve çekirdeği temizlenmiş 2 adet elma iri iri doğranıp konulmuştur. Üzeri pH'sı 5.5 değerinde doğal kaynak suyu ile doldurulmuştur. Üç veya dört adet nohut ve 1 çay kaşığı bal ilave edilerek karıştırılmıştır. Her gün karıştırmak suretiyle 1 ay karanlık bir yerde bekletilmiş ve sonrasında süzülerek tortularından ayrılmıştır. Hazırlanan bu elma sirkesinden 25 mL'lik balon joje içerisine 1 mL konulmuş, üzerine 5 mL etanol ilave edilmiş ve çözelti PBS (pH 7.1) tamponu kullanılarak 25 mL'ye tamamlanmıştır.

3.1.6.3. Elma suyu

Piyasada bilinen bir elma suyu markası satın alınmıştır. Elma suyunun % 100 saflıkta olmasına dikkat edilmiştir. Bu meyve suyundan 25 mL'lik balon joje içerisine 1 mL konulmuş, üzerine 5 mL etanol ilave edilmiş ve çözelti PBS (pH 7.1) tamponu kullanılarak 25 mL'ye tamamlanmıştır.

3.1.6.5. Üzüm sirkesi

1 L'lik kavanoz içerisine sapından temizlenmiş 1 bağ üzüm konulmuştur. Üzeri pH'sı 5.5 değerinde doğal kaynak suyu ile doldurulmuştur. Üç veya dört adet nohut ve 1 çay kaşığı bal ilave edilerek karıştırılmıştır. Her gün karıştırmak suretiyle 1 ay karanlık bir yerde bekletilmiş ve sonrasında süzülerek tortularından ayrılmıştır. Hazırlanan bu üzüm sirkesinden 25 mL'lik balon joje içerisine 1 mL konulmuş, üzerine 5 mL etanol ilave edilmiş ve çözelti PBS (pH 7.1) tamponu kullanılarak 25 mL'ye tamamlanmıştır.

3.1.6.6. Vişne suyu

Piyasada bilinen %100 saflıkta bir vişne suyu markası satın alınmıştır. Bu meyve suyundan 25 mL'lik balon joje içerisine 1 mL konulmuş, üzerine 5 mL etanol ilave edilmiş ve çözelti PBS (pH 7.1) tamponu kullanılarak 25 mL'ye tamamlanmıştır.

3.1.6.7. Yeşil çay

Doğal yeşil çay yapraklarından üç tatlı kaşığı alınarak 20 dakika boyunca 300 mL sıcak su ile demlenmiştir. 25 mL'lik balon joje içerisine hazırlanan demlenmiş yeşil çay çözeltisinden 5 mL konulmuş, üzerine 5 mL etanol ilave edilmiş ve çözelti PBS (pH 7.1) tamponu kullanılarak 25 mL'ye tamamlanmıştır.

3.1.6.8. Soğuk çay

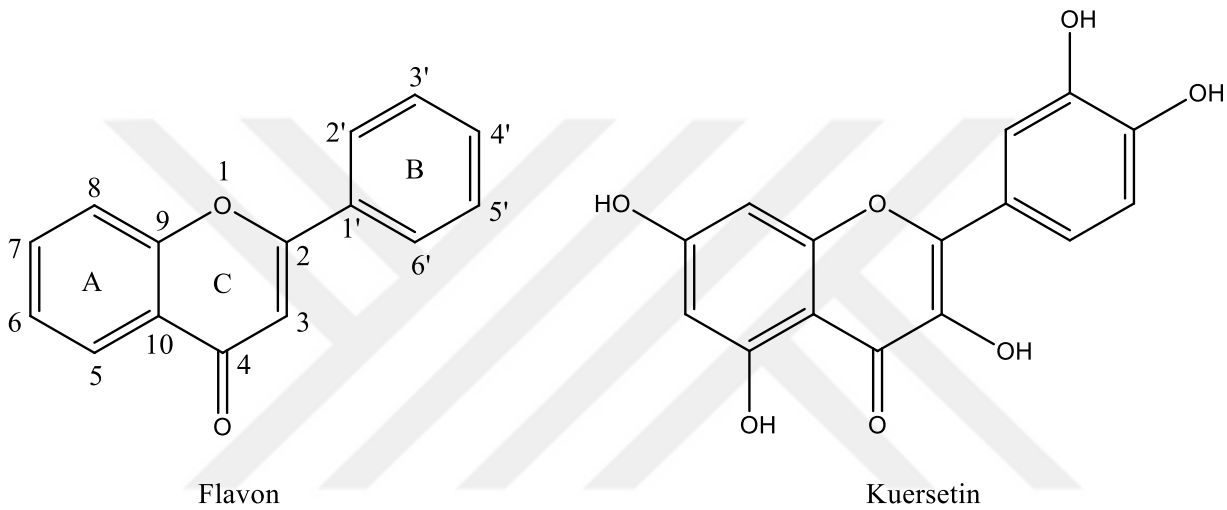
Deneylerde piyasada bilinen ve sıkça tüketilen bir soğuk çay markası kullanılmıştır. Bu soğuk çay örneğinden 25 mL'lik balon joje içerisine 1 mL konulmuş, üzerine 5 mL etanol ilave edilmiş ve çözelti PBS (pH 7.1) tamponu kullanılarak 25 mL'ye tamamlanmıştır.

Gerçek numunelerin hazırlanmasında yukarıda görüldüğü üzere her bir numuneden farklı miktarlarda alınarak çözeltiler hazırlanmıştır. Çözelti hazırlanmasında gerekli en uygun numune miktarları farklı değerlerle hazırlanan çözeltilerle birçok kez yapılan deneylerden elde edilen sonuçların değerlendirilmesi ile belirlenmiştir.



4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Antioksidanların insan vücudunda oluşan serbest radikalleri süpürmesi ve bu şekilde oluşacak birçok sağlık sorununu doğal olarak tedavi etmesi antioksidan içeren besinlerin tüketimini arttırmıştır. Bunun yanında özellikle yapay olarak hazırlanan ve piyasada ticari olarak bulunan antioksidanların kanser oluşumuna sebep olduğu da bilinmektedir. Yapay olarak üretilmiş antioksidanların tüketiminden ziyade doğal numunelerden antioksidanları temin etmek önem arz etmektedir. Çalışmamızda yaygın bir antioksidan madde olan Que'in doğal numunelerden elektrokimyasal analizleri için yöntem geliştirilmiştir.



Şekil 4.1. Temel Flavon iskelet yapısı ve Que

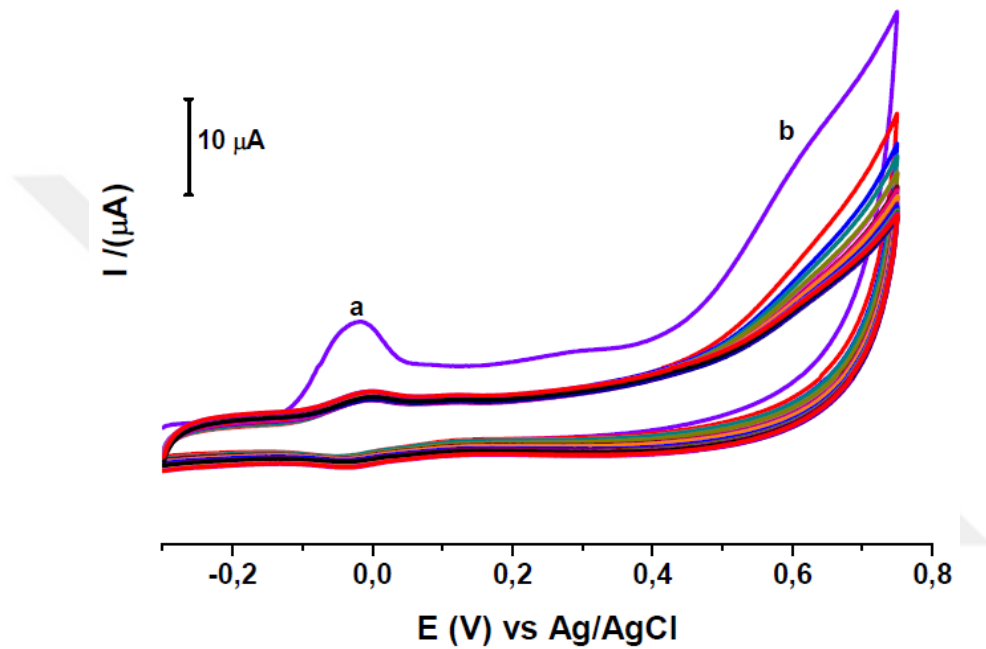
4.1. Que'in Elektrokimyasal Davranışlarının İncelenmesi

Çalışmamızda, karbon temelli bir elektrot olan PGE'nin kullanılması durumunda Que bileşiğinin elektrokimyasal davranışları yani gerilime karşı vermiş olduğu elektrokimyasal yanıtı dönüşümlü voltametri (CV) ve kare dalga adsorptif sıyırma voltametri (SWAdSV) teknikleri kullanılarak incelenmiştir.

Bu amaçla öncelikle, destek elektrolit çözeltisi içerisinde (% 80 PBS (pH 7.1) + % 20 EtOH) hazırlanmış 1.32×10^{-4} M Que çözeltisinin PGE yüzeyine -100 mV/ +700 mV potansiyel aralığında, 100 mV s^{-1} tarama hızında ve 30 döngülü olarak dönüşümlü voltamogram alınmıştır. Elde edilen voltamogram Şekil 4.2'de verilmiştir. Que, molekül şeklinde de görüldüğü üzere 3, 3', 4', 5 ve 7 pozisyonlarında hidroksil gruplarına sahiptir. Que türü moleküller özellikle B halkası üzerinden kolaylıkla okside olabilen türlerdir. Sonrasında ise C halkasında 3 pozisyonundaki –

OH grubunun oksidasyonu vardır ve bu kısım okside olduktan sonra radikalik olarak kalmakta buradan molekülün kimyasal olarak bağlanması kolaylaşmaktadır (Mülazımoğlu, 2008).

Şekil 4.2'ye bakıldığında -20 mV potansiyelinde görülen çok keskin olmayan a piki Que molekülünün 3' ve 4' pozisyonlarındaki hidroksil gruplarının çözelti içerisinde okside olmasından elde edilen oksidasyon pikidir. 600 mV civarında görülen b omuzu ise 3 pozisyonundaki -OH grubunun oksidasyonunu ve sonrasında radikalik olarak kalan molekülün elektrot yüzeyine buradan tutunmasını gösteren bağlanma bölgesidir.



Şekil 4.2. 1.32×10^{-4} M Que molekülünün destek elektrolit içerisinde (SE)* PGE yüzeyine -100/+700 mV potansiyel aralığında 100 mV s^{-1} tarama hızında 30 döngülü CV voltamogramı (SE)* % 80 PBS (pH 7.1) +% 20 EtOH

Que molekülü -OH grubu üzerinde bulunan protonun ayrılması ile oksijen üzerinden elektrot yüzeyine C-O-C bağı ile kovalent olarak bağlanmış ve bu sayede modifikasyon gerçekleştirilmiştir. Burada modifikasyonun gerçekleşmesi için alkol oksidasyonu metodu kullanılmıştır. Şekilde görüldüğü gibi Que molekülü elektrot yüzeyine ilk döngünün alınması ile birlikte bağlanmaktadır. Ancak özellikle PGE'nin geniş bir yüzey alanına sahip olması ve molekülün elektrot yüzeyini mümkün olduğunca iyi kapaması amacıyla modifikasyon 30 döngülü olarak gerçekleştirilmiştir. Anodik taramada molekülün yükseltmesinden sonra potansiyel taramasına katodik taramada devam edildiğinde çalışılan potansiyel aralığında hiçbir indirgenme basamağına rastlanmamaktadır. Bu da Que molekülünün PGE yüzeyinde yükseltgenmesinin tam olarak tersinmez olduğunun göstergesidir. Ancak, anodik pike

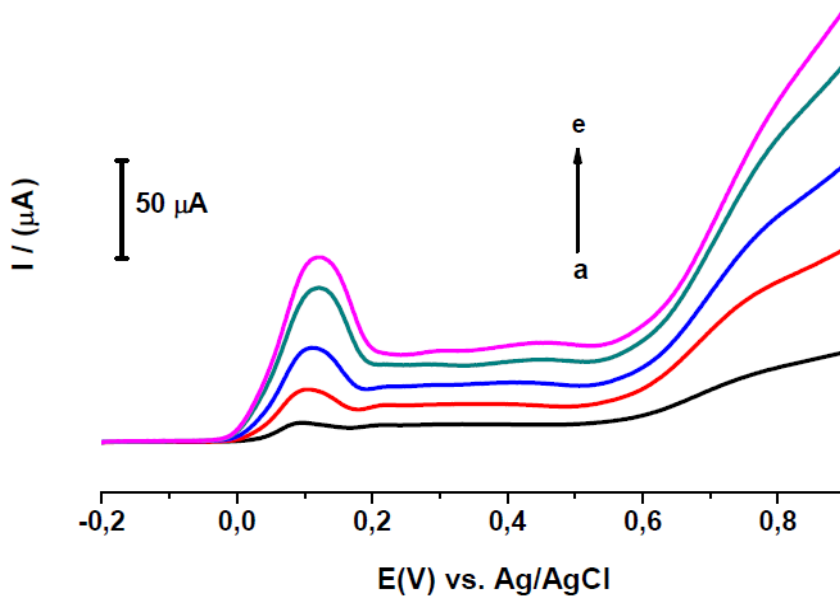
rastlanmaması mutlaka elektron aktarım basamağının tersinmez olduğunu göstermez. Çünkü elektron aktarım basamağını takip eden hızlı bir kimyasal reaksiyon gerçekleşirse, anodik pik gözlenemeyebilir.

4.2. Tarama Hızının Etkisi

Voltametrik çalışmalarda çözelti içerisindeki molekülün elektrot yüzeyine difüzyon kontrollü bir şekilde ilerleyip ilerlemediğini anlamak için Eşitlik 4.1 ve 4.2’de verilen Randles-Sevcik ve Cottrel eşitliklerinden yararlanılır. Bu eşitlikler pik akımlarının hem tarama hızı karekökü hem de konsantrasyonla olan doğrusal ilişkilerini gösterirler.

$$I_p = 268.600 n^3/2 x A x D^{1/2} x C x v^{1/2} \quad (4.1)$$

$$I = n F x c_j O x \sqrt{D_j} x \sqrt{\pi x t} \quad (4.2)$$

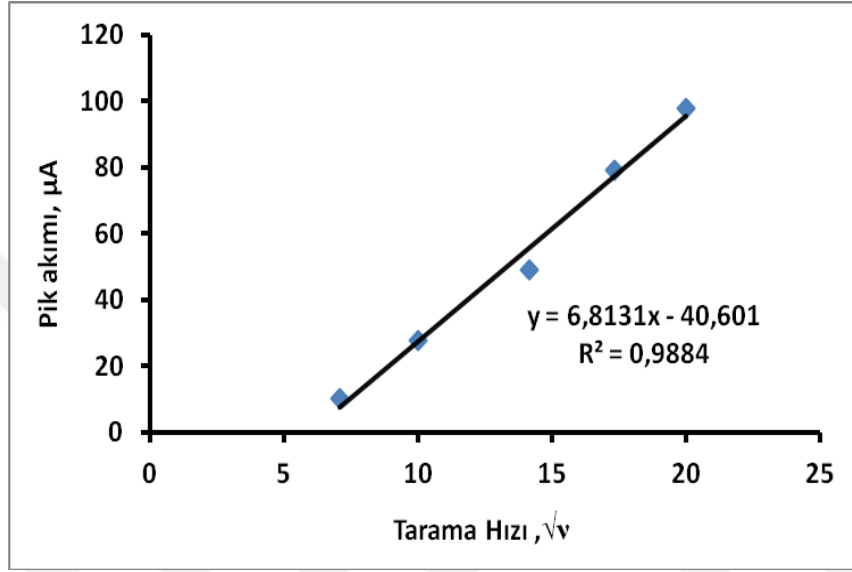


Şekil 4.3. 1.32×10^{-4} M Que’in SE içinde PGE yüzeyinde gerçekleşen modifikasyonunun difüzyon kontrollü olarak gerçekleşip gerçekleşmediğini anlamak için (a) 50, (b) 100, (c) 200, (d) 300, (e) 400 mV s^{-1} tarama hızlarıyla elde edilen voltamogramların çakıştırılmış görüntüleri

LSV işleminde molekülün difüzyon kontrollü bir şekilde elektrot yüzeyine modifiye edilmesi beklenir. Bu tercih, molekülün yüzeye kolayca bağlanmasını sağlamakla kalmaz, aynı zamanda düzgün ve daha iyi bir elektrot yüzeyi oluşturur. Çalışmamızda modifikasyon işleminin difüzyon kontrollü olup olmadığını anlamak ve molekülü elektrot yüzeyine bağlamak için çeşitli tarama hızları kullanılmıştır.

Bu amaçla 1.32×10^{-4} M Que çözeltisinin SE (% 80 PBS (pH 7.1) + % 20 EtOH) içerisinde -200 mV ile +900 mV potansiyel aralığında ve 50 mV s^{-1} ile 400 mV s^{-1} aralığındaki tarama hızlarında doğrusal voltamogramları kaydedilmiştir.

Şekil 4.3 farklı tarama hızlarının pik akımı üzerindeki etkisini, Şekil 4.4'te görülen doğrusal grafik ve elde ettiğimiz denklem ise Que molekülünün çözeltiye potansiyel uygulanmasıyla PGE yüzeyine difüzyon kontrollü ilerleyip ilerlemediğini göstermektedir.



Şekil 4.4. Que'e ait tarama hızı karekökü-pik akımı ilişkisi. Que derişimi, 1.32×10^{-4} M; yöntem, LSV; SE, (% 80 PBS (pH 7.1) +% 20 EtOH); elektrot, PGE

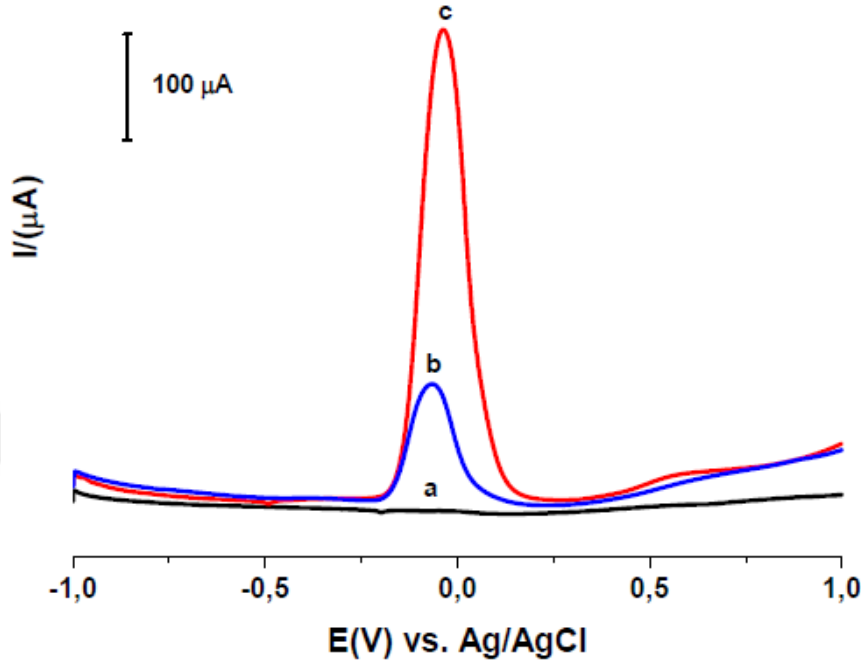
Randles-Sevcik denkleminde göre, molekülün elektrot yüzeyine difüzyon kontrollü olarak bağlanması için iki koşul vardır. Birincisi, I_p 'ye karşılık \sqrt{v} değerleriyle çizilen grafiğin doğrusal olmasıdır. İkinci koşul, $\log I_p$ 'ye karşı $\log v$ değerleriyle çizilen doğrunun eğiminin 0,5 civarında olmasıdır. Difüzyon kontrol işlemi için bir koşulun sağlanması yeterlidir. Çalışmamızda Randles-Sevcik denkleminde göre, I_p 'ye karşı \sqrt{v} grafiği kullanılmış, çizilen grafiğin doğrusal olduğu görülmüştür.

4.3. Puls Voltametri Çalışmaları

4.3.1. Çalışmada kullanılacak destek elektrolitin ve çözelti pH'sının belirlenmesi

Voltametik bir çalışmada analit bileşiminin elektrokimyasal davranışının açıklanmasında kullanılacak destek elektrolit bileşiminin ve pH değerinin seçimi büyük önem taşımaktadır. BR

tamponu, çok geniş bir çalışma aralığına sahip olması nedeniyle bu yöntemde çok tercih edilen bir karma tampon sistemidir. Bunun yanısıra; fosfat ve asetat tamponları da doğru çalışma aralıkları seçilmesi koşuluyla sıklıkla kullanılan çözelti ortamlarıdır.

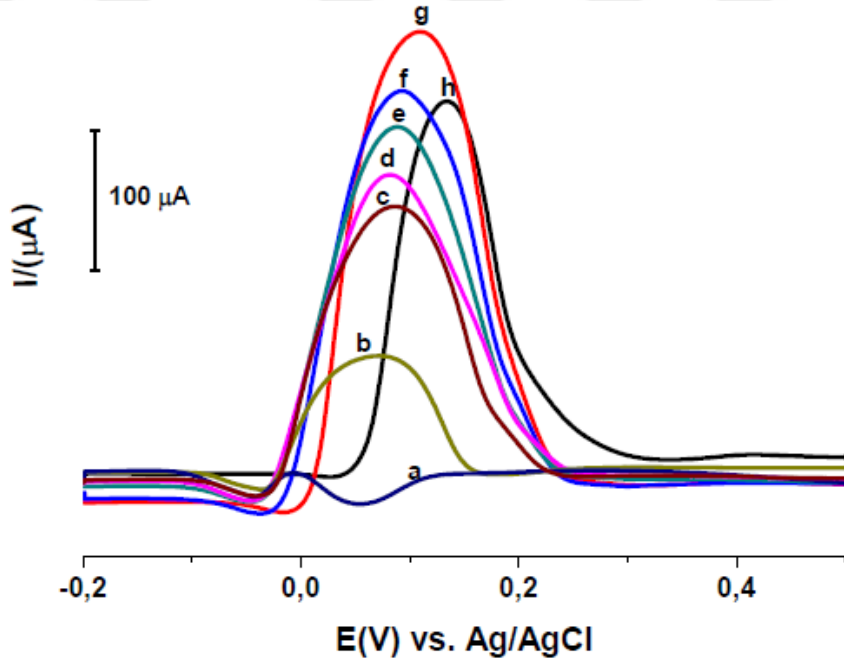


Şekil 4.5. 1.32×10^{-4} M Que'in PBS (pH 7.1) tamponu kullanılarak sırasıyla farklı oranlarda etil alkol içerisinde çözülmesiyle elde edilen SWV voltamogramları; a) % 80 EtOH +% 20 PBS, b) % 50 EtOH +% 50 PBS, c) % 20 EtOH +% 80 PBS; elektrot, PGE; tarama hızı, 100 mV s^{-1}

Yapılan çalışmada Que'nin doğal numunelerden tayin edilmesi hedeflendiği için seçilen destek elektrolit ortamının doğal numune ortamı ile de uyumlu olması göz önünde bulundurulmuştur. Bu amaçla, araştırmamıza çalışma aralığımızı daha uygun pH aralığına sahip olan BR ve PBS tamponlarıyla devam edilmiştir. Destek elektrolit ortamını belirlemede diğer önemli faktör ise Que molekülünün sudaki çözünürlüğüdür. Que'in sudaki çözünürlüğü 60 mg/L 'dir. Bu durum Que molekülünün direkt tampon ortamında çözölemeyeceğini göstermektedir. Literatürün (Zenkevich ve ark., 2007; Timbola ve ark., 2006; Brett ve Ghica, 2003) de desteklediği şekilde yapılan tüm deneylerde Que maddesi önce iyi bir çözücü olan EtOH'de çözülmüş daha sonra üzerine tampon ilave edilerek çözeltiler hazırlanmıştır. Bu çözme işlemi esnasında ortama çok fazla etil alkol ilave etmek destek elektrolitin iyonik şiddetini olumsuz etkileyebileceğinden iyonik şiddetin etkisi ile elde edilen pik akımları arasındaki ilişkiyi gözlemleyebilmek ve en iyi sonucu elde edebilmek için farklı oranlarda EtOH kullanılmasıyla hazırlanan Que çözeltilerinin pik akımları ölçülmüş ve karşılaştırılmış voltamogramlar Şekil 4.5'te verilmiştir.

