



**T.C.**  
**NECMETTİN ERBAKAN**  
**ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**ÜRENİN KANTİTATİF TAYİNİ İÇİN**  
**KARBONSU SENSÖR ELEKTROT**  
**GELİŞTİRİLMESİ**

**Abdullah ALTAY**

**DOKTORA TEZİ**

**Kimya Anabilim Dalı**

**Ocak - 2021**  
**KONYA**  
**Her Hakkı Saklıdır**

## TEZ KABUL VE ONAYI

**Abdullah ALTAY** tarafından hazırlanan “**Ürenin Kantitatif Tayini İçin Karbonsu Sensör Geliştirilmesi**” adlı tez çalışması 19/01/2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından **oy birliği** / oy çokluğu ile Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

### Jüri Üyeleri

### İmza

#### Başkan

Prof. Dr. Semahat KÜÇÜKKOLBAŞI

.....

#### Danışman

Prof. Dr. Ecir YILMAZ

.....

#### Üye

Prof. Dr. Bedrettin MERCİMEK

.....

#### Üye

Prof. Dr. İbrahim Ender MÜLAZIMOĞLU

.....

#### Üye

Dr. Öğr. Üyesi Fatih DURMAZ

.....

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. S. Savaş DURDURAN  
FBE Müdürü

Bu tez çalışması Tarım ve Orman Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü tarafından TAGEM/HSGYAD/A/17/A3/P1/723 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.

Abdullah ALTAY

...../...../2021

# ÖZET

## DOKTORA TEZİ

### ÜRENİN KANTİTATİF TAYİNİ İÇİN KARBONSU SENSÖR ELEKTROT GELİŞTİRİLMESİ

Abdullah ALTAY

Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü  
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ecir YILMAZ

2021, 84 Sayfa

Jüri

Prof. Dr. Ecir YILMAZ

Prof. Dr. Bedrettin MERCİMEK

Prof. Dr. Semahat KÜÇÜKKOLBAŞI

Prof. Dr. İbrahim Ender MÜLAZIMOĞLU

Dr. Öğr. Üyesi Fatih DURMAZ

Doktora Tezi olarak yapılan bu çalışmada, 4-NA olarak kısaltılan 4 nitroanilin molekülü kullanılarak camsı karbon (GC) elektrot yüzeyi dönüşümlü voltametri (CV) tekniği ile modifiye edilmiş, molekülün elektrokimyasal davranışları ve özellikleri aydınlatılmıştır. Çalışmanın esas amacı olan doğal numunelerde ürenin kantitatif tayinleri için ise 4-NA modifiye GC elektrot bir sensör elektrot olarak kullanılmış ve Kare Dalga Adsorptif Sıyırma Voltametrisi (SWAdsSV) tekniği kullanılarak ürenin süt numunesinde tayini yapılmıştır.

Modifiye elektrotların yüzey karakterizasyonları, susuz ortamda asetonitrilde çözülmüş 100 mM NBu<sub>4</sub>BF<sub>4</sub> destek elektroliti içerisinde hazırlanan 1.00 mM ferrosen (fcn) çözeltisi ile pozitif tarama yapılarak, sulu ortamda ise 10.0 mM H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>'de hazırlanmış 1.00 mM ferrisiyanür (HCF) çözeltisi ile negatif tarama yapılarak test edilmiştir. Ayrıca, yüzey karakterizasyon işlemlerinde 10.0 mM KCl içerisinde hazırlanan 1.00 mM Fe(CN)<sub>6</sub><sup>3-/4-</sup> redoks prob karışımı kullanılarak Elektrokimyasal İmpedans Spektroskopisi (EIS) tekniğinde kullanılmıştır.

Çalışmada, SWAdsSV tekniği kullanılarak yapılan elektroanalitik ölçümler ile 1.00x10<sup>-12</sup> M seviyelerine kadar inilmiştir. Ayrıca bu veriler ikinci bir metot olan HPLC tekniği ile kıyaslanmıştır. Metotlar arası uygunluğu test etmek için t ve F testleri yapılmış olup, istatistiksel olarak iki metot arasında bir fark bulunmamıştır.

**Anahtar Kelimeler:** HPLC, Üre, Voltametri, Yüzey Karakterizasyonu, Yüzey Modifikasyonu

## ABSTRACT

### Ph.D THESIS

## DEVELOPMENT OF CARBON SENSOR ELECTRODE FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF UREA

Abdullah ALTAY

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

Advisor: Prof. Dr. Ecir YILMAZ

2021, 84 Pages

Jury

Prof. Dr. Ecir YILMAZ

Prof. Dr. Bedrettin MERCİMEK

Prof. Dr. Semahat KÜÇÜKKOLBAŞI

Prof. Dr. İbrahim Ender MÜLAZIMOĞLU

Assist. Prof. Dr. Fatih DURMAZ

In this study, which was conducted as a doctoral thesis, by using 4 nitroaniline molecule, abbreviated as 4-NA, the glassy carbon (GC) electrode surface was modified with alternating voltammetry (CV) technique, and the electrochemical behavior and properties of the molecule were illuminated. For the quantitative determination of urea in natural samples, which is the main purpose of the study, the 4-NA modified GC electrode was used as a sensor electrode and the determination of urea in the milk sample was made using the Square Wave Adsorptive Stripping Voltammetry (SWAdsSV) technique.

Surface characterizations of the modified electrodes were tested by positive screening with 1.00 mM ferrocene (fcn) solution prepared in 100 mM  $\text{NBu}_4\text{BF}_4$  support electrolyte dissolved in acetonitrile in anhydrous environment, and negative scanning with 1.00 mM ferricyanide (HCF) solution prepared in 10.0 mM  $\text{H}_2\text{SO}_4$  in aqueous environment. . In addition, Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS) technique was used in surface characterization processes using 1.00 mM  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$  redox probe mixture prepared in 10.0 mM KCl.

In the study, electroanalytical measurements using the SWAdsSV technique were used to reach levels of  $1.00 \times 10^{-12}$  M. In addition, these data were compared with a second method, HPLC technique. T and F tests were carried out to test the compatibility between methods, and statistically there was no difference between the two methods.

**Keywords:** HPLC, Urea, Voltammetry, Surface characterization, Surface modification

## ÖNSÖZ

Öncelikle beni yetiştiren ve halen varlıklarını arkamda hissettiğim anne ve babama teşekkür eder ve onlar için dua ederim.

Doktora tez çalışmamda, değerli öngörülleri ve isabetli yorumlarıyla kendisinden çok şey öğrendiğim, bilgisini hiçbir zaman esirgemeyen, danışmanım Necmettin Erbakan Üniversitesi, Ahmet Keleşoğlu Eğitim Fakültesi, Kimya Eğitimi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Ecir YILMAZ'a rehberliğinden ve sabrından dolayı sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam boyunca desteklerini esirgemeyen değerli Prof. Dr. Bedrettin MERCİMEK hocama çok teşekkür ederim.

Tüm tez izleme toplantılarımda yaptığı yönlendirmeleri ile tezimin tamamlanmasında büyük rol oynayan saygıdeğer Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Semahat KÜÇÜKKOLBAŞI hocama teşekkür ederim.

Tez çalışmamda her konuda desteğini esirgemeyen, ihtiyaç duyduğum her türlü imkanı sağlayan, olumsuz anlarda her zaman cesaret ve ümit veren, elektrokimya çalışmalarına beni alıştıran kıymetli hocam Prof. Dr. İbrahim Ender MÜLAZIMOĞLU'na sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmam boyunca her daim kapısının açık olduğunu hissettiren Prof. Dr. Ayşen Demir MÜLAZIMOĞLU hocama teşekkürü bir borç bilirim.

Laboratuvar ortamında beraber çalıştığımız başta Nagihan DURMUŞ olmak üzere tüm arkadaşlara teşekkür ederim.

Çalışmamda kromatografik ve istatistiksel kısımlarda emeği bulunan iş arkadaşlarım Katkı Bölüm Şefi Müh.Ersel YEŞİL ve Yüksek Müh.Bekir Sami KUNDURACI beylere teşekkür ederim.

Hayatımı birleştirdikten sonra bugünkü Abdullah'ın ortaya çıkmasında rol oynayan, bana yaşantımın her alanında hak-hukuk davasında cesaret veren ve her koşulda bana ahiretimi hatırlatan *Eşime* sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

*İyi ki varsınız, iyi ki benim hayatımdasınız...*

Abdullah ALTAY  
KONYA-2021

# İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	iv
ABSTRACT .....	v
ÖNSÖZ .....	vi
İÇİNDEKİLER .....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	x
<b>1. GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
1.1. Üre.....	3
1.1.1. Ürenin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri .....	4
1.1.2. Ürenin Fizyolojik Önemi.....	4
1.1.3. Ürenin Sentezi.....	5
1.1.4. Ürenin Kullanım Alanları.....	5
1.1.5. Üre Tayin Metotları.....	5
1.1.6. Üre Tayininde Spesifik Metotlar .....	6
1.1.6.1. Direkt Yöntemler .....	6
1.1.6.2. İndirekt yöntemler.....	6
1.2. Elektrokimya.....	7
1.2.1. Kütle Aktarım Türleri.....	9
1.2.1.1. Difüzyon .....	9
1.2.1.2. Göç (Migrasyon).....	9
1.2.1.3. Karıştırma (Konveksiyon).....	10
1.3. Elektrokimyasal Teknikler.....	10
1.3.1. Voltametri.....	11
1.3.2. Dönüşümlü voltametri (CV) .....	13
1.3.2.1. Tersinir Reaksiyonlar .....	15
1.3.2.2. Tersinmez Reaksiyonlar .....	17
1.3.2.3. CV tekniği ile adsorpsiyonun belirlenmesi .....	19
1.3.2.4. Dönüşümlü Voltametri tekniği ile elektron mekanizmasının belirlenmesi .....	19
1.3.3. Diferansiyel puls voltametri (DPV) .....	20
1.3.4. Kare dalga voltametri (SWV) .....	21
1.3.5. Sabit potansiyelli elektroliz (Bulk elektroliz, BE).....	22
1.3.6. Sıyırma voltametri (SV).....	23
1.3.6.1. Anodik sıyırma voltametri (ASV) .....	23
1.3.6.2. Katodik sıyırma voltametri (KSV) .....	24
1.3.6.3. Adsorptif sıyırma voltametri (AdSV).....	24
1.4. Voltametik Cihazlar .....	25
1.5. Voltametricte Kullanılan Destek Elektrolit ve Çözücüler.....	26
1.5.1. Elektrolitler .....	26
1.5.1.1. Sulu Elektrolit Çözeltileri.....	28
1.5.1.2. Susuz Elektrolit Çözeltileri.....	28
1.6. Elektrokimyada Kullanılan Elektrotlar .....	30
1.6.1. Çalışma Elektrotu.....	30
1.6.2. Referans Elektrotu.....	31

1.6.3.	Karşıt Elektrot.....	32
1.6.4.	Modifiye Elektrotlar.....	32
1.7.	Modifikasyon Metotları.....	34
1.7.1.	Alkol Oksidasyonu Modifikasyonu .....	34
1.7.2.	Amin Oksidasyonu Modifikasyonu .....	34
1.7.3.	Diazonyum tuzu indirgenmesi modifikasyonu .....	35
1.8.	Modifiye Yüzeylerin Karakterizasyonu .....	36
1.8.1.	Elektrokimyasal Yöntemler .....	36
1.8.2.	Spektroskopik Yöntemler .....	37
1.8.3.	Mikroskopik Yöntemler .....	38
1.8.3.1.	Taramalı Elektron Mikroskopisi ( SEM) .....	38
1.8.3.2.	Atomik Kuvvet Mikroskopisi (AFM) .....	39
<b>2.</b>	<b>KAYNAK ARAŞTIRMASI.....</b>	<b>40</b>
<b>3.</b>	<b>MATERYAL VE YÖNTEM .....</b>	<b>48</b>
3.1.	Elektrokimyasal Çalışmalar.....	48
3.1.1.	Kullanılan Cihaz ve Kimyasallar .....	48
3.1.2.	Stok çözeltilerin hazırlanması.....	49
3.1.2.1.	Britton-Robinson (BR) tampon çözeltisinin hazırlanması .....	49
3.1.2.2.	Fosfat tampon çözeltisinin (PBS) hazırlanması.....	49
3.1.3.	Yapılan Çalışmalar İçin Hazırlanan Çözeltiler ve Hazırlanma Şartları ....	50
3.1.4.	Çalışma Elektrotlarının Temizlenmesi ve Parlatılması.....	50
3.1.5.	Çalışmalarda Kullanılan Elektrotların Kalibrasyonu .....	51
3.1.6.	Deneylerde Kullanılan Elektrokimyasal Teknikler.....	52
3.1.6.1.	Dönüşümlü Voltametri Deneyleri .....	52
3.1.6.2.	Diferansiyel puls voltametri deneyleri .....	52
3.1.6.3.	Kare dalga voltametri deneyleri.....	52
3.1.7.	Modifiye GC/AP Elektrotun Optimum Hazırlanma Koşullarının Belirlenmesi .....	53
3.1.7.1.	GC/NP Elektrot İçin Modifikasyon Potansiyel Aralığının Belirlenmesi.....	53
3.1.7.2.	GC/NP Elektrotun Dönüşümlü Voltametri (CV) İle Hazırlanması ...	53
3.1.7.3.	GC/NP Elektrotun Dönüşümlü Voltametri (CV) İle Hazırlanmasında Döngü Sayısının Belirlenmesi.....	53
3.1.7.4.	GC/NP Yüzeyinin Dönüşümlü Voltametri (CV) İle Elektrokimyasal İndirgemesi.....	54
3.1.8.	Elektrotların Yüzey Karakterizasyonlarının İncelenmesi .....	54
3.1.8.1.	Dönüşümlü Voltametri (CV) .....	54
3.1.8.2.	Elektrokimyasal İmpedans Spektroskopisi (EIS) .....	54
3.1.9.	Modifiyeli Elektrotun Optimum Çalışma Koşullarının Belirlenmesi .....	54
3.1.9.1.	pH.....	55
3.1.9.2.	Modifiye Madde Miktarı .....	55
3.1.9.3.	Biriktirme Potansiyeli.....	55
3.1.9.4.	Biriktirme Süresi .....	55
3.1.10.	Modifiye Elektrotun Performans Faktörlerinin Belirlenmesi .....	55
3.1.10.1.	Doğrusal Çalışma Aralığı ve Gözlenebilme Sınırı.....	56
3.1.11.	Gerçek numune çözeltilerinin temini ve hazırlanması .....	56
3.2.	Kromatografik Çalışmalar .....	56
3.2.1.	Kullanılan Cihaz ve Kimyasallar .....	56

3.2.2.	Kullanılan Çözeltiler .....	57
3.2.2.1.	Üre Standart Çözeltileri.....	57
3.2.2.2.	Asit Karışımı.....	57
3.2.2.3.	Diasetilmonoksim (DAM) Çözeltisi .....	57
3.2.2.4.	Mobil Faz Çözeltisi.....	57
3.2.3.	Örneklerin Hazırlanması .....	58
3.2.3.1.	Süt Örneklerinin Toplanması.....	58
3.2.3.2.	Örneklerin Ekstraksiyonu .....	58
3.2.4.	Ürenin Foto Diyot Dizi Dedektör (DAD) Donanımlı HPLC ile Analizi ..	59
3.3.	Sonuçların İstatiksel Olarak Değerlendirilmesi .....	59
<b>4.</b>	<b>ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA .....</b>	<b>60</b>
4.1.	Elektroanalitik Çalışmalar.....	60
4.1.1.	4-NA Molekülünün GC Elektrot Yüzeyine Modifikasyonu .....	61
4.1.2.	4-NA Molekülünün GC Elektrot Yüzeyine Bağlanma ve İndirgenme Mekanizması .....	63
4.1.3.	Karakterizasyon Çalışmaları.....	64
4.1.3.1.	CV ile Ferrosen Redoks Prob Ortamında Karakterizasyon Çalışmaları	64
4.1.3.2.	CV ile HCF(III) Redoks Prob Ortamında Karakterizasyon Çalışmaları	66
4.1.3.3.	EIS ile HCF(II/III) Redoks Prob Ortamında Karakterizasyon Çalışmaları .....	69
4.1.4.	Optimizasyon Çalışmaları .....	71
4.1.4.1.	Kantitatif Amaçlı Kullanılacak Voltametrik Tekniğin Belirlenmesi .....	71
4.1.4.3.	pH.....	72
4.1.4.4.	Modifiye Madde Miktarı .....	73
4.1.4.5.	Biriktirme Potansiyeli.....	73
4.1.4.6.	Biriktirme Süresi .....	74
4.1.5.	Analitik Uygulamalar ve Performans Faktörlerinin Belirlenmesi.....	74
4.1.5.1.	Farklı Konsantrasyonlarda Standart Üre Çözeltilerinin GC/AP Elektrot Yüzeyinde SWAdsSV ile Tayini ve Kalibrasyon Grafiğinin Çizilmesi .....	75
4.1.5.2.	Doğrusal Çalışma Aralığı ve Duyarlık .....	77
4.1.5.3.	Gözlenebilme Sınırı ve Alt Tayin Sınırı.....	77
4.1.5.3.	Süt Örneklerinde SWAdsSV tekniği ile Üre Tayininin Yapılması.....	78
4.2.	Kromatografik Çalışmalar .....	79
4.2.1.	Süt Örneklerinde HPLC ile Üre Tayininin Yapılması .....	79
4.3.	Sonuçların İstatiksel Olarak Değerlendirilmesi .....	82
<b>5.</b>	<b>SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....</b>	<b>83</b>
<b>6.</b>	<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>85</b>

## SİMGELER VE KISALTMALAR

Å	Angström
AST	Aspartat aminotransferaz
A	Karşıt elektrot
AA	Askorbik asit
AC	Alternatif akım
Au	Altın
AgCl	Gümüş klorür
ASV	Anodik sıyırma voltametri
AdSV	Adsorptif sıyırma voltametri
AA	Askorbik asit
AdSDPV	Adsorptif sıyırma diferansiyel puls voltametri
SWAdsSV	Kare dalga adsorptif sıyırma voltametri
BR	Britton Robinson tampon çözeltisi
C	Karbon
°C	Santigrat
CV	Dönüşümlü Voltametri
CA	Kronoamperometri
CC	Kronokulometri
Cd (II)	Kadmiyum II
CE	Kimyasal - Elektrokimyasal basamak
Cy	Y türü konsantrasyonu
Co (II)	Kobalt II
CSE	Bakır-Bakır II Sülfat Elektrot
CSV	Katodik Sıyırma Voltametri
CNT	Karbon nanotüp elektrot
CPE	Karbon pasta elektrot
CH <sub>3</sub> COOH	Asetik Asit
DME	Cıva damla elektrot
DE	Destek Elettrolit
DAS	Diazonyum tuzu
Dk	Difüzyon katsayısı
ΔE <sub>p</sub>	Potansiyel farkı
E	Potansiyometre
e <sup>-</sup>	Elektron
EIS	Elektrokimyasal impedans spektroskopisi
EQCM	Elektrokimyasal kuarz kristal mikrobals
Ebaş	Başlangıç potansiyeli
Ebitiş	Bitiş potansiyeli
E <sub>pk</sub>	Katodik Pik potansiyeli
E <sub>pa</sub>	Anodik pik potansiyeli
EC	Elektrokimyasal- Kimyasal basamak
ECE	Elektrokimyasal- Kimyasal - Elektrokimyasal basamak
FCN	Ferrosen
F	Faraday sabiti
HBf <sub>4</sub>	Tetrofloroborik asit
HMDE	Asılı cıva damla elektrot
Hg	Cıva

HCF	Ferrisiyanür
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Sülfürük asit
HAC – NaAc	Asetat tamponu
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	Borik asit
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	Fosforik asit
ISFFT	İyon seçici alan etkili transistör
ICP-OES	İndüktif eşleşmiş plazma-optik emisyon spektrometresi
Ip	Pik Akımı
I	Ampermetre
K	Denge sabiti
KCl	Potasyum korür
K <sub>3</sub> Fe(CN) <sub>6</sub>	Potasyum Ferri siyanür
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Potasyum dihidrojen fosfat
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	Potasyum bifosfat
kΩ	Kilo ohm
LOD	Alt tayin sınırı
LSV	Doğrusal Taramalı Voltometri
mV	mili Volt
M	Molorite
ms	Milisaniye
mA	miliAmper
mg	Miligram
µm	Mikrometre
n	Mol sayısı
NaOH	Sodyum Hidroksit
N	Azot
O	Oksijen
Pt	Platin
pM	Pikomolar
PGE	Kalem grofit elektrot
PBS	Fosfat tamponu çözeltisi
RHE	Tersinir hidrojen elektrot
R	İdeal gaz sabiti
RE	Referans elektrot
SHE	Standart hidrojen elektrot
SCE	Doymuş Kalomel elektrot
SWV	Kare Dalga Voltametrisi
SEM	Taramalı Elektron Mikroskopisi
T	Mutlak Sıcaklık
UME	Ultra mikro elektrot
UA	Ürik Asit
v <sup>1/2</sup>	Tarama hızı karekökü
v	Tarama hızı
WE	Çalışma elektrotu

## ŞEKİL VE ÇİZELGELER DİZİNİ

Şekil	Açıklama	Sayfa
Şekil 1.1	Üre bileşiğinin açık yapısı	3
Şekil 1.2	Genel elektrokimyasal hücre şeması	8
Şekil 1.3	Elektroanalitik tekniklerin sınıflandırma şeması	11
Şekil 1.4	Voltametri de kullanılan uyarma sinyalleri	12
Şekil 1.5	Dönüşümlü voltametri de potansiyel-zaman ve tarama sonucunda elde edilen potansiyel-akım eğrileri (voltamogram)	13
Şekil 1.6	A) Analog cihazlarda diferansiyel puls voltametrisi için kullanılan uyarma sinyali B) Diferansiyel puls voltametrisine ait bir voltamogram	21
Şekil 1.7	Kare dalga voltametri de puls tipi uyarma sinyalinin dalga şekli	22
Şekil 1.8	Anodik sıyırma voltametrisinde a. Potansiyel - zaman dalga şekli b. Uygulanan potansiyel neticesinde elde edilen voltamogramlar (Wang 2000)	24
Şekil 1.9	Voltametri için potansiyostat	25
Şekil 1.10	Grafitin tabaka yapısı	33
Şekil 1.11	Alkol oksidasyonu yöntemi ile elde edilen yüzey	34
Şekil 1.12	Amin oksidasyonu yöntemi ile elde edilen yüzey	35
Şekil 1.13	Diazonyum tuzu indirgenmesi ile elde edilen yüzey	35
Şekil 1.14	Yüzey spektrometrinin genel şeması	38
Şekil 2.1	PPy kaplı platin elektrotlar kullanılarak üre tespiti için muhtemel mekanizma	45
Şekil 2.2	Diasetilmonoksim ile ürenin reaksiyonu sonucu oluşan renkli bileşik	46
Şekil 2.3	Üre diasetil monoksim reaksiyon ürününün dönüşümlü voltametri davranışından sorumlu olduğu düşünülen, farklı kimyasal reaksiyonlarla birleştirilmiş elektron transfer reaksiyonları için muhtemel mekanizma	46
Şekil 3.1	Çıplak GC yüzeyi için testler. a) ferrosen testi, -0.20/+0.40 V potansiyel aralığında ve 100 mV s <sup>-1</sup> tarama hızında, b) HCF (III) testi, +0.60/0.00 V potansiyel aralığında ve 100 mV s <sup>-1</sup> tarama hızında	50
Şekil 4.1	Çalışmada kullanılan 4-nitroanilin molekülünün yapısı	55
Şekil 4.2	4-nitroanilin molekülünün GC elektrot yüzeyine CV tekniği kullanılarak alınan modifikasyon aralık belirleme voltamogramı. (0.00/+3.00 V potansiyel aralığında, tek döngülü ve 100 mV s <sup>-1</sup> tarama hızında)	56
Şekil 4.3	4-nitroanilin molekülünün GC elektrot yüzeyine CV tekniği kullanılarak alınan modifikasyon voltamogramı. +0.60/+1.30 V potansiyel aralığında, 30 döngülü ve 100 mV s <sup>-1</sup> tarama hızında	57
Şekil 4.4	GC/NP yüzeyindeki -NO <sub>2</sub> gruplarının -NH <sub>2</sub> gruplarına 0.10 M HCl ortamında indirgenme CV voltamogramı	58
Şekil 4.5	4-nitroanilin molekülünün GC yüzeye bağlanması ve GC/NP yüzeyindeki nitro grubunun, asidik ortamda amin gruplarına indirgenmesi ile oluşan GC/AP yüzey oluşumunun şematik gösterimi	59
Şekil 4.6	GC yüzeyine 4-nitroanilin modifikasyonu sonrası CV kullanılarak alınan ferrosen voltamogramı, modifiye elektrodun indirgenmesi sonrası alınan ferrosen ve çıplak GC yüzeyi için alınan ferrosen voltamogramı ile karşılaştırılmış görüntüsü. 0.00/+0.70 V potansiyel aralığında, tek döngülü ve 100 mV s <sup>-1</sup> tarama hızında	60
Şekil 4.7	GC yüzeyine 4-nitroanilin farklı döngü modifikasyonu sonrası CV kullanılarak alınan ferrosen voltamogramının karşılaştırılmış	

	görüntüsü. 0.00/+0.70 V potansiyel aralığı ve 100 mV s <sup>-1</sup> tarama hızında	61
Şekil 4.8	GC yüzeyine 4-nitroanilin modifikasyonu sonrası CV kullanılarak alınan HCF(III) voltamogramı, modifiye elektrodun indirgenmesi sonrası alınan HCF(III) ve çıplak GC yüzeyi için alınan HCF(III) voltamogramı ile karşılaştırılmış görüntüsü. +0.50/-0.20 V potansiyel aralığında, tek döngülü ve 100 mV s <sup>-1</sup> tarama hızında	62
Şekil 4.9	GC yüzeyine 4-nitroanilin farklı döngü modifikasyonu sonrası CV kullanılarak alınan HCF(III) voltamogramının karşılaştırılmış görüntüsü. +0.50/-0.20 V potansiyel aralığı ve 100 mV s <sup>-1</sup> tarama hızında	63
Şekil 4.10	GC yüzeyine 4-nitroanilin modifikasyonu sonrası EIS kullanılarak alınan HCF(II/III)* Nyquist eğrisinin çıplak GC yüzeyi için alınan Nyquist eğrisi ile karşılaştırılmış görüntüsü. 0.01 Hz/ 100.000 Hz frekans aralığında	64
Şekil 4.11	GC yüzeyine farklı döngülerde 4-nitroanilin modifikasyonu sonrası EIS kullanılarak alınan HCF(II/III) Nyquist eğrisinin çıplak GC yüzeyi için alınan Nyquist eğrisi ile karşılaştırılmış görüntüsü. 0.01 Hz/ 100.000 Hz frekans aralığında	65
Şekil 4.12	1.00 mM DMAB ve artan üre konsantrasyonlarına bağlı olarak +200/+1100 mV potansiyel aralığında alınan DPV voltamogramı	67
Şekil 4.13	1.00 mM DMAB ve artan üre konsantrasyonlarına bağlı olarak +200/+1100 mV potansiyel aralığında alınan SWV voltamogramı	68
Şekil 4.14	1.00 mM DMAB ve üre konsantrasyonunda farklı biriktirme zamanlarında (60-360 s aralığında 60 s artarak) +200/+1100 mV potansiyel aralığında alınan SWAdsSV voltamogramları	69
Şekil 4.15	1.00 mM DMAB ve artan üre konsantrasyonlarına bağlı olarak +200/+1100 mV potansiyel aralığında alınan SWAdsSV voltamogramı (180 s biriktirme)	70
Şekil 4.16	1.00 mM DMAB ve artan üre konsantrasyonlarına bağlı olarak +200/+1100 mV potansiyel aralığında alınan SWAdsSV voltamogramı (180 s biriktirme)	71
Şekil 4.17	Artan üre konsantrasyonuna bağlı olarak azalan DMAB molekülü için SWAdsSV ile alınan voltamogramlardan okunan pik akımları ile konsantrasyonlar arasında çizilen kalibrasyon grafiği	71
Şekil 4.18	Süt örneği içerisinde bulunan ürenin tayini için SWAdsSV tekniği ile alınan voltamogramlar	72
Şekil 4.19	Şekil 4.19 İçerisinde üre bulunmayan (A) ve 2.00x10 <sup>-5</sup> M üre bulunan (B) su örneklerine ait komatogramların karşılaştırılması	74
Şekil 4.20	İçerisinde 1.00x10 <sup>-5</sup> M (601 ppb) üre bulunan süt örneğine ait kromatogram	75
Çizelge 3.1	Yapılan çalışmalar için hazırlanan çözeltiler ve hazırlanma şartları	51
Çizelge 3.2	Üre analizi için optimum kromatografik çalışma koşulları	54
Çizelge 4.1	Tekrar ölçümlere ait pik akımları ve bu akımlara karşılık gelen üre düzeyleri	73
Çizelge 4.2	HPLC optimal kromatografik koşullar ve ürenin alıkonma zamanı	74
Çizelge 4.3	Kromatografide ölçülen tekrarlara ait üre düzeyleri	76
Çizelge 4.4	Sonuçlara ait istatistiksel değerlendirmeler	76

## 1. GİRİŞ

Üre, protein metabolizmasının son ürünü olarak karaciğerde oluşur ve idrarla atılır. Serumdaki normal değeri 20 - 40 mg kadardır. Fakat çoğu kez ürenin yalnız azot elementi dikkate alınarak kan üre azotu (Blood Urea Nitrogen = BUN) biçiminde değerler verilmektedir.  $BUN \times 2.14 = \text{Üre değerini göstermektedir}$ . Üre azot miktarı yüksek olan bir maddedir. Molekül ağırlığı  $60.055 \text{ g mol}^{-1}$ 'dür. Ürenin molekül ağırlığının azotun molekül ağırlığına oranı  $60:28=2.14$ 'tür. Kandaki ürenin azotu BUN olarak değerlendirilir.

Ürenin sütteki değeri ise MUN (Milk Urea Nitrogen) olarak değerlendirilir. Özellikle hayvan yem karışımlarında MUN değerleri oldukça önemlidir. MUN değerinin geliş güzel ayarlanan yem karışımları neticesinde yüksek seviyede olması direkt kısırlığa neden olmakta ve bu hayvanlardan ikinci nesil yavru alınamamaktadır.

Bu yüzden gerek sağlıklı beslenme, gerekse hastalık teşhislerinde biyolojik, çevresel, medikal ve endüstriyel sıvılarda üre tayini son derece önem taşımaktadır. Üre hidrolizi sonucunda açığa çıkan amonyak ve karbondioksit pH değişimlerine, reaksiyonun sıcaklığının ve iyonik bileşiminin değişmesine neden olur. Bu değişimleri tayin etmek için pek çok üre tayin metodu geliştirilmiştir.

Bu metotlardan birisi de elektroanalitik tekniklerdir. Bu amaçla üreye duyarlı biyosensörler geliştirilmiştir. Son zamanlar da ise enzimatik olmayan üreye duyarlı elektrotlar üzerine çalışmalar yoğunlaşmaya başlamıştır. Yapılan araştırmalarda geliştirilen biyosensörler üreaz enzim kaynaklı olduğundan spesifikliği iyi olması yanında tespit limiti ve kararlılığı düşük iken; enzimatik olmayan modifiye elektrotlarda ise tespit limiti ve kararlılıkları iyi iken seçiciliklerinin dar oldukları ve gerçek numunelerde girişim yapan element ve molekül gruplarının sorun teşkil ettiği görülmüştür.

Çalışma boyunca kullanılan kimyasal madde ve diğer malzemelerden ileri gelebilecek herhangi bir sistematik hatanın önüne geçmek adına kimyasal maddelerin en saf halleri kullanılmış ve laboratuvar araç ve gereçlerin temizliğine oldukça önem verilmiştir. Çalışmanın elektrokimyasal deneyleri Necmettin Erbakan Üniversitesi, Ahmet Keleşoğlu Eğitim Fakültesi Kimya Eğitimi Bölümü Analitik Araştırma Laboratuvarında yapılmıştır. Elektroanalitik sonuçları doğrulama adına yapılan kromatografik (Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi - HPLC) çalışmalar ise T.C. Tarım

ve Orman Bakanlığı Konya Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü Katkı Laboratuvarında yapılmıştır.

Elektrokimyanın temelini bir katot ve anodun bulunduğu hücre sisteminde cereyan eden indirgenme ve yükseltgenme reaksiyonları teşkil eder. Kimyasal hücrede bulunan analit çözeltinin elektrokimyasal özelliklerine bağlı bir grup kantitatif analizler elektrokimyanın konusunu oluşturur. Bu yöntemlerden birisi olan dönüşümlü voltametri tekniğini, sisteme uygulanan potansiyele karşı ölçülen akım sinyaline dayanır. Voltametrik sistemlerde temel olarak çalışma, karşıt ve referans olmak üzere 3 çeşit elektrot bulunur. Üç elektrot olduğu gibi çalışma elektrotunun 2 tane olduğu dört elektrot sistemi de kullanılmaktadır. Çalışma elektrotu olarak camsı karbon, altın, karbon pasta, platin vb.; referans elektrot olarak  $Ag/Ag^+$ ,  $Ag/AgCl$  vb ve karşıt elektrot olarak ise platin tel kullanılır. Voltametrik tekniklerde kullanılan numune miktarının az olması, diğer enstrümental cihazların bir çoğundan hızlı sonuç vermesi ve en önemlisi daha düşük konsantrasyonlara ( $1.00 \times 10^{-12}$  M gibi) kadar ölçüm olanağı sunmasından dolayı analitik kimyada önem arz eder.

Yapılan bu çalışmada dönüşümlü voltametri tekniği kullanılmıştır. Voltametri tekniği; çalışma elektrotu ile referans elektrot arasına uygulanan potansiyel sonucu çalışma elektrotu ile karşıt elektrot arasında oluşan akımın ölçülmesi esasına dayanır. Neticede bu teknikten alınan veriler akım-potansiyel (I/E) grafiği halinde verilir ve voltamogram olarak adlandırılır.

Dönüşümlü voltametrinde modifikasyon işleminde; ilk önce yapılacak olan çok geniş olmayan potansiyel aralığında (Örneğin; 0.00/+3.00 V gibi) pozitif ve negatif tarama yönünde tek döngülü olarak ilgili molekülün modifikasyon aralığının belirlenmesidir. Dönüşümlü voltametri tekniğinde, pozitif veya negatif tarama yönünde bu işlem neticesinde belirlenen başlangıç potansiyelinden bilinen bir potansiyele, sonra tekrar başlangıç potansiyeline dönülerek işlem yapılır. Bu işlemden sonra yapılacak yüzey karakterizasyonu sonuçlarına bakılarak modifikasyonun kaç döngüde yapılacağına karar verilir.

Dönüşümlü voltametri tekniği aynı zamanda modifiye edilen yüzeylerin karakterizasyonunda da kullanılır. Bunun için; susuz ortamda 0.1 M  $NBu_4BF_4$  (Asetonitril içinde) ile hazırlanan 1 mM ferrosen, sulu ortamda Britton-Robinson (BR, pH:2.00) veya 0.1 M  $H_2SO_4$ 'te hazırlanan 1 mM  $K_3Fe(CN)_6$  kullanılırken, EIS analizi için 0.1 M KCl çözeltisinde hazırlanan 1 mM  $K_4Fe(CN)_6/K_3Fe(CN)_6$  (1:1) karışımı kullanılmıştır. Her iki teknikte, çıplak yüzeyden alınan voltamogram ile modifiye

edildiği düşünölen yüzeyden alınan voltamogramlar karşılaştırılarak yüzeyde madde varlığının olup olmadığı anlaşılmaya çalışılmıştır.

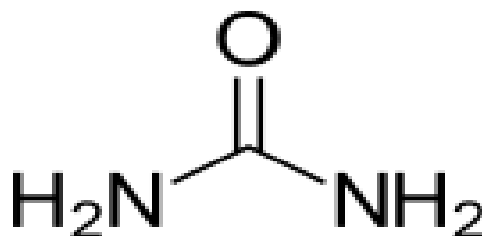
Çalışmada elde edilen elektrokimyasal verilerin (kantitatif tayin) doğruluklarını teyit etmek için gerekli tekrar ölçümleri yapılmasının yanında, güncel olarak kullanılan HPLC metotlarından da faydalanılmıştır. Elektrokimyasal ölçümlerden elde edilen konsantrasyonlar HPLC sonuçlarına göre düşük olduğundan dolayı en küçük konsantrasyonları görebilmek adına HPLC çalışmalarında kullanılan yöntemler literatürlerde titizlikle incelenmiş ve kullanılan kimyasal ve kolon seçimlerinde azami derecede özen gösterilmiştir.

Netice itibariyle bu çalışmada üreye duyarlı modifiye karbonsu elektrot geliştirilip bu elektrotun karakterizasyon ve üre kantitatif tayin çalışmaları yapılmıştır. Gerçek numune olarak süt örnekleri kullanılıp elde edilen elektrokimyasal veriler farklı bir metot olan HPLC ile kıyaslanmıştır.

Yapılan çalışmanın detaylı içeriğine ve sonuçlarına geçmeden önce bu çalışmada kullanılan elektrokimyasal yöntemler ve tayin edilen üre hakkında temel bilgiler verilmiştir.

### 1.1.Üre

Üre organik bir bileşik olup formülü  $H_2N-CO-NH_2$ 'dir. Karbonik asidin diamidi olan üre aynı zamanda karbamik asidin de amidi olduğundan **karbamid** adı ile de bilinir. Ürenin ilk defa 1773 yılında keşfedildiği bilinir. Ancak şüpheden uzak kesin sentezi 1828'de Wöhler tarafından başarılmıştır (Shorter, 1978).