Kullanılan EtOH ve PBS tamponu yüzdesinin pik akımına ne kadar etki ettiğini belirlemek için farklı etil alkol ve PBS yüzdeleriyle oluşturulan 1.32×10^{-4} M'lık ($4 \mu\text{g mL}^{-1}$) Que çözeltilerinin SWV tekniği ile elde edilen voltamogramları Şekil 4.5'te verilmiştir. % 20 etil alkol % 80 PBS tamponunun kullanıldığı çözeltilerin voltamogramlarından elde edilen pik akımlarının büyüklüğü dikkat çekmektedir. Çalışmamıza destek elektrolit (SE) olarak % 80 PBS'ye karşılık % 20 etil alkolün kullanıldığı oranlarla devam edilmiştir.

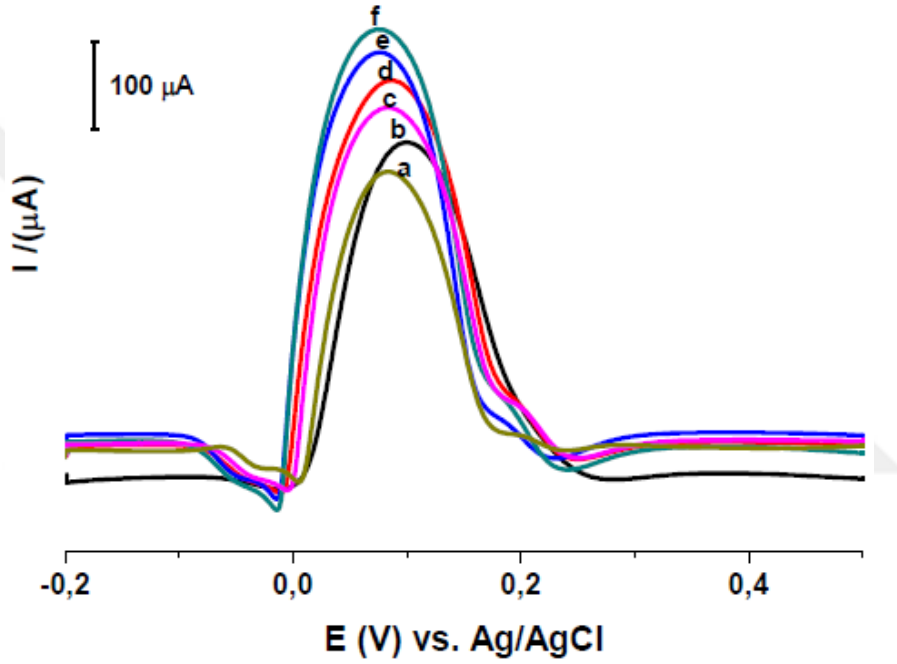
Destek elektrolit içerisinde kullanılacak tamponu belirlemede öncelikle pH 2.0-9.0 aralığında BR tamponu ile çalışılmıştır. Destek elektrolit içerisinde farklı pH'larda BR tamponunda çözülmüş (% 20 EtOH + % 80 BR) 1.32×10^{-4} M Que'in SWV tekniği kullanılarak PGE üzerinde elde edilen voltamogramları Şekil 4.6'da verilmiştir. Bu çözelti hazırlama esnasında ortamın asidik özelliği arttıkça çözeltinin homojenliğinin azaldığı gözlenmiştir.



Şekil 4.6. 1.32×10^{-4} M Que için % 80 BR + % 20 EtOH içinde farklı pH'larda elde edilen SWS voltamogramları. a) pH 9,0, b) pH 8,0, c) pH 7,0, d) pH 6,0, e) pH 5,0, f) pH 4,0, g) pH 3,0, h) pH 2,0

Şekil 4.6'da verilen voltamogramda en yüksek pik akımının pH'nın 3 olduğu değerde olduğu görülmüştür. Fakat voltamogramlar alındıktan sonra çözeltilerin stabilitesini kontrol etmek amacıyla hazırlanan çözeltiler bir gece bekletilmiş ve pH 2, pH 3, pH 4, pH 5 ve pH 6 da hazırlanan çözeltilerde ileri seviyede çökme olduğu gözlenmiştir. Bu yüzden çalışmanın pH 7 civarında yapılmasına karar verilmiştir. pH değerini daha net belirlemek için tampon aralığı pH 7'ye uygun olan PBS tamponunda daha dar aralıklarda pH çalışması yapılmıştır.

Que'in % 20 EtOH içerisinde çözülerek farklı pH'larda (pH 6.8, pH 6.9, pH 7.0, pH 7.1, pH 7.2 ve pH 7.3) PBS tamponunun ilave edilmesiyle hazırlanan 1.32×10^{-4} M'lık çözeltilerinin -200 mV ile +600 mV potansiyel aralığında alınan çakıştırılmış voltamogramları Şekil 4.7'de verilmiştir. Pik şiddeti açısından PGE'nin bulguları farklı pH değerleri için karşılaştırıldığında, pH 7.1 için elde edilen pik akımının en yüksek değerde olduğu görülmektedir. Çözeltinin belirli zaman dilimi içinde stabilitesini koruması önemli olduğundan hazırlanan çözeltiler karanlık ortamda bir gece bekletilmiştir. pH değeri 7'nin altında hazırlanan çözeltilerde çökme ve kararma olduğu gözlenmiştir.

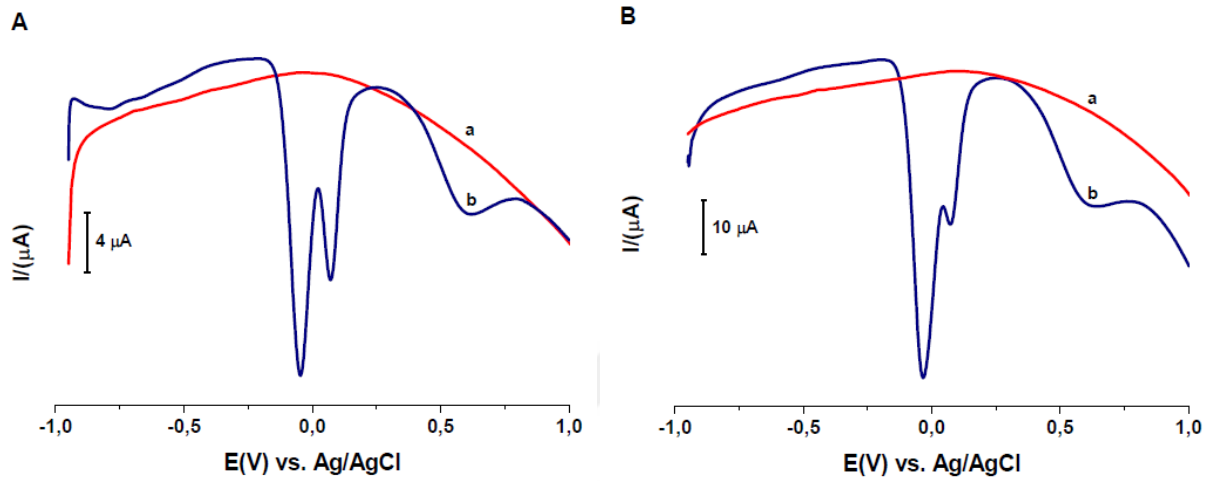


Şekil 4.7. 1.32×10^{-4} M Que çözeltisinin % 80 PBS + % 20 EtOH içinde farklı pH'larda alınan voltamogramları, a) pH 7.3, b) pH 6.8, c) pH 7.2, d) pH 6.9, e) pH 7.0, f) pH 7.1

Ortamın pH'sına bağlı olarak Que'in çözünebilirliğinin yüksek olması ve buna bağlı olarak elde edilen pik akımı şiddetinin de büyük olması Que'in kantitatif tayininde oldukça etkili bir faktör olmasından dolayı daha düşük tayin sınırlarına inilebilmeyi sağlaması açısından çalışmaya PBS tamponu kullanılarak ve pH 7.1'de devam edilmesine karar verilmiştir.

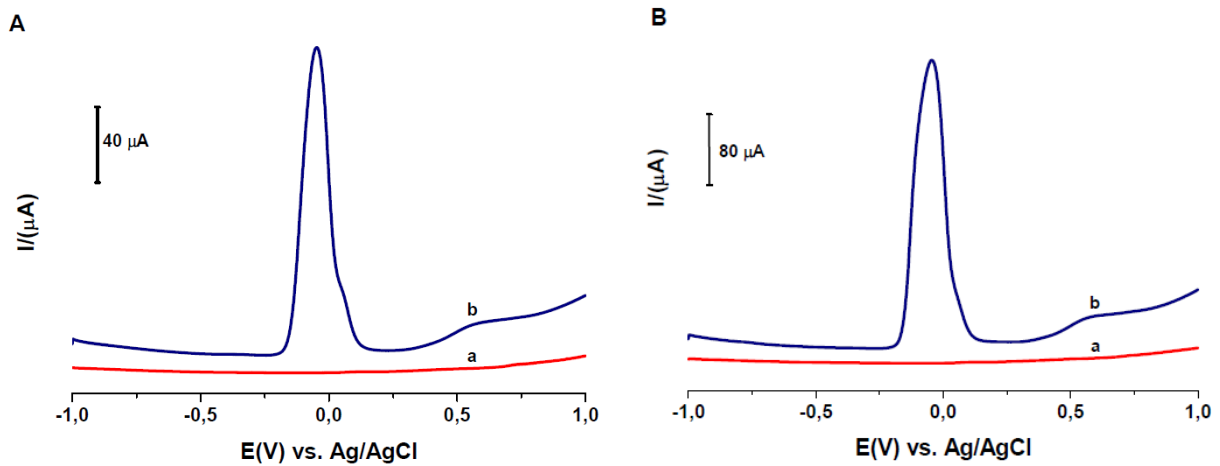
4.3.2. Tayinde kullanılacak yöntemin belirlenmesi

Tayinde kullanılacak yöntemin doğru seçilmesi daha düşük tayin sınırlarına inilebilmesi açısından büyük önem arz etmektedir. Doğru yöntem ile çok daha düşük tayin sınırlarına inilebilir ve eser miktarda madde tayinleri yapılabilmektedir.



Şekil 4.8. **A)** (a) SE, (b) SE içerisinde hazırlanan 1.32×10^{-6} M Que çözeltisinin -1000/+1000 mV potansiyel aralığında DPV voltamogramları. **B)** (a) SE, (b) SE içerisinde hazırlanan 1.32×10^{-6} M Que çözeltisinin -1000/+1000 mV potansiyel aralığında DPAdSV voltamogramları

Şekil 4.8’de DPV tekniği ve DPAdSV tekniği kullanılarak elde edilen voltamogramlar verilmektedir. Öncelikle bu iki yöntem kıyaslandığında elde edilen pik akımı şiddetlerinde belirgin bir farkın olduğu görülmektedir.



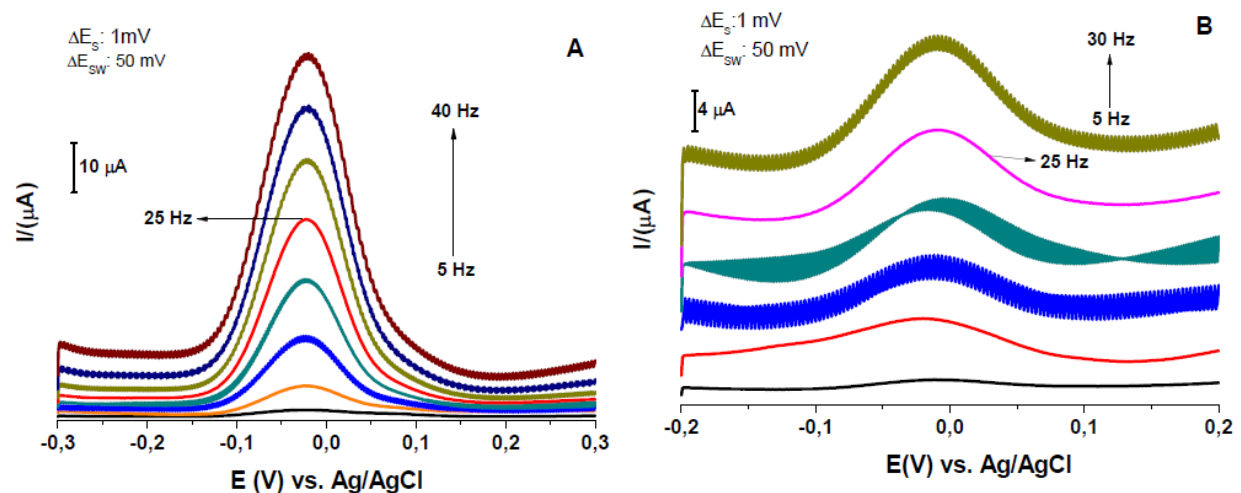
Şekil 4.9. **A)** (a) SE, (b) SE içerisinde hazırlanan 1.32×10^{-6} M Que çözeltisinin -1000/+1000 mV potansiyel aralığında SWV voltamogramları. **B)** (a) SE, (b) SE içerisinde hazırlanan 1.32×10^{-6} M Que çözeltisinin -1000/+1000 mV potansiyel aralığında SWAdSV voltamogramları

Şekil 4.9’da ise SWV tekniği ve SWAdSV tekniği kullanılarak elde edilen voltamogramlar verilmektedir. Kare dalga tekniğinden elde ettiğimiz verileri diferansiyel puls tekniğinden elde ettiğimiz verilerle kıyaslırsak pik akımı şiddetlerinde oldukça büyük bir fark olduğu görülmektedir. Bu da bize çalışmaya SWV yöntemleri ile devam etmemiz gerektiğini göstermektedir.

SWV ve SWAdSV tekniklerini de kendi içinde kıyasladığımızda ise SWAdSV ile elde edilen sonuçların SWV ile elde edilen sonuçlardan neredeyse 2 kat daha etkili olduğu görülmektedir. Elde edilen veriler doğrultusunda Que’in tayininde SWAdSV tekniği kullanılmıştır.

4.3.3. Kare dalga değişkenlerinin incelenmesi

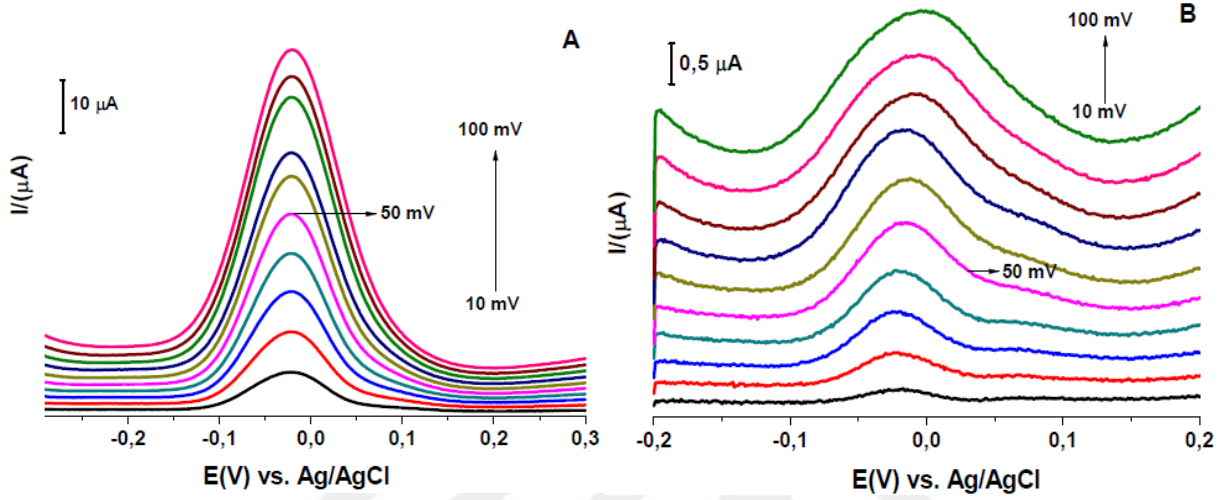
Çalışmanın devamında, SWV tekniği üzerinde cihaz değişkenlerinin (frekans, adım gerilimi ve genlik) etkisi araştırılmış ve optimum değişkenler belirlenmiştir. Deneyler öncelikle destek elektrolit içerisinde hazırlanan 1.32×10^{-6} M Que çözeltisiyle gerçekleştirilmiştir. Her değişken için diğer iki değişkenin değerlerinin sabit tutulduğu koşullarda voltamogramlar kaydedilmiştir (Şekil 4.10. A). SWV tekniğinin hızı, frekans ve adım gerilimi ile ilişkilidir. Her ne kadar frekans değerindeki artış, tarama hızındaki artışa bağlı olarak pik akımı değerlerinde düzenli bir artışa sebep olmuş olsa da özellikle daha düşük konsantrasyonlarda $f = 25$ Hz değerinin üzerindeki frekans değerleri için elde edilen voltamogramlarda pik bozulması gözlenmiştir (Şekil 4.10. B).



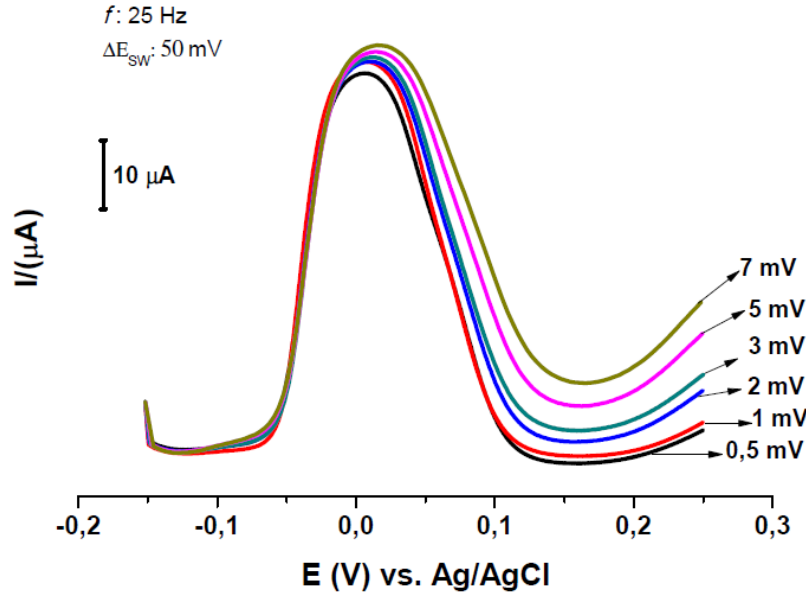
Şekil 4.10. A) 1.32×10^{-6} M Que ve B) 1.32×10^{-7} M Que’in PGE kullanılarak % 20 EtOH içeren PBS tamponu (pH 7.1) içinde farklı frekanslarda elde edilen SWAdSV voltamogramları, biriktirme süresi, 120 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V

Puls genliği değeri de pik akımını oldukça fazla etkileyen bir diğer faktördür. Farklı puls genliği değerlerinde elde edilen voltamogramlar Şekil 4.11’de verilmiştir. Genliğin artması ile

pik akımlarında meydana gelen sürekli artış her ne kadar olumlu bir artış olarak görülse de konsantrasyon çalışmasında olumsuz bir etki olarak karşımıza çıkmıştır. Özellikle nM gibi çok düşük konsantrasyonlarda genliğin çok büyük olması pikin genişlemesine ve gözlenememesine neden olmaktadır. Bu yüzden en ideal genlik değerinin pik genişlemesinin çok yaşanmadığı ve pik büyüklüğünün de çok düşük seviyede kalmadığı 50 mV değeri olduğuna karar verilmiştir.



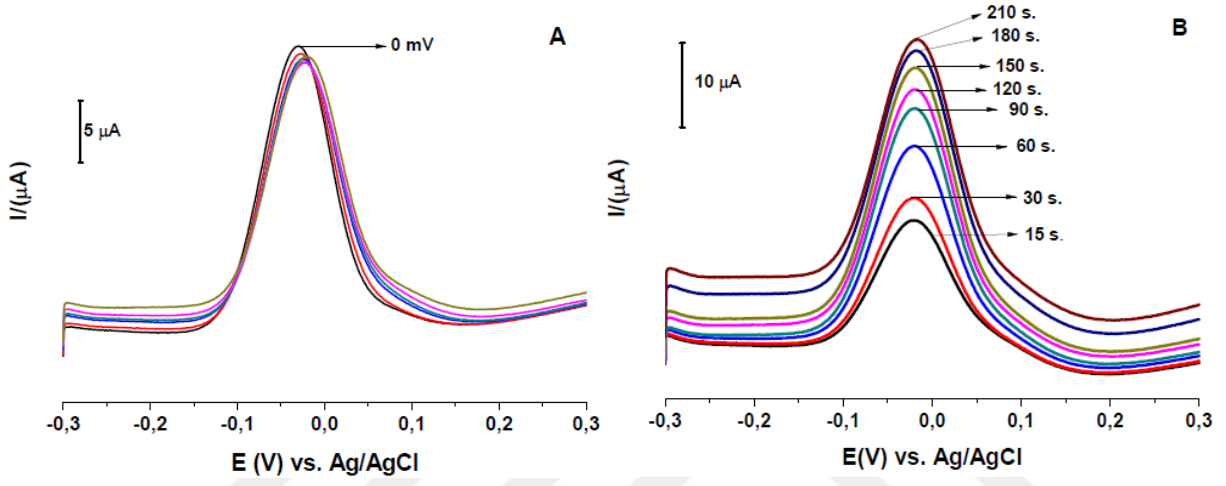
Şekil 4.11. A) 1.32×10^{-6} M Que ve B) 1.32×10^{-7} M Que'in PGE kullanılarak % 20 EtOH içeren PBS tamponu (pH 7.1) içinde farklı genliklerde elde edilen SWAdSV voltamogramları, biriktirme süresi, 120 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V



Şekil 4.12. 1.32×10^{-6} M Que'in PGE kullanılarak % 20 EtOH içeren PBS tamponu (pH 7.1) içinde farklı adım gerilimleri için elde edilen SWAdSV voltamogramları, biriktirme süresi, 120 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V

Son olarak bir diğere kare dalga faktörü olan adım geriliminin farklı değerlerinin pik akımı üzerindeki etkisi incelenmiş (0.5, 1, 2, 3, 5 ve 7 mV) ve pik akımı büyüklüklerinde belirgin bir farklılık olmamakla beraber 1 mV değerinin üzerindeki değerlerde pik genişlemesi gözlenmiştir (Şekil 4.12). Sonuç olarak; analitik çalışmanın devamında $f = 25$ Hz, $\Delta E_s = 1$ mV ve $\Delta E_{sw} = 50$ mV kare dalga değerlerinin kullanılmasına karar verilmiştir.

4.3.4. Biriktirme ve sıyırma parametrelerinin incelenmesi



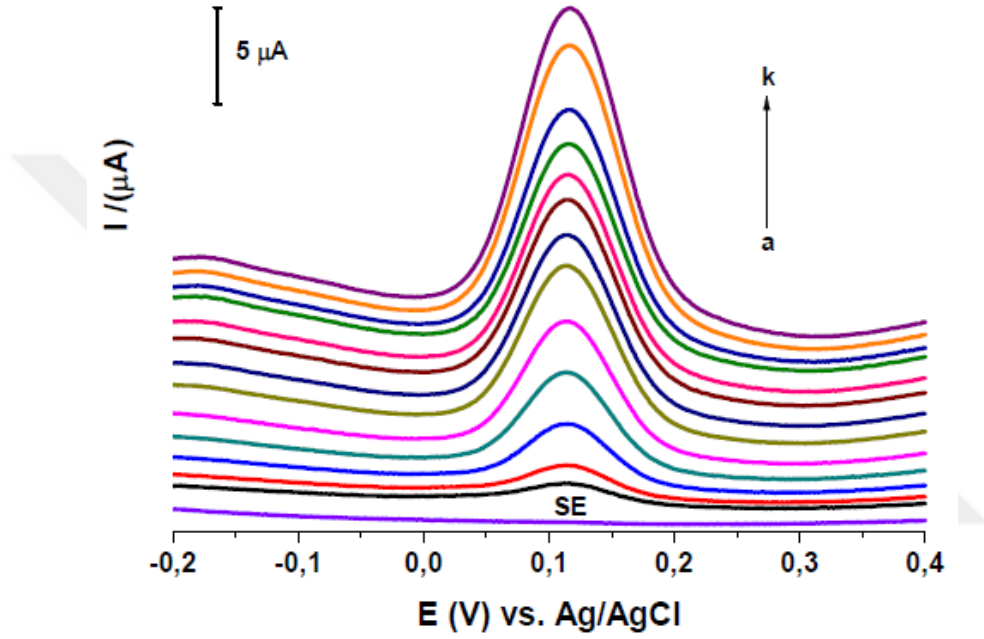
Şekil 4.13. 1.32×10^{-6} M Que'in PGE kullanılarak % 20 EtOH içeren PBS tamponu (pH 7.1) içinde A) farklı biriktirme gerilimleri (0.0-0.5 mV) ve B) farklı biriktirme süreleri için elde edilen SWAdSV voltamogramları, frekans, 25 Hz; adım gerilimi, 1 mV; genlik, 50 mV

Çalışmanın bu bölümünde değişen biriktirme ve sıyırma parametrelerinin PGE üzerindeki Que molekülüne etkisi verilmiştir. Biriktirme süresi ve biriktirme geriliminin incelendiği voltamogramlar Şekil 4.13'de verilmiştir. Elde edilen pik akımlarının üzerinde biriktirme süresi, biriktirme potansiyeli 0.0 V'da sabit tutularak 15-210 s aralığında incelenmiştir. Şekil 4.13 B'de verilen karşılaştırılmış voltamogramlara bakıldığında pik akımının 150 s değerine kadar arttığı sonrasında ise bir miktar düştüğü gözlenmiştir. Elektrot yüzeyinin 150 s değerinde maksimum Que doygunluğuna ulaştığı söylenebilir.

Biriktirme süresi etkisinin yanında biriktirme potansiyelinin pik akımına etkisi biriktirme süresi 150 s değerinde sabit tutularak 0.0 V ile +0.5 V aralığında incelenmiştir (Şekil 4.13 A). Çok belirgin bir fark olmamakla birlikte en iyi sonucun 0.0 V değerinde elde edildiği gözlenmiştir.

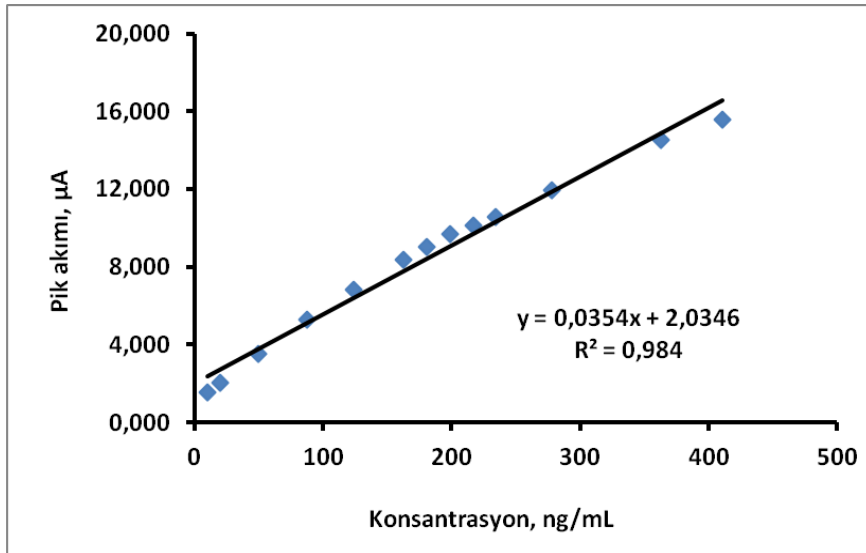
4.4. Farklı Konsantrasyonlarda Que Çözeltilerinin PGE Yüzeyinde SWAdSV ile Tayini ve Kalibrasyon Eğrisinin Çizilmesi

Optimum parametrelerin belirlenmesinin ardından geliştirilen yöntem ile PGE kullanılarak Que için konsantrasyon çalışması yapılmıştır. % 20 EtOH içeren % 80 PBS (pH 7.1) içeren destek elektrolit içerisinde 1.32×10^{-5} M (0.4 μ L) Que çözeltisi hazırlanmıştır. Cam hücre içerisine 10 mL destek elektrolit konulmuş ve SE'in SWAdSV voltamogramı kaydedilmiştir.



Şekil 4.14. PGE kullanarak Que'in farklı konsantrasyonlarının SE içerisinde elde edilen çakıştırılmış SWAdSV voltamogramları. (a) 9.67, (b) 19.82, (c) 49.26, (ç) 87.64, (d) 123.9 (e) 162.6, (f) 180.7, (g) 198.8, (h) 216.7, (ı) 234.5, (i) 278, (j) 362.6, (k) 411 ng mL⁻¹

Doğrusallık aralığını belirlemek için elektrokimyasal hücreye hazırladığımız standart çözeltilerden ardı ardına 25 μ L ilave edilmiş ve her ilaveden sonra +0.11 V potansiyel değerindeki artan derişimlerden elde edilen voltamogramlar üçer kez kaydedilmiştir. Değişen konsantrasyonlara karşılık ölçülen pik akımı değerleri Şekil 4.14'te çakıştırılmış voltamogramlarla verilmiştir. Derişime karşı pik akımı değerleri grafiğe geçilerek kalibrasyon grafiği çizilmiştir. Şekil 4.15'te verilen kalibrasyon grafiği 9.67 ng mL⁻¹ ile 411 ng mL⁻¹ konsantrasyon aralığında çizilmiştir.



Şekil 4.15.

Konsantrasyona karşılık elde edilen pik akımı değerleriyle çizilen kalibrasyon grafiği

Kalibrasyon denkleminin regresyon denklemi;

$I_p (\mu A) = 0.035 C (\text{ng mL}^{-1}) + 2.035$ ($r^2 = 0.984$, $n = 13$) şeklindedir. Denklemdaki I_p adsorptif sıyırma pik akımı; C , Que konsantrasyonu; r , korelasyon katsayısı ve n , deney sayısıdır.

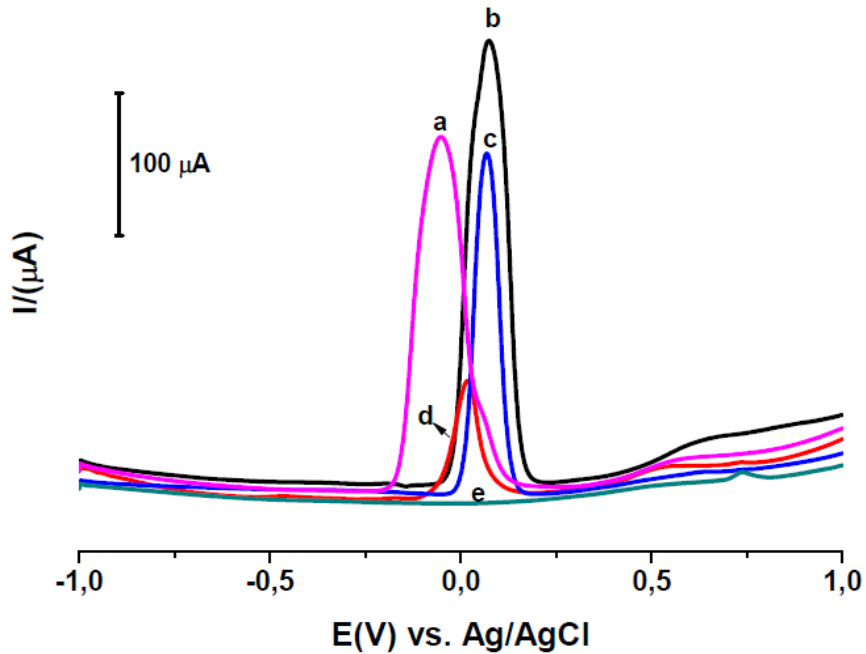
Kaydedilen voltamogramlar yardımıyla elde edilen gözlenebilirlik (LOD) ve en düşük tayin sınırı (LOQ) değerleri sırasıyla 0.51 ng mL^{-1} ($1.7 \times 10^{-9} \text{ M}$) ve 1.54 ng mL^{-1} ($15.1 \times 10^{-9} \text{ M}$) olarak bulunmuştur. Bu değerler $LOD = (C/S/N) \times 3$ ve $LOQ = 3 \times LOD$ formülleri kullanılarak hesaplanmıştır. C , doğrusallık aralığının en düşük konsantrasyonu; S , en düşük konsantrasyonda ölçülen pik akımı ve N , en düşük konsantrasyonda elde edilen voltamogramın gürültüsüdür.

Sonuçlar geliştirilen yöntem ile Que'in çok düşük derişimlerde tayin edilebilirliğini ve bunun sonucu olarak gerçek numunelerde Que tayininin farklı bir analitik metoda ihtiyaç duyulmadan elektroanalitik bir yöntem olan voltametri ile yapılabileceğini göstermektedir. İdeal ortam ve yöntem parametrelerinin belirlenmesiyle düşük maliyetli, kullanımı ve yenilenebilirliğindeki kolaylığının yanı sıra oldukça aktif bir yüzeye sahip olan PGE ile kısa zamanda yapılabilen bu elektroanalitik tayin, duyarlılık açısından HPLC, MS ya da MS/MS gibi dedektör sistemi kullanılan ayırma yöntemlerinin birçoğu ile kıyaslanabilir düzeydedir.

4.5. Que Tayininde Girişim Etkisinin İncelenmesi

Bu aşamada geliştirilen metod ile voltametri tekniği kullanılarak doğal numunelerde var olan toplam antioksidan kapasitesinin belirlenebilmesinin yanı sıra herhangi bir önderiştirme işlemi uygulamadan net Que miktarının belirlenebilmesi de amaçlanmıştır. Bunun için doğal numunelerde Que ile beraber bulunabilecek maddelerin Que'in pik akımına herhangi bir girişim

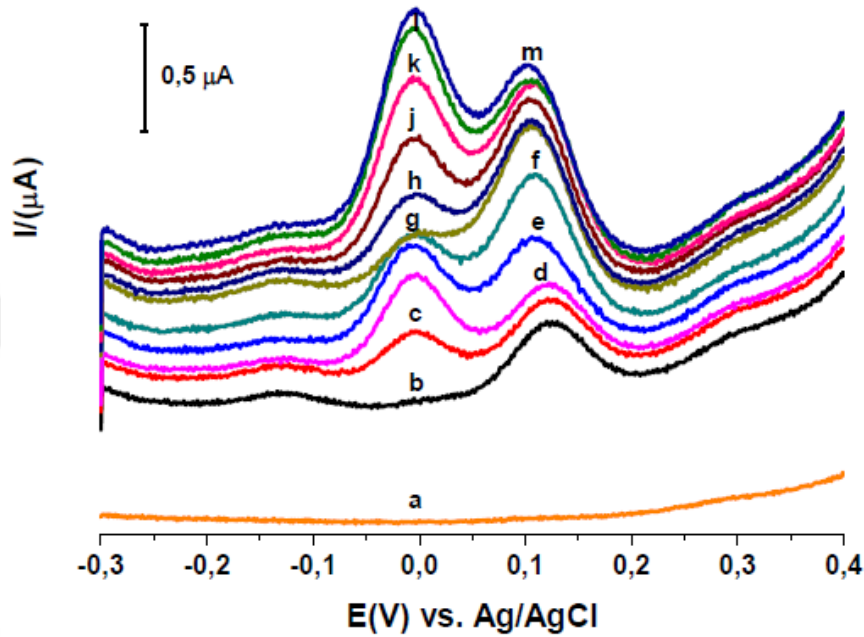
etkisi yapıp yapmadığı araştırılmıştır. Bu amaçla molekül yapısı Que'in molekül yapısına çok benzeyen ve birbirine yakın potansiyellerde analitik sinyal verdiği bilinenen (Mülazımoğlu, 2008) flavonoidler kullanılmıştır. Bu flavonoidler Luteolin, Rutin ve Morin'dir. Kullanılan flavonoidlerin her üçü de B halkasında oksidasyonda aktif olan iki -OH grubu içerir. Her bir flavonoid için, % 20 EtOH içeren 0.1 M PBS (pH 7.1) tamponu içinde aynı derişimlerde (1.32×10^{-4} M) çözeltiler hazırlanarak SWAdSV voltamogramları alınmış ve Şekil 4.16'da çakıştırılarak verilmiştir.



Şekil 4.16. % 20 EtOH içeren 0.1 M PBS (pH 7.1) içerisinde PGE kullanılarak (a) Que, (b) Luteolin, (c) Rutin (d) Morin ve (e) SE için alınan SWAdSV voltamogramları. Tarama hızı 100 mV s^{-1} . (Her bir madde için 1.32×10^{-4} M konsantrasyonunda)

Şekil 4.16 incelendiğinde Que pik akımının gözleendiği potansiyel değerin Luteolin, Rutin ve Morin pik akımlarının gözleendiği potansiyel değelerinden az da olsa farklı olduğu ve bu üç maddeden sıyrıldığı söylenebilir. Her ne kadar ayrı ayrı voltamogramlar alındığında bir ayrılma görölse de yine aynı konsantrasyonlarda (1.32×10^{-4} M) olacak şekilde bu dört maddenin aynı voltametrik hücre içinde oluşturulan çözeltilerinin SWAdSV voltamogramları alındığında tüm bu flavonoidlerin hepsini içine alan genişlemiş bir pik oluşmakta ve Que diğer üç maddeden ayrılamamaktadır. 10^{-4} M gibi yüksek derişimlerdeki maddelerin birlikte tayinleri sırasında pik akımlarının birbirine girişmesi oldukça olasıdır. Fakat voltametrik tayinin temel hedefi daha düşük konsantrasyonlarda madde analizi yapmaktır. Bu yüzden yüksek konsantrasyonlarda oluşan bu sorunu bertaraf etmek için girişim etkisi çalışması oldukça düşük konsantrasyonlarda

ve farklı bir yöntem ile gerçekleştirilmiştir. Düşük konsantrasyonlu girişim deneylerinde temel flavonoid iskelet yapısına sahip olan Flavon da kullanılmıştır. Öncelikle voltametrik hücreye konulan 10 mL destek elektrolitin SWAdSV voltamogramı alınmış daha sonra destek elektrolit içerisine sırasıyla Şekil 4.17’de verilen miktarlarda diğer flavonoidlerden ilave edilmiş ve her bir madde ilavesinden sonra tekrar voltamogramlar alınmıştır.



Şekil 4.17. % 20 EtOH içeren 0.1 M PBS (pH 7.1) tamponu içinde PGE kullanılarak Que, Luteolin, Rutin, Morin ve Flavon için alınan SWAdSV voltamogramları. Tarama hızı 100 mV s^{-1} . a) 10 mL SE içerisine sırasıyla b) $50 \mu\text{L } 1.32 \times 10^{-7} \text{ M}$ Morin ilavesi, c) $50 \mu\text{L } 1.32 \times 10^{-6} \text{ M}$ Que ilavesi, d) $50 \mu\text{L } 1.32 \times 10^{-6} \text{ M}$ Que ilavesi, e) $50 \mu\text{L } 6.55 \times 10^{-6} \text{ M}$ Rutin ilavesi, f) $50 \mu\text{L } 6.55 \times 10^{-6} \text{ M}$ Rutin ilavesi, g) $50 \mu\text{L } 1.39 \times 10^{-7} \text{ M}$ Luteolin ilavesi, h) $50 \mu\text{L } 1.32 \times 10^{-6} \text{ M}$ Que ilavesi, j) $50 \mu\text{L } 1.32 \times 10^{-6} \text{ M}$ Que ilavesi, k) $50 \mu\text{L } 1.32 \times 10^{-6} \text{ M}$ Que ilavesi, l) $50 \mu\text{L } 1.32 \times 10^{-6} \text{ M}$ Que ilavesi m) $50 \mu\text{L } 1.8 \times 10^{-7} \text{ M}$ Flavon ilavesi sonrasında alınan voltamogramlar

Destek elektrolit içerisine ilave edilecek maddelerin derişimleri her bir maddenin pik akımı üzerindeki etkileri göz önünde bulundurularak ayarlanmıştır. Rastgele bir karışım amaçlandığı için Que ortama ara aşamalarda dahil edilmiştir.

Şekil 4.17’de görüldüğü gibi destek elektrolit üzerine ilk ilave edilen madde Morin’dir. Elde edilen b eğrisinde +1300 mV civarında Morin’e ait belirgin bir pik akımı oluşmuştur. Daha sonra ortama Que ilave edilmiş ve c eğrisinde görüldüğü gibi Morin pikinin dışında 0.0 mV civarında Que’e ait yeni bir pik oluşmuştur. Doğrusal artışın gerçekleşip gerçekleşmeyeceğini kontrol amaçlı bir kez daha ortama Que ilave edilmiştir (Şekil 4.17 d). Que’den sonra ortama Rutin ilavesi yapılmıştır. Rutin ilavesiyle e eğrisi üzerinde Morin’in pik potansiyeli ile aynı potansiyelde pik yükselmesi meydana gelmiştir. Doğrusal artışın gözlenmesi için ortama bir kez daha Rutin ilave edilmiştir (Şekil 4.17 f). Rutin’den sonra ortama Luteolin ilave edilmiş ve oluşan

g eğrisinde görüldüğü gibi Morin ve Rutin pik potansiyeliyle aynı potansiyelde yükselen bir pik akımı gözlenmiştir. İlave edilen flavonoidlerin etkisiyle artan pik akımlarını dengelemek ve Que pik akımındaki değişimi daha iyi görebilmek için ortama dört kez Que ilavesi yapılmıştır (Şekil 4.17 h,j,k,l). Son olarak temel iskelet yapısına sahip olan Flavon'un etkisini görmek için ortama Flavon ilave edilmiş ve alınan voltamogram üzerinde Que pik akımına etki eden herhangi bir değişim gözlenmemiştir.

Yapılan bu çalışma birçok literatürün aksine herhangi bir girişim etkisi olmadan ve önderiştirme gerekmeden gerçek numunelerden Que'in tayin edilebilirliğini göstermiştir.

Gerçek numune üzerinde bu maddelerin Que pik akımı üzerinde herhangi bir girişim etkilerinin olup olmadığını incelemek amaçlı benzer çalışma gerçek numune üzerine aynı maddelerin ilavesiyle de gerçekleştirilmiştir. Gerçek numune olarak siyah çay çözeltisi kullanılmıştır.

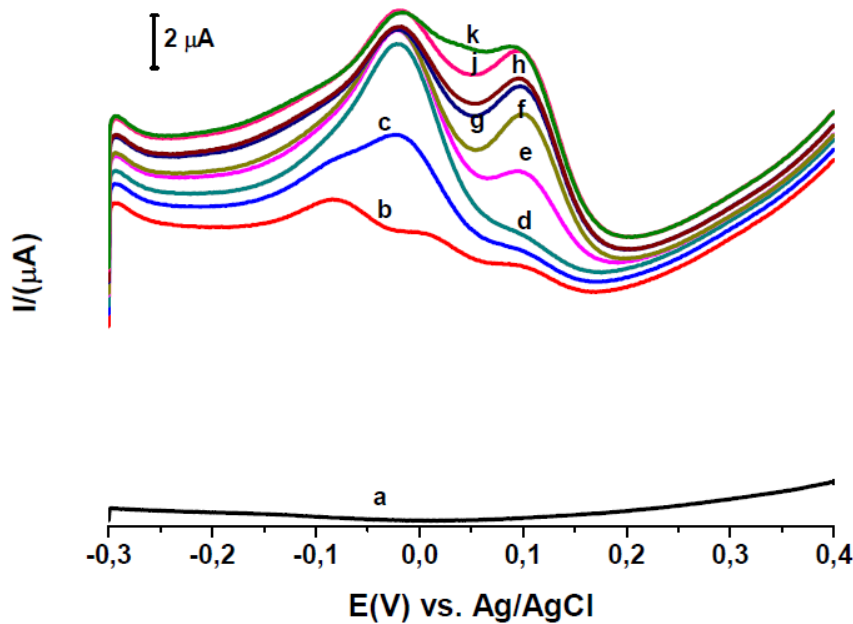


Fig.4.18. % 20 EtOH içeren 0.1 M PBS (pH 7.1) tamponu içinde PGE kullanılarak siyah çay, Que, Luteolin, Rutin ve Morin için alınan SWAdSV voltamogramları. Tarama hızı 100 mV s^{-1} . a) 10 mL SE içerisine sırasıyla, b) 50 μL siyah çay çözelti ilavesi, c) 100 μL 1.32×10^{-6} M Que ilavesi, d) 100 μL 1.32×10^{-6} M Que ilavesi, e) 100 μL 1.39×10^{-6} M Luteolin ilavesi, f) 100 μL 1.39×10^{-6} M Luteolin ilavesi, g) 100 μL 6.55×10^{-7} M Rutin ilavesi, h) 100 μL 1.32×10^{-5} M Morin ilavesi, j) 100 μL 1.32×10^{-5} M Morin ilavesi, k) 100 μL 1.32×10^{-5} M Morin ilavesi

Bölüm 3.1.6.2'de belirtildiği şekilde hazırlanan siyah çay çözeltisinden 5 mL alınarak üzerine 5 mL EtOH ilave edilmiş ve çözelti SE ile 25 mL'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan siyah çay çözeltisinden içerisinde 10 mL destek elektrolit bulunan voltametrik hücreye 50 μL ilave edilmiş ve alınan SWAdSV voltamogramı ile Şekil 4.18'de görülen üç tepe noktasına sahip b

eğrisi elde edilmiştir. Daha sonra Şekil 4.18 açıklamasında belirtildiği sıra ve konsantrasyonlarda çözelti üzerine Que, Luteolin, Rutin ve Morin ilave edilmiştir. Que'in iki kez ilave edilmesiyle +0.0 mV potansiyel değerinde oluşan ikinci pik akımında büyümenin meydana geldiği görülmektedir (Şekil 4.18 c, d). Daha sonra yine iki kez ilave edilen Luteolin ile Şekil 4.17'de oluşan potansiyel değeriyle aynı değerde olan üçüncü pik akımında yükselme gözlemlenmiştir (Şekil 4.18 e, f). Luteolin'in ardından ortama ilave edilen Rutin ile üçüncü pik akımındaki yükselmenin biraz daha arttığı görülmektedir (Şekil 4.18 g). Son olarak ortama ardı ardına üç kez Morin çözeltilsinin ilave edilmesiyle ikinci ve üçüncü tepe noktalarının arasında bir yükselmenin meydana geldiği görülmektedir (Şekil 4.18 h, j, k).

Elde edilen bulgular yukarıda yapılan çalışmayı destekler niteliktedir. Geliştirilen yöntem, gerçek numune üzerinde herhangi bir girişim etkisi gözlemlenmeksizin Que tayini yapılmasına imkan sağlamaktadır.

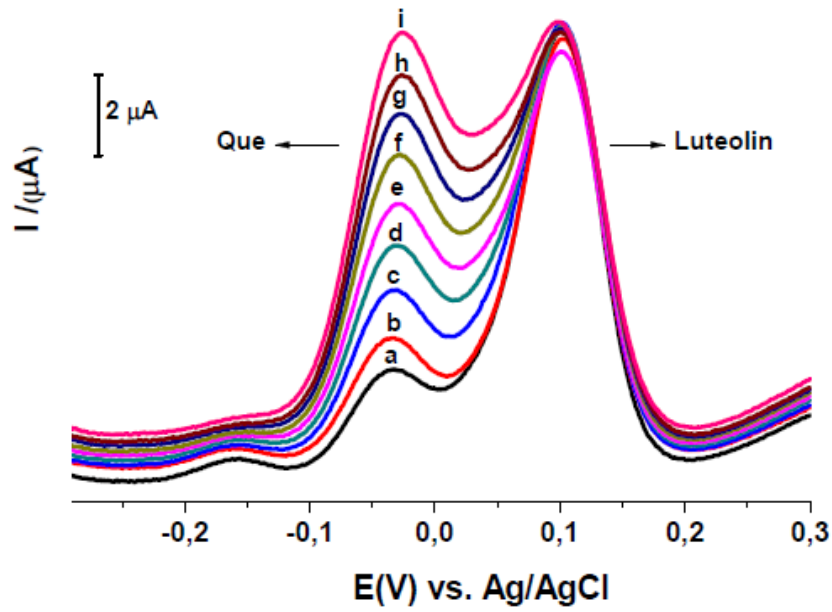
4.6. Eş Zamanlı Tayin Çalışmaları

Çalışmanın bu aşamasında, Que pik akımı üzerine herhangi bir girişim etkisi oluşturmadığı gözlenen Luteolin, Rutin ve Morin maddelerinin ayrı ayrı Que ile birlikte eş zamanlı tayin edilebilirlikleri araştırılmıştır. Yukarıda yapılan girişim etkisi çalışmalarında Que pik akımı potansiyelinin diğer üç maddeden farklı olması bir referans olarak kabul edilmiştir.