Şekil 1.1. Üre bileşiminin açık yapısı

### 1.1.1. Ürenin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

- Kimyasal formül:  $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$
- Molar kütle:  $60.06 \text{ g.mol}^{-1}$
- Görünüm: Beyaz katı
- Yoğunluk :  $1.32 \text{ g cm}^{-3}$
- Erime noktası :  $133 - 135 \text{ }^\circ\text{C}$
- Çözünürlük (su içinde) :  $107.9 \text{ g } 100^{-1} \text{ ml } (20 \text{ }^\circ\text{C})$   
 $167 \text{ g } 100^{-1} \text{ ml } (40 \text{ }^\circ\text{C})$   
 $251 \text{ g } 100^{-1} \text{ ml } (60 \text{ }^\circ\text{C})$   
 $400 \text{ g } 100^{-1} \text{ ml } (80 \text{ }^\circ\text{C})$
- Çözünürlük :  $500 \text{ g L}^{-1}$  gliserin,  $50 \text{ g L}^{-1}$  etanol (Üre G.B.F., 2016).

### 1.1.2. Ürenin Fizyolojik Önemi

Üre, fizyolojik önemi bulunan bir bileşiktir. Üre, amino asitlerden serbestleşen amino gruplarının esas atılış şeklidir. İdrarın azot içeren bileşenlerinin % 90'ı üredir. Memelilerin vücudunda protein maddelerinin yakılması sonucu meydana gelen amonyak, karaciğerde karbondioksitle üreye dönüşür. Kana geçen üre, idrarla dışarıya atılır. (*Üre Döngüsü*)

Üre ayrıca az miktarda ter, süt ve gözyaşında da bulunur. Yetişkin bir insan günde 25-30 gram üreyi idrarla atar. İnsan kanındaki üre miktarı normalde 50 mg civarındadır. 50 mg'in üstü anormaldir.

Fakat vücut yaşlandıkça, böbreklerin üreyi vücuttan atma kabiliyeti de her geçen yıl bir parça daha azalacaktır. 40 yaşından itibaren, her yıl böbreklerin süzme kabiliyeti % 1.00 oranında azalmaktadır. Bu yüzden 75-80 yaşındaki bir kişide kandaki üre miktarının 65.0 - 75.0 mg bulunmasını normal olarak kabul etmek gerekir. Kandaki üre miktarının beklenen normal değerinin üzerinde olması haline *üremi* adı verilir (Shorter, 1978).

### 1.1.3. Ürenin Sentezi

Üre teknik olarak; amonyum karbonatın 150-200 °C'ye kadar ısıtılmasından üre elde edilir. Öte yandan üre, anorganik bir bileşikten sentezlenen ilk organik bileşiktir.

Wöhler sentezi olarak bilinen reaksiyonda ise; önce KCN ile PbO<sub>2</sub> karışımı ısıtılarak KCNO elde edilir. KCNO'nun amonyum sülfat ile muamelesi sonucu hazırlanan amonyum siyanatın kızdırılmasıyla da üre elde edilir (Üre G.B.F., 2016).

### 1.1.4. Ürenin Kullanım Alanları

Üre en çok gübre ve hayvan yemi olarak kullanılır. Soğutucu buz olarak kullanılan üre nem çekme özelliğinden dolayı hızlı kuruyan boya imalatında da kullanım alanı bulmuştur. Ayrıca üreden ilaç (Cilt losyonu vb.) ve plastik yapımında da faydalanılır.

Bunların yanında üre asit ve tuzlarla bir takım katılma bileşikleri, bazı asitlerle de kondensasyon ürünleri veya üreidler verir. Naftalinin türevleriyle verdiği bileşikler terapide kullanılır (Shorter, 1978).

### 1.1.5. Üre Tayin Metotları

Arka azot maddeleri; üre, ürik asit, kreatinin, aminoasit, indikan, pürin bazları ve amonyaktır. (NPN - nonprotein nitrojen) Üre arka azot maddelerin yarısını oluşturur. Bunu aminoasitler takip eder.

Ürenin; Nonspesifik (üreye özel olmayan) ve Spesifik (üreye özel) olmak üzere 2 türlü analiz metodu mevcuttur.

Nonspesifik metotlar proteinlerin dışındaki bütün azotlu maddeleri içerir. Bu maddelerin % 45'ni üre oluşturur. Diğerleri ise çokluk sırasına göre aminoasitler, ürik asit, kreatinin, kreatin ve amonyaktır. NPN'de yalnız üre tayin edilmez. Fakat patolojik hâllerde NPN'de meydana gelen artışın hemen hepsi üreden kaynaklandığı için klinik değeri yüksektir.

Spesifik metotlar ise üre analizlerinde en doğru sonucu veren metotlardır. Spesifik metotlarla sadece üre miktarı ölçülür (Paul, 2002).

### 1.1.6. Üre Tayininde Spesifik Metotlar

Üre tayininde spesifik metotlar Direkt ve İndirekt olmak üzere ikiye ayrılır:

#### 1.1.6.1. Direkt Yöntemler

*Ksanthidrol yöntemi*; üre, ürik asit ve ksanthidrol ile alkali ortamda reaksiyona girerek diksantilür olarak çöktürülmesi esasına dayanan metottur. Oluşan çökeleğin kuru miktarı gravimetrik metotla ölçülerek üre miktarı bulunur.

Üre tayininde direk yöntemlerden bir diğeri ise *kolorimetrik yöntemdir* (Diasetil monoksim = Fearon reaksiyonu). Bu yöntem; üre ile aynı çözeltide bulunan diasetil monoksimin 80°C'de 30 dakika süre ile bekletilmesi sonucu ortaya çıkan sarı rengin kolorimetrik olarak ölçülmesi esasına dayanır.

#### 1.1.6.2. İndirekt yöntemler

*Gazometrik yöntem*, Kowarsky yöntemi olarak ta bilinir. Reaksiyon;



şeklindedir. Burada CO<sub>2</sub> alkali tarafından tutulur. Azot gazı ise volumetrik olarak tayin edilir. Bundan da üre miktarı hesaplanır. Reaksiyonda görüldüğü üzere 1 mol üre başına 1 mol azot gazı elde etmeye dayalıdır.

İndirek tayin yöntemlerinden bir diğeri olan *Kolorimetrik yöntem*; Nesslerizasyon ve Berthelot reaksiyonu olmak üzere ikiye ayrılır.

Berthelot reaksiyonunda; üreazın üreyi hidroliz etmesiyle oluşan amonyak sodyum hipokloritli ortamda ve sodyum nitroprosit katalizörü eşliğinde fenol ile reaksiyona girerek mavi renkli indofenölü oluşturur ve rengin şiddeti üre miktarıyla doğru orantılıdır. Oluşan renk spektrofotometre ile ölçülür.

Nesslerizasyon yöntemi, 1856'da Julis Nesler tarafından uygulanmış ve günümüze kadar bazı değişimlere uğramıştır. Nesler reaktifi; sulu potasyum iyodür ve potasyum hidroksit içine civa iyodür'ün eklenmesiyle elde edilir. Üreazın üre ile reaksiyonu sonucu oluşan amonyak nesler reaktifi ile sarı ile turuncu arasında renk oluşturur ve bu renk 425 nm dalga boyunda spektrofotometre ile tayin edilir.

Berthelot ve Nessler yöntemlerinde son aşama spektrofotometrik ölçüme dayanmaktadır. Her iki yöntem de enzimatik reaksiyona dayandığından dolayı

enzimatik olmayanlara kıyasla oldukça spesifiktir. Fakat bu tür analizlerin maliyeti fazla miktarda enzim kullanıldığı için oldukça yüksektir. Ayrıca yöntemlerde kullanılan reaktiflerin hazırlanmasının zaman alması, çabuk bozulması ve deneyin yapımının uzun zaman alması gibi dezavantajları da vardır.

*Elektrokimyasal Yöntemler* ile de direk-indirek üre tayini yapılabilmektedir.

Ürenin daha basit, ucuz, doğru ve duyarlı tayinine olanak sağlayan üreaz enziminin kullanıldığı biyosensörlerin geliştirilmesi çok önemli bir ilerlemedir. Üre tayini için çok sayıda biyosensörler geliştirilmiştir. Bunlar; termal, amperometrik, kondüktometrik, optik, piezoelektrik (Piezoelektrik, özellikle kristaller ve belirli kristaller; kemik gibi bazı malzemelere uygulanan mekanik basınç sonucunda, malzemenin elektrik alan ya da elektrik potansiyel değiştirme yeteneğidir.) ve potansiyometrik yöntemlerdir.

Potansiyometrik üre biyosensörlerinde çok az alete ihtiyaç duyulması avantajdır. Bunlarda sadece iyon seçici elektrot, pH seçici elektrot ve iyon seçici alan etkili transistörlere ihtiyaç duyulmaktadır. Potansiyometrik üre sensörlerinden en önemlilerini

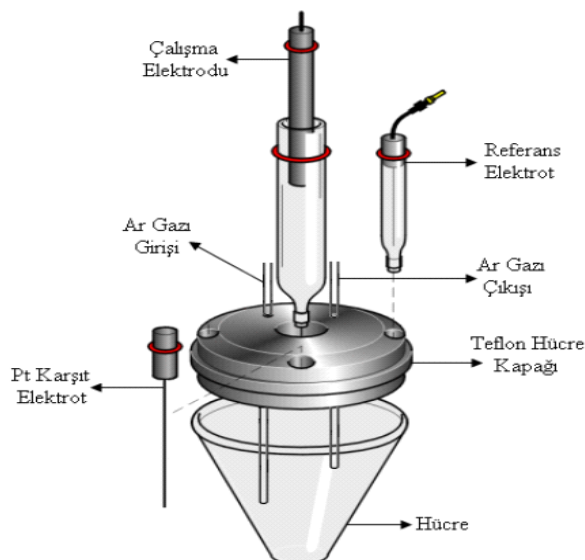
- Enzimatik reaksiyon sonucu oluşan amonyum iyonlarının tayinine yönelik olanlar,
- Amonyak gaz duyar üre sensörleri,
- Enzimatik reaksiyon sonucu meydana gelen pH değişiminin tayinine yönelik olanlar şeklinde saymak mümkündür.

Üre yukarıda izah edilen metotların dışında gaz kromatografisi (GC) ve sıvı kromatografisi (HPLC) teknikleriyle de kalitatif ve kantitatif olarak tayin edilebilmektedir (Paul, 2002).

## **1.2. Elektrokimya**

Elektrokimya, indirgenme-yükseltgenme (redoks) olaylarını kimyasal tepkimeler ile elektrik enerjisi arasındaki ilişkiyi esas alarak inceleyen bilim dalıdır.

Elektrokimyasal olarak incelenecek bir sistem, analit çözeltinin bulunduğu bir hücre, maddenin dönüşüme uğradığı elektrotlar ve bu elektrotları birbirine bağlayan dış devreden ibarettir. Şekil 1.2'de genel elektrokimyasal hücre şeması görülmektedir (Yılmaz, 2012).



Şekil 1.2. Genel elektrokimyasal hücre şeması

Piller, eser miktar madde analizleri, redoks titrasyonları, elementlerin yükseltgenme ve indirgenme basamaklarının belirlenmesi, iletken polimer sentezi, kimyasal reaksiyonların hız ve denge sabitleri, bazı metallerin saf olarak elde edilmesi veya yüzeylerinin başka bir metalle kaplanması gibi birçok alan elektrokimyanın kullanıldığı sistemlere örnek olarak verilebilir.

Elektrokimyasal hücrede anot ve katot farklı elektrot potansiyellerine sahiptir ve sistemden akım geçmeden önce çözeltileri ile denge halindedirler. İki elektrot bir dış iletken ile bir güç kaynağına bağlanıp devre kapandığı zaman, sistemde elektrik alan oluşur. Bu sayede katottan anoda doğru göç başlar. Sistemde katotta indirgenme reaksiyonu gerçekleşirken anotta yükseltgenme reaksiyonu meydana gelir. Yani anot kısmında bulunan metal elektron vererek yükseltgenir. Diğer katot ucunda bulunan metal ise elektron alarak indirgenir.

Voltmetrede ilk okunan değer, katot ve anot arasındaki potansiyel farktır ve sistemin toplam potansiyelini ifade eder. Bu değer, elektrotlar arasındaki potansiyel farkın yanında iki elektrolit temas halinde ise sıvı-sıvı temas potansiyeli, elektrotlar üzerindeki aşırı gerilim (polarizasyon), difüzyon potansiyeli gibi diğer potansiyelleri de içerir. Bahsedilen bu potansiyeller tam olarak giderilemezler, yalnız etkileri azaltılabilir. Bu etkiler ölçümlerin kesinliğini etkileyen ve uygulanan yöntemlerde istenmeyen şeylerdir. Elektrot potansiyelleri; sıcaklığa, analit derişimine (aslında aktivitesine) ve basınca bağlıdır. Bu yüzdem ölçümler yapılırken bunlara dikkat etmek gerekir (Mülazımoğlu, 2012). Voltmetreden okunan potansiyel fark zamanla sıfıra düşer ve bu

halde iken sistemden akım geçmez. Ancak dışarıdan bir akım uygulanarak reaksiyonlar tersine döndürülebilir.

Elektrotların ayrı ayrı potansiyellerinin mutlak değerleri belirlenemediği gibi Standart Hidrojen Elektrot (SHE) gibi referans elektrot yardımıyla tüm elementlerin elektrot potansiyelleri bu şekilde hesaplanmıştır. Gümüş/gümüş klorür elektrotları, doymuş kalomel elektrot da referans elektrot olarak yaygın bir şekilde kullanılırlar (Yılmaz, 2012).

### **1.2.1. Kütle Aktarım Türleri**

Elektrokimyasal hücrelerde katı elektrot yüzeyine modifikasyonu yapılacak olan iyon ya da moleküllerin göçü difüzyon, konveksiyon ve elektrostatik çekim kuvvetleri olmak üzere üç mekanizma üzerinden gerçekleşebilir.

#### **1.2.1.1. Difüzyon**

Difüzyon kontrollü kütle aktarımının temeli çözelti içerisindeki yoğunluk farkına dayanır. Böyle bir sistemde iyonlar ve moleküller her zaman derişik olan bölgeden seyreltik bölgeye doğru iki yüzey arasında konsantrasyonlar eşit oluncaya kadar hareket ederler. Difüzyon ile kütle aktarım hızı, ara yüzey ile çözelti arasında var olan yoğunluk farkı ile doğru orantılıdır ve bunun yanında indirgenen veya yükseltgenen madde ile kullanılan çözücü türü ile ilişkilidir (Mülazımoğlu, 2008).

#### **1.2.1.2. Göç (Migrasyon)**

Göç ile kütle aktarımını elektrostatik çekim kuvveti ile ilgidir. Elektrostatik çekim kuvveti bir elektrik alanı etkisi altında iyonların hareket etme işlemidir. Bu etki sayesinde sistemde bulunan iyonlar katot ile anot arasında hareket ederler. İyonların hareket hızları iyonun yüküne ve büyüklüğüne bağlıdır. İki elektrot arasında elektrik akımı meydana geliyorsa; İki elektrodun elektron verme eğilimleri arasındaki fark ne kadar büyükse elektrotlar arasında oluşan gerilim o kadar büyük olacak ve bu iki elektrottan elektron verme eğilimi yüksek olan elektrottan, elektron verme eğilimi düşük olan elektroda doğru bir akım oluşacaktır (Mülazımoğlu, 2008).

### 1.2.1.3.Karıştırma (Konveksiyon)

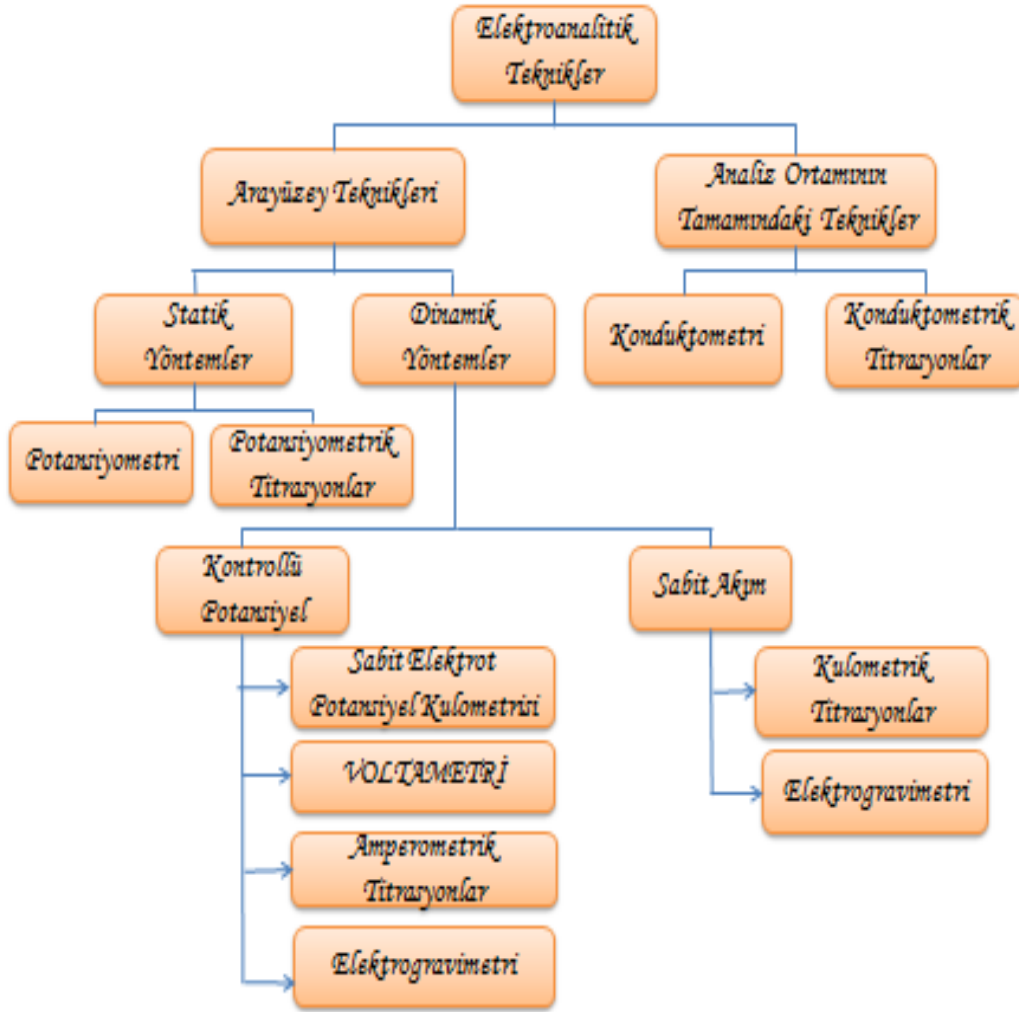
Konveksiyon ile kütle aktarımı çözeltinin karıştırılmasıyla gerçekleşir burada kütle aktarımı elektrottan çözeltiliye veya çözeltiliden elektroda doğrudur. Konveksiyon, difüzyon kontrollü kütle aktarımının etkisiyle elektrot yüzeyinde oluşan difüzyon tabakasının kalınlığının azalmasına sebep olur ki bu istenen bir durum değildir. Bundan dolayı difüzyon kontrollü sistemlerde çözeltili karıştırılmaz ve titreşimden uzak durulur. Burada istenilen yalnız konsantrasyon farkından ileri gelen hareket türüdür. Bunun yanında, sıcaklık ve yoğunluk farkından meydana gelen doğal konveksiyon da, moleküllerin elektrotta veya elektrottan taşınmasında etkili olduğundan dolayı çalışmaların sabit sıcaklıkta yapılması ve bu etkilerin asgari seviyeye indirilmesi gereklidir (Mülazımoğlu, 2008; Bard ve Faulkner, 2001; Skoog ve ark., 1996).