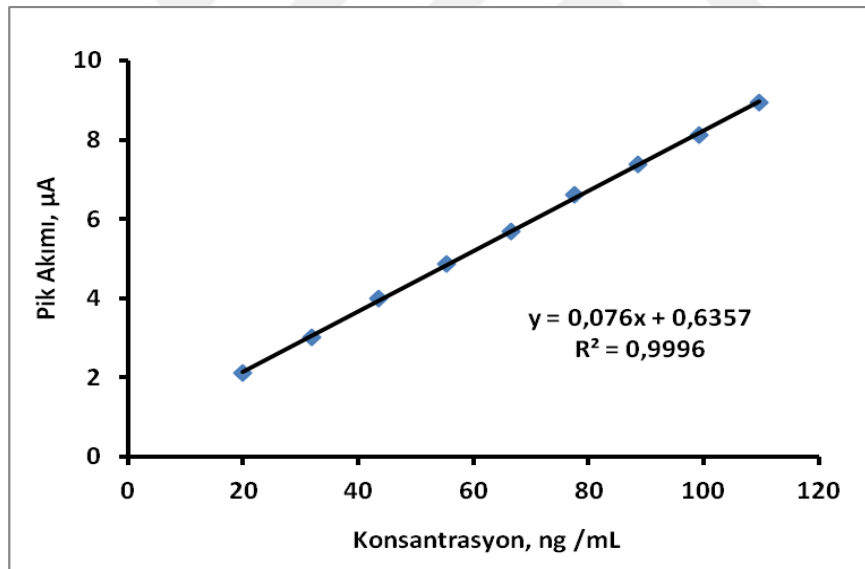
4.6.1. Que ve Luteolin'in eş zamanlı tayin edilebilirliği

a) Luteolin'e karşı Que'nin eş zamanlı tayin edilebilirliği

Her ikisi de birbirine yakın değerinde pik akımı etkisine sahip olan Que ve Luteolin ile çalışmaya başlanmıştır. Öncelikle 1.32×10^{-7} M Que ve 5.25×10^{-7} M Luteolin içeren çözeltilerden 5'er mL alınarak aynı voltametrik hücre içinde karıştırılmıştır. Ortamda 2.63×10^{-7} M (75.13 ng mL^{-1}) Luteolin'e karşılık 6.6×10^{-8} M (19.94 ng mL^{-1}) Que bulunmaktadır. Elde edilen karışımın SWAdSV voltamogramı alınmış ve biri Que'e diğeri Luteolin'e ait iki pik gözlenmiştir. Sabit Luteolin miktarına karşılık artan Que konsantrasyonunun pik akımlarında meydana getirdiği etkiyi incelemek amaçlı daha önceden hazırlanmış 4.08×10^{-6} M'lık Que çözeltisinden voltametrik hücreye ardı ardına 100 μL ilaveler yapılmıştır.



Şekil 4.19. PGE kullanılarak 75.13 ng mL^{-1} ($2.63 \times 10^{-7} \text{ M}$) Luteolin'e karşılık farklı konsantrasyonlarda a) 19.94, b) 31.94, c) 43.52, d) 55.27, e) 66.49, f) 77.6, g) 88.55, h) 99.13, i) 109.7 ng mL^{-1} Que için elde edilen SWAdSV voltamogramları. Tarama hızı 100 mV s^{-1}



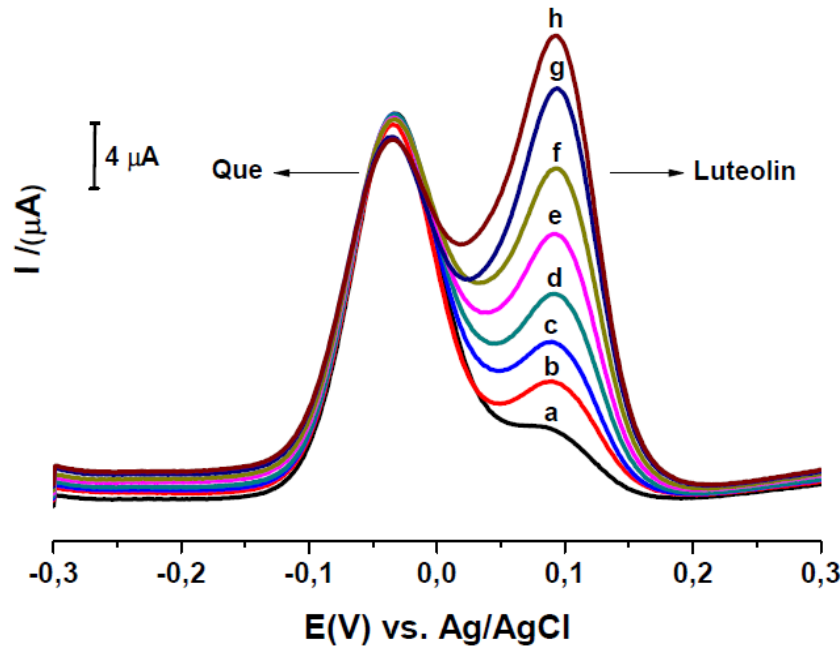
Şekil 4.20. Sabit miktarda Luteolin içeren çözeltide değişen Que konsantrasyonları ile elde edilen pik akımları arasında çizilen kalibrasyon grafiği

Şekil 4.20'de de görüldüğü gibi Luteolin pik akımında herhangi bir değişim gözlenmeksizin artan Que konsantrasyonu ile beraber Que pik akımında düzenli artış meydana gelmiştir. Çalışma Que için $6.6 \times 10^{-8} \text{ M}$ (19.94 ng mL^{-1}) ile $3.63 \times 10^{-7} \text{ M}$ (109.7 ng mL^{-1}) konsantrasyon aralığında gerçekleştirilmiştir.

Şekil 4.19'dan elde edilen voltamogramlardan okunan pik akımları kullanılarak Que çözeltisinin farklı konsantrasyonlarına karşı çizilen kalibrasyon grafiği Şekil 4.20'de verilmiştir.

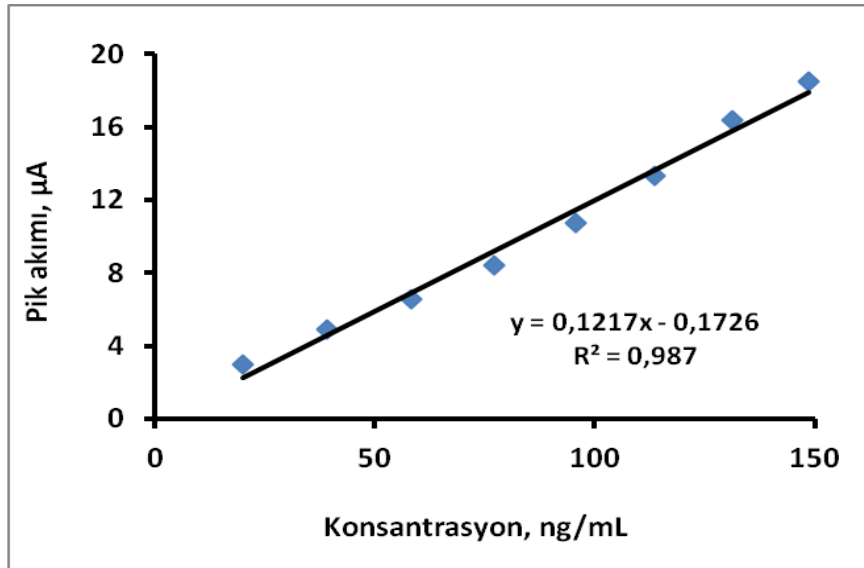
b) Que'e karşı Luteolin'in eş zamanlı tayin edilebilirliği

Geliştirilen yöntem, sabit Que konsantrasyonuna karşılık değişen konsantrasyonlarda Luteolin için de denenmiştir. Girişim oluşturmayan ve birbirini bastırmayan iki pik Luteolin'in eş zamanlı tayininde de elde edilmiştir.



Şekil 4.21. PGE kullanılarak $1.99 \mu\text{g mL}^{-1}$ ($6.6 \times 10^{-6} \text{ M}$) Que'e karşılık farklı konsantrasyonlarda a) 19.89 b) 39.2, c) 58.39, d) 77.25, e) 95.63, f) 113.66, g) 131.3, h) 148.7 ng mL^{-1} Luteolin için elde edilen SWAdSV voltamogramları. Tarama hızı 100 mV s^{-1}

$1.99 \mu\text{g mL}^{-1}$ ($6.6 \times 10^{-6} \text{ M}$) Que miktarına karşılık konsantrasyonu 19.89 ng mL^{-1} ile 148.7 ng mL^{-1} aralığında değişen konsantrasyonlarda Luteolin için SWAdSV voltamogramları alınarak pik akımları elde edilmiştir (Şekil 4.21). Elde edilen pik akımlarına karşılık gelen konsantrasyon değerlerinden yararlanarak Şekil 4.22'de verilen kalibrasyon grafiği çizilmiştir.



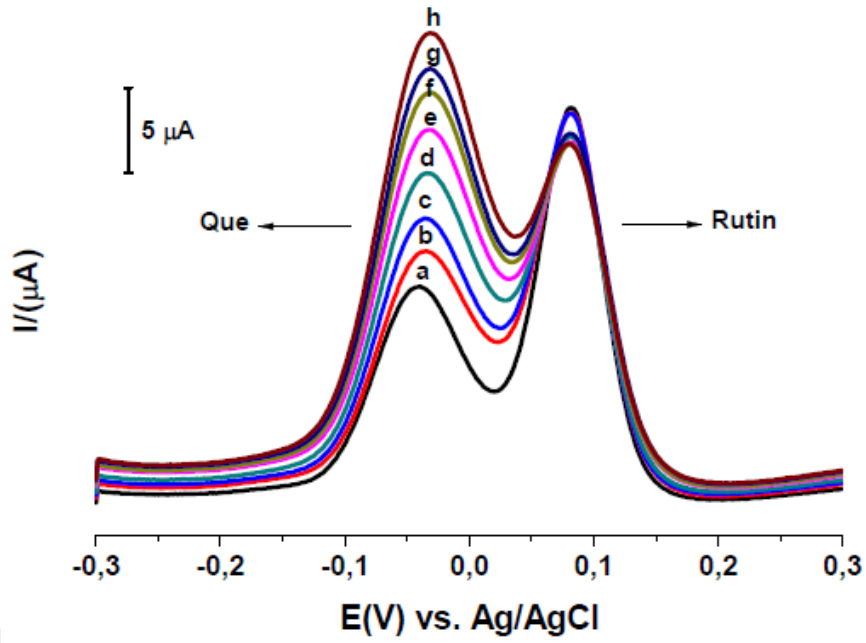
Şekil 4.22. Sabit miktarda Que içeren çözeltilerde değişen Luteolin konsantrasyonları ile elde edilen pik akımları arasında çizilen kalibrasyon grafiği

4.6.2. Que ve Rutin'in eş zamanlı tayin edilebilirliği

a) Rutin'e karşı Que'nin eş zamanlı tayin edilebilirliği

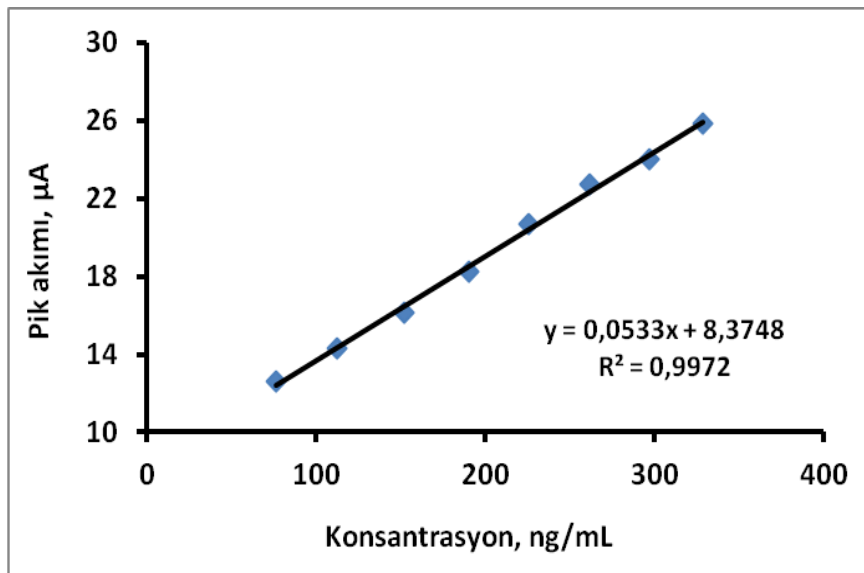
Eş zamanlı tayin edilebilirlik çalışmasına Que'e karşı Rutin bileşiği kullanılarak devam edilmiştir. Düşük konsantrasyonlarda hazırlanan Que ve Rutin çözelti karışımının SWAdSV voltamogramları alınmış birbirine girişim yapmayan biri Que'e diğeri Rutin'e ait iki pik gözlenmiştir. Devamında sabit Rutin miktarına karşılık Que konsantrasyonu değiştirilmiş ve her konsantrasyon değişiminden sonra SWAdSV voltamogramları alınarak değişen konsantrasyonlara karşılık gelen pik akımları okunmuştur.

Ortamda $2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ($3.28 \times 10^{-6} \text{ M}$) sabit Rutin miktarına karşılık 76 ng mL^{-1} ($2.5 \times 10^{-7} \text{ M}$) Que bulunmaktadır. Que için 76 ng mL^{-1} ile 329 ng mL^{-1} konsantrasyon aralığında farklı konsantrasyonlar için elde edilen pik akımları Şekil 4.23'de verilen çakıştırılmış voltamogramlarda görülmektedir.



Şekil 4.23. PGE kullanılarak $2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ($3,28 \times 10^{-6}$ M) Rutin'e karşılık farklı konsantrasyonlarda a) 76, b) 112, c) 152, d) 190, e) 226, f) 262, g) 297, h) 329 ng mL^{-1} Que için elde edilen SWAdSV voltamogramları. Tarama hızı 100 mV s^{-1}

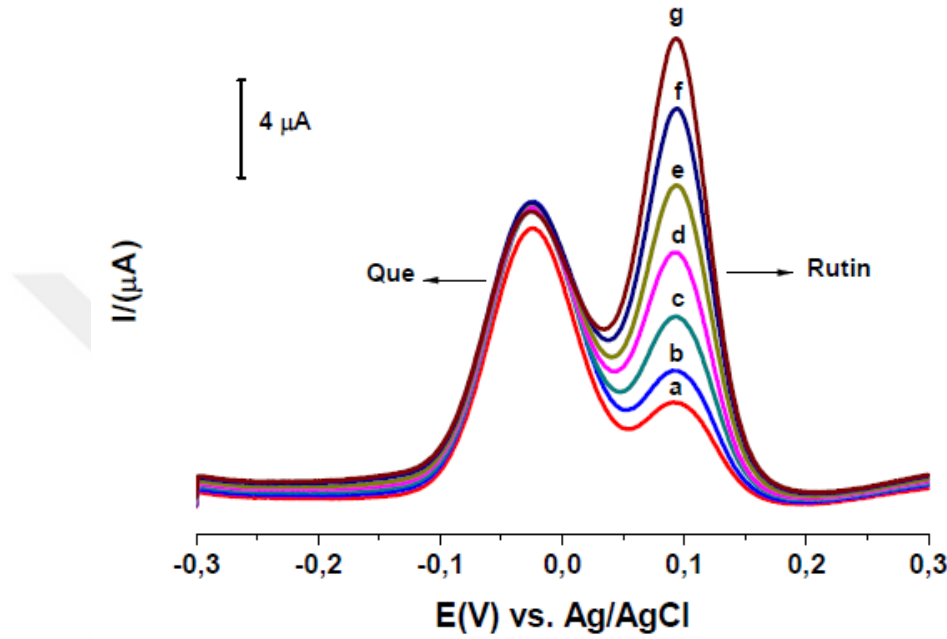
Bu voltamogramlardaki konsantrasyon değerlerine karşılık gelen pik akımı değerleriyle Şekil 4.24'te verilen kalibrasyon grafiği çizilmiştir.



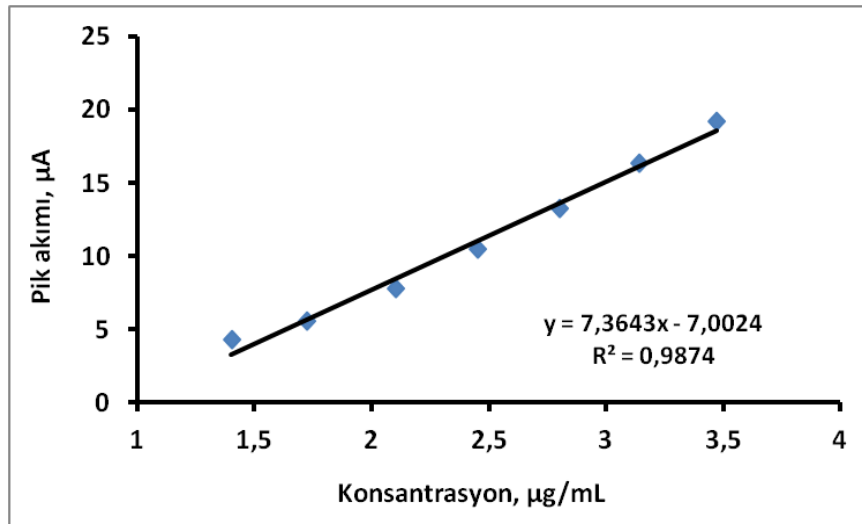
Şekil 4.24. Sabit miktarda Rutin içeren çözeltide değişen Que konsantrasyonları ile elde edilen pik akımları arasında çizilen kalibrasyon grafiği

b) Que'e karşı Rutin'in eş zamanlı tayin edilebilirliği

Bu bölümde Que için elde edilen bulguların benzer bir şekilde Rutin için de elde edilip edilemeyeceği araştırılmıştır. Deneyler 199.4 ng mL^{-1} ($6.6 \times 10^{-7} \text{ M}$) Que'e karşılık $1.3 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ ile $3.47 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyon aralığında değişen Rutin konsantrasyonları için yapılmıştır.



Şekil 4.25. PGE kullanılarak 199.4 ng mL^{-1} ($6.6 \times 10^{-7} \text{ M}$) Que'e karşılık farklı konsantrasyonlarda a) 1.3, b) 1.72, c) 2.1, d) 2.45, e) 2.80, f) 3.14, g) $3.47 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ Rutin için elde edilen SWAdSV voltamogramları. Tarama hızı 100 mV s^{-1}



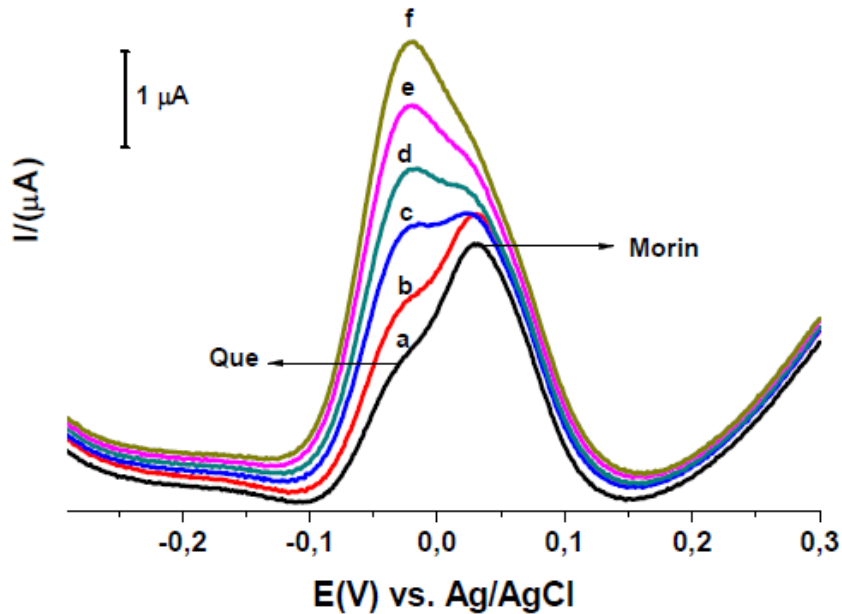
Şekil 4.26. Sabit miktarda Que içeren çözeltide değişen Rutin konsantrasyonları ile elde edilen pik akımları arasında çizilen kalibrasyon grafiği

Konsantrasyona karşılık elde edilen pik akımları Şekil 4.25'te verilmiştir. Bulgulardan yararlanılarak çizilen kalibrasyon grafiğinde (Şekil 4.26) elde edilen doğrusallık da Que ortamında Rutin'in tayin edilebilirliğini destekler niteliktedir.

4.6.3. Que ve Morin'in eş zamanlı tayin edilebilirliği

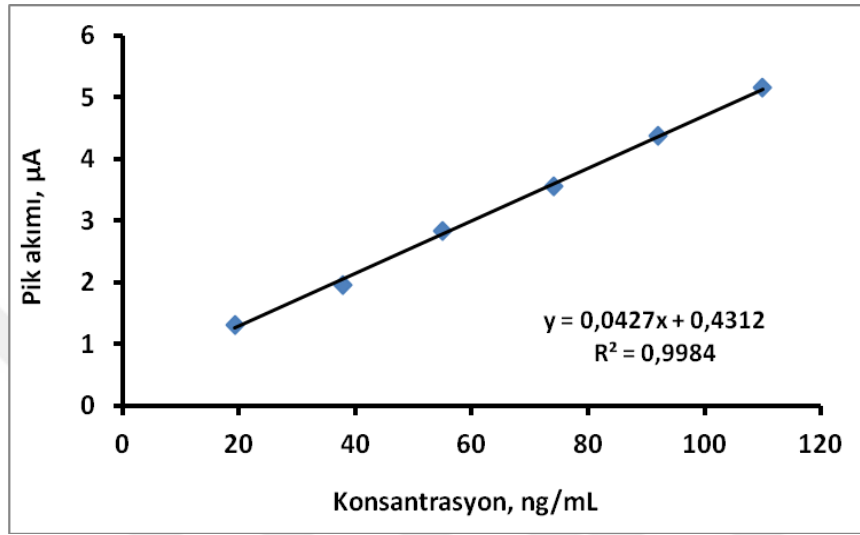
a) Morin'e karşı Que'nin eş zamanlı tayin edilebilirliği

Morin bileşiği girişim etkisi çalışmalarında da gözlemlendiği gibi, B halkasında bulunan –OH gruplarının meta pozisyonunda olmasından ve dolayısıyla daha zor yükseltgenmesi nedeniyle, Que, Luteolin ve Rutin gibi oksidasyon aktivitelerinden kaynaklanan daha etkin analitik sinyale sahip maddelerle birlikte tayin edilmek istendiğinde analitik sinyalinin daha güç gözlemlendiği ve daha kolay baskılanmaya müsait olan bir maddedir. Yüksek derişimli çözeltiler hazırlandığında Morin'in analitik sinyali zor gözlemlendiği hatta girişim ve baskılanma sorunlarından dolayı gözlenemediği için özellikle Morin için daha düşük konsantrasyonlarda çözelti hazırlamak tespit ve tayinde önemli bir faktördür. Düşük konsantrasyonlu Que ve Morin çözeltisi hazırlandıktan sonra karışımın SWAdSV voltamogramı alınarak birbirinden ayrılmış biri Que'e diğeri Morin'e ait iki pik gözlenmektedir. Yüksek konsantrasyonlarda bu iki piki elde etmek mümkün olmamaktadır.



Şekil 4.27. PGE kullanılarak 24 ng mL^{-1} ($7.94 \times 10^{-6} \text{ M}$) Morin'e karşılık farklı konsantrasyonlarda a) 19.34, b) 37.77, c) 55, d) 74.2, e) 92.15, f) 110 ng mL^{-1} Que için elde edilen SWAdSV voltamogramları. Tarama hızı 100 mV s^{-1}

Öncelikle sabit Morin miktarı için Que konsantrasyonundaki değişim ve buna bağlı olarak pik akımında meydana gelen değişim gözlenmiştir. 24 ng mL^{-1} ($7.94 \times 10^{-6} \text{ M}$) Morin'e karşılık 19.34 ng mL^{-1} ile 110 ng mL^{-1} konsantrasyon aralığında değişen Que konsantrasyonlarında SWAdSV voltamogramları alınmış ve Şekil 4.27'te karşılaştırılmış olarak verilmiştir.

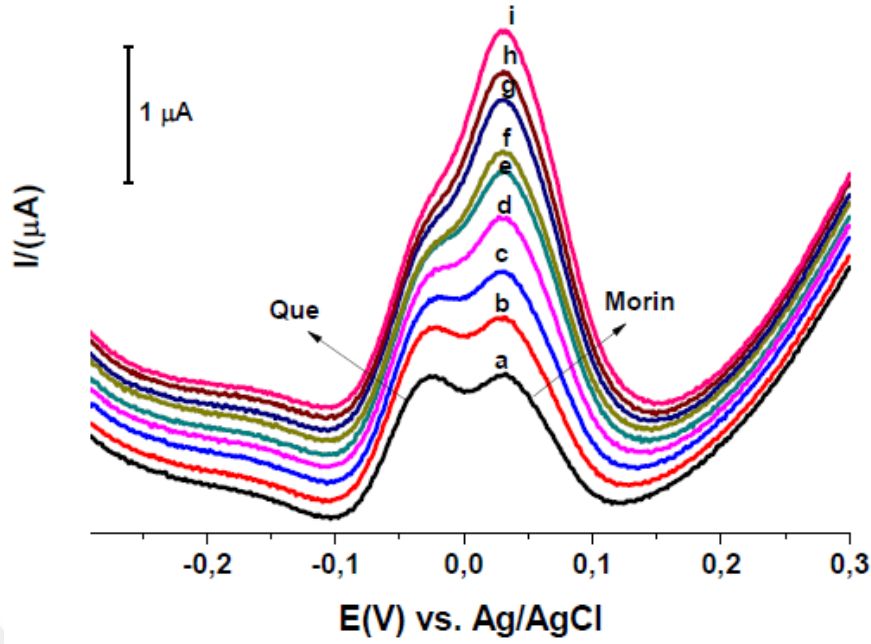


Şekil 4.28. Sabit miktarda Morin içeren çözeltide değişen Que konsantrasyonları ile elde edilen pik akımları arasında çizilen kalibrasyon grafiği

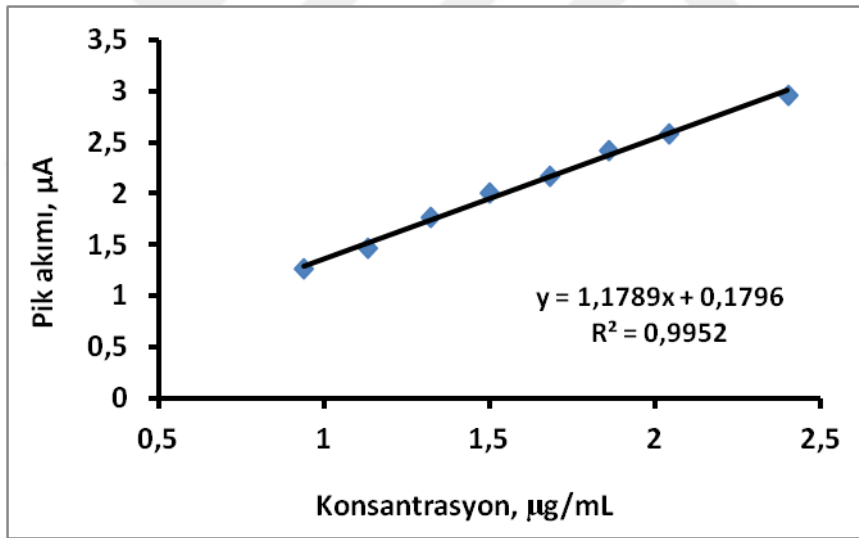
Bu voltamogramlardan elde edilen bulgularla Şekil 4.28'de verilen kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Elde edilen sonuçlar Morin varlığında Que'in tespit ve tayin edilebilirliğini destekler niteliktedir.

b) Que'e karşı Morin'in eş zamanlı tayin edilebilirliği

Bu bölümde Morin varlığında Que'in tayin edilebilirliğindeki başarının Que varlığında Morin için de mümkün olup olmadığı araştırılmıştır. Bunun için 19.34 ng mL^{-1} ($6.4 \times 10^{-8} \text{ M}$) Que'e karşılık 0.75 µg mL^{-1} ile 2.4 µg mL^{-1} aralığında değişen konsantrasyonlarda Morin için ardı ardına SWAdSV voltamogramları alınmış ve karşılaştırılarak Şekil 4.29'da verilmiştir. Morin konsantrasyonlarına karşılık elde edilen pik akımları kullanılarak kalibrasyon grafiği çizilmiştir (Şekil 4.30). Kalibrasyon grafiğinden elde edilen doğrusallık aynı başarının Que varlığında Morin'in tayin edilebilirliği için de mümkün olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.29. PGE kullanılarak 19.34 ng mL^{-1} ($6.4 \times 10^{-8} \text{ M}$) Que'e karşılık farklı konsantrasyonlarda a) 0.75, b) 0.94, c) 1.13, d) 1.32, e) 1.5, f) 1.68, g) 1.86, h) 2.04, i) $2.4 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ Morin için elde edilen SWAdSV voltamogramları. Tarama hızı 100 mV s^{-1}



Şekil 4.30. Sabit miktarda Que içeren çözeltide değişen Morin konsantrasyonları ile elde edilen pik akımları arasında çizilen kalibrasyon grafiği

Yapılan tüm eş zamalı tayin çalışmaları gösteriyor ki geliştirilen yöntem, yaygın bir flavonoid olan Que'in benzer molekül yapısına ve buna bağlı olarak benzer elektrokimyasal davranışlara sahip (Mülazımoğlu İ.E., 2008) Luteolin, Rutin ve Morin gibi flavonoidlerle birlikte eş zamanlı tayin edilmesini mümkün kılmaktadır. Hatta çalışmayı farklı bir açıdan ele alırsak; geliştirilen metot sadece Que'in tayinini mümkün kılmakla kalmayıp, Que varlığında Luteolin, Rutin ve Morin'in de tayin edilebilmesini mümkün kılmaktadır.

4.7. Gerçek Numune Analizleri

Que tayini için yapılan destek elektrolit çalışmaları, uygun pH çalışmaları, girişim etkisi çalışmaları ve eş zamanlı tayin edilebilirlik çalışmaları bize Que'nin gerçek numunelerde tayin edilebilirliği hususunda referans olmuştur. Bu referanslar göz önünde bulundurularak çalışmaya gerçek numune analizlerinde Que tayininin yapılmasıyla devam edilmiştir.

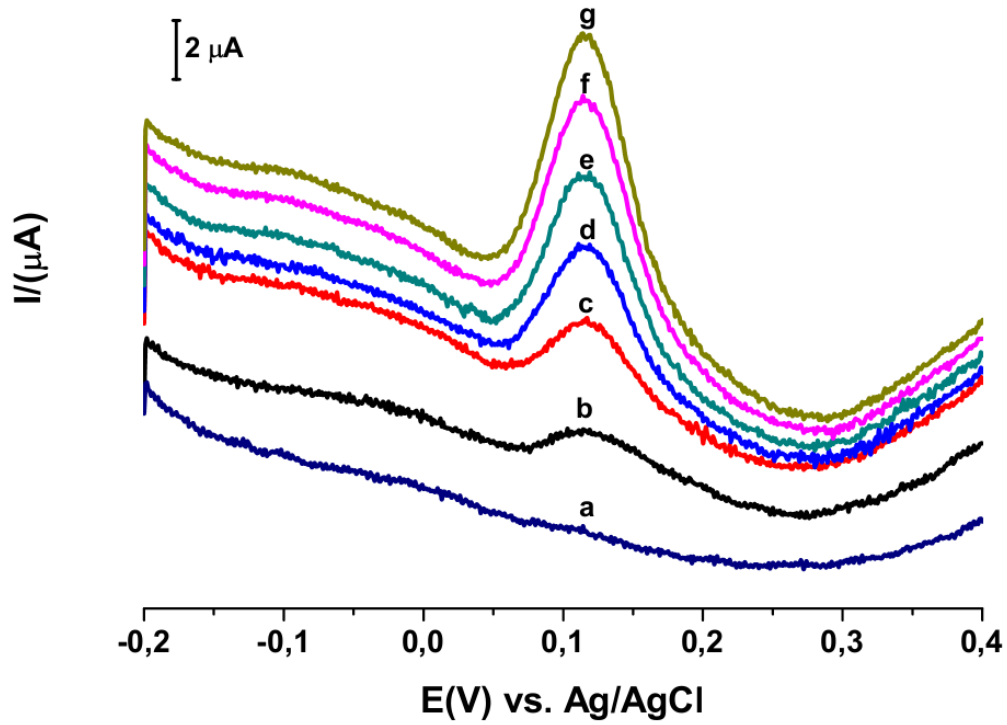
Gerçek numune olarak pancar suyu, siyah çay, elma sirkesi, elma suyu, vişne suyu, yeşil çay, soğuk çay ve üzüm sirkesi numuneleri belirlenmiştir. Hazırlanan gerçek numune çözeltilerinin belirlenen optimum koşullar altında SE içerisinde Que ilavesiz ve Que ilaveli SWAdSV voltamogramları alınmış elde edilen pik akımlarıyla konsantrasyonlar arasında kalibrasyon grafikleri çizilmiştir.

Aşağıda tüm gerçek numuneler için elde edilen voltamogramlar ve bu voltamogramlardan okunan pik akımları ve konsantrasyonları arasında çizilmiş kalibrasyon grafikleri verilmiştir. Çizilen kalibrasyon grafiklerinin doğrusallığı ve eğim çizgilerinin korelasyon katsayı değerlerinin 1'e oldukça yakın olması dikkat çekmektedir.

Her bir numunedeki Que miktarı, elde edilen denklemlerden yararlanarak tespit edilmiştir. Tespit değerlerinin çok düşük konsantrasyonlarda olması ve özellikle uygulanan her bir gerçek numune için aynı mükemmellikte sonuç vermesi geliştirilen yöntemin gerçek numuneler üzerindeki uygulanabilirliğinin oldukça etkili olduğunu göstermektedir.

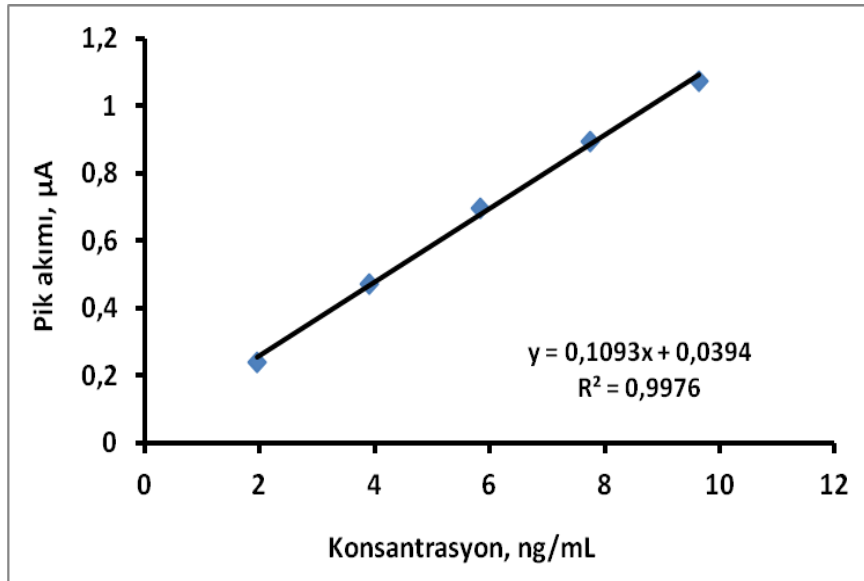
4.7.1. Pancar suyunda Que tayini

Pancar suyunda Que tayini için öncelikle 25 mL'lik balon joje içerisine 1 mL pancar suyu konulmuş üzerine 5 mL etanol ilave edilmiş ve çözelti SE ile 25 mL'ye tamamlanmıştır. İçerisinde 10 mL SE bulunan voltametrik hücreye hazırlanan pancar suyu çözeltisinden 100 µL enjekte edilmiş ve voltamogramı alınmıştır. Daha sonra hücre içerisine Şekil 4.28 açıklamalarında belirtildiği miktarlarda ardı ardına Que ilaveleri yapılmış, her bir ilaveden sonra voltamogramlar yeniden alınmıştır. Elde edilen voltamogramlar karşılaştırılarak Şekil 4.31'de verilmiştir.



Şekil 4.31. Pancar suyu numunesinin SE içerisinde kaydedilen SWAdSV voltamogramları (a) 10 mL SE, (b) 100 μ L pancar suyu çözeltisi ilaveli, (c) 50 μ L 1.32×10^{-6} M Que, (d) 50 μ L 1.32×10^{-6} M Que, (e) 50 μ L 1.32×10^{-6} M Que, (f) 50 μ L 1.32×10^{-6} M Que, (g) 50 μ L 1.32×10^{-6} M Que ilaveleri sonrası alınan SWAdSV voltamogramları. Elektrot, PGE; biriktirme süresi 150 s biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans, 25 Hz; adım gerilimi, 1 mV; adım potansiyeli, 50 mV

Her bir Que ilavesi için değişen çözelti konsantrasyonları 1.96 ng mL^{-1} , 3.91 ng mL^{-1} , 5.83 ng mL^{-1} , 7.74 ng mL^{-1} ve 9.635 ng mL^{-1} (6.5×10^{-9} , 12.94×10^{-9} , 19.31×10^{-9} , 25.63×10^{-9} ve 31.8×10^{-9} M) olarak hesaplanmıştır. Bu konsantrasyon değerleri ve bu değerlere karşılık gelen pik akımlarından yararlanılarak çizilen kalibrasyon grafiği Şekil 4.32’de verilmiştir. Grafik denkleminde yararlanılarak Que ilavesiz pancar numunesinden elde edilen $0,331 \mu\text{A}$ büyüklüğündeki pik akımına (b eğrisi) karşılık gelen Que konsantrasyonu 2.66 ng mL^{-1} (8.84×10^{-9} M) olarak hesaplanmıştır.

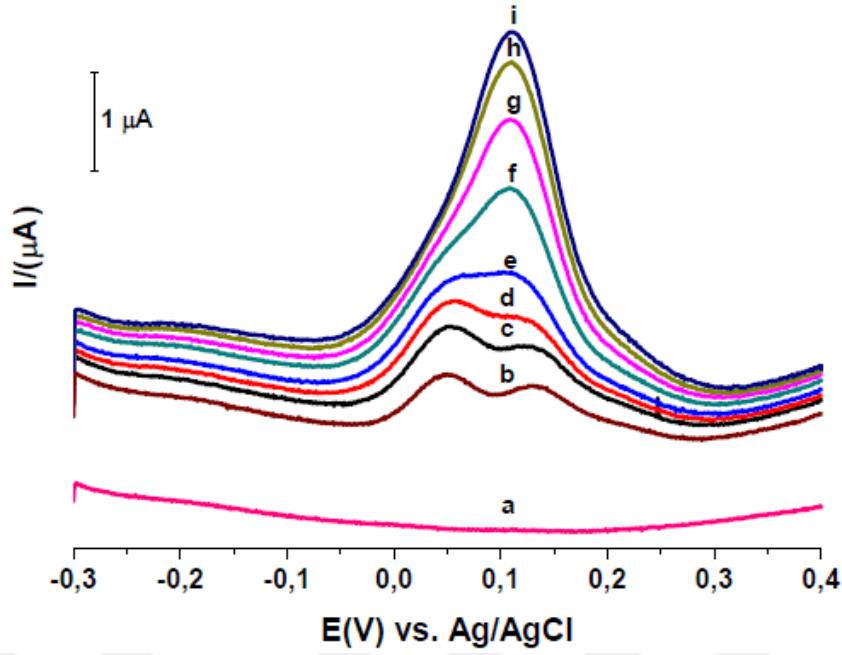


Şekil 4.32. Değişen pancar konsantrasyonlarına karşı elde edilen pik akımları kullanılarak çizilen kalibrasyon grafiği

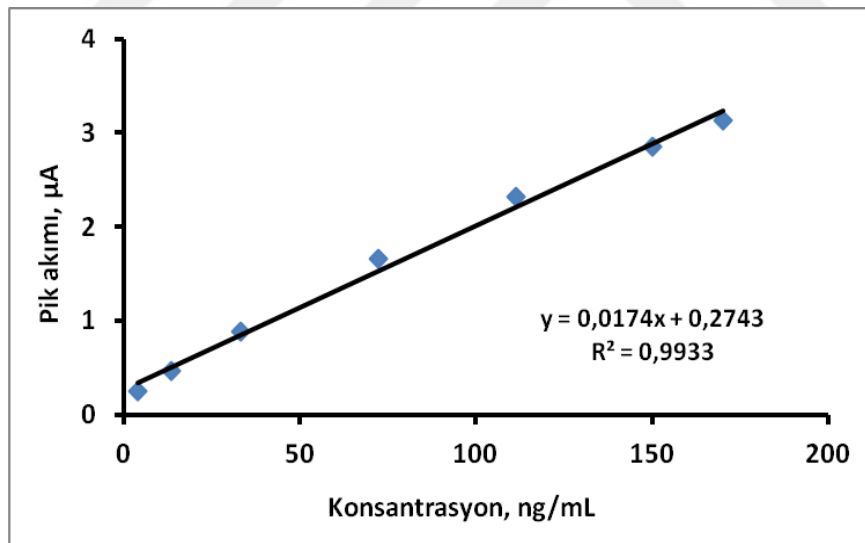
4.7.2. Siyah çayda Que tayini

25 mL balon joje içerisine 5 mL demlenmiş siyah çay konulmuş üzerine 5 mL etanol ilave edilmiş ve çözelti SE ile 25 mL'ye tamamlanmıştır. İçerisinde 10 mL SE bulunan voltametrik hücreye hazırlanan siyah çay çözeltisinden 100 µL enjekte edilmiş ve voltamogramı alınmıştır. Daha sonra hücre içerisine Şekil 4.33 açıklamalarında belirtildiği miktarlarda ardı ardına Que ilaveleri yapılmış, her bir ilaveden sonra voltamogramlar tekrar alınmıştır. Elde edilen voltamogram eğrileri karşılaştırılarak Şekil 4.33'de verilmiştir.

Her bir Que ilavesi için değişen çözelti konsantrasyonları 3.93 ng mL⁻¹, 13.6 ng mL⁻¹, 33.2 ng mL⁻¹, 72.2 ng mL⁻¹, 111.2 ng mL⁻¹, 150.2 ng mL⁻¹ ve 170 ng mL⁻¹ (0.13×10⁻⁷ M, 0.45×10⁻⁷ M, 1.10×10⁻⁷ M, 2.39×10⁻⁷ M, 3.68×10⁻⁷ M, 4.97×10⁻⁷ M ve 5.62×10⁻⁷ M) olarak hesaplanmıştır. Bu konsantrasyon değerleri ve bu değerlere karşılık gelen pik akımlarından yararlanılarak çizilen kalibrasyon grafiği Şekil 4.34'de verilmiştir. Grafik denkleminde yararlanılarak Que ilavesiz siyah çay numunesinden elde edilen 0,555 µA büyüklüğündeki pik akımına (b eğrisi) karşılık gelen Que konsantrasyonu 16.01 ng mL⁻¹ (5.3×10⁻⁸ M) olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.33. Siyah çay numunesinin SE içerisinde kaydedilen SWAdSV voltamogramları (a) 10 mL SE, (b) 100 µL siyah çay çözeltisi ilaveli, (c) 100 µL 1.32×10^{-6} M Que, (d) 25 µL 1.32×10^{-5} M Que, (e) 50 µL 1.32×10^{-5} M Que, (f) 10 µL 1.32×10^{-4} M Que, (g) 10 µL 1.32×10^{-4} M Que, (h) 10 µL 1.32×10^{-4} M Que, (i) 5 µL 1.32×10^{-4} M Que ilaveleri sonrası alınan SWAdSV voltamogramları. Elektrot, PGE; biriktirme süresi 150 s; biriktirme gerilimi, 0,0 V. SW değişkenleri: frekans, 25 Hz; adım gerilimi, 1 mV; adım potansiyeli, 50 mV

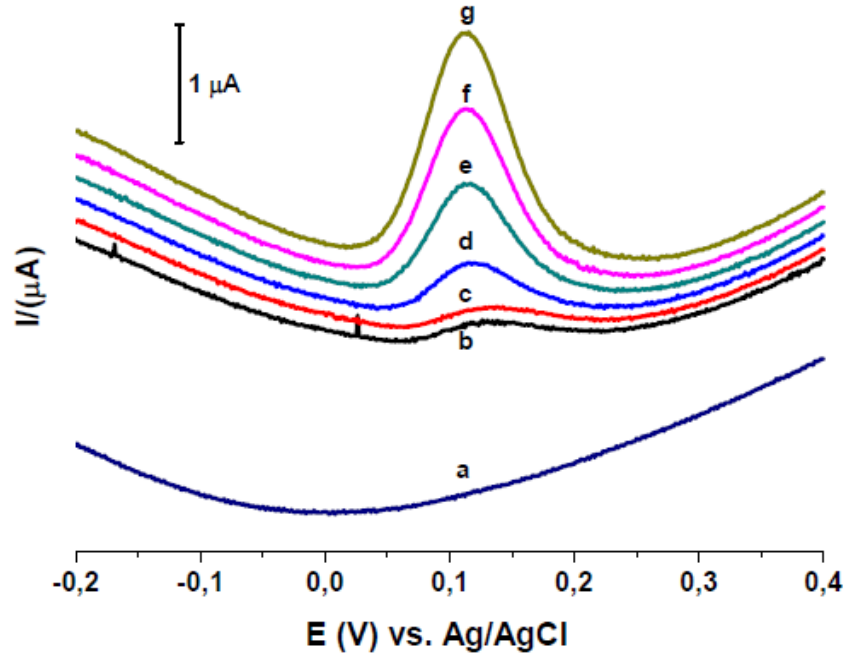


Şekil 4.34. Değişen siyah çay konsantrasyonlarına karşı elde edilen pik akımları kullanılarak çizilen kalibrasyon grafiği

4.7.3. Elma sirkesinde Que tayini

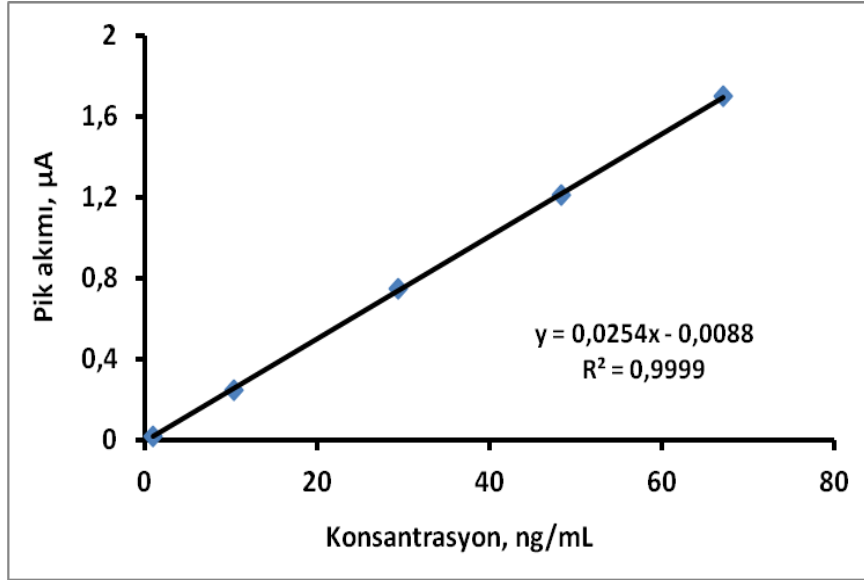
25 mL balon jöje içerisinde 1 mL elma sirkesi konulmuş üzerine 5 mL etanol ilave edilmiş ve çözelti SE ile 25 mL'ye tamamlanmıştır. İçerisinde 10 mL SE bulunan voltametrik hücreye

hazırlanan elma sirkesi çözeltisinden 100 μL enjekte edilmiş ve voltamogramı alınmıştır. Daha sonra hücre içerisine Şekil 4.35 açıklamalarında belirtildiği miktarlarda ardı ardına Que ilaveleri yapılmış, her bir ilaveden sonra voltamogramlar tekrar alınmıştır. Elde edilen voltamogramlar karşılaştırılarak Şekil 4.35’de verilmiştir.