### 1.3. Elektrokimyasal Teknikler

Elektrokimyasal teknikler, maddenin elektrik enerjisi ile etkileşmesi sonucu ortaya çıkan kimyasal dönüşümler ile fiziksel değişimleri ve kimyasal enerjinin elektrik enerjisine çevrilmesini inceler.

Bütün elektrokimyasal tekniklerde potansiyel, akım ve zaman parametreleri vardır. Bu parametreler tekniğin adında yer alır. Örneğin, voltametri (potansiyel-akım), kronoamperometri (zaman-akım) ve kronokulometri (zaman-yük) tekniklerinde olduğu gibi tekniğin ismine bakılarak tekniğin hangi temel esas üzerine olduğu hakkında bize bilgi verir. Elektrokimyasal tekniklerde, elektrot ile çözeltili sistemine bir elektriksel etki yapılarak sistemin verdiği tepki ölçülür ve bu sonuçtan sistemin özellikleri hakkında bilgi sahibi olabiliriz.

Şekil 1.3'de görüldüğü gibi elektroanalitik metotlar genelde net akımın sıfır olduğu denge durumundaki statik metotlar ve denge durumundan uzakta net akımın gözlemlendiği dinamik metotlar olmak üzere ikiye ayrılır. Dinamik metotlar ya potansiyel kontrollü veya akım kontrollüdür. Potansiyel veya akımın kontrol edildiği tekniklerde bu parametreler büyük genlikli veya küçük genlikli olarak uygulanır ve büyük genlikli teknikler diğerlerine göre daha yaygın olarak kullanılır (Mülazımoğlu, 2008; Skoog ve ark., 1998).



Şekil 1.3. Elektroanalitik tekniklerin sınıflandırma şeması (Mülazımoğlu, 2008)

### 1.3.1. Voltametri

Denge halindeki sisteme dışarıdan bir potansiyel uygulamak suretiyle sistemin elektrot potansiyelinin değişmesi ile hücreden geçen akımın ölçülmesine dayanan elektroanalitik metotlara genel olarak voltametri denir (Özdemir, 2006).

Dışarıdan denge potansiyelinden farklı bir potansiyel uygulanması sonucu sistem tekrar dengeye ulaşmaya çalışır. Bu esnada bir elektrot tepkimesi meydana gelir ve devreden bir akım geçer. İşte voltametri, sisteme uygulanan potansiyele karşı bu etki sonucu oluşan akımın ölçümüne dayanır. Uygulanan potansiyele karşı ölçülen akım (I/E) grafiğine voltamogram denir. Genellikle polarizasyonu artırmak için yüzey alanı birkaç mm<sup>2</sup> olan mikroeletrotlar çalışma elektrodu olarak kullanılır (Mülazımoğlu, 2008).

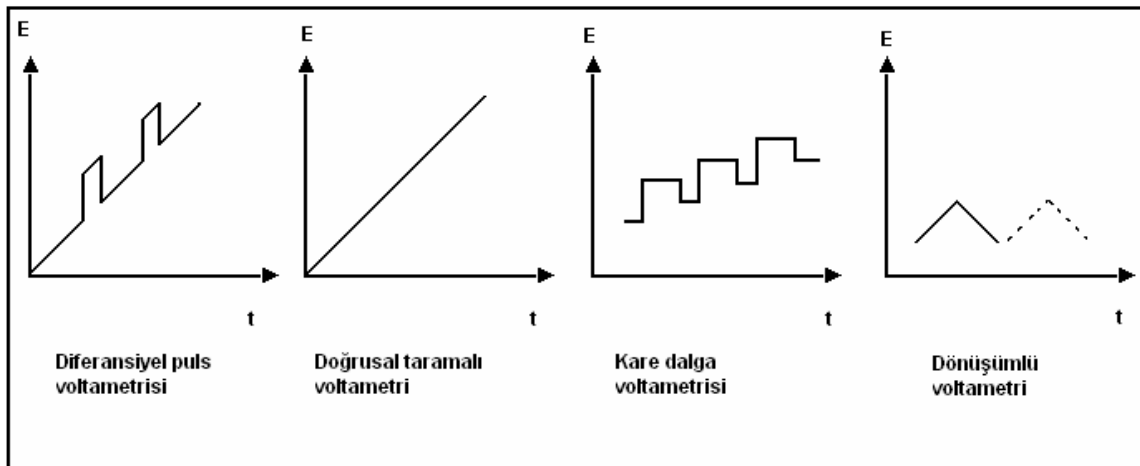
Voltametri, yüzeydeki adsorpsiyon olayının araştırılması, çeşitli ortamlarda meydana gelen yükseltgenme ve indirgenme tepkimelerinin incelenmesi, elektroaktif maddelerin tayinleri ve kimyasal olarak modifiye edilmiş elektrot yüzeyinde cereyan eden elektron aktarım mekanizmalarının aydınlatılması için yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Skoog ve ark., 1998). Voltametri, polarografi tekniğine dayalı bir yöntem olup Çek kimyacı Jaroslav Heyrovsky tarafından 1920'lerin başında geliştirilmiştir.

Voltametricde çalışma elektrodu olarak platin, cıva, camsı karbon, altın, karbon pasta vb. elektrotlar kullanılır.

Voltametri, tam konsantrasyon polarizasyonu şartlarında bir elektrokimyasal hücrede oluşan akımın ölçülmesine dayanırken, potansiyometrik ölçümler bunun tam aksine akımın sıfıra yaklaştığı ve polarizasyonun olmadığı şartlarda yapılır (Mülazımoğlu, 2008; Bard ve Faulkner, 2001; Wang, 2000).

Voltametricde, elektrogravimetri ve kulometriden farklı olarak konsantrasyon polarizasyonunun etkilerini en aza indirmek yada gidermek için gerekli tedbirlerin alınması gerekir. Voltametricinin bu tekniklerden bir farkı da analit miktarının çok az seviyede harcanmasıdır. Elektrogravimetri ve kulometricde hemen hemen tüm madde başka bir hale dönüştürülür.

Voltametricde elde edilen voltamogramlar uygulanan voltametric tekniğinin türüne göre değişir. Yaygın olarak kullanılan uyarma sinyalleri; doğrusal taramalı, diferansiyel puls, kare dalga ve üçgen dalga olup Şekil 1.4'de verilmiştir (Skoog ve ark., 1998).



Şekil 1.4. Voltametricde kullanılan uyarma sinyalleri

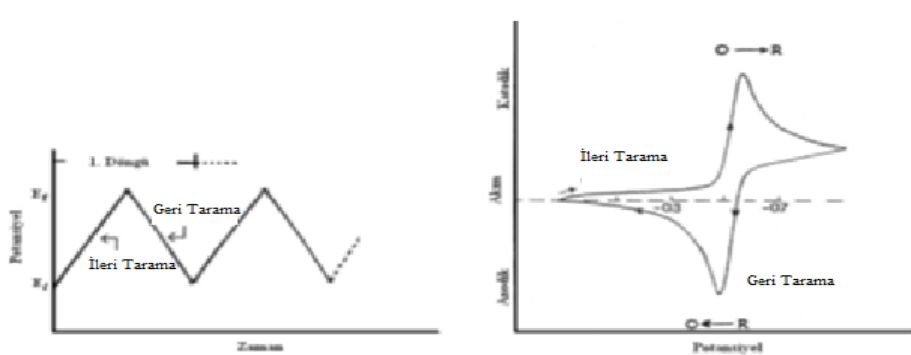
### 1.3.2. Dönüşümlü voltametri (CV)

Dönüşümlü voltametri tekniği, elektroaktif türlerin karakterizasyonunda, modifiye yüzeylerin elde edilmesinde ve bu modifiye yüzeylerin çeşitli redoks problemler kullanılarak yapılan karakterizasyonunda tercih edilen bir yöntemdir. Sabit potansiyel uygulanarak elde edilen bir modifiye yüzey genelde çok tabakalı olduğundan dolayı, dönüşümlü voltametri tekniğinde uygun tarama hızı ve döngü sayısı ile işlem yapıldığında tek tabakalı yüzeylerin elde edilmesinde başarılı bir teknik olduğu görülür (Üstündağ, 2008).

Dönüşümlü voltametri tekniğinde, elektroaktif tür içeren bir elektrolit çözelti içerisindeki mikroelevtroda, zamanla doğrusal olarak artan bir potansiyel uygulanması sonucu oluşan akım ile gerilim arasında bir voltamogram elde edilir. Bu dönüşümlü voltamogram sayesinde sıcaklık, tarama hızı, derişim vb. gibi çeşitli parametreler değiştirilerek elektroaktif türün davranışı hakkında ayrıntılı bilgiler elde etmek mümkündür (Mülazımoğlu, 2008).

Ayrıca bu teknik sayesinde bir sistemde indirgenme ve yükseltgenme tepkimelerinin varlığı ve oluşma şartları (potansiyel, redoks basamak sayısı ve redoks ürünlerin kararlılığı) hakkında bilgi sahibi olunabilir.

Dönüşümlü voltametri tekniği, özellikle elektroaktif türlerin redoks potansiyellerinin yerinin hızlı bir şekilde belirlenmesini ve ortamın redoks reaksiyonuna etkisinin değerlendirilmesi olanağı sağladığından dolayı elektroanalitik çalışmalarda genellikle ilk olarak uygulanan deneysel basamaktır. Bu teknik sayesinde kimyasal reaksiyonlar ve adsorpsiyon olaylarıyla ilgili güvenilir bilgiler elde edildiğinden, dönüşümlü voltametri nitel amaçlı daha yaygın kullanılmaktadır. Dönüşümlü voltametrde zamana karşı uygulanan potansiyel ve buna bağlı olarak elde edilen voltamogram Şekil 1.5’de verilmiştir (Wang, 2000).



Şekil 1.5. Dönüşümlü voltametrde potansiyel-zaman ve tarama sonucunda elde edilen potansiyel-akım eğrileri (voltamogram)

Bu teknikte üçgen dalga şeklinde bir potansiyel taramasından faydalanılır. Çalışma elektrotuna önceden belirlenmiş potansiyel aralığında bir başlangıç potansiyelinden ( $E_i$ ), bir sınır potansiyeline ( $E_f$ ) kadar doğrusal olarak artan (negatif tarama) sonra  $E_f$  potansiyelinden  $E_i$  potansiyeline kadar doğrusal olarak azalan (pozitif tarama) bir potansiyel tarama gerçekleştirilir. Dönüşümlü voltametri de ileri yönde (negatif potansiyel yönünde) tarama yapılırken madde indirgendi ise bir katodik pik ( $E_{p_k}$ ), geri yöndeki (pozitif potansiyel yönünde) potansiyel taramasında da bu indirgenmiş maddenin elektrotta tekrar yükseltgenmesinden dolayı bir anodik pik ( $E_{p_a}$ ) gözlenebilir. Burada önemli olan tersinir bir elektrot tepkimesi için elde edilen bu iki pik potansiyeli arasındaki farkın ( $0.0592 \text{ n}^{-1}$ ) V olmasıdır.

$$\Delta E_p = E_{p_a} - E_{p_k} = 0.0592 \text{ n}^{-1} \quad (1.3)$$

İleri yöndeki tarama sırasında oluşan ürünün kararlı olması durumunda anodik pik akımı, katodik pik akımına eşit; ürünün kararlı olmadığı durumlarda anodik pik akımının değeri, katodik pik akımının değerine göre daha küçük olur. Anodik pikin tamamının kaybolması ise ürünün çok hızlı olarak tüketildiğinin göstergesidir.

Burada  $\Delta E_p$  değerleri elektrot tepkimesinin hız sabitinin bir ölçüsüdür. Şöyle ki; Elektrot tepkimesinin tersinirliğinin azalması katodik ve anodik pikler birbirinden daha uzak potansiyellerde ve daha yayvan olarak gözlenmesine neden olur.

Dönüşümlü voltametri de tersinir ve tersinmez reaksiyonlar için pik akımları Randless-Sevcik eşitlikleri ile verilir.

Tersinir durumlar için;

$$I_p = k^1 \text{ n}^{2/3} \text{ AD}^{1/2} \text{ C v}^{1/2} \quad (6)$$

Tersinmez durumlar için;

$$I_p = k^{11} (\alpha_c \text{ n}_\alpha)^{1/2} \text{ nAD}^{1/2} \text{ v}^{1/2} \text{ C} \quad (7)$$

eşitliği geçerlidir. Bu eşitlikten görüldüğü üzere tam tersinmez elektrot tepkimelerinde ileri yöndeki pik akımı (katodik akım), tarama hızının karekökü ile doğru orantılıdır. Fakat tarama hızı arttıkça pik potansiyeli daha negatife doğru kayar. Yarı tersinir tepkimelerde, tarama hızının kareköküne göre pik akımındaki artış neticesinde tersinir veya tersinmez sistemlere benzemesi belli bir tarama hızı ile ilişkilidir.

Bir elektrot tepkimesi ile çözelti tepkimesi sonucu oluşan ürünleri de elektroaktif ise dönüşümlü voltamogramlarda bunlara ait pikler de gözlenir. Bu pikler elektron

aktarımına ait olayın mekanizması aydınlatılmasında kullanılabilir (Mülazımoğlu, 2008).

### 1.3.2.1. Tersinir Reaksiyonlar

Elektrot reaksiyonunun;



şeklinde içinde sadece Ox maddesinin bulunduğu ve tersinir indirgenme reaksiyonu olduğunu varsayalım. Bu sistemde potansiyel tarama hızı çok yavaş ise i-E grafiği belli bir potansiyelden sonra sınır akımına ulaşırken, tarama hızı artırılınca bu grafik pik şeklinde gözlenir. Bu pikin yüksekliği tarama hızı artışı ile doğru orantılıdır.

Kararlı hâl durumunda tarama hızı yavaş ise herhangi bir potansiyelde elektrot yüzeyinden belli uzaklıktaki reaktif konsantrasyonu sabittir. Öte yandan elektrot yüzeyine çok yakın tabakada (Nernst Difüzyon Tabakası) konsantrasyon gradienti doğrusaldır ve tersinir bir reaksiyon için [Ox]/[Red] oranı Nernst eşitliği ile potansiyele bağlıdır. Sistemde potansiyel negatifleştikçe reaktifin elektrot yüzeyindeki konsantrasyonu ([Ox]) azalır ve buna bağlı olarak da akım artar. Aşağıda verilen eşitlikte bu durum net bir şekilde görülebilir.

$$E = E^o - \frac{RT}{nF} \ln \frac{[\text{Red}]}{[\text{Ox}]} \quad (2)$$

Son halde elektrot yüzeyindeki reaktif konsantrasyonu sıfır olur ve bu potansiyelden sonra artık konsantrasyon gradienti değişmeyeceği için buna bağlı olarak akım sabitleşir.

Sistemde tarama hızı yüksek ise difüzyon hızı denge durumuna ulaşacak kadar yüksek olamayacağından konsantrasyon profili doğrusal olmaz. Neticede E ile [Ox]/[Red] ilişkisi Nernst eşitliği ile ifade edilemez. Potansiyel Ox'un indirgenebileceği değere ulaştığında yüzey konsantrasyonu çözelti konsantrasyonuna eşittir. Ox'un indirgenmeye başladığı potansiyelde ana çözelti ile elektrot yüzeyindeki Ox konsantrasyonu arasında oluşan fark sonucu sistemde konsantrasyon gradienti

oluşacaktır. Meydana gelen bu gradient sayesinde elektroaktif madde elektrot yüzeyine doğru difüzlenecek ve neticede akım oluşacaktır. Potansiyel negatif oldukça elektrot yüzeyindeki Ox konsantrasyonu çözültideki değerine göre azalacak ve en sonunda belli bir potansiyelde Ox'un elektrot yüzeyindeki konsantrasyonu sıfır olacaktır.

Hızlı taramada herhangi bir potansiyeldeki yüzey konsantrasyon gradienti kararlı hâl gradientinden daha büyüktür ve bundan dolayı akım daha fazladır.

Sistemde elektrot yüzeyindeki Ox konsantrasyonu sıfır olunca konsantrasyon gradienti azalacağından dolayı akım da azalacaktır. İzah edilen bu etkilerin toplamında i-E grafiği pik biçiminde olacaktır. Burada pikin yüksekliği ile tarama hızındaki artış arasında doğru orantı vardır.

Uygulanan potansiyel taraması geriye doğru yapıldığında tarama hızlı ise elektrot yüzeyinde biriken Red miktarından dolayı  $E^{\circ}$  değerinden itibaren daha pozitif potansiyellerde Red yükseltgenmeye başlar ve ters taramada akım oluşur. Geriye doğru tarama sırasında  $E^{\circ}$  değerine kadar Ox indirgenmeye yani Red oluşmaya devam eder. Geriye doğru taramada (ters tarama) potansiyel pozitif değerlere ulaştıkça Nernst denkleminde göre Red yüzey konsantrasyonu azalır ve yeteri kadar pozitif değerlerde sıfır olur. İleri taramadaki elde edilen pikin geri taramada da elde edileceği ortadadır. Buradaki tek fark çalışma esnasında yüzeyde oluşan Red, çözültiye doğru difüzleneceğinden ters pik akımı (anodik akım) katodik akımdan biraz daha düşük olmasıdır.

Dönüşümlü voltametriye pik akımının değeri ( $i_p$ ) için sınır durumları ve tarama hızı göz önüne alınarak ( $D_{Ox} = D_{Red} = D$  olması halinde) Fick'in ikinci kanunundan matematiksel olarak aşağıdaki eşitlik elde edilir:

$$I_p = 0.4463 nF \left( \frac{nF}{RT} \right)^{1/2} C_o^{\infty} D^{1/2} v^{1/2} \quad (3)$$

Bu eşitlik Randles-Sevcik denklemi olarak adlandırılır ve 25 °C'de Randles-Sevcik denklemi aşağıdaki hale dönüşür:

$$I_p = -(2.69 \times 10^5) n^{3/2} C_o D^{1/2} v^{1/2} \quad (4)$$

Bu eşitliklerde;

$I_p$  : Akım yoğunluğu, A  $cm^{-2}$

$D$  : Difüzyon katsayısı,  $cm^2 s^{-1}$

$\nu$  : Tarama hızı,  $V s^{-1}$

$C_o$  : Ox'un ana çözelti konsantrasyonu,  $mol cm^{-3}$  ifade etmektedir.