Şekil 4.35. Elma sirkesi numunesinin SE içerisinde kaydedilen SWAdSV voltamogramları (a) 10 mL SE, (b) 300 μL elma sirkesi çözeltisi ilaveli, (c) 25 μL 1.32×10^{-6} M Que, (d) 25 μL 1.32×10^{-5} M Que, (e) 50 μL 1.32×10^{-5} M Que, (f) 50 μL 1.32×10^{-5} M Que, (g) 50 μL 1.32×10^{-5} M Que ilaveleri sonrası SWAdSV voltamogramları. Elektrot, PGE; biriktirme süresi 150 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans, 25 Hz; adım gerilimi, 1 mV; adım potansiyeli, 50 mV

Her bir Que ilavesi için değişen çözelti konsantrasyonları 0.96 ng mL^{-1} , 10.30 ng mL^{-1} , 29.43 ng mL^{-1} , 48.35 ng mL^{-1} ve 67.12 ng mL^{-1} (0.32×10^{-8} M, 3.41×10^{-8} M, 9.73×10^{-8} M, 16×10^{-8} M ve 22.20×10^{-8} M) olarak hesaplanmıştır. Bu konsantrasyon değerleri ve bu değerlere karşılık gelen pik akımlarından yararlanılarak çizilen kalibrasyon grafiği Şekil 4.36’da verilmiştir. Grafik denkleminde yararlanılarak Que ilavesiz elma sirkesi numunesinden elde edilen $0.184 \mu\text{A}$ büyüklüğündeki pik akımına (b eğrisi) karşılık gelen Que konsantrasyonu 6.89 ng mL^{-1} (2.28×10^{-8} M) olarak hesaplanmıştır.

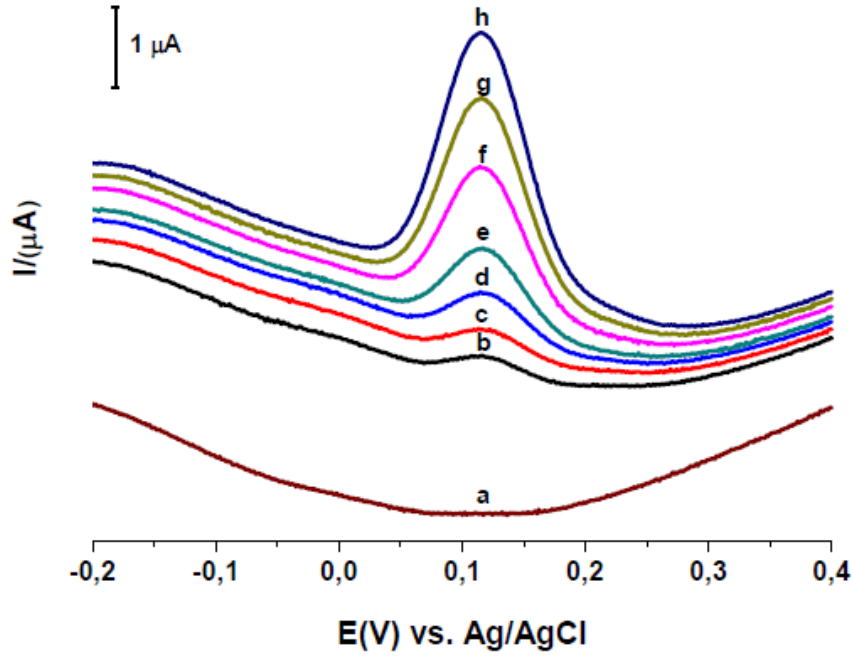


Şekil 4.36. Değişen elma sirkesi konsantrasyonlarına karşı elde edilen pik akımları kullanılarak çizilen kalibrasyon grafiği

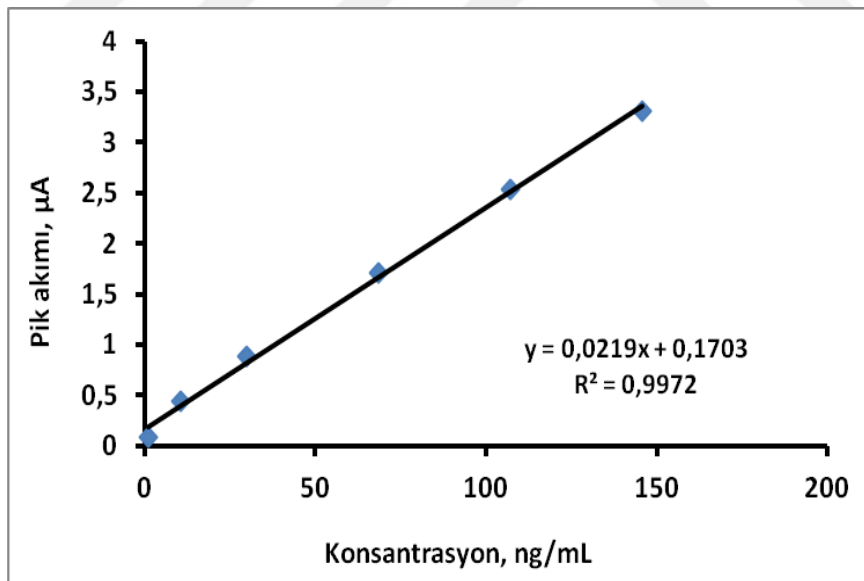
4.7.4. Elma suyunda Que tayini

25 mL balon jöje içerisine 1 mL elma suyu konulmuş üzerine 5 mL etanol ilave edilmiş ve çözelti SE ile 25 mL'ye tamamlanmıştır. İçerisinde 10 mL SE bulunan voltametrik hücreye hazırlanan elma suyu çözeltisinden 200 µL enjekte edilmiş ve voltamogramı alınmıştır. Daha sonra hücre içerisine Şekil 4.37 açıklamalarında belirtildiği miktarlarda ardı ardına Que ilaveleri yapılmış, her bir ilaveden sonra voltamogramlar tekrar alınmıştır. Elde edilen voltamogramlar karşılaştırılarak Şekil 4.37'de verilmiştir.

Her bir Que ilavesi için değişen çözelti konsantrasyonları 0.96 ng mL^{-1} , 10.66 ng mL^{-1} , 29.98 ng mL^{-1} , 68.63 ng mL^{-1} , $107.20 \text{ ng mL}^{-1}$ ve $145.70 \text{ ng mL}^{-1}$ ($0.32 \times 10^{-8} \text{ M}$, $3.53 \times 10^{-8} \text{ M}$, $9.92 \times 10^{-8} \text{ M}$, $22.71 \times 10^{-8} \text{ M}$, $35.47 \times 10^{-8} \text{ M}$ ve $48.21 \times 10^{-8} \text{ M}$) olarak hesaplanmıştır. Bu konsantrasyon değerleri ve bu değerlere karşılık gelen pik akımlarından yararlanılarak çizilen kalibrasyon grafiği Şekil 4.38'de verilmiştir. Grafik denkleminde yararlanılarak Que ilavesiz elma suyu numunesinden elde edilen 0.387 µA büyüklüğündeki pik akımına (b eğrisi) karşılık gelen Que konsantrasyonu 9.89 ng mL^{-1} ($3.28 \times 10^{-8} \text{ M}$) olarak hesaplanmıştır.



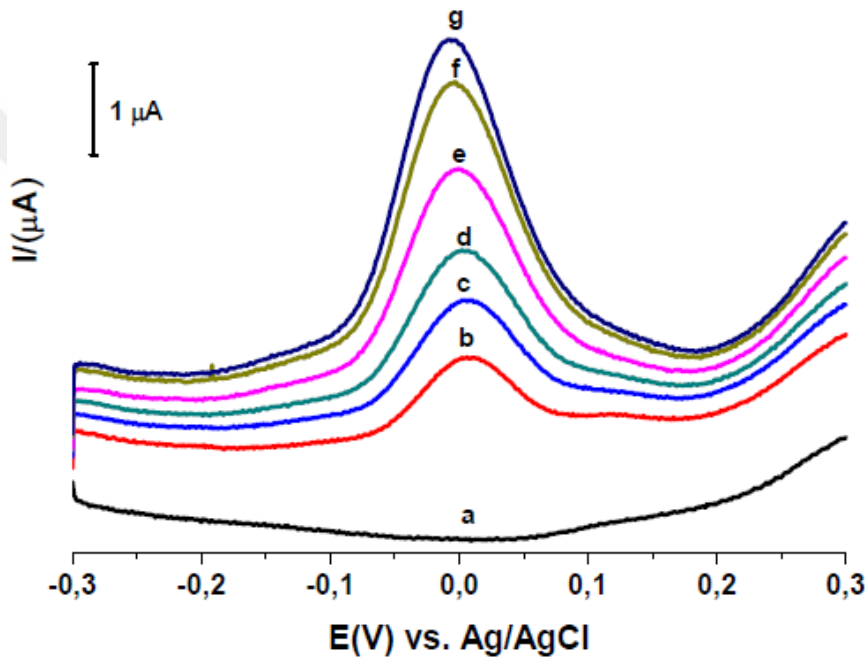
Şekil 4.37. Elma suyu numunesinin SE içerisinde kaydedilen SWAdSV voltamogramları (a) 10 mL SE, (b) 200 µL elma suyu çözeltisi ilaveli, (c) 25 µL 1.32×10^{-6} M Que, (d) 25 µL 1.32×10^{-5} M Que, (e) 50 µL 1.32×10^{-5} M Que, (f) 10 µL 1.32×10^{-4} M Que, (g) 10 µL 1.32×10^{-4} M Que, (h) 10 µL 1.32×10^{-4} M Que ilaveleri sonrası SWAdSV voltamogramları. Elektrot, PGE; biriktirme süresi 150 s; biriktirme gerilimi, 0,0 V. SW değişkenleri: frekans, 25 Hz; adım gerilimi, 1 mV; adım potansiyeli, 50 mV



Şekil 4.38. Değişen elma suyu konsantrasyonlarına karşı elde edilen pik akımları kullanılarak çizilen kalibrasyon grafiği

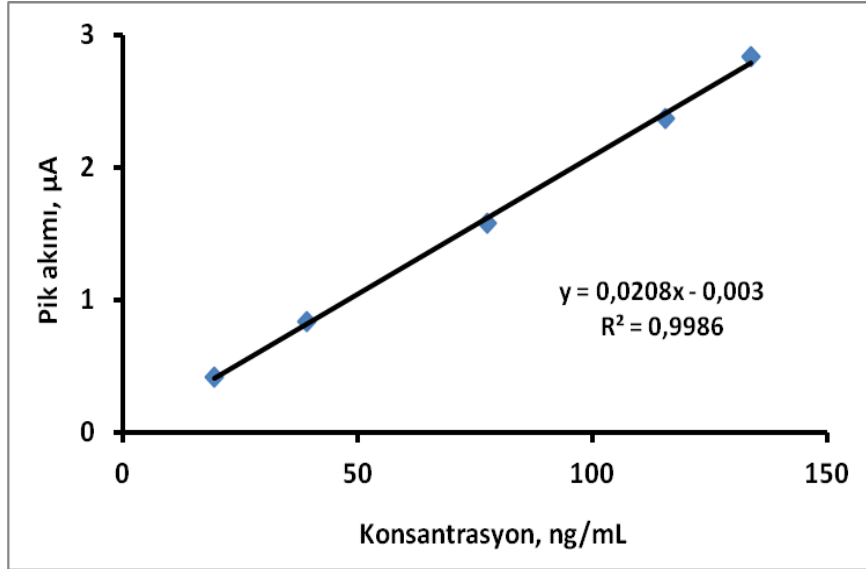
4.7.5. Üzüm sirkesinde Que tayini

25 mL balon jöje içerisinde 1 mL üzüm sirkesi konulmuş üzerine 5 mL etanol ilave edilmiş ve çözelti SE ile 25 mL'ye tamamlanmıştır. İçerisinde 10 mL SE bulunan voltametrik hücreye hazırlanan üzüm sirkesi çözeltisinden 50 μL enjekte edilmiş ve voltamogramı alınmıştır. Daha sonra hücre içerisine Şekil 4.39 açıklamalarında belirtildiği miktarlarda ardı ardına Que ilaveleri yapılmış, her bir ilaveden sonra voltamogramlar tekrar alınmıştır. Elde edilen voltamogramlar karşılaştırılarak Şekil 4.39'da verilmiştir.



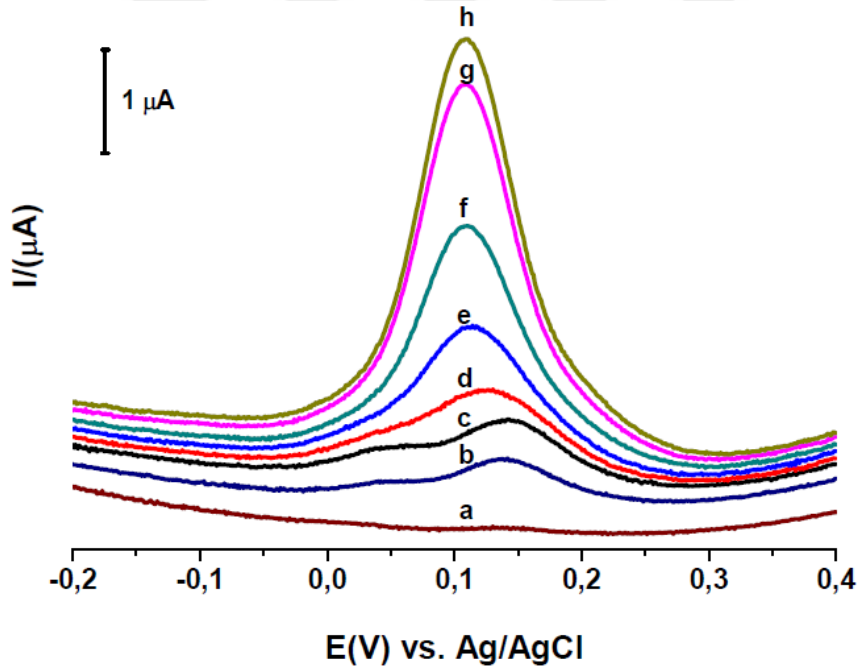
Şekil 4.39. Üzüm sirkesi numunesinin SE içerisinde kaydedilen SWAdSV voltamogramları (a) 10 mL SE, (b) 50 μL üzüm sirkesi çözeltisi ilaveli, (c) 50 μL 1.32×10^{-6} M Que, (d) 50 μL 1.32×10^{-6} M Que, (e) 100 μL 1.32×10^{-6} M Que, (f) 100 μL 1.32×10^{-6} M Que ve (g) 50 μL 1.32×10^{-6} M Que ilaveleri sonrası SWAdSV voltamogramları. Elektrot, PGE; biriktirme süresi 150 s; biriktirme gerilimi, 0,0 V. SW değişkenleri: frekans, 25 Hz; adım gerilimi, 1 mV; adım potansiyeli, 50 mV

Her bir Que ilavesi için değişen çözelti konsantrasyonları 19.6 ng mL^{-1} , 39.1 ng mL^{-1} , 77.6 ng mL^{-1} , 115.4 ng mL^{-1} ve 133.8 ng mL^{-1} (0.65×10^{-8} M, 1.3×10^{-8} M, 2.57×10^{-8} M, 3.82×10^{-8} M ve 4.43×10^{-8} M) olarak hesaplanmıştır. Bu konsantrasyon değerleri ve bu değerlere karşılık gelen pik akımlarından yararlanılarak çizilen kalibrasyon grafiği Şekil 4.37'de verilmiştir. Grafik denkleminde yararlanılarak Que ilavesiz üzüm sirkesi numunesinden elde edilen $1.06 \mu\text{A}$ büyüklüğündeki pik akımına (b eğrisi) karşılık gelen Que konsantrasyonu 51.1 ng mL^{-1} (1.67×10^{-8} M) olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.40. Değişen üzüm sirkesi konsantrasyonlarına karşı elde edilen pik akımları kullanılarak çizilen kalibrasyon grafiği

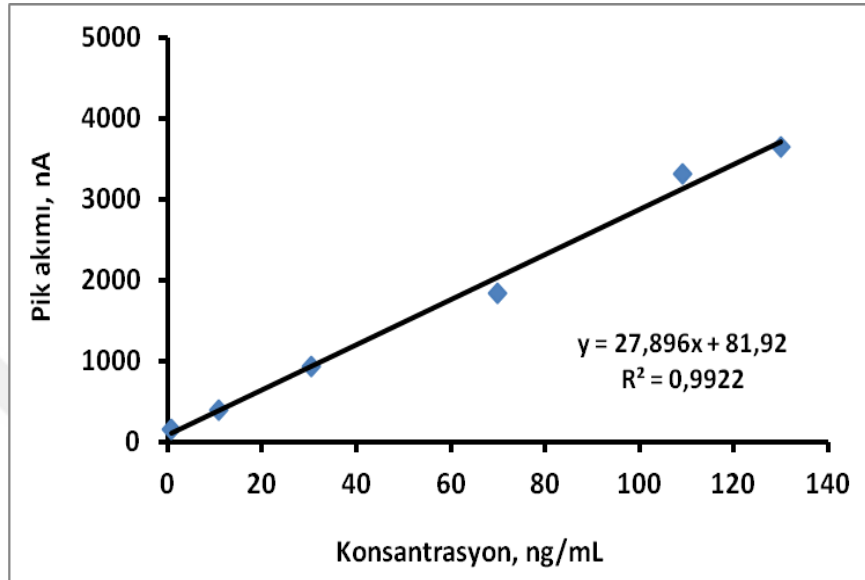
4.7.6. Vişne suyunda Que tayini



Şekil 4.41. Vişne suyu numunesinin SE içerisinde kaydedilen SWAdSV voltamogramları (a) 10 mL SE, (b) 50 µL vişne suyu çözeltisi ilaveli, (c) 25 µL 1.32×10^{-6} M Que, (d) 25 µL 1.32×10^{-5} M Que, (e) 50 µL 1.32×10^{-5} M Que, (f) 10 µL 1.32×10^{-4} M Que ve (g) 10 µL 1.32×10^{-4} M Que, (h) 5.5 µL 1.32×10^{-4} M Que ilaveleri sonrası SWAdSV voltamogramları. Elektrot, PGE; biriktirme süresi 150 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans, 25 Hz; adım gerilimi, 1 mV; adım potansiyeli, 50 mV

25 mL balon joje içerisinde 1 mL vişne suyu konulmuş üzerine 5 mL etanol ilave edilmiş ve çözelti SE ile 25 mL'ye tamamlanmıştır. İçerisinde 10 mL SE bulunan voltametrik hücreye

hazırlanan vişne suyu çözeltisinden 50 μL enjekte edilmiş ve voltamogramı alınmıştır. Daha sonra hücre içerisine Şekil 4.41 açıklamalarında belirtildiği miktarlarda ardı ardına Que ilaveleri yapılmış, her bir ilaveden sonra voltamogramlar tekrar alınmıştır. Elde edilen voltamogramlar karşılaştırılarak Şekil 4.41’de verilmiştir.



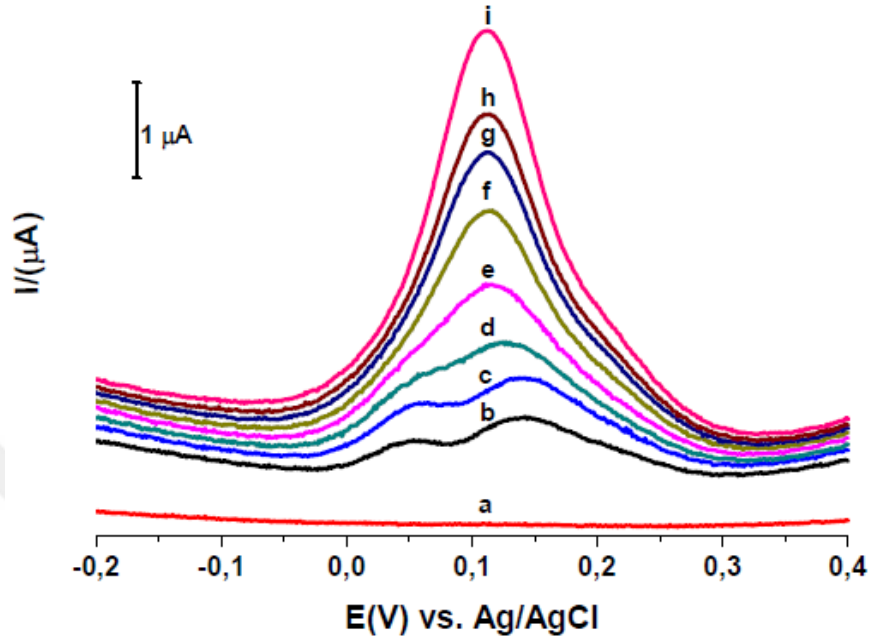
Şekil 4.42. Değişen vişne suyu konsantrasyonlarına karşı elde edilen pik akımları kullanılarak çizilen kalibrasyon grafiği

Her bir Que ilavesi için değişen çözelti konsantrasyonları 0.9 ng mL^{-1} , 10.85 ng mL^{-1} , 30.43 ng mL^{-1} , 69.66 ng mL^{-1} , $108.80 \text{ ng mL}^{-1}$ ve $130.32 \text{ ng mL}^{-1}$ ($0.31 \times 10^{-8} \text{ M}$, $3.59 \times 10^{-8} \text{ M}$, $10.07 \times 10^{-8} \text{ M}$, $25.05 \times 10^{-8} \text{ M}$, $36 \times 10^{-8} \text{ M}$ ve $43.12 \times 10^{-8} \text{ M}$) olarak hesaplanmıştır. Bu konsantrasyon değerleri ve bu değerlere karşılık gelen pik akımlarından yararlanılarak çizilen kalibrasyon grafiği Şekil 4.42’de verilmiştir. Grafik denkleminde yararlanılarak Que ilavesiz vişne suyu numunesinden elde edilen 450 nA büyüklüğündeki pik akımına (b eğrisi) karşılık gelen Que konsantrasyonu 13.19 ng mL^{-1} ($4.34 \times 10^{-8} \text{ M}$) olarak hesaplanmıştır.

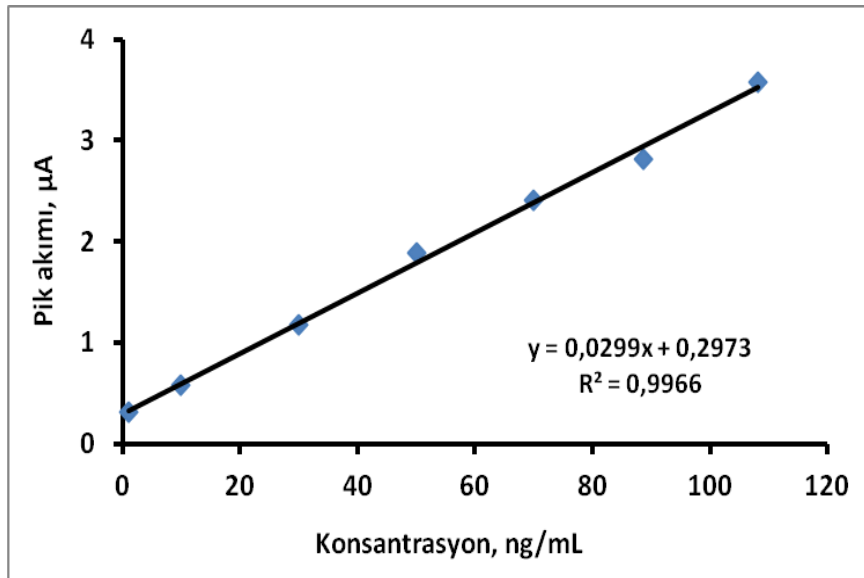
4.7.7. Yeşil çayda Que tayini

25 mL balon jöje içerisine 5 mL demlenmiş yeşil çay konulmuş üzerine 5 mL etanol ilave edilmiş ve çözelti SE ile 25 mL’ye tamamlanmıştır. İçerisinde 10 mL SE bulunan voltametik hücreye hazırlanan yeşil çay çözeltisinden 100 μL enjekte edilmiş ve voltamogramı alınmıştır. Daha sonra hücre içerisine Şekil 4.43 açıklamalarında belirtildiği miktarlarda ardı ardına Que

ilaveleri yapılmış, her bir ilaveden sonra voltamogramlar tekrar alınmıştır. Elde edilen voltamogramlar çakıştırılarak Şekil 4.43’de verilmiştir.



Şekil 4.43. Yeşil çay numunesinin SE içerisinde kaydedilen SWAdSV voltamogramları (a) 10 mL SE, (b) 100 μL yeşil çay çözeltisi ilaveli, (c) 25 μL 1.32×10^{-6} M Que, (d) 25 μL 1.32×10^{-5} M Que, (e) 50 μL 1.32×10^{-5} M Que, (f) 5 μL 1.32×10^{-4} M Que, (g) 5 μL 1.32×10^{-4} M Que, (h) 5 μL 1.32×10^{-4} M Que ve i) 5 μL 1.32×10^{-4} M Que ilaveleri sonrası SWAdSV voltamogramları. Elektrot, PGE; biriktirme süresi 150 s; biriktirme gerilimi, 0,0 V. SW değişkenleri: frekans, 25 Hz; adım gerilimi, 1 mV; adım potansiyeli, 50 mV

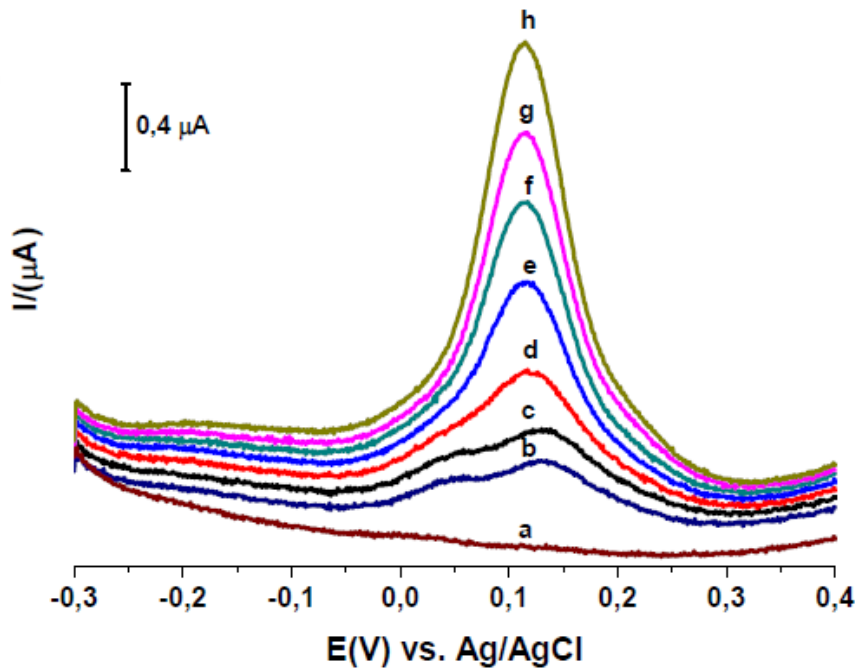


Şekil 4.44. Değişen yeşil çay konsantrasyonlarına karşı elde edilen pik akımları kullanılarak çizilen kalibrasyon grafiği

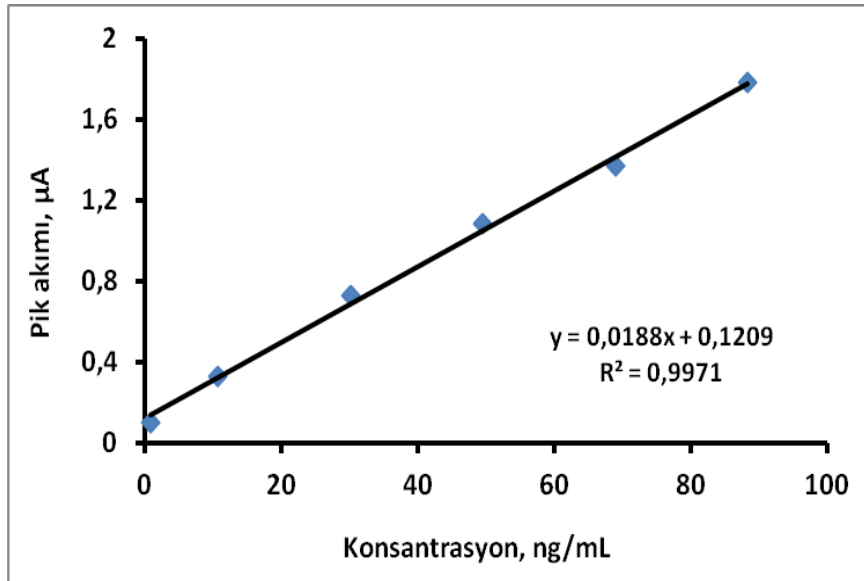
Her bir Que ilavesi için değişen çözeltili konsantrasyonları 0.96 ng mL^{-1} , 10.69 ng mL^{-1} , 30.22 ng mL^{-1} , 49.74 ng mL^{-1} , 69.24 ng mL^{-1} , 88.73 ng mL^{-1} ve $108.20 \text{ ng mL}^{-1}$ ($0.32 \times 10^{-8} \text{ M}$, $3.54 \times 10^{-8} \text{ M}$, $10.00 \times 10^{-8} \text{ M}$, $16.46 \times 10^{-8} \text{ M}$, $22.91 \times 10^{-8} \text{ M}$, $29.36 \times 10^{-8} \text{ M}$ ve $35.8 \times 10^{-8} \text{ M}$) olarak hesaplanmıştır. Bu konsantrasyon değerleri ve bu değerlere karşılık gelen pik akımlarından yararlanılarak çizilen kalibrasyon grafiği Şekil 4.44’de verilmiştir. Grafik denkleminde yararlanılarak Que ilavesiz yeşil çay numunesinden elde edilen $0.618 \text{ } \mu\text{A}$ büyüklüğündeki pik akımına karşılık gelen Que konsantrasyonu 10.72 ng mL^{-1} ($3.67 \times 10^{-8} \text{ M}$) olarak hesaplanmıştır.

4.7.8. Soğuk çayda Que tayini

25 mL balon jöje içerisine 5 mL yeşil çay konulmuş üzerine 5 mL etanol ilave edilmiş ve çözeltili SE ile 25 mL’ye tamamlanmıştır. İçerisinde 10 mL SE bulunan voltametrik hücreye hazırlanan soğuk çay çözeltilisinden $100 \text{ } \mu\text{L}$ enjekte edilmiş ve voltamogramı alınmıştır. Daha sonra hücre içerisine Şekil 4.45 açıklamalarında belirtildiği miktarlarda ardı ardına Que ilaveleri yapılmış, her bir ilaveden sonra voltamogramlar yinelenmiştir. Elde edilen voltamogramlar çakıştırılarak Şekil 4.45’de verilmiştir.



Şekil 4.45. Soğuk çay numunesinin SE içerisinde kaydedilen SWAdSV voltamogramları (a) 10 mL SE, (b) $100 \text{ } \mu\text{L}$ soğuk çay çözeltilisi ilaveli, (c) $25 \text{ } \mu\text{L}$ $1.32 \times 10^{-6} \text{ M}$ Que, (d) $25 \text{ } \mu\text{L}$ $1.32 \times 10^{-5} \text{ M}$ Que, (e) $50 \text{ } \mu\text{L}$ $1.32 \times 10^{-5} \text{ M}$ Que, (f) $50 \text{ } \mu\text{L}$ $1.32 \times 10^{-5} \text{ M}$ Que, (g) $5 \text{ } \mu\text{L}$ $1.32 \times 10^{-4} \text{ M}$ Que ve (h) $5 \text{ } \mu\text{L}$ $1.32 \times 10^{-4} \text{ M}$ Que ilaveleri sonrası SWAdSV voltamogramları. Elektrot, PGE; biriktirme süresi 150 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans, 25 Hz; adım gerilimi, 1 mV; adım potansiyeli, 50 mV



Şekil 4.46. Değişen soğuk çay konsantrasyonlarına karşı elde edilen pik akımları kullanılarak çizilen kalibrasyon grafiği

Her bir Que ilavesi için değişen çözelti konsantrasyonları 0.96 ng mL^{-1} , 10.69 ng mL^{-1} , 30.22 ng mL^{-1} , 49.5 ng mL^{-1} , 68.96 ng mL^{-1} ve 88.34 ng mL^{-1} ($0.32 \times 10^{-8} \text{ M}$, $3.54 \times 10^{-8} \text{ M}$, $10.00 \times 10^{-8} \text{ M}$, $16.39 \times 10^{-8} \text{ M}$, $22.81 \times 10^{-8} \text{ M}$ ve $29.23 \times 10^{-8} \text{ M}$) olarak hesaplanmıştır. Bu konsantrasyon değerleri ve bu değerlere karşılık gelen pik akımlarından yararlanılarak çizilen kalibrasyon grafiği Şekil 4.46'da verilmiştir. Grafik denkleminde yararlanılarak Que ilavesiz soğuk çay numunesinden elde edilen $0.341 \text{ } \mu\text{A}$ büyüklüğündeki pik akımına (b eğrisi) karşılık gelen Que konsantrasyonu 11.70 ng mL^{-1} ($3.88 \times 10^{-8} \text{ M}$) olarak hesaplanmıştır.

4.8. Yöntem Validasyonu

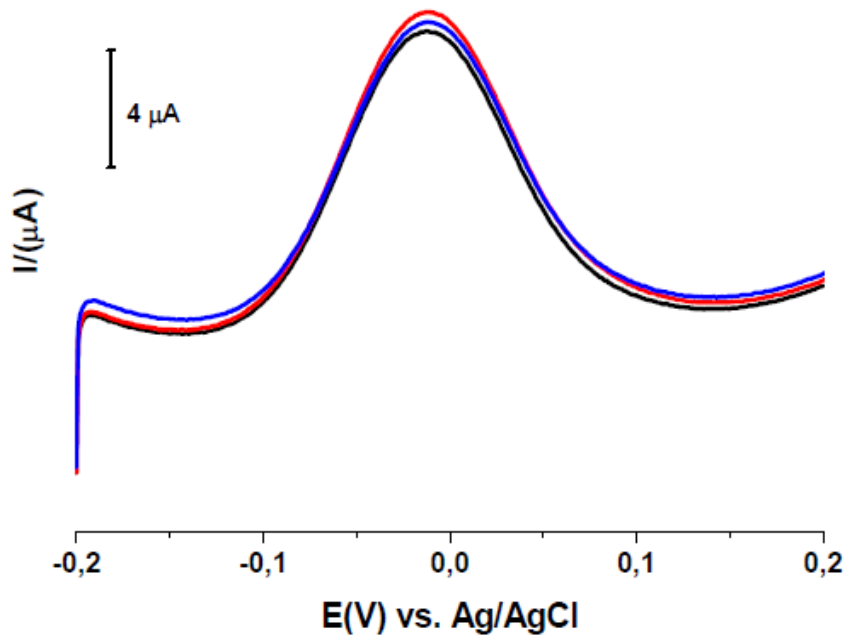
4.8.1. Doğrusallık aralığı

Farklı Que derişimleri için elde edilen pik akımlarından yararlanılarak çizilen kalibrasyon grafiğinin 9.67 ng mL^{-1} ile 411 ng mL^{-1} ($3.2 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ ile $1.36 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) aralığında doğrusal olduğu görülmektedir (Şekil 4.15). Elde edilen doğru denklemi $y = 0.054x + 2.0346$ olarak bulunmuş ve korelasyon katsayısı ise $R^2 = 0.984$ olarak hesaplanmıştır. LOD ve LOQ değerleri ise sırasıyla, 0.51 ng mL^{-1} ($1.7 \times 10^{-9} \text{ M}$) ve 1.54 ng mL^{-1} ($15.1 \times 10^{-9} \text{ M}$) olarak hesaplanmıştır. Gerçek numunelerde tayin edilen Que miktarları (pancar suyu: 2.66 ng mL^{-1} , siyah çay: 16.01 ng mL^{-1} , elma sirkesi: 6.89 ng mL^{-1} , elma suyu: 9.89 ng mL^{-1} , üzüm sirkesi:

51.1 ng mL⁻¹, vişne suyu: 13.19 ng mL⁻¹, yeşil çay:10.72 ng mL⁻¹ ve soğuk çay: 11.70 ng mL⁻¹) göz önünde bulundurulduğunda sonuçların elde edilen alt tayin sınırı ile uyduğu görülmektedir.

4.8.2. Yöntemin kesinliği

Yöntemin kesinliği, sonuçların tekrarlanabilirliğinin bir göstergesidir. Aynı şartlar altında yapılmış en az üç veya daha fazla ölçümden elde edilen sinyal ölçümlerinin yakınlığının bir derecesidir. Şekil 4.47’de PGE kullanılarak aynı analit çözeltisinde ardı ardına üç kez alınan SWAdSV voltamogramlarının çakıştırılmış görüntüleri verilmiştir. Bu voltamogramlardan elde edilen pik akımı değerlerinin neredeyse birbirine eşit olduğu görülmektedir. Kesinlik, standart sapma veya bağıl standart sapma cinsinden ifade edilir. Bu değer % 15’den küçük olması istenir ki çalışmamızda bu değer istenilen sınırların çok altında olduğu görülmüştür.



Şekil 4.47. PGE kullanılarak 5.92×10^{-7} M Que’in ardı ardına üç kez alınan SWAdSV voltamogramlarının çakıştırılmış görüntüleri

4.8.3. Yöntemin tutarlılığı

Tutarlılık, yöntemin farklı deney şartlarında (farklı gün, farklı alet, farklı analizci) tekrarlanması ile kabul edilebilir sonuçlar elde edilebilmesidir. Yapmış olduğumuz çalışmalarını farklı günlerde tekrarlamamız ve çalışmanın hem Konya Necmettin Erbakan Üniversitesi hem de Eskişehir Anadolu Üniversitesi laboratuvarlarında yapılmış olması elde edilen sonuçların

kabul edilebilir ölçüde olduğunu göstermiş ve bu da yöntemin tutarlılığının bir göstergesi olmuştur.

4.8.4. Yöntemin duyarlılığı

Bir yöntemin duyarlılığı konsantrasyondaki birim artışın sinyalde meydana getirdiği etkinin büyüklüğüyle ilgilidir. Çalışmamızdaki alt tayinin sınırının düşük olması geliştirilen yöntemin çok düşük konsantrasyon artışlarına duyarlı olduğunun bir göstergesidir.



6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çalışmamızda, doğal ürünlerde (özellikle renkli meyve ve sebzelerde) yaygın olarak bulunan, süper besin olarak nitelendirilen, antiinflamatuvar özelliği, antihistaminik özelliği ve oksidatif stresi düşürme kabiliyeti nedeniyle birçok kanser türüne, kardiyovasküler rahatsızlıklara ve yaşlanmaya karşı etkili olduğu bilinen güçlü bir antioksidan olan Que'in kantitatif tayini için yeni bir elektroanalitik yöntem geliştirilmiştir. SE olarak farklı pH değerlerinde farklı tampon çözeltiler kullanılmış ve Que'in sudaki çözünürlüğünün düşük olmasından ve ulaşılan kantitatif tayin sınırının oldukça düşük konsantrasyon değerlerinde bulunmasından dolayı % 20 EtOH içeren PBS (pH 7.1) tamponu ile çalışılmıştır. Çalışmalar sırasında kullanılan SWAdSV tekniğinin Que'in kantitatif tayininde çok etkili bir yöntem olduğu sonucuna ulaşılmıştır. SWV tekniği için optimum cihaz parametreleri $f=25$ Hz, $\Delta E_s=1$ mV ve $\Delta E_{sw}=50$ mV olarak, optimum sıyırma parametreleri ise; Biriktirme süresi = 150 s ve Biriktirme potansiyeli = 0.0 V olarak belirlenmiştir. Tüm çalışmalarda ekonomik, geniş ve aktif yüzeye sahip ve yenilenebilirliği yüksek olan PGE kullanılmış, tayinlerde maliyetli ve daha uzun analiz süresine sahip olduğu bilinen diğer modifiye edilmiş elektrotlara nispeten oldukça iyi sonuçlar elde edilmiştir. Öyle ki standart ekleme yöntemi kullanılarak 9.67 ng mL^{-1} ile 411 ng mL^{-1} ($3.2 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ ile $1.36 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) arasında çizilen kalibrasyon grafiği ile gözlenebilirlik (LOD) ve tayin sınırı (LOQ) değerleri sırasıyla, 0.51 ng mL^{-1} ($1.7 \times 10^{-9} \text{ M}$) ve 1.54 ng mL^{-1} ($15.1 \times 10^{-9} \text{ M}$) olarak belirlenmiştir.

Kaynak Araştırması bölümünde antioksidanların gerçek numunelerden tayinine dair yapılan araştırmalarda, girişim etkisinden dolayı voltametri yöntemine ilave olarak farklı analitik metotlara da ihtiyaç duyulduğu görülmektedir. Geliştirilen yöntemin en büyük avantajı, herhangi farklı bir tekniğe ihtiyaç duymadan Que'in gerçek numunelerden kalitatif ve kantitatif olarak tayin edilmesine imkan sağlamasıdır.

Literatürden de bilindiği üzere Que temel flavonoid iskelet yapısına sahip olan Rutin, Luteolin, Morin ve Flavon ile doğal numunelerde sıklıkla birlikte bulunmaktadır. Bu moleküller gerçek numunelerden Que tayininde girişim etkisi oluşturabilmektedir. Çalışmamızda geliştirilen yöntem sayesinde, hem destek elektrolit içerisinde hem de gerçek numunelerde yukarıda adı geçen moleküllerin Que ile birlikte bulunmasının Que'in kantitatif tayininde herhangi bir girişim etkisi oluşturmadıkları gösterilmiştir.

Özellikle eş zamanlı tayin ve girişim etkisi çalışmalarında dikkati çeken bir diğer husus da; bu çalışmaların daha büyük pik akımının elde edildiği 10^{-4} M konsantrasyon seviyeleri yerine

çok daha düşük ($10^{-7}M-10^{-8}M$) konsantrasyon seviyelerinde yapılmasıdır. Yüksek konsantrasyon seviyelerinde bu maddelere ait pik akımları her ne kadar büyük değere sahip olsalar da birbirlerine girişime veya birbirlerini baskılamaya sebep olmaktadır. Aksine düşük konsantrasyonlarda çalışıldığında ortamda var olan her bir madde için pik akımı potansiyelleri ve her bir maddenin pik akımlarında oluşturdukları etki rahatlıkla gözlemlenmiştir.

Geliştirilen yöntem ile pancar suyu, siyah çay, elma sirkesi, elma suyu, üzüm sirkesi, vişne suyu, yeşil çay ve soğuk çay örneklerinden Que oldukça düşük tayin sınırları ile (pancar: 2.66 ng mL^{-1} , siyah çay: 16.01 ng mL^{-1} , elma sirkesi: 6.89 ng mL^{-1} , elma suyu: 9.89 ng mL^{-1} , üzüm sirkesi: 51.1 ng mL^{-1} , vişne suyu: 13.19 ng mL^{-1} , yeşil çay: 10.72 ng mL^{-1} ve soğuk çay: 11.70 ng mL^{-1}) başarılı bir şekilde tayin edilmiştir.

Laboratuvar ortamında elde edilmiş bu başarının endüstri sahasına taşınabilmesi bilginin raflarda kalmaması ve kullanılabilirliği açısından oldukça önemlidir. Gerekli iletişimin, basit ve ekonomik aparatların sağlanmasıyla belki her çalışmada gündeme gelen bu iş birliği hayal olmaktan çıkıp uygulanabilir bir şekle dönüşecek ve sonrasında yapılacak diğer araştırmalar ve araştırmacılar için de bir heyecan oluşturacaktır.

KAYNAKLAR

- Akkuş, İ., 1995, Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, *Mimoza Yayınları*, Konya.
- Akyıldırım, O., Medetalibeyoğlu, H., Manap, S., Beytur, M., Tokalı, F.S., Yola, M.L., Atar, N., 2015, Electrochemical Sensor Based on Graphene Oxide/Iron Nanoparticles for the Analysis of Quercetin, *Electrochem. Sci.*, 10, 7743 – 7753.
- Alem N., 2007, Askorbik asidin hücre yaşlanması üzeriei etkisi, Yüksek Lisans Tezi, *Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim*, Ankara.
- Ames, B.M., Shigena, M.K. ve Hagen, T.M., 1993, Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of ageing, *Proceedings of National Academy of Sciences USA*, 90, 7915-7922.
- Banerjee, S., Mazumdar, S., 2011, Electrospray Ionization Mass Spectrometry: A Technique to Access the Information beyond the Molecular Weight of the Analyte. *Int J Anal Chem*, 2012, 3-4.
- Bard, A.J., ve Faulkner, L.R., 2001, Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications, *John Wiley and Sons*, New York.
- Barroso, M.F., Matos, C.D., Oliveira, M.B.P.P., 2012, Electrochemical evaluation of total antioxidant capacity of beverages using a purine-biosensor, *Food Chemistry*, 132, 1055-1062.
- Betteridge, D.J., 2000, What is Oxidative Stress?, *Metabolism*, 49, 3–8.
- Birman H., 2012, Bitkisel Flavonoid Bileşiklerinin Biyoaktiviteleri ve Muhtemel Etki Mekanizmaları, *İstanbul Tıp Fakültesi Dergisi*, 3, 46-49.
- Bond, A.M., 1980, Modern polarographic methods in analytical chemistry, *Marcel Dekker*, New York.
- Boots, A.W., Haenen, G.R.M.M., Bast, A., 2008, Health effects of quercetin: from antioxidant to nutraceutical, *Eur. J. Pharmacol.*, 585, 325–337.
- Brett A. M. O. ve Ghica M. E., 2003, “Electrochemical Oxidation of Quercetin” *Electroanalysis*, 15, 1745.
- Bunaciu, A.A., Danet, F.A., Fleschin, Ş., Aboul-Enein, H.Y., 2016, Recent Applications for in Vitro Antioxidant Activity Assay, *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 46:5, 389 399.
- Bursal, E., 2009, Kivi meyvesinin (*Actinidia deliciosa*) antioksidan ve antiradikal aktivitelerinin belirlenmesi, karbonik anhidraz enziminin saflaştırılması ve karakterizasyonu, Doktora Tezi, *Atatürk Üniversitesi*, Erzurum.
- Bursal, E., Köksal, E., Gülçin, İ., Bilsel, G., Gören A.C., 2013, Antioxidant activity and poyphenol content of cherry stem (*Cerasus avium L.*) determined by LC- MS/MS, *Food Research International*, 51, 66-74.

- Cao G., Prior R.L., 1999, In vivo antioxidant capacity: comparison of different analytical methods, *Free Radical Biology and Medicine*, 27, 1173-1181.
- Caton PW, Potheary MR, Lees DM, Khan NQ, Wood EG, Shoji T, Kanda T, Rull G, Corder R., 2010, Regulation of vascular endothelial function by procyanidin-rich foods and beverages *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 58, 4008–4113.
- Copeland T.R., Skogerboe R.K, 1974, Anodic stripping voltammetry, *Anal. Chem.*, 46, 205.
- Cortina-Puig M., Ayala H.G., Lacorte S., 2012, Liquid Chromatography Coupled to Electrochemical Detection and Mass Spectrometry for the Determination of Phenolic Compounds in Food and Beverages, *Current Analytical Chemistry*, 8, 436-455.
- Cortopassi, G.A. ve Wong, A., 1999, Mitochondria in Organismal Aging and Degeneration, *Biochimic et Biophysica Acta*, 183-193.
- Cos, P., Ying L., Calomme, M., Hu, J.P., Cimanga, K., Van Poel, B., Pieters, L., Vlietinck, A.J., Berghe, D.V. 1998. Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. *Journal of Natural Products*, 61: 71–76.
- Coyle, E.F., 1984, Adaptations of skeletal muscle to endurance exercise and their metabolic consequences. *The Journal of Applied Physiology*, 56, 831-838.
- Cross, C. E., Halliwell, B., Borish, E., Pryor, W., Ames, B.N. ve Saul, R., 1987, Oxygen Radicals and Human Disease, *Annals of Internal Medicine*, 107, 526- 545.
- Csupor D., Csorba A., Hohmann J., 2016, Recent advances in the analysis of flavonolignans of *Silybum marianum*, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 130, 301–317.
- Çapanoğlu E, Boyacıoğlu D. 2009. Meyve ve Sebzelelerin Flavonoid İçeriği Üzerine İşlemenin Etkisi. *Akademik Gıda* 7: 41-46.
- Çöllü, Z., 2007, *Urtica pilulifera* L. bitkisinin antioksidant aktivitesinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, *Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Samsun.
- Deaton, C.M. ve Marlin, D.J., 2003, Exercise-Associated Oxidative Stress, *Clin. Tech. Equine Pract.* 2 (3), 278-291.
- Demir Mülazımoğlu, A., Mülazımoğlu, İ. E. 2013. “Electrochemical Properties of MDA/GC Electrode and Investigation of Usability as Sensor Electrode for Determination of Que, Kae, Lut and Gal Using CV, DPV and SWV, *Food Anal. Methods*, 6:141–147.
- Demir Mülazımoğlu, A., Mülazımoğlu, İ. E. 2013. “Electrochemical Behaviors of 2-Amino-3-Hydroxypyridine onto the Glassy Carbon Sensor Electrode: Simultaneous and Independent Determinations of Quercetin, Galangin, 3-Hydroxyflavone, and Chrysin”, *Food Anal. Methods*, 6:845–853.