Buradan da anlaşılacağı üzere pik akımı elektroaktif maddenin konsantrasyonu ve tarama hızının kareköküyle doğru orantılıdır. Elektrodun ultramikroelektrot olması halinde bu eşitlik aşağıdaki hale dönüşür:

$$i_{ss} = 4 r n F C_o D_o \quad (5)$$

Eşitlikteki  $r$ , ultramikro elektrodun yarıçapını temsil eder.

Dönüşümlü voltametri sonuçları ile bir tepkimenin tersinir olup olmadığına karar verilebilir. Eğer  $I_p - \nu^{1/2}$  grafiği doğrusal ve orijinden geçiyorsa sistem tersinir olduğunu söylemek mümkündür. Ayrıca;

1.  $\Delta E_p = E_p^a - E_p^k = 59 n^{-1} mV$

2.  $|E_p - E_{p/2}| = 59 n^{-1} mV$

3.  $|I_p^a / I_p^k| = 1$

4.  $I_p \propto \nu^{1/2}$

5.  $E_p$ ,  $\nu$  den bağımsızdır

6.  $E_p$ 'den daha negatif (veya daha pozitif) potansiyellerde  $I^2 \propto t$  kriterlerinin de bulunması gerekir.

Bunlardan bir tanesinin geçerli olmaması durumunda sistem tersinir değildir. Bu yüzden  $I_p$  ve  $E_p$ 'nin  $\nu$  ile ilişkisi yeteri kadar geniş bir tarama hızı aralığında test edilmelidir. Buradan çıkacak sonuca göre yukarıdaki kriterlerden birinin gerçekleşmemesi durumunda elektrot tepkimesi ya tersinmez veya tahmin edilenden daha kompleks bir mekanizmaya sahiptir (Mülazımoğlu, 2008).

### 1.3.2.2. Tersinmez Reaksiyonlar

Tersinir sistemlerde elektron aktarım hızı kütle aktarım hızından bütün potansiyellerde büyük olduğundan elektrot yüzeyinde Nernst eşitliği geçerli iken; tersinmez reaksiyonlar da elektron aktarım hızı yeteri kadar büyük olmadığı için Nernst eşitliği geçerli değildir. Dolayısıyla dönüşümlü voltametri voltamogramının şekli tersinir durumdan farklıdır.

Fick'in ikinci kanunu 25 °C'de tersinmez sistemin pik akımı için aşağıdaki eşitlik bulunur.

$$I_p = (2.99 \times 10^5) n(\alpha_c n_a)^{1/2} C_o D_o v^{1/2} \quad (1.11)$$

Burada  $n_a$  hız tayin basamağında aktarılan elektron sayısı da dahil olmak üzere aktarılan toplam elektron sayısıdır. Bu sistemlerde de tersinir durumda olduğu gibi pik akımı konsantrasyon ve tarama hızının kare kökü ile doğru orantılıdır.

Tersinmez sistemlerde potansiyel tarama hızı çok düşük olduğu zaman elektron aktarım hızı kütle aktarım hızından daha yüksek olacağından sistem tersinir gibi gözlenebilir. Tamamen tersinmez bir sistemde katodik bir pikin ters tarama piki (anodik pik) kesinlikle gözlenmemektedir. Bazı durumlarda ise sistem tersinir olduğu halde anodik pik görülmeyebilir. Bu sistemin tersinmez olduğunu göstermez. Mesela, elektron aktarım basamağını takip eden çok hızlı bir kimyasal reaksiyonda; oluşan ürünün hızlı bir şekilde başka bir maddeye dönüşmesi neticesinde ters taramada yükseltgenme piki gözlenmeyişi bu sistemin tersinmez olduğunu göstermez. Dolayısıyla bir sistemin tersinmez olduğunu söyleyebilmek için;

1. Anodik pik gözlenmez (Ters tarama piki gözlenmez.)
2. Epk kayması 25 °C'de tarama hızındaki 10 birimlik artmada  $30 \alpha_c n_a^{-1}$ 'dir.
3.  $I_{pk} v^{1/2}$
4. Tarama hızı 10 kat artarsa  $|E_p - E_p/2| = 48 (\alpha_c n_a)^{-1}$  mV kriterlerinin hepsinin sağlanması gerekmektedir.

Bir tepkimenin yarı tersinir olduğunu söyleyebilmemiz için de aşağıdaki şartların gerçekleşmesi gerekmektedir:

1.  $I_p$ ,  $v^{1/2}$  ile artar ancak doğrusal değildir.
2.  $\Delta E_p > 59 n^{-1}$  mV ve  $\Delta E_p$ ,  $v$  ile artar.
3.  $I_{pa}/I_{pk} = 1$ 'dir. (Eğer  $\alpha_c = \alpha_a = 0.5$  ise)
4.  $E_{pk}$ ,  $v$  nin artması ile negatif değerlere kayar (Mülazımoğlu, 2008).

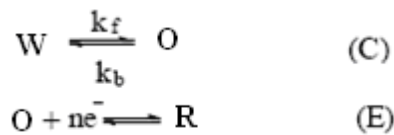
### 1.3.2.3.CV tekniği ile adsorpsiyonun belirlenmesi

$Ox + ne^- \rightarrow R$  şeklindeki bir elektrot reaksiyonunu ele alalım. Bu tepkimenin voltametik i-E eğrisi O veya R'nin adsorpsiyonu ile belirgin bir şekilde değişebilir. Bu yüzden elektrokimyasal çalışmalara başlamadan önce ayrıca sistemin adsorpsiyon dengesine ulaşıp ulaşılmadığı kontrol edilmelidir. Adsorpsiyon tespit edildiğinde, voltametik tekniklerle ilgili kullanılan eşitlikler ve ilk sınır değerleri aynı olmasının yanında elektrot yüzeyine göç eden madde türü farklıdır. Yani elektrot yüzeyinde adsorbe olmuş O türünün yanında difüzlenen O türü de elektrolizlenir. Meydana gelen R türü adsorbe olabileceği gibi elektrot yüzeyinden çözeltiliye doğru difüzlenme ihtimali de bulunmaktadır. Sistemde bulunan O türünün elektrot yüzeyinde difüzlenme hızı ile adsorpsiyon hızının farkı, oluşan R türünün elektrot yüzeyinden uzaklaşma ve R'nin difüzlenme hızına eşittir. Bu iki olayda sistemde belli bir akım varlığı söz konusudur.

### 1.3.2.4.Dönüşümlü Voltametri tekniği ile elektron mekanizmasının belirlenmesi

Elektron transferi temelli kimyasal tepkimelerin tespitinde dönüşümlü voltametri önemli bir tekniktir. Bu yüzden ilk mekanizma araştırmaları dönüşümlü voltametri ile yapılır. Bu teknikle mekanizma belirleme çalışmalarında mümkün olan en geniş potansiyel tarama hızı aralıklarında çalışılır.

**CE mekanizması:** CE mekanizması, bir elektrot tepkimesinde elektron aktarım basamağından önce elektroaktif maddenin meydana gelmesine neden olan bir kimyasal tepkimenin bulunması olarak isimlendirilir.



Yukarıdaki tepkimelerde kimyasal basamağın (C) hızı çok yavaş ve elektron aktarım basamağı (E) tersinir olması durumunda dönüşümlü voltametricde pik gözlenmez. Bunun yerine kararlı haldeki gibi DC polarogramına benzer bir voltamogram gözlenir. Burada gözlenen sınır akımından, kimyasal tepkimenin hız sabitleri;

$$I_l = -nF C_y D^{1/2} K(k_f+k_b)^{1/2}$$

eşitlik yardımıyla hesaplanır.

Burada K, kimyasal basamağın denge sabitidir. Kimyasal tepkimenin hızının çok yüksek olması halinde dönüşümlü voltametri voltamogramı, normal difüzyon kontrollü durum ile aynı olur. Şayet bir elektrot tepkimesi CE mekanizmasına göre yürüyorsa tarama hızı arttıkça  $I_{pk}/v^{1/2}$  oranı azalırken  $I_{pa}/I_{pk}$  oranı v ile artar ve bu oran  $\geq 1$ 'dir (Mülazımoğlu, 2008; İsbir, 2006).

**EC mekanizması:** Bu mekanizmada önce elektron aktarım basamağı (E) daha sonra kimyasal basamak (C) basamağı cereyan eder. Böyle bir sistemde E basamağının tamamen tersinmez olması halinde kimyasal basamağın voltamogramda hiç bir etkisi bulunmayacağından dolayı sistemin kinetik verileri incelenemez. E basamağının tersinir olduğu durumlarda ise C basamağının hız sabiti büyükse anodik pik yine gözlenemez. Ancak hız sabiti küçükse anodik pik gözlenir.

**ECE mekanizması:** ECE mekanizmasında; bir elektrot tepkimesinde elektron aktarım basamağı ile birlikte homojen bir kimyasal tepkime ve bu kimyasal tepkimeyi takip eden bir elektrokimyasal tepkime söz konusudur. Bu mekanizma dönüşümlü voltametri tekniği kullanarak aydınlatılabilir (İsbir, 2007).

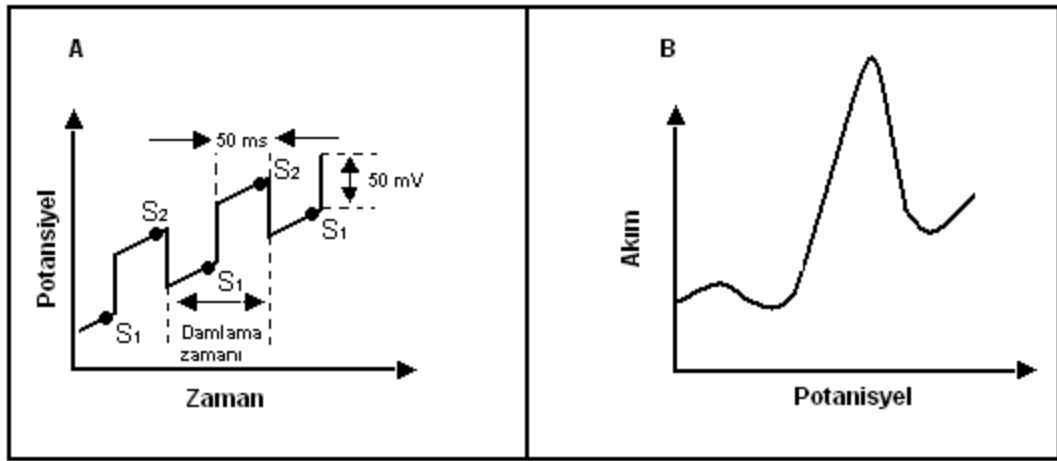
### 1.3.3. Diferansiyel puls voltametri (DPV)

Bu yöntemde cıva damlasının ömrünün sonuna doğru sabit voltta pulslar uygulanır ve puls uygulanmadan hemen önce diğeri ise damla düşmeden önce olmak üzere bir cıva damlasının ömründe iki kez akım ölçülür. Diferansiyel puls voltametri tekniğinde pik ölçülen bu iki akım arasındaki farkın zamana göre grafiğe geçirilmesi ile ortaya çıkar. Pikin yüksekliği konsantrasyona bağlı olup,  $E_{1/2}$  karşılık gelir. Bu yöntemde kullanılan uyarma sinyali ve diferansiyel puls voltametrisine ait voltamogram Şekil 1.6'da verilmiştir.

Bu teknikte pik akımı analit konsantrasyonu ile doğrusal olarak artmasının yanında doğrusal karmaşık bir şekilde olmak üzere pik puls genliği ile de artar. 100

mV'tan daha büyük pulslar genellikle uygulamalarda pik genişliğini ve çözünürlüğünü önemli ölçüde engellediği için uygulanmaz (Özcan, 2014).

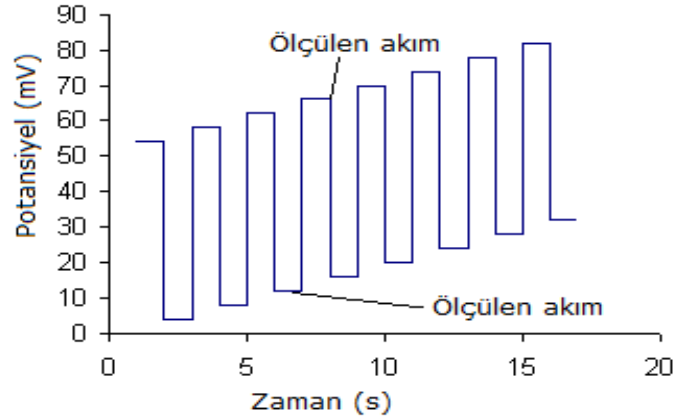
Bu yöntemde faradayik akımın artması ve faradayik olmayan yüklenme akımının azalmasından dolayı duyarlılık sınırı ( $1.00 \times 10^{-7}$  -  $1.00 \times 10^{-8}$  M) yüksektir. Elektrodu çevreleyen yüzey tabakasında (analit tabakasında) elektroaktif bir türün olduğu durumda potansiyel aniden artırıldığında, analit konsantrasyonunu yeni potansiyel tarafından istenen seviyeye düşürecek bir akım artışı gözlenir. Ancak bu potansiyel için gerekli olan denge derişimine ulaşılnca, akım difüzyonu karşılayacak bir seviyeye iner. Bu akıma "difüzyon kontrollü akım" denir (Turan, 2008; İsbir, 2007; Yalçın, 2007; Skoog ve ark., 1998).



Şekil 1.6. A) Analog cihazlarda diferansiyel puls voltametri için kullanılan uyarma sinyali B) Diferansiyel puls voltametrisine ait bir voltamogram

#### 1.3.4. Kare dalga voltametri (SWV)

Kare dalga voltametri ölçüm hızı bir saniyeden daha kısa süren voltametik yöntemler içerisinde en hızlı ve duyarlı ( $1.00 \times 10^{-14}$  -  $1.00 \times 10^{-15}$  M) tekniklerden birisidir. Bu teknikteki voltamogram birbirine simetrik ve doğrusal olarak artan kare dalgalardan oluşmuş merdiven biçimindedir. Yöntemde uygulanan uyarma sinyalleri Şekil 1.7'de verilmiştir. Tersinir bir tepkimede kare dalganın anodik ve katodik bölgesindeki iki noktaya ait akım değerlerinin farkları akımı verir. Bu iki akım arasındaki fark uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak grafiğe geçirildiğinde kare dalga voltamogramı elde edilir. Kare dalga voltametri tekniği elektrot yüzeyinde eser miktarda madde biriktiği durumlarda kullanılır.



Şekil 1.7. Kare dalga voltametri puls tipi uyarma sinyalinin dalga şekli

Bu yöntemde frekansın artmasıyla veya buna bağlı olarak periyodun azalması ile kare dalga pik akımı ve dolayısıyla hassasiyet artar.

Kare dalga voltametrisi ile diferansiyel puls voltametrisi karşılaştırılırsa, kare dalga akımlarının benzer diferansiyel puls akımlarından, tersinir ve tersinmez sistemler için sırasıyla 4 ve 3.3 kat daha yüksek olduğu söylenebilir (Kılıç, 2015; Turan, 2008; Yalçın, 2007; Özdemir, 2006 ).

### 1.3.5. Sabit potansiyelli elektroliz (Bulk elektroliz, BE)

Analiz edilecek maddenin indirgendiği veya yükseltildiği potansiyel sınırları önceden diğer elektroanalitik tekniklerle (CV, SCP, NPP, NPV, DPP, DPV, SWV ) belirlenen Sabit Potansiyelli Elektroliz, bir tepkimede elektrot yüzeyinden aktarılan elektron sayısının doğrudan bulunabileceği önemli bir elektroanalitik yöntemdir. Bu potansiyelde sabit tutularak ölçüm yapıldığı için bu yöneme Sabit Potansiyelli (potansiyel kontrollü ) elektroliz ya da Bulk Elektroliz denir.

Sabit Potansiyelli Elektroliz tekniği diğer elektroanalitik yöntemlerden farklı olarak çalışılan elektrodun yüzey alanının oldukça büyük olduğundan dolayı çalışma süresinin bir saat veya daha fazla zaman aldığı bir tekniktir. Bu teknikte çalışma süresi sonunda elektroaktif türün konsantrasyonu, başlangıç konsantrasyonunun % 1'ine ulaştığında elektrolizin tamamlandığı varsayılır (Kılıç, 2015; Yılmaz, 2012; Turan, 2008; İsbir, 2007).

### 1.3.6. Sıyırma voltametri (SV)

Voltametri sıyırma yöntemleri, yüksek duyarlılığı sayesinde son yıllarda hızla gelişen ve yaygın olarak kullanılan elektrokimyasal yöntemlerden biridir. Eser elementlerin tayininde, karışım analizlerinde, hem organik hem de anorganik moleküllerin tayinlerinde kullanılabilmesi, ölçümlerinin kolay olması ve kullanılan cihazların ucuz olması sebebiyle son zamanlarda en dikkat çeken yöntemlerden biri olmayı başarmıştır (Alghamdi, 2010).

Voltametrik sıyırma teknikleri iki basamakta gerçekleşmektedir. Birinci basamakta analit elektrot yüzeyinde elektrolitik olarak biriktirilir ve bu basamağa biriktirme (ön deriştirme) basamağı denir. İkinci basamakta ise analit elektrot yüzeyinden ayrılır ve çözelti fazına geçer.

Sıyırma voltametrisinde analitin elektrodun yüzeyinde biriktirilmesi yönteminin değişmesi veya sıyırma basamağında uygulanan yöntemin değişmesine göre farklı şekillerde uygulanabilmektedir (Wang, 2006).

#### 1.3.6.1. Anodik sıyırma voltametri (ASV)

ASV, öncelikle metal iyonları elektrodun yüzeyinde biriktirilir. Bu adım ön deriştirme basamağı olarak tanımlanır ve bu basamak kontrollü potansiyel altında katodik olarak gerçekleştirilir.

ASV'de ön deriştirme;

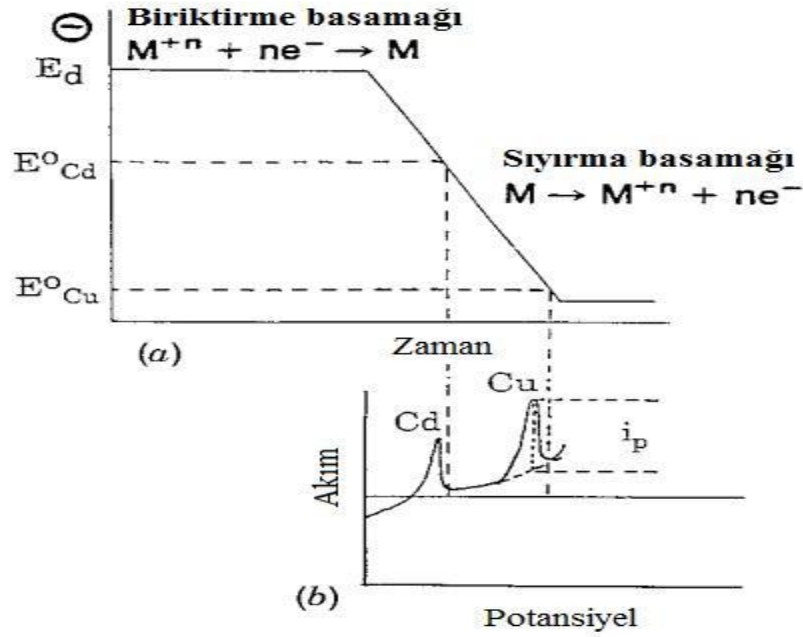


Sıyırma;



reaksiyonuna göre gerçekleşmektedir.

ASV'de potansiyel - zaman grafiği ise Şekil 1.8'de gösterildiği gibidir.



Şekil 1.8. Anodik sıyırma voltametrisinde a. Potansiyel - zaman dalga şekli b. Uygulanan potansiyel neticesinde elde edilen voltamogramlar (Wang 2000)

### 1.3.6.2. Katodik sıyırma voltametrisi (KSV)

KSV, organik ve inorganik olan, cıva ile çözünmeyen tuz oluşturabilen türlerin analizi için kullanılan, ASV'nin tam tersi bir yöntemdir. KSV'de analit, anodik olarak biriktirilir ve daha sonra negatif yönde bir potansiyel taraması yapılarak sıyırma basamağı gerçekleştirilir.

KSV'de biriktirme basamağında elektrot yüzeyinde oluşan çözünmeyen tuzlar elektrot yüzeyinde fazla toplanırsa sıyırma pikini bozabilir. Bundan dolayı, KSV çok seyreltik olan çözeltilerin tayini için daha uygun bir tekniktir (Brainina, 1972).

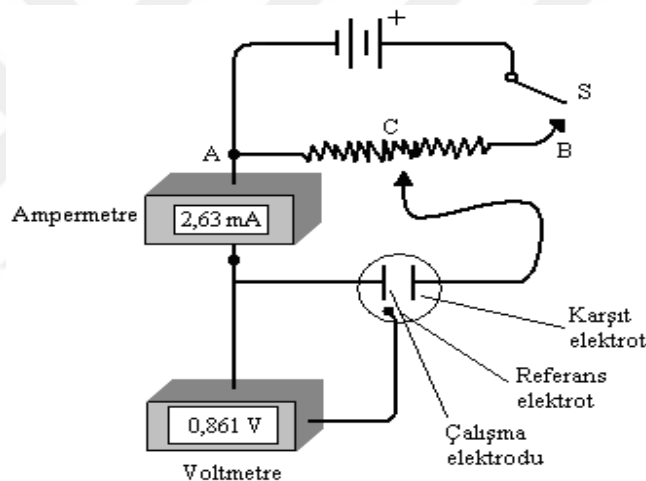
### 1.3.6.3. Adsorptif sıyırma voltametrisi (AdSV)

Sıyırma voltametrileri analiz edilmesi oldukça güç olan veya tayin edilemeyen eser miktarlardaki maddelerin tayini için kullanılan bir tekniktir. Bu yöntem, çözeltideki metalin uygun bir ligantla şelat haline getirilmesi ve oluşan şelatın elektrodun yüzeyine adsorpsiyon ile kontrollü olarak biriktirilmesiyle gerçekleştirilir. Adsorplanan şelat içindeki metal katyonu, uygulanan negatif potansiyel yardımıyla indirgenir (Wang 2006, Kissinger 1996).

Eser elementlerin yanı sıra, AdSV tekniği bazı organik moleküllerin ( ilaçlar, nükleik asitler, vitaminler, pestisitler gibi) tayininde de kullanılabilir. Moleküllerin redoks davranışına bağlı olarak, yüzeyde adsorbe edilen türün indirgenme veya yükseltgenmesiyle tayini gerçekleştirilebilir. Aynı zamanda çalışma elektrodunun yüzeyi çeşitli maddelerle modifiye edilerek adsorpsiyon özelliği seçimli duruma getirilebilir (Skoog ve ark., 2004).

#### 1.4.Voltametrik Cihazlar

Şekil 1.9'da doğrusal taramalı voltametrik ölçümleri yapmak için kullanılan hücre görülmektedir. Hücre, analit ve destek elektrolit adı verilen elektrolitin aşırıını içeren bir çözeltiye daldırılmış çalışma, referans ve karşıt olmak üzere üç elektrottan meydana gelmektedir.



Şekil 1.9. Voltametri için potansiyostat

Bu hücrede analitin indirgendiği veya yükseltgendiği çalışma elektrotu Kel-F ya da teflon gibi içine bir bağlantı teli yerleştirilmiş olan inert bir malzemedan yapılmış küçük, düz iletken disklerdir. Çalışma elektrotunun potansiyeli zamanla doğrusal olarak değiştiği ve bu elektrotun polarizasyonunu artırmak için boyutları küçük tutulmaktadır.

Referans elektrot elektrokimyasal uygulamalar sırasında potansiyeli dış ortamdan ve çalışılan çözeltinin bileşiminden etkilenmez, sabit kalır.

Karşıt elektrot, helezon şeklinde sarılmış bir Pt tel veya bir cıva havuzu şeklinde olan ve elektriğin kaynaktan çözelti içinden mikro elektrota aktarılmasını sağlayan elektrottur. Hücrede; referans ve çalışma elektrotları arasında bir potansiyel

uygulanmakta ve karşıt elektrot sayesinde potansiyel sabit kalmaktadır. Oluşan akım çalışma elektrotundan karşıt elektroda doğru akmaktadır.

Destek elektrolit olarak en yaygın kullanılan alkali metal tuzlarıdır. Destek elektrolit sayesinde polarografik bir hücrede, analitin elektrot yüzeyine göç etme hızının uygulanan potansiyelden büyük ölçüde bağımsız olması sağlanır (Skoog ve ark., 1996).

### **1.5.Voltametrde Kullanılan Destek Elektrolit ve Çözücüler**

Başarılı bir elektrokimyasal çalışma için deney düzeneğinin planlanan deney için elektriksel olarak doğru ve uygun olması önemlidir. Çalışmaya başlamadan önce dikkatlice göz önünde bulundurulması gereken birkaç nokta vardır. Çalışma, referans ve yardımcı elektrotların, çözücünün ve destekleyici elektrolitin, elektroanalitik tekniğin ve parametrelerinin uygun seçimini, elektrokimyasal devrenin uygun şekilde bağlanmasını ve son olarak, potansiyostat parametrelerinin uygun şekilde ayarlanmasını içerir.

Susuz ortam çalışmalarında elektrokimyasal incelemeler genellikle dimetilformamid, dimetil sülfoksit, asetonitril, propilen karbonat, nitrometan ve diğerleri gibi aprotik çözücülerde yapılır. Genellikle iyi tanımlanmış bir elektron dalgaları elde edilir. Bununla birlikte, elde edilen sonuçların güvenilir olduğundan emin olmak için, uygulanan çözücüdeki su konsantrasyonunun bilinmesi gerekir. Bu konsantrasyon, gerçek sulu olmayan özellikler elde etmek için analit konsantrasyonuna eşit veya daha yüksek olamaz. Susuz çözeltilerin direnci genellikle sulu çözeltilere kıyasla daha yüksek olduğundan, potansiyel düşüşüne ayrıca dikkat edilmelidir (Mülazımoğlu, 2008).

#### **1.5.1. Elektrolitler**

Bir elektrokimyasal hücre, dış devre (metalik iletken) üzerinden bağlanmış ve elektrolit adı verilen iyonik bir iletkenle ayrılmış iki elektronik iletken (elektrotlar) oluşur. Elektrotlar ya saf metalik iletkenler veya karışık elektronik ve iyonik iletkenler olabilirken, elektrotlar arasında kısa bir devreyi önlemek için ayırıcı elektronik bir yalıtkan olmalıdır. Prensip olarak, elektrolitler katı, sıvı ve gaz olmak üzere üç fiziksel durumda da kullanılabilir.

Katı elektrolitler, örneğin RbAg4I5, iyon seçici elektrotların yanı sıra oksijen, hidrojen, kükürt dioksit ve karbon dioksit gibi gazlara duyarlı sensör ve elektrokimyasal hücreler gibi özel çalışmalarla sınırlıdır. En yaygın katı elektrolit sensörü, bir cam

membranın, şarj taşıyıcı olarak sodyum iyonlarına sahip bir iyonik iletken olduğu bir pH elektrolit sensörüdür.

Sıvı elektrolitler, iyonik tuzların, asitlerin ve bazların veya erimiş iyonik tuzların çözeltileridir.

Gazlı elektrolitler bazı iyonize buharlardır. Ancak karışık elektronik ve iyonik iletkenlik sergileyen gazlar iyi ayırıcılar değildir. Analitik elektrokimyada en yaygın elektrolitler çözeltilerdir.

#### İyonik Çözeltiler:

Elektrokimyada en sık kullanılan elektrolitler iyonik çözeltilerdir. Çözünen maddeler gerçek veya potansiyel elektrolitlerdir.

Gerçek elektrolitler, saf katı halde iyonik kristaller gibi görünen bileşiklerdir. Eritildiğinde saf sıvı formdaki gerçek elektrolitler iyonik iletkenlerdir. Bütün tuzlar bu sınıfa aittir.

Potansiyel elektrolitler, saf sıvı halde çok az iletkenlik gösterir. Ayrı nötr moleküllerden oluşurlar ve bu moleküllerde atomların bağlanması esasen kovalenttir. Çözücüler asit-baz reaksiyonlarıyla iyon oluştururlar. Protonları hem kabul edip hem de bağışlayabilen amfiprotik ve protonları kabul etmeyen veya bağışlamayan aprotik olmak üzere iki geniş çözücü kategorisi vardır. Çözücüler ayrıca nispi geçirgenlik, polarite ve protofilik özelliklerine göre de sınıflandırılabilir. Polar çözücü molekülleri kalıcı bir dipol momenti içerir. Bir elektrik alanında, dipoller buna karşı yönelir ve bir karşı elektrik alanına neden olur. Bazı çözücü moleküllerde, elektrik alanı dipol momentini indükleyebilir. Bu nedenle, çözücü içindeki net elektrik alanı, vakumda olduğundan daha azdır. Alanın bu şekilde düşmesi, dielektrik sabiti denilen ampirik bir sabite veya çözücünün geçirgenliği ile orantılıdır.

Çözücü seçimi, öncelikle analitin çözünürlüğü ile belirlenir. Hem çözücü hem de destekleyici elektrolit, analit ile geniş bir potansiyel aralığında elektrokimyasal reaksiyonlara girmemelidir. Elektrokimyasal olarak üretilen radikallerin analizi için proton donörlerinden (örn. H<sub>2</sub>O) dikkatlice saflaştırılmış aprotik çözücüler kullanılır. Çözünmüş oksijen tüm çözücülerden uzaklaştırılmalıdır. Çünkü oksijen doymuş bir calomel elektrotuna karşı negatif potansiyellerde meydana gelen elektrot reaksiyonlarının çoğuna müdahale eder. Sudaki oksijen konsantrasyonu yaklaşık  $5 \cdot 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>'dir. Oksijen, iki adımda çözeltilinin pH'sına bağlı olarak peroksit ve hidroksit iyonlarına veya suya indirgenir. Oksijen ve peroksit, elektrolitik indirgenme ürünleri ile reaksiyona girebilir. Oksijen, ölçümden önce yaklaşık 5-10 dakika boyunca yüksek

saflıkta azot gazıyla temizleyerek ve daha sonra çözeltinin üzerinde bir azot battaniyesi tutularak sulu çözeltilerden çıkarılabilir. Mümkün olduğu kadar ölçümler arasında kabarcıkların bertaraf edilmesi gerekir. Oksijen, bazı organik çözücülerden argon altında destilasyon işlemi ile en iyi şekilde çıkarılır. Ardından saflaştırılmış çözücünün hava ile teması önlenir ve ölçümlerden hemen önce argon veya azot gazıyla temizleme işlemi yapılır (Üstündağ, 2008).

### 1.5.1.1.Sulu Elektrolit Çözeltileri

Analizlerin çoğunda ultra saf su kullanılabilir. Sıyırma analizine ciddi şekilde girişim yapan organik bileşiklerin izleri, ilk damıtma potasyum permanganat ve bazı KOH topraklarının eklenmesi ile yapıldığında çok verimli bir şekilde çıkarılabilir. Bu durumda, buharın soğutucuya taşındığı cam tüpleri elektriksel olarak ısıtmak gerekir. Bu işlem permanganat çözeltisinin ürün kabına sürünmesini önlemenin tek yoludur. Günümüzde, deiyonize su sıklıkla kullanılmaktadır. Spesifik elektrik direnci 18.2 Megaohm-cm olana kadar katyon ve anyon değiştirme kolonlarından geçirilmektedir. Ek olarak, organik maddelerin uzaklaştırılması için örneğin kömürle doldurulmuş özel kolonlar uygulanabilir.

Su, alkoller, fenoller, amonyak, aminler, amitler ve karboksilik asitler gibi hidrojen bağları oluşturabilen iyonik olmayan bileşikleri çözebilir.

Genel gereklilikleri karşılayan destekleyici elektrolitler inorganik tuzlar (KCl, KNO<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NaCl, NaClO<sub>4</sub>, NaNO<sub>3</sub> ve NH<sub>4</sub>Cl), tamponlar (borat, sitrat, dihidrojen ve hidrojen fosfat) mineral asitler ve bazlardır (HCl, HClO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, HNO<sub>3</sub>, KOH, NaOH ve NH<sub>3</sub>). Anyonların kompleks metal iyonlarına üstünlüğü, voltametrik ölçümlerin seçiciliğini etkileyebilir. Etkiyi arttırmak için, elektrolite bir maskeleyici ajanı (örneğin bir polidentat ligand) eklenebilir. Yüksek asidik katyonların hidrolizi, çözeltilere asit veya bazların eklenmesiyle kontrol edilebilir. Bu nedenle elektrolitin bileşimi, belirli bir çalışmanın hedeflerini karşılaması adına önemlidir (Üstündağ, 2008).

### 1.5.1.2.Susuz Elektrolit Çözeltileri

Alkollerin yapısal özellikleri suya benzemekle beraber organik bileşikler için daha iyi çözücülerdir. İnorganik tuzların ve bazların (NaClO<sub>4</sub>, LiCl, NH<sub>4</sub>Cl ve KOH) yanı sıra; tetra-i-amilamonyum perklorat (TAAClO<sub>4</sub>), tetra-i-amilamonyum tetrafenilborat (TAATPB), tetra-i-amilamonyum tetra-i-amilborat (TAATAB),

tetrabutilamonyum perklorat ( $TBACl_4^-$ ), tetrabutilamonyum iyodür (TBAI), tetrabutilamonyum tetrafloroborat ( $NBu_4BF_4$ ), tetrabutilamonyum tetrafenilborat (TBATPB), tetrabutilamonyum klorür (TBACl), tetrabutilamonyum bromür (TBABF), tetrabutilamonyum heksaflorofosfat (TBAHFP), tetraetilamonyum perklorat ( $TEAClO_4$ ), tetraetilamonyum klorit (TEACl), tetraetilamonyum bromür (TEABr), tetraetilamonyum iyodür (TEAI), tetraetilamonyum nitrat ( $TEANO_3$ ), tetralamonyum nitrat ( $TEANO_3$ ) gibi tetraalkilamonyum tuzları diğer kullanışlı destek elektrolitlerdendir.

Asetik asit, asetik anhidrit, formik asit ve metansülfonik asit, bazen zayıf bazların asit baz titrasyonlarında, nadiren polarografi ve voltametri de kullanılır. İnorganik tuzlar ve asitler ( $LiCl$ ,  $KCl$ ,  $NaClO_4$ ,  $Mg(ClO_4)_2$ ,  $HCl$ ,  $HClO_4$  ve  $H_2SO_4$ ) varlığında, bir cıva elektrotunda erişilebilir potansiyel aralığın katodik limiti  $-0.80/-1.70$  V arasındadır. Hidrojenin boşaltılmasıyla belirlenen sulu doymuş kalomel elektrotuna (SCE) karşılık gelir. Bir platin elektrotta anodik limit sulu SCE'ye karşı yaklaşık  $+1.50$  V'tur. En iyi referans elektrotu cıva-kalomel çiftidir.  $Hg | Hg_2Cl_{2(s)}, LiCl_{(s)}$  asetik asit içinde sulu SCE'ye karşı potansiyeli  $-0.055$  V'tur. Ayrıca gümüş/gümüş (I) çifti referans olarak kullanılabilir:  $Ag | AgCl_{(s)}$ , asetik asit içinde  $1 \text{ mol L}^{-1} LiClO_4$  ( $E = 0.350$  V vs. SHE).

Piridin ( $C_5H_5N$ ), etilendiamin ( $H_2NCH_2CH_2NH_2$ ), heksametilfosforamid ( $[(H_3C)_2N]_3PO$ ) ve morfolin (tetrahidro-1, 4-oksazin,  $C_4H_8NO$ ); cıva, platin ve grafit elektrotlarda metal iyonlarının katodik indirgenmesi için kullanılan temel çözücülerdir. Metalik iyonlarla Lewis asit-baz katılma bileşikleri oluştururlar ve çeşitli alkali, alkalın toprak, nadir toprak ve geçiş metali tuzları, organometalik bileşikler ve bazı organik bileşikler çözerler.

Eterler organik bileşikler için iyi çözücülerdir, ancak çözeltileri oldukça dirençli kılan düşük dielektrik sabitlerine sahiptirler. Elektrokimyasal olarak inertlerdir ve elektrolitlerin ayrışması ya da cıva oksidasyonu ile sınırlanan oldukça geniş potansiyel aralığı sağlarlar. Tetrahidrofuran (tetrametilen oksit,  $C_4H_8O$ ), 1,2-dimetoksietan ( $H_3C-O-CH_2CH_2-O-CH_3$ ), 1,2-epoksibütan ( $C_4H_8O$ ), 1,4-dioksan ve dietil eter voltammetride kullanılan eterlere örnektir. Uygun destekleyici elektrolitler,  $LiClO_4$ ,  $NaClO_4$  ve  $TBAClO_4$ 'tür. Referans elektrotları:  $Ag | AgClO_{4(s)} | 0.3 \text{ mol / L } LiClO_4$ ,  $C_4H_8O$  ve  $Ag | AgNO_{3(s)} | 0.1 \text{ mol L}^{-1} TBAClO_4$ ,  $(H_3COCH_2)_2$  ( $E = 0.627$  V ve SCE sulu).

Asetonitril ( $H_3CCN$ ), nitril grubunun en iyi bilinen üyesidir. Birçok polar veya iyonize organik bileşikler ve bazı inorganik tuzlar için mükemmel bir çözücüdür. Ancak doymuş hidrokarbonlar ve  $NaCl$  için aynı durum söz konusu değildir. Asetonitril elektrokimyasal olarak etkisizdir ve oldukça yüksek bir geçirgenliğe sahiptir. En iyi elektrolitler  $LiClO_4$ ,  $NaClO_4$ ,  $TBAPB$ ,  $TEATPB$ ,  $TAATPB$ ,  $TBAClO_4$ ,  $TEAClO_4$  ve mineral asitlerdir. En iyi referans elektrodu  $Ag | 0.1 \text{ mol L}^{-1} AgNO_3 || 0.1 \text{ mol L}^{-1} NaClO_4$  ( $E = 0.3 \text{ V vs. SCE}$  sulu) 'dir.