- Demetriades, D., Economou, A., Voulgaropoulos, A. 2004. A study of pencil-lead bismuth- film electrodes for the determination of trace metals by anodic stripping voltammetry. *Anal. Chim. Acta*, 519: 167-172.
- Devi K.S.S. ve Kumar A.S., 2015, Adsorptive detection of ethoxyquin on multi-walled carbon nanotube modified glassy carbon electrode, *J. Indian Chem. Soc.*, 92, 435-438.
- Dizdaroglu, M. ve Jaruga, P. 2012, Mechanisms of free radical-induced damage to DNA, *Free Radical Research*, 46 (4), 382-419.
- Ensafi A.A., Karbalaei S., Heydari-Bafrooei E., Rezaei B., 2016, Biosensing of naringin in marketed fruits and juices based on its interaction with DNA, *J Iran Chem Soc*, 13:19–27.
- Ercan, S., 2008, Doğumsal kalp hastalığı olan çocuklarda total oksidan ve antioksidan ile oksidatif stres indeks düzeyleri, Uzmanlık Tezi, *Harran Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Şanlıurfa*.
- Erdem, A., Ariksoysal, D. Ö., Karadeniz, H., Kara, P., Sengönül, A., Sayiner, A. A., Özsoz, M. 2005. Electrochemical genomagnetic assay for the detection of hepatitis B virus DNA in polymerase chain reaction amplicons by using disposable sensor technology., *Electrochem. Commun.*, 7: 815–820.
- Fantel, A.G., 1996, Reactive Oxygen Species in Developmental Toxicity: Review and Hypothesis, *Teratology*, 53, 96–217.
- Geisman T. A., Crout D. H. G., 1969, “Organic Chemistry of Secondary Plant Metabolism”, Freeman, *Cooper and Company*, California.
- Guillarme, D., Casetta, C., Bicchi, C., Veuthey, J.L., 2010, High throughput qualitative analysis of polyphenols in tea samples by ultra-high pressure liquid chromatography coupled to UV and mass spectrometry detectors., *J. Chromatogr. A*, 1217(44), 6882-6890.
- Gupta V.K., Yola M.L., Atar N., 2014, A novel molecular imprinted nanosensor based quartz crystal microbalance for determination of kaempferol, *Sensors and Actuators B*, 194, 79–85.
- Gutteridge, J.M.C. 1995. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage, *Clinical Chemistry*, 41/12, 1819-1828.
- Gülçin, İ., Büyükokuroğlu, M.E., Oktay, M. ve Küfrevioğlu, Ö. İ., 2003, Antioxidant and analgesic activities of turpentine of *Pinus nigra* Arn. subsp. *pallsiana* (Lamb.) Holmboe, *Journal of Ethnopharmacology*, 86 (1), 51-58.
- Günaydın, B. ve Çelebi, H., 2003, Genel anesteziğin serbest radikaller ve antioksidanlarla ilişkileri, *Anestezi Dergisi*, 11, 87-98.
- Gür, E. ve Altug, T. (2001) Antioksidanlar. Gıda Katkı Maddeleri, Ed: Altug, T., *Meta Basım*, İzmir, 17-30.

- Harvey, D.T., 2019, Interfacial electrochemical techniques, Depauw Üniversty Libratexts, [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Book%3A_Analytical_Chemistry_2.1_\(Harvey\)/11%3A_Electrochemical_Methods#:~:text=The%20simplest%20division%20of%20electrochemical,electrode%20and%20the%20solution%20in](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Book%3A_Analytical_Chemistry_2.1_(Harvey)/11%3A_Electrochemical_Methods#:~:text=The%20simplest%20division%20of%20electrochemical,electrode%20and%20the%20solution%20in) (Erişim: 04.01.2019).
- Hermes-Lima, M., Storey, J.M. ve Storey, K.B., 2001, Antioxidant Defenses and Animal Adaptation to Oxygen Availability During Environmental Stress. In: Storey K.B., Storey J.M. (Eds), Cell and Molecular Responses to Stress, *Elsevier Press*, 263-287, Amsterdam, Netherlands.
- Hoffmann E., Stroobant V. Mass Spectrometry, 2007, Mass Analysers and Mass Spectrometry. 3rd Edition, *John Wiley & Sons Ltd*, 85.
- Holloszy J.O. ve Coyle E.F., 1984, Adaptations of skeletal muscle to endurance exercise and their metabolic consequences, *The Journal of Applied Physiology*, 56, 831-838.
- İsbir A.A., 2007, Bazı dibenzo- bis- imino podandların camsı karbon ve modifiye camsı karbon elektrotta elektrokimyasal davranışlarının incelenmesi, Doktora Tezi, *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 28.
- Jungbluth, G., Ternes, W., 2000, HPLC separation of flavonols, flavones and oxidized flavonols with UV-, DAD-, electrochemical and ESI-ion trap MS detection. *Fresen. J. Anal. Chem.*, 367(7), 661-666.
- Kahkönen M.P., Hopia A.I., Vuorela H. J., Rauha J. P., Pihlaja K., Kujala T. S. Heinonen M., 1999, Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 3954-3962.
- Kalyanaraman B., 2013, Teaching the basics of redox biology to medical and graduate students: Oxidants, antioxidants and disease mechanisms, *Redox Biology*, 1, 244-57.
- Kılıç R., 2015, Mpmhc Modifiye Gc Elektrot'un Elektrokimyasal Davranışlarının Belirlenmesi Ve Cd (Iı) İyonlarına Karşı Duyarlılığının Voltametrik Olarak İncelenmesi, *Yüksek Lisans Tezi, Konya Nemettin Erbakan Üniversitesi*, Konya.
- Kılınç K. ve Kılınç A., 2002, Oksijen Toksisitesinin Aracı Molekülleri Olarak Oksijen Radikalleri, *Hacettepe Tıp Dergisi*, 33 (2), 110-118.
- Kıral M., 2012, Turnike uygulanan ortopedi hastalarında İskemi-Reprefüzyon hasarı Sonucuoluşan oksidatif hasara karşı C ve E vitamininin koruyucu etkinliğinin araştırılması, Uzmanlık Tezi, *Başkent Üniversitesi Tıp fakültesi*, Ankara.
- Kuntal M., Kakalı M., Arunava G., Haja N.A., Bishnu P.S. ve Pulok K.M., 2005, Enhancedtherapeutic benefit of quercetin–phospholipid complex in carbon tetrachloride–induced acute liver injury in rats: a comparative study, *Iranian Journal of Pharmacology Therapeutics*, 4, 84-90.

- Kuzmanović D., Stanković D.M., Manojlović D., Kalcher K., Roglić G., 2015, Baicalein –main active flavonoid from *Scutellaria baicalensis*–voltammetric sensing in human samples using boron doped diamond electrode, *Diamond & Related Materials*, 58, 35–39.
- Lavagnini I, Magno F, Seraglia R, Traldi P., 2006, Mass Analysers. Quantitative Applications of Mass Spectrometry, 1st ed., *West Sussex: Wiley*, 14.
- Lee J., Koo, N. ve Min D.B., 2004, Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 3, 21-33.
- Liang Z., Zhai H., Chen Z., Wang S., Wanga H., Wang S., 2017, A sensitive electrochemical sensor for flavonoids based on a multi-walled carbon paste electrode modified by cetyltrimethylammonium bromide-carboxylic multi-walled carbon nanotubes, *Sensors and Actuators B*, 244, 897–906.
- Liu Y., Liua J., Tang H., Liu J., Xu B., Yu F., Li Y., 2015, Fabrication of highly sensitive and selective electrochemical sensor by using optimized molecularly imprinted polymers on multi-walled carbon nanotubes for metronidazole measurement, *Sensors and Actuators*, 206, 647-652.
- Memişoğulları R., 2005, Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi, *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, 3, 30-39.
- Mercan U., 2004, Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Vet. Fak. Derg.*, 15 (1-2), 91-96.
- Min D.B. ve Boff, J.M., 2002, Chemistry and reaction of singlet oxygen in foods, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 1, 58-72.
- Miyazaki K., Matsumoto G., Yamada M., Yasui S., Kaneko H., 1999. Simultaneous voltammetric measurement of nitrite ion, dopamine, serotonin with ascorbic acid on the GRC electrode. *Electrochim Acta*, 44, 3809-3820.
- Mülazımoğlu İ.E., 2008, Camsı Karbon Elektrot Yüzeyine Çeşitli Flavonoid Türevlerinin Modifikasyonu, Yüzey Karakterizasyonu, Elektrokimyasal Ve Spektroskopik Özelliklerinin İncelenmesi, Doktora Tezi, *Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Konya, 59-66.
- Mülazımoğlu İ.E., Solak A.O., 2011, A novel apigenin modified glassy carbon sensor electrode for the determination of copper ions in soil samples, *Analytical Methods*, 3, 2534.
- Mülazımoğlu İ.E., Demir Mülazımoğlu A., 2012, “Investigation of Sensitivity Against Different Flavonoid Derivatives of Aminophenyl-Modified Glassy Carbon Sensor Electrode and Antioxidant Activities”, *Food Anal. Methods*, 5, 1419–1426.
- Mülazımoğlu İ.E. ve Yılmaz E., 2010, Quantitative determination of phenol in natural decayed leaves using procaine modified carbon paste electrode surface by cyclic voltammetry, *Desalination*, 256,64-69.

- Mülazımoğlu İ.E., 2012, Electrochemical determination of copper(II) ions at naringenin-modified glassy carbon electrode: application in lake water sample, *Desalination and Water Treatment*, 44, 161-167.
- Nagai T., Myoda T. ve Nagashima T., 2005, Antioxidative activities of water extract and ethanol extract from field horsetail (tsukushi) *Equisetum arvense*, *Food Chemistry*, 91, 389-394.
- Nelson D.L. ve Cox M.M., 2004, *Lehninger Principles of Biochemistry*, W.H. Freeman and Company, New York. USA.
- Özcan, S., 2014, Sodyum Sülbaktamın Karbon Pasta Elektrot(CPE) Yüzeyinde Elektrokimyasal Karakterizasyonu ve Diferansiyel Puls Voltametri (DPV) ile Bakır(II) İyonu Tayininde Kullanılabilirliğinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, *Karamanoğlu Mehmet Bey Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Konya.
- Özdemir N., 2006, Karbon ve metal elektrotların bazı aromatik aminlerle elektrokimyasal modifikasyonu ve karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara*, 9-16.
- Pan H., Yu H., Wang N., Zhang Z., Wan G., Liu H., Guan X., Chang D., 2015, Electrochemical DNA biosensor based on a glassy carbon electrode modified with gold nanoparticles and graphene for sensitive determination of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase, *Journal of Biotechnology*, 214, 133-138.
- Pinchuk I. ve Lichtenberg D., 2002, The mechanism of action of antioxidants against lipoprotein peroxidation, evaluation based on kinetic experiments, *Progress in lipid research*, 41, 279-314.
- Pinson J. ve Podvorica F., 2005, Attachment of organic layers to conductive or semiconductive surfaces by reduction of diazonium salt, The Royal Society of Chemistry, *Chem. Soc. Rev.*, 34, 429.
- Pulido R, Bravo L, Saura-Calixto F., 2000, Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay, *J Agr Food Chem* 48, 3396-3402.
- Ramos S., 2008, Cancer chemoprevention and chemotherapy: dietary polyphenols and signalling pathways, *Molecular Nutrition & Food Research*, 52, 507–526.
- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Paganga, G., 1997, Antioxidant properties of phenolic compounds, *Trends in Plant Science*, 2, 152-159.
- Russo M., Spagnuolo C., Tedesco I., Bilotto S., Russo G.L., , The flavonoid quercetin in disease prevention and therapy: facts and fancies, *Biochem. Pharmacol.*, 83, 6–15.
- Ryan D. ve Robards K., 1998, Phenolic compounds in olives, *Analyst*, , Vol. 123.
- Sadikovic M., Nigovic B., Juric S., Mornar A., 2014, Voltammetric determination of ropinirole in the presence of levodopa at the surface of a carbon nanotubes based electrochemical

- sensor in pharmaceuticals and human serum, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 733, 60–68.
- Scalbert A., Johnston I.T., Saltmarsh M., 2005, Polyphenols: antioxidants and beyond, *American Journal of Clinical Nutrition*, 81, 215–217.
- Sen C., 2001, Antioxidant And Redox Regulation Of Cellular Signaling: Introduction, *Medicine Science in Sports Exercise*, 33, 368–70.
- Serafini M. ve Del Rio D., 2004, Understanding the Association Between Dietary Antioxidants, Redox Status and Disease: Is the Total Antioxidant Capacity the Right Tool?, *Redox Report*, 9 (3), 145-152.
- Shahidi F., 1996, Natural antioxidants, chemistry, health effects and applications, *AOCS Press, Champaign, Illinois*, 0-935315-77-2.
- Shahrokhian S., Hosseini-Nassab N., Kamalzadeh Z., 2014, Fabrication of an electrochemical sensor based on the electrodeposition of Pt nanoparticles on multiwalled carbon nanotubes film for voltammetric determination of ceftriaxone in the presence of lidocaine, assisted by factorial-based response-surface methodology, *J Solid State Electrochem*, 18, 77–88.
- Shi Z., Tan J., Hu Y., Li G., and Xiao X., 2018, Simultaneous Determination of Antioxidants in Edible Oils Using Graphene Oxide/b-Cyclodextrin-modified Electrochemical Sensor, *Electroanalysis*, 30, 2467 – 2474.
- Sies H, Schewe T, Heiss C, Kelm M. 2005. Cocoa polyphenols and inflammatory mediators. *American Journal of Clinical Nutrition*, 81, 304–312.
- Sizer F. ve Whitney E., 1997, Nutrition: Concepts and Controversies, *West/Wadsworth*, New York.
- Skoog D. A., Holler F. J., Nieman T. A., 1998, Principles of Instrumental Analysis, *Harcourt Brace & Company*, Florida.
- Skoog D. A., West D. M. ve Holler F. J., 1996, Fundamentals of Analytical Chemistry, *Sounders Collage Publishing, Orlando*, Florida.
- Skoog ve arkadaşları, 2004, Analitik kimya temel ilkeler, 8.baskı, Prof Dr. Esmâ Kılıç-Prof Dr. Hamza Yılmaz, *Bilim yayıncılık*, Ankara, 666-667.
- Stadman, E.R., 2002, Importance of individuality in oxidative stress and aging, *Free Radical Biology ve Medicine*, 33(5), 597–604.
- Švancara I., K., Vytras Berek J. ve Zima J., 2001, Carbon Paste Electrodes in Modern Electroanalysis, *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 31(4), 311—345.
- Tesio A.Y., Robledo S.N., Granero A.M., Fernández H., Zon M.A., 2014, Simultaneous electroanalytical determination of luteolin and rutin using artificial neural networks, *Sensors and Actuators*, 203, 655-663.

- Timbola A. K., Souza C. D., Giacomelli C. ve Spinelli A., 2006, "Electrochemical Oxidation of Quercetin in Hydro-Alcoholic Solution", *J. Braz. Chem. Soc.*, 17, 139.
- Tolga A., 2020, Quercetin nedir ve sağlığa faydaları nelerdir?, <https://www.aysetolga.com/quercetin-kuersetin-nedir-sagliga-faydalari-nelerdir>, [Ziyaret Tarihi: 16/05/2020].
- Turan Ş., 2008, Ordinazol'un elektrokimyasal davranışı ve adsorptif sıyırma yöntemleriyle tayini, Yüksek Lisans Tezi, *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 4-13.
- Tyszczyk-Rotko K., Wójciak-Kosior M., Sowa I., 2013, Voltammetric determination of betulinic acid at lead film electrode after chromatographic separation in plant material, *Anal. Biochem.*, 436, 121–126.
- Ulubay Karabiberoglu Ş., Dursun Z., 2018, Fabrication of nickel coated graphene oxide composite electrode for sensitive determination of Rutin, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 815 (2018) 76–85.
- Üstündağ Z., 2008, Katyonlarda duyarlı modifiye elektrotların hazırlanması ve karakterizasyonu, Doktora Tezi, *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 24 57.
- Wang J., 2000, Analytical Electrochemistry, Second Ed., *John Wiley & Sons., Inc.*, New York.
- Wang J., Kawde A.N., Sahlin E. 2000, Renewable pencil electrodes for highly sensitive stripping potentiometric measurements of DNA and RNA, *Analyst*, 125, 5-7.
- Wang Y., Xie J., Tao L., Tian H., Wang S., Ding H., 2015, Simultaneous electrochemical determination of epirubicin and methotrexate in human blood using a disposable electrode modified with nano-Au/MWNTs-ZnO composites, *Sensors and Actuators*, 204, 360-367.
- Williams R.J., Spencer JPE, Rice-Evans C, 2004, Flavonoids: antioxidants or signaling molecules? *Free Radical Biology and Medicine*, 36, 838–849.
- Wong A., Scontri M., Materon E.M., Lanza M.R.V., Sotomayor M.D.P.T., 2015, Development and application of an electrochemical sensor modified with multi-walled carbon nanotubes and graphene oxide for the sensitive and selective detection of tetracycline, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 757, 250-257.
- Yalçın G., 1999, Kromatografik Analizin Temel İlkeleri ve Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi Uygulamaları, İstanbul, 79.
- Yalçın G., 2007, Bazı kimyasal maddelerin DNA ile etkileşmesinin biyosensörler ile algılanması, Yüksek Lisans Tezi, *Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, İzmir, 14 17.
- Yıldız, L. 2007. Bazı Bitki Örneklerinde Antioksidan Kapasitenin Spektrofotometrik ve Kromatografik Tayini, Yüksek Lisans Tezi, *İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul.

- Yılmaz S., 2012, Uygulama Örnekleriyle Elektroanalitik Kimya, 2.cilt, *Kriter Yayınları, İstanbul*, 235-261.
- Yoshino M., Murakami K., 1998, Interaction of iron with polyphenolic compounds: application to antioxidant characterization, *Anal Biochem*, 257, 40-44.
- Zettersten C., Co M., Wende S., Turner C., Nyholm L., Sjoberg, J. R., 2009, Identification and Characterization of Polyphenolic Antioxidants Using On-Line Liquid Chromatography, Electrochemistry, and Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry, *Anal. Chem.*, 81, 8968–8977.
- Zhai H., Liang Z., Chen Z., Wang H., Liu Z., Zihao Su Z., Qing Zhou Q., 2015, Simultaneous detection of metronidazole and chloramphenicol by differential pulse stripping voltammetry using a silver nanoparticles/ sulfonate functionalized graphene modified glassy carbon electrode, *Electrochimica Acta*, 171, 105-113.
- Zhang X., Wei Y., Ding Y., 2014, Electrocatalytic oxidation and voltammetric determination of ciprofloxacin employing poly(alizarin red)/graphene composite film in the presence of ascorbic acid, uric acid and dopamine, *Analytica Chim. Acta*, 835, 29-36.
- Zenkevich I. G., Eshchenko A. Y., Makarova S. V., Vitenberg A. G., Dobryakov Y. G. and Utsal V. A., 2007, “Identification of the Products of Oxidation of Quercetin by Air Oxygen at Ambient Temperature”, *Molecules*, 12, 654.

ÖZGEÇMİŞ**KİŞİSEL BİLGİLER**

Adı Soyadı : Nagihan DURMUŞ
Uyruğu : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi : Bursa, 09.06.1981
Telefon :
Faks :
e-mail : nagehandurmus@gmail.com

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	: Çelebi Mehmet Süper Lisesi/ Osmangazi/ BURSA	1998
Üniversite	: Esk. Osmangazi Üniv./ Odunpazarı/ ESKİŞEHİR	2003
Yüksek Lisans	: Necmettin Erbakan Üniv./ Meram/ KONYA	2016
Doktora	: Necmettin Erbakan Üniv./ Meram/ KONYA	-

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2011-2016	Özel Eğitim Kurumları	Kimya Öğretmeni

YABANCI DİLLER

İngilizce
Almanca

YAYINLAR

1. **Nagihan Durmuş**, Ecir Yılmaz, Ayşen Demir Mülazımoğlu, Bedrettin Mercimek, Alaaddin Çukurovalı, İbrahim Yılmaz, Ali Osman Solak and İbrahim Ender Mülazımoğlu, 2018, “A novel highly sensitive carbon based HMPD/GC sensor electrode: copper ions analysis in flour and water samples”, *Desalination and Water Treatment*, 112, 34-41.
2. **Durmuş N.**, Mülazımoğlu İ.E., 2018, Simultaneous Detection of Antioxidants Using HPNPC Modified GC Electrode in Different Electrolyte Environments with using Differential Pulse and Different Technique, 9th National Analytical Chemistry Congress, Konya, Turkey.
3. **Durmuş N.**, Mülazımoğlu İ.E., 2018, Availability of Quercetin by Using GC / HPNPC Modified Electrode and Differential Pulse Technique, 9th National Analytical Chemistry Congress, Konya, Turkey.
4. **Durmuş N.**, Mülazımoğlu İ.E., 2018, Determination of Quercetin using Pen Graphite Electrode and Square Wave Voltammetry Technique Changing Gradients in Different Support Electrolytes Effect, 9th National Analytical Chemistry Congress, Konya, Turkey.
5. Demir Mülazımoğlu A., Yılmaz E., **Durmuş N.**, Mülazımoğlu İ.E, Mercimek B., Simultaneous Determination of Quercetin, Kaemferol, Luteolin and Krisin in Different Support Electrolyte Environments Using a Pen Graphite Electrode, TAC 2018 5 th Trace Analysis Congress 20-23 June 2018, Cumhuriyet University-Faculty of Pharmacy Sivas-Turkey.
6. **Durmuş N.**, Yılmaz İ., Mülazımoğlu İ.E, Demir Mülazımoğlu A.,2017, Development of a novel highly sensitive voltammetric sensor electrode a TKAN modified based carbonaceous materials for dopamine measurement, International Conference on Sustainable Solid Waste Management, Athens.
7. **Durmuş N.**, Mercimek B., Demir Mülazımoğlu A., Yılmaz E., Yılmaz İ., Mülazımoğlu İ. E.,2017, A Voltammetric Sensor Electrode A CTMAN Modified Based Carbonaceous Materials: Preparation, Characterization And Detection Of Stability, ASTECH, Spain.
8. **Durmuş N.**, Mercimek B., Demir Mülazımoğlu A., Mülazımoğlu İ. E., 2017, A Voltammetric Technique Using A Graphite Pencil Electrode For The Determination Of Aclonifen, ASTECH, Spain.

9. **Durmuş N.**, Demir Mülazımoğlu A., Yılmaz E., Mercimek B., Yılmaz İ., Mülazımoğlu İ. E., 2017, Electrochemical Properties Highly Sensitive Schiff Base Based Carbonaceous Sensor Electrode: Heavy Metal Analysis, ASTECH, Spain.
10. **N. Durmus**, A. Demir Mülazımoğlu, I. E. Mülazımoğlu, 2017, A novel highly sensitive carbon based HMPD/GC sensor electrode: Cu (II) ions analysis in flour and drinking water samples, 5th International Conference on Sustainable Solid Waste Management, Athens.
11. Demir Mülazımoğlu A., **Durmuş N.**, Sağır S., Mülazımoğlu İ.E., 2017, Electrochemical behaviours of Aclonifen on GC electrode in nonaqueous media: Investigation of Aclonifen determination, 5th International Conference on Sustainable Solid Waste Management, Athens.
12. **Durmuş N.**, Mercimek B., Demir Mülazımoğlu A., Demir Mülazımoğlu A., 2017, Investigation of Spectroelectrochemical Behaviours of 3-HF, 6-HF and 3,6-DHF using Modified Carbonaceous Electrodes, ANCON International Congress On Chemistry And Materials Science, Ankara, Turkey.
13. **Durmuş N.**, Mercimek B., Yılmaz E., Mülazımoğlu İ.E., Demir Mülazımoğlu A., 2017, Development Of A New Carbonaceous Sensor Electrode For Determination Of Quercetin, ICAS.
14. **Durmuş N.**, Mercimek B., Demir Mülazımoğlu A., Mülazımoğlu İ. E., Yılmaz E., 2016 Quantitative Determination of Copper (II) Ions Using HMPD / GC Sensor Electrode by DPV in Samples of Flour and Water, 9th National Analytical Chemistry Congress, Isparta, Turkey