Düşük moleküler ağırlıklı N-metil ikameli amidlerin geçirgenliği, suyunkinden daha büyüktür. Bu grupta en yaygın kullanılan çözücü dimetilformamid [ $HCON(CH_3)_2$ ] 'dir. Polar ve polar olmayan organik bileşikleri ve inorganik perkloratları kolayca çözer. Yararlı destekleyici elektrolitler  $NaClO_4$ ,  $TBAClO_4$ ,  $TBAPB$ ,  $TEAClO_4$  ve  $TBAI$ 'dir.

Dimetil sülfoksit, birçok organik ve inorganik bileşiği çözen polar bir sıvıdır. Alkoller, aldehytler, ketonlar, esterler, eterler, heterosiklikler, aromatik bileşikler, iyodürler, bromitler, kloritler, perkloratlar ve nitratlar dimetil sülfoksit ile iyi çözünürken, parafinler, daha yüksek alkoller, fluoritler, sülfatlar ve karbonatlar dimetil sülfoksit ile çözünmezler.  $NaClO_4$ ,  $LiCl$ ,  $NaNO_3$ ,  $KClO_4$  ve tetraalkilamonyum perkloratlar oldukça yaygın kullanılan destekleyici elektrolitlerdir.

Metilen klorür ( $CH_2Cl_2$ ) organometalik bileşikler için çok iyi bir çözücüdür, fakat geçirgenliği oldukça düşüktür. Destekleyici elektrolit olarak  $TBAClO_4$  kullanıldığında, erişilebilir potansiyel aralıkları; bir platin elektrot için  $+1.80/-1.70 \text{ V}$  (SCE) ve bir cıva elektrotu için  $+0.80/-1.90 \text{ V}$  (SCE) arasındadır.  $CH_2Cl_2$ , Lewis baz özellikleri olmayan aprotik ve çok zayıf koordine edici bir çözücüdür ve tetrakis (pentaflorofenil) -borat tuzları, bir Pt elektrotu için çok değerli destekleyici elektrolitlerdir. Metalloporfirinlerin voltametik ölçümleri ve aromatik hidrokarbonların katyon radikalleri için uygun bir ortamdır. Bu amaçla, çözücü içindeki suyun içeriği en aza indirilmelidir (Üstündağ, 2008).

## 1.6.Elektrokimyada Kullanılan Elektrotlar

### 1.6.1. Çalışma Elektrotu

Çalışma elektrotu, uygulanan işlemlerin gerçekleştiği elektrottur. Amaca göre karbon, altın platin vb elektrotlardan biri kullanılabilir. Buradaki önemli husus,

yapılacak olan çalışmada hangi potansiyel aralığında çalışılacağı belirlenmiş olmasıdır. Genellikle, pozitif potansiyeller aralığında, platin, altın ve karbon (grafit, camsı karbon) elektrotlar kullanılır. Bu malzemelerin yüzeyleri, bu potansiyel aralıktaki sulu çözeltilerde kısmen oksitlenir. Altın ve platinde ince oksit tabakaları oluşur ve  $-C = O$  ve  $-OH$  gibi çeşitli fonksiyonel gruplar karbon malzemelere bağlanır.

Negatif potansiyel aralığında, sulu çözeltilerde ve diğer protik çözücülerde cıva elektrotları, hidrojenin azalmasının yüksek aşırı potansiyeli nedeniyle üstündür. Ayrıca birçok organik bileşik cıva üzerinde kuvvetle adsorbe olur ve bu da voltamogramların analizini karmaşıklaştırabilir. Aprotik çözücülerde Pt, Au ve C elektrotları hem pozitif hem de negatif potansiyel aralıklarında kullanılabilir. Ir ve Ag gibi diğer soy metallere yapılan elektrotlar daha az kullanılır.

Çalışmada kullanılan katı bir elektrot, genellikle çok dikkatli ön işlem gerektirir. Elektrot yüzeyi, ıslak bir keçe üzerinde temiz ve parlatılmış olmalıdır. Bu, çeşitli boyutlardaki aşındırıcı tozlar (veya elmas ve alümina gibi sudaki süspansiyonları) kullanılarak yapılabilir. Yüzeyin gerçek durumuna bağlı olarak parlatma, uygun miktarda aşındırıcı malzemeyle başlamalı, ardından daha küçük boyutta tozlar yardımıyla parlatma yapılmalıdır. Genellikle, bu işlemin sonunda, 0.1 ve 0.05  $\mu m$  alümina tozları kullanılır. Parlatma işleminden sonra, elektrot yüzeyi alümina bulamacının yüzeyden uzaklaştırılması için su ile dikkatlice temizlenmelidir.

Çoğunlukla, tekrarlanabilir eğriler elde etmek için, katı elektrotun bir elektrokimyasal aktivasyona / rejenerasyona ihtiyacı vardır. Bu, elektrotu uygun bir çözelti içerisinde tutarken, potansiyelin uygun bir aralıkta çevrilmesiyle yapılır. Au ve Pt elektrotları ile yapılan çalışmalarda, voltammetrik çevrim / aktivasyon genellikle seyreltik bir sülfürik asit içerisinde yapılır (Durmuş, 2016).

### 1.6.2. Referans Elektrotu

Uygun bir referans elektrot seçimi, özellikle inceleme altındaki redox çiftlerinin potansiyelleri hakkında doğru ve kesin veriler gerektiğinde voltametriye eşit derecede önemlidir. Hg ve Ag'e dayanan geleneksel elektrotlar ( $Hg/HgCl$ ,  $Hg/Hg_2SO_4$ ,  $Ag/AgCl$ ) her zaman kullanılabilir. Bununla birlikte, derişik elektrolitleri analiz edilen çözeltilerden iyi ayrılmalıdır. Başka bir deyişle, çözeltinin referans elektrodundan hücreye sızıntısını önlemek için her şey yapılmalıdır ve bunun tersi de geçerlidir. Bu nedenle, her şeyden önce, analiz edilen çözeltiyle doldurulmuş ve uygun iletken tapalarla iyice kapatılmış

iyi bir elektrolit köprü kullanılmalıdır. Ayrıca, aynı çözücünün hücrede ve referans elektrot bölmesinde kullanılması tavsiye edilir.

Deneyler iki elektrotlu bir sistem ile gerçekleştirildiğinde, akım referans elektrodundan geçer. Bu şartlar altında referans elektrot potansiyeli zamanla kararlı olmayabilir. Çalışma elektrotu ne kadar küçük olursa, referans elektrotun potansiyelini etkileme riski o kadar küçüktür. Çalışma elektrotları olarak mikro elektrotlarla (aktif parçaların boyutları mikrometre ya da daha az olan elektrotlar) yapılan çalışmalarda, iki elektrot sisteminin kullanımı doğrulanır. Üç elektrotlu sistem kullanılırsa, referans elektrot pratik olarak sadece çok küçük bir akımla yüklenir; bu akım pA aralığındadır. Bu küçük akımlar, referans elektrodun potansiyelini belirleyen türlerin aktivitelerini önemli ölçüde etkileyemez. Bu nedenle çoğu durumlarda, voltametrik yarı dalga potansiyeli veya maksimum potansiyelinin tam olarak bilinmesi gerekmediğinden ve asıl önemli olan dalga yüksekliği olduğundan, yarı referans elektrotları kullanılabilir. Çoğunlukla, incelenen çözeltiliye batırılmış bir parça platin folyo parçası yarı referans elektrot olarak kullanılır. Yarı referans elektrotlar, çok düşük bir iyonik kuvvet çözeltilisindeki voltametri uygulamalarında, özellikle yararlıdır (Durmuş, 2016).

### **1.6.3. Karşıt Elektrot**

Karşıt (yardımcı) elektrot yalnızca üçlü elektrot sisteminde kullanılır. Bu sistemde akım çalışma ve karşıt elektrotu arasında akar. Karşıt elektrot olarak bir parça platin folyo veya bir platin veya titanyum tel kullanılır. Karbon çubuklar da kullanılır. Karşıt elektrot alanının büyük ölçüde çalışma elektrotunkinden daha büyük olması önerilir. Bu koşul yerine getirilirse, yüzeyin bloke edilmesi gibi durumlarda akımın ölçülmesini karşıt elektrot etkilemez (Durmuş, 2016).

### **1.6.4. Modifiye Elektrotlar**

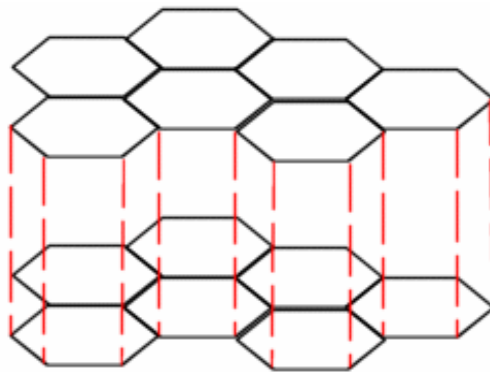
Elektrokimyada kullanılan katı elektrotların modifiye edilebilir özelliğe sahip olmalarından dolayı elektroanaliz, elektrokataliz, elektrosentez ve enerji dönüşümü amacıyla çok çeşitli uygulama alanlarında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Modifikasyon işlemi ile kimyasal maddeler ya kendiliğinden ya da dışardan uygulanacak bir etki ile elektrot yüzeyine tutturulması ile elektrot yüzeyi elektroaktif hale getirilir. Bu haldeki yüzeyde elektron aktarım hızları değiştirilebilir. Modifikasyon

işlemi elektrotun sadece yüzeyinde gerçekleştiği için iç kısımlarında herhangi bir değişiklik olmaz. Dolayısıyla yüzey modifikasyonu işlemi ile elektrotun çıplak yüzeye göre elektrokimyasal davranışları değişmekte ve katı elektrot yüzeyindeki istenmeyen olaylarda bertaraf edilebilmektedir.

Katı elektrotların modifiye edilebilir olmaları cıva elektrota göre üstün kılmaktadır. Elektrotun modifiye edilebilmesinde ki en önemli husus elektrot olarak kullanılacak malzemelerin elektriksel olarak iletken özelliğe sahip olmalarıdır. Bu anlamda karbon yüzeyler; metal, yarı iletken veya iletken polimer, substrat malzeme olarak kullanılabilir. İyi bir substrat malzemelerde aranan özellikler olarak; mekanik olarak kararlı bir yapıya ve yüksek elektriksel iletkenliğe sahip olmaları, destek elektrolit içerisinde oluşabilecek girişim ve korozyona karşı iyi bir direnç göstermeleri ve bileşiklerin kovalent bağlanma durumlarında substratın bu tepkime için uygun olması olarak sayabiliriz.

Kimyasal olarak aktif olmayan yani kararlı olan Pt ve Au modifikasyon işlemlerinde çok kullanılır. Modifikasyon işleminde önce metaller elmas veya alümina tozu kullanılarak parlatıldıktan sonra elektrot, nitrik asit ve su ile yıkanarak temizlenir. Son olarak sonikasyona tabi tutulmak suretiyle elektrotun yüzeyindeki ve etrafındaki parçacıklar elektrottan uzaklaştırılır.

Karbon katı elektrot olarak çok kullanılır ve tek kristalli grafit, toz haline getirilmiş grafit, yüksek düzenlilikte pirolitik grafit (HOPG), karbon siyahı ve camsı veya seramik karbon gibi türleri mevcuttur. Hekzagonal karbonlar içeren levhaların içinde tabakalı bir yapıya sahip olan grafit Şekil 1.10'da gösterilmektedir (Mülazımoğlu, 2008; İsbir, 2007; Özdemir, 2006).



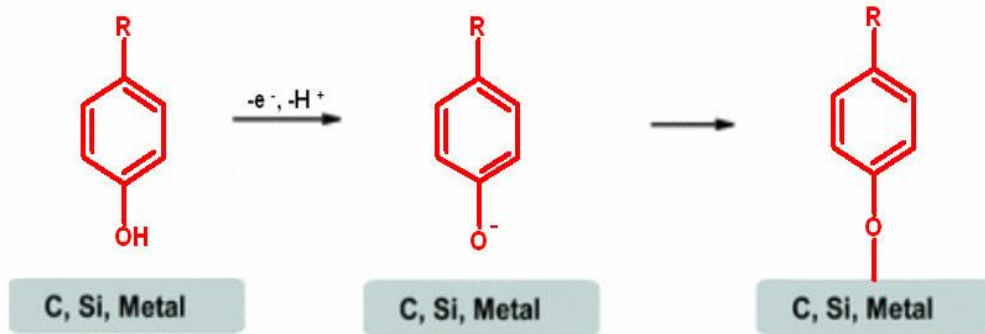
Şekil 1.10. Grafitin tabaka yapısı

## 1.7.Modifikasyon Metotları

Modifiye yüzeylerin hazırlanmasında, tercih edilen amaca ve şartlara uygun olması kaydıyla bir çok yöntem kullanılmaktadır. Dolayısıyla çalışma amacına uygun moleküllerin ve modifikasyon metodunun seçilmesi önemlidir. Burada; alkol oksidasyonu, amin oksidasyonu ve diazonyum tuzu indirgenmesi modifikasyonu hakkında kısaca bilgi verilecektir.

### 1.7.1. Alkol Oksidasyonu Modifikasyonu

Alkol oksidasyonu modifikasyonu, hidroksil grubu bağlı bir molekülün sulu ortamda katı çalışma elektrotuna dönüşümlü voltametri yöntemi uygulanarak tutturulması ile gerçekleşmektedir. Katı elektrot olarak; camsi karbon, platin veya altın gibi metal bir çalışma elektrotu kullanılabilir. Modifiye edilen elektrotun yeniden kullanılması için zımpara kâğıdı ve alümina tozu ile temizlenen yüzey su ve asetonitril ile sonikasyona tâbi tutularak hazır hale getirilir. Alkol oksidasyonu modifikasyonu genellikle sulu ortamda gerçekleştirilir. Şekil 1.11’de alkol oksidasyonu yöntemi ile elde edilen yüzey gösterilmektedir (Mülazımoğlu, 2008).

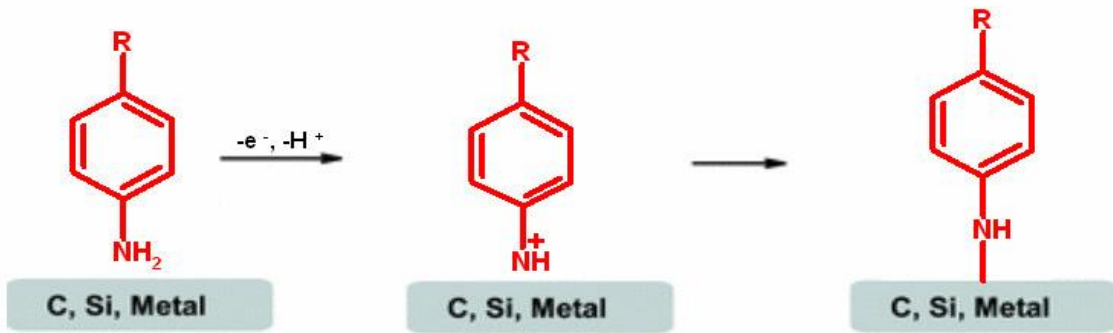


Şekil 1.11. Alkol oksidasyonu yöntemi ile elde edilen yüzey

### 1.7.2. Amin Oksidasyonu Modifikasyonu

Amin oksidasyonu modifikasyonu, amin grubu bağlı bir molekülün sulu ortamda dönüşümlü voltametri yöntemi uygulanarak tutturulması ile gerçekleşmektedir. Katı elektrot olarak camsi karbon veya platin, altın gibi bir metal çalışma elektrotu kullanılabilir. Bu yöntemde dönüşümlü voltametri tekniği ile pozitif tarama yapıldığında, amin bileşiğinin yüzeye tutunma piki oldukça belirgin bir şekilde

görülebilmektedir. Amin bulunan molekül genellikle ilk taramada bağlanır ve sonra gelen döngülerde pik gözlenmez. Bunun yanında pik gözlenmemesine rağmen yüzeyde çoklu tabakaların meydana gelme ihtimali vardır. Öte yandan bu metotla elde edilen modifiye yüzeylerin kullanım ömürleri uzun olmadığından modifiye işleminden hemen sonra kullanılmaları önem arz eder. Bu yöntemde de kullanılan elektrot temizliği yukarıda anlatılan alkol oksidasyon metodunda olduğu gibidir. Amin oksidasyonu modifikasyonu genellikle sulu ortamda gerçekleşir. Şekil 1.12’de amin oksidasyonu yöntemi ile elde edilen yüzey gösterilmektedir (Mülazımoğlu, 2008).



Şekil 1.12. Amin oksidasyonu yöntemi ile elde edilen yüzey

### 1.7.3. Diazonyum tuzu indirgenmesi modifikasyonu

Diazonyum tuzu (DAS) indirgenmesi modifikasyonunda, sıcaklığın 0°C’i geçmediği ortamda süstitüent olarak amin grubu bağlı bir molekülün diazonyum tuzu sentezlenir. Sıcaklık kontrolü için ekzotermik olan çıkış maddesi, tetrafloroborik asitte (HBF<sub>4</sub>) çözünerek diazonyum tuzunun tetrafloroborat anyonlu tuzu oluşur. Elde edilen diazonyum tuzu dönüşümlü voltametri tekniği ile diğer tekniklerde kullanılan katı elektrotların kullanılmasıyla susuz ortamda modifiye edilir. Bu yöntemde yüzeyde oluşabilecek pinhol ihtimaline karşın modifikasyon genellikle çok döngülü olacak şekilde yapılır.



Şekil 1.13. Diazonyum tuzu indirgenmesi ile elde edilen yüzey

Amin oksidasyonu ile modifikasyonu ile molekül elektrotta azot ucundan bağlanırken diazonyum tuzu indirgenmesi metodunda molekülün amin grubu,  $N_2^+$  grubuna dönüştüğü ve modifikasyon sırasında  $N_2^+$  grubu ayrıldığı için molekül karbon ucundan bağlanır. Diazonyum tuzu indirgenmesi yönteminin diğer bir farkı ise modifikasyonun susuz ortamda yapılmasıdır (Mülazımoğlu, 2008).

### 1.8.Modifiye Yüzeylerin Karakterizasyonu

Modifiye yüzeylerin karakterizasyonu genel olarak elektrokimyasal, spektroskopik ve mikroskopik olmak üzere üç yöntemle yapılmaktadır.

#### 1.8.1. Elektrokimyasal Yöntemler

Modifiye elektrot yüzeylerinin karakterizasyonunda en çok kullanılan teknik elektrokimyasal yöntemlerdir. Bu yöntem, çıplak elektrot yüzeyi ile modifiye edilmiş bir elektrot yüzeyi karşılaştırılarak iki yüzey arasındaki farklılıkların ortaya çıkarılması esasına dayanır.

Modifiye yüzeylerin elektrokimyasal yöntemlerle karakterizasyonunda kullanılan yöntemler olarak; dönüşümlü voltametri (CV), kronoamperometri (CA), elektrokimyasal impedans spektroskopisi (EIS), kronokulometri (CC) yöntemleri ve yeni bir teknik olan elektrokimyasal kuartz kristal mikrobals (EQCM) yöntemini sayabiliriz.

Esas olarak yüzeyde bulunan molekülün elektron aktarımına ne derece direnç gösterdiğini **EIS tekniği** ile yorumlayabiliriz. Voltametrik tekniklerin çoğunda sistemin denge durumu bozulduğu için, elektrokimyasal sistemlerin denge halinde incelenmesine olanak sağlayan bu teknik modifiye yüzeylerin karakterizasyonda kullanılan güçlü bir yöntemdir. Diğer voltametrik tekniklerde elektrokimyasal sistemlere bir sinyal gönderilir ve cevabı ölçülür. Fakat EIS tekniğinde sisteme gönderilen sinyal düşük genlikli AC potansiyeli olduğundan sistemin denge durumu bozulmaz. Bu haliyle EIS tekniği, modifiye yüzeylere zarar vermeyen hassas bir teknik olarak karşımıza çıkar. Bu teknik, frekans değişimlerine bağlı olarak yapıldığı için elektrokimyasal impedans spektroskopisi adını almıştır. Ayrıca EIS korozyon, sensörler, piller, film yüzeylerinin karakterizasyonu, yarı iletken elektrotlar ve biyolojik sistemlerin incelenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Üstündağ, 2008; Çiftçi, 2009).

**Kronoamperometri tekniği (CA)**, durgun ortamda akım-zaman ilişkisinin incelenmesine dayanır. Burada çalışma elektrotunun potansiyelinin faradayik bir tepkime olmasına yetmeyecek düşük bir potansiyelden ( $E_1$ ), elektron aktarım hızının çok yüksek olduğu yüksek bir potansiyele ( $E_2$ ) ani olarak değiştirilmesi işlemi uygulanmasıyla ölçülen akımın kullanılarak akım-zaman ilişkisi izlenmekte ve kütle transferi sadece difüzyon etkisiyle gerçekleşmektedir. Bu teknik sayesinde; elektron aktarım reaksiyonunun hız sabiti ve elektron aktarım basamağına eşlik eden bir kimyasal reaksiyonun hız sabiti hesaplanabildiği gibi elektrot reaksiyonunun mekanizması ve elektrotta bir adsorpsiyon olayı meydana gelip gelmediği belirlenebilir (Çiftçi, 2009).

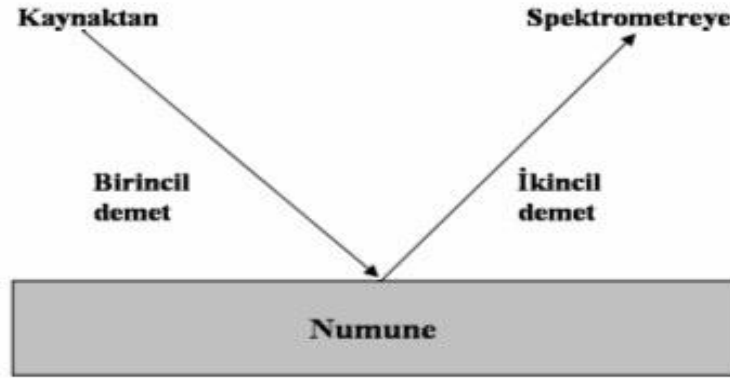
Elektrot yüzeyindeki yük miktarı ile zaman arasındaki ilişkinin incelendiği **Kronokulometri (CC) tekniğinde**; deney tamamlanıncaya kadar geçen zamanda oluşan akım zamana karşı grafiğe geçirilir. Bu grafikte meydana gelen eğrinin altında kalan alan hesaplanırsa elektrot yüzeyindeki toplam yük miktarı tespit edilmiş olur. Kronokulometri tekniği daha çok adsorpsiyon kinetiğini incelemek amacıyla kullanılmasının yanında yüzeye adsorbe olan türün yüzey konsantrasyonu tespitinde de kullanılmaktadır (Çiftçi, 2009; Bard and Faulkner 2001).

**Elektrokimyasal Kuartz Kristal Mikrobals (EQCM) Tekniği** ile altın, platin, gibi elektrotların yüzeyindeki kütle değişimini veya yüzeyinde bulunan sıvı tabakanın viskozitesindeki ve yoğunluğundaki değişimi tespit edilebilir. Bu teknikle bir yüzey modifiye edilirken, elektrot üzerindeki kütle birikimi esas alınmak suretiyle modifiye yüzeyin karakterizasyonu sağlanır. Elektrokimyasal kuartz kristal mikrobals tekniğinin sık kullanıldığı çalışmalar olarak; korozyon çalışmaları, kütle aktarımı, tabaka oluşumu, adsorpsiyon ve desorpsiyon işlemleri, sabit potansiyelle madde biriktirme, reaksiyon mekanizmasının aydınlatılması, yüzey  $pK_a$  tayinleri ve analitik sensör çalışmalarını sayabiliriz (Üstündağ, 2008).

### 1.8.2. Spektroskopik Yöntemler

Spektroskopik yöntemler sayesinde, yüzeye bir ışın demetinin gönderilmesiyle yüzey hakkında bilgi edinilmeye çalışılır. Bu yöntemler yüzeylerin optik ve elektron mikroskopik görüntülerinin eldesinde, adsorpsiyon izotermelerinin, gözenek boyutlarının, yüzey alanlarının, yüzey pürüzsüzlüğünün ve yansıtıcılığının ölçülmesinde kullanılır. Bir katının birkaç angstrom ile birkaç nanometre kalınlığındaki yüzey

tabakası hakkında kalitatif ve kantitatif bilgi sağlamak için kullanılan spekterokopik yöntemler ile numune yüzey analizleri için cereyan eden olaylar Şekil 1.14’de şematize edilmiştir.



Şekil 1.14. Yüzey spektrometrinin genel şeması

Şekil 1.14’de katı numune foton, elektron, iyon veya nötral moleküllerle ışınlanması sonucu saçılan ışın demetinin yüzey üzerine çarpması sonucu, katı yüzeyden yine fotonlardan, elektronlardan, moleküllerden veya iyonlardan oluşan ikincil bir demet yayınlanır. Yayınlanan bu ışın demeti kaynaktan gelen ışın demetiyle aynı olmak zorunda değildir. Yansıyan bu ışın demetleri daha sonra çeşitli spektroskopik yöntemlerle incelenir (Mülazımoğlu, 2008).

### 1.8.3. Mikroskobik Yöntemler

Modifiye yüzeylerin fiziksel özelliklerinin belirlenmesinde kullanılan mikroskobik yöntemlerde, görüntü örnek yüzeyinin bir elektron demetiyle raster düzeninde taranmasıyla elde edilir. SEM, AFM ve elipsometri başlıca mikroskobik yöntemlerdendir.

#### 1.8.3.1.Taramalı Elektron Mikroskopi ( SEM)

Katı numune yüzeyi, yüksek enerjili bir elektron demetiyle taranmasıyla yüzeyden çeşitli türlerde sinyaller alınır. Numuneden alınan bu sinyallerin kodlanmasıyla numunenin 2 ya da 3 boyutlu bir haritası oluşturulur. Bu harita kullanılarak okunan değerler bize o numunenin kimyasal özellikleri hakkında bilgi verir (Durmuş, 2016).

### 1.8.3.2. Atomik Kuvvet Mikroskopisi (AFM)

Katı veya sıvı yüzeylerinin nanometre (nm) seviyesinde topografik görüntülenmesinde kullanılan bir taramalı prop mikroskopisi yöntemi olup, substratın yüzeyinin temiz ve pürüzsüz olması iyi bir görüntü elde etmek için büyük önem arz eder.

Bu teknikte numunenin hazırlanmasının kolay olmasıyla birlikte hava, sıvı, vakum gibi ortamlarda görüntüleme yapılabilmesi en önemli avantajlarından. Burada numunenin iletken olma şartı olmadığı gibi atomik boyutlara kadar sivriltilmiş bir iğne ucu yardımıyla, yüzeyin yüksek çözünürlükte, üç boyutlu görüntülenmesini sağlamak mümkündür (Durmuş, 2016).



## 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Üre ve amonyum toprak ve su için zararlı olduklarından dolayı buralardan uzaklaştırılması istenir. Uygulama sahasında üre adsorbsiyon, oksidasyon, biyolojik, kimyasal ve enzimatik bozunma gibi yöntemlerle uzaklaştırılma yoluna gidilse de bu prosesler yüksek enerji ve karmaşık sistemler gerektirdiği için özellikle endüstride kullanımı çok sınırlı kalmaktadır. Bu yöntemlere ilaveten bu amaçlar için elektrokimyasal oksidasyon da alternatif bir yöntem olarak kullanılmaktadır.

Pek çok makale göstermektedir ki amonyumun elektrokimyasal bozunması sayesinde anot yüzeyindeki aktif klorür iyonlarıyla yapılan dolaylı oksidasyon ile amonyumun uzaklaşması sağlanmaktadır. Pek çok anot malzemesi bunun için kullanılabilir; Pt, IrO<sub>2</sub>, borla kaplı elmas, PbO<sub>2</sub>, SnO<sub>2</sub>, RuO<sub>2</sub>, bunlarla yapılan tüm çalışmalar göstermektedir ki amonyum etkin bir şekilde çözeltilerden uzaklaştırılmaktadır (Van Hege ve ark., 2002; Kapaka ve ark., 2009).

Oymak, 2011 yılında yaptığı çalışmada yarı-iletken nanokristallerin, CdSe ve CdTe, sulu ortamda ve oda sıcaklığında hidrür oluşturma düzeneği ile sentezlemiş, analitik uygulama olarak su numunelerinde cıva, farmasötik preparatta tiyomersal, dekstrozu numunesinde glikoz ve serum numunesinde üre tayinine uygulamıştır. Tayinlerde cıva tiyomersal ve glikoz için kuantum noktacıklarının floresans sinyali; üre tayininde ise fosforesans sinyali izlendiğini bildirmiştir. Cıva tayininde doğrusal aralık  $4.00 \times 10^{-7}$  -  $20.0 \times 10^{-7}$  M gözlenebilme sınırı  $0.60 \times 10^{-10}$  M, tiyomersal tayininde doğrusal aralık 8.00 - 80.0 mg L<sup>-1</sup> gözlenebilme sınırı 1.50 mg L<sup>-1</sup>, glikoz tayininde doğrusal aralık  $5.00 \times 10^{-4}$  -  $50.0 \times 10^{-4}$  M gözlenebilme sınırı  $5.00 \times 10^{-5}$  M, üre tayininde ise doğrusal aralık 4.00 - 40.0 mg L<sup>-1</sup>, gözlenebilme sınırı 0.54 mg L<sup>-1</sup> olarak bulmuştur. Ardışık ölçümlerin kesinliği yüzde bağıl standart sapma cinsinden % 5'in altında olduğunu tespit etmiştir.

Çalışmada, üreaz enziminin immobilize edilmesiyle modifiye edilen yeni bir amonyum-seçici elektroda dayanan potansiyometrik bir üre biyosensörü geliştirmek amacıyla, amonyum-seçici elektrot hazırlamak için Pt elektrot yüzeyi, ionofor olarak nonaktin, plastikleştirici olarak BEHS ve nanomalzeme olarak MWCNT-COOH içeren membran kokteyli ile kaplamıştır. Elektrodun doğrusal çalışma aralığı ve eğimi, sırasıyla,  $1.00 \times 10^{-6}$  -  $1.00 \times 10^{-1}$  M ve 59.5 mV p[amonyum]<sup>-1</sup> olarak bulundu. Numune ortamında yaygın olarak bulunan Li<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> gibi iyonların elektrodun potansiyometrik cevabına bozucu bir etki göstermediğini gözlemlenmiş ve üre biyosensörü için optimum pH, TRİS tampon çözeltisi derişimi ve sıcaklık gibi çalışma

koşulları sırasıyla 7.50, 7.00 mM ve oda sıcaklığı olarak belirlemiştir. Biyosensörün doğrusal çalışma aralığı, eğimi, ömrü, cevap süresi ve optimum çalışma koşullarındaki gözlenebilir sınırlar gibi çeşitli performans faktörleri ise sırasıyla,  $1.00 \times 10^{-5}$  -  $1.00 \times 10^{-2}$  M; 44.4 mV p[üre]<sup>-1</sup>; 14 gün; 10 - 15s ve  $4.10 \times 10^{-6}$  M olarak bulunmuştur. Ayrıca, önerilen potansiyometrik üre biyosensörü kan serum numunelerinde üre tayini için kullanmıştır (Odekov, 2016).

Pibarot ve ark., 2012 yılında yaptıkları bir çalışmada çeşitli metotlarla yiyecek, yem, gübre, kan, serum ve idrar örneklerinde bulunan üreyi analiz etmişlerdir. Bu metotlar kolorimetri, sıvı-gaz kromatografisi ve yakın IR teknikleridir.

Yiyecek sektöründe üre analizi için analitik olarak başlıca iki yöntem kullanılır:

1- Spektro-kolorimetrik metotlar (Commission Regulation, 2009; AOAC, 1975)

Burada kromofor oluşturan özel bir molekülle ürenin reaksiyonu ve bunun spektro-kolorimetre ile ölçümüne dayanır.

2- Enzimatik metotlar (AOAC, 2002)

Üreazın varlığında ürenin amonyuma bozunması ve amonyumun da kjeldahl (asidik titrasyon) veya başka bir metotla tayini esasına dayanır.

Enzimatik metotta (kjeldahl-titrasyon metodu) amonyum üre ile birlikte analiz edilir ve ağır metaller üreaz enziminin aktivitesini düşürebilir.

Pibarot ve ark., 2012 yılında hayvansal yemlerde üre analizi için enzimatik ve kolorimetrik yöntemler kullanmışlar; ancak çıkan sonuçların sağlıklı olmadığı ve birbirini destekleyemediğini tespit etmişlerdir. Kedi ve köpek yemlerindeki üre analizi için üre ile birlikte ortamda bulunan aminoasit ve biyo aminlerin üre analizini olumsuz yönde etkilediğini ve ürenin bu gruplardan ayrılmasının güç olduğunu rapor etmişlerdir. Bunun yanında DMAB (Dimetilaminobenzaldehyt) ile reaksiyona girerek üre analizini olumsuz etkileyen bileşikler sorununun çözülmesi gerektiğini belirtmişlerdir.

Borla kaplı elmas kullanıldığında küçük bir miktar nitratin oluştuğunu göstermiştir, aynı zamanda yükselen klorür konsantrasyonunun amonyumun uzaklaşma etkinliğini artırdığını ve nitrata dönüşümün azaldığını göstermiştir (Cabeza ve ark., 2007).

Boggs ve ark., 2009 yılında yaptıkları bir çalışmada bazı soy metallerin elektroanalitik aktivitelerini kıyaslamışlardır. Ör: Pt, Pt-Ir, Rh ve Ni. Bu denemeler ürenin alkali ortamında direk elektrooksidasyonu için yapılmıştır. Nikel çok etkin bulunmuştur, çünkü anodik olarak NiOOH (Ni<sup>+3</sup>)'e dönüşür ve bu da ürenin

oksidasyonu için aktif bir materyaldir. Nikelin dayanıklılığını ve aktivitesini artırmak amacıyla Pt, Ru, Rh ve Co gibi metallerle kombinasyonları denenmiştir. Mesela Rh-Ni elektrodu Ni ile kıyaslandığında 200 kat daha fazla etkin olduğu açıklanmıştır.

Bazı gruplar da Ti/Pt, Ti/Pt-Ir, RuO<sub>2</sub> ve IrO<sub>2</sub> gibi farklı maddelerle klorür varlığında ürenin elektrokimyasal oksidasyonunu araştırmışlardır. Bu koşullar altında, doğrudan oksidasyon göz ardı edilemez olsa da, başlıca reaksiyon yolu, amonyak durumunda olduğu gibi, dolaylı oksidasyondur ve başlıca ürenin bozunma ürünleri aktif klor, ve toksik olmayan, N<sub>2</sub> ve CO<sub>2</sub> dir (Simka ve ark., 2007; Hernlem ve ark., 2005).

Hernandez ve ark., 2014 yılında yaptıkları bir çalışmada üre tayini için Pt, Ti-Ru oksit, antimon katkılı kalay oksit ve bor katkılı anotlar kullanmıştır. Ürenin en iyi mineralize olduğu anotun bor katkılı elmas anot olduğunu tespit etmişlerdir. Ortamda bulunan klor ve sülfat gibi grupların oksitleyici özelliklerini bertaraf etmek amacıyla üreyi 1 M NaClO<sub>4</sub> içinde çözmüşlerdir.

Jha ve ark., 2008 yılında yaptıkları çalışmada üreye duyarlı biyosensör geliştirmişler. Çalışma sonunda potansiyometrik sistemlerde biyosensörün seçiciliği ve özgünlüğü endişe kaynağı olmaya devam ettiğini, çünkü öncelikle çeşitli iyonlar ve numunedeki radikaller elektrot üzerinden bir yük aktarımı yapabildiklerini rapor etmişlerdir. Bu nedenle, saf olmayan enzim, seçici olmayan reaksiyonları önlemek için biyolojik tanıma elemanı olarak kullanılmıştır. Üre üzerinde üreaz etkisi ile oluşan amonyak türünü tespit ettiği için, spesifisite problemini çözmek için teçhizatında bir amonyak selektif elektrot kullanmışlardır.

Saiapina ve ark., 2011 yılında yaptıkları çalışmada klinoptilolit amonyum eleme ve iyon değişim özelliklerinden yararlanarak üre biyosensörleri geliştirmişlerdir. Klinoptilolite dayalı üre biyo-sensörlerinin performansını optimize etmek için analitik sinyallerinin fosfat tampon çözeltisinin (PBS) pH, tampon kapasitesi ve iyonik gücü üzerine bağımlılıkları incelemişler ve üre biyosensörleri için optimum pH değerini 6.00 - 7.00 aralığında bulmuşlardır. Klinoptilolit birincil bir tabakasına, ardından bir klinoptilolit tabakasına dayanan üre biyosensörü için duyarlılık, dinamik aralık ve tespit limitini sırasıyla 20.36  $\mu\text{S mM}^{-1}$ , 0.00 - 64.0 mM ve  $1.00 \times 10^{-6}$  M olduğunu tespit etmişlerdir.

Koebel ve ark., 1995 yılında yaptıkları çalışmada egzoz gazlarında bulunan üre, biüret, ammeline, melamin, asetat, formate, karbonat, siyanürik asit, klorit, nitrit, izosiyanat ve nitrat gibi maddeleri yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile analiz etmeye çalışmışlardır. Kolon olarak Waters IC-Pak AHC, No: 26770 (150 mm - 4.6 mm)

kolonu kullanmışlardır. Dedektör olarak UV, 190 nm (196 nm) dalga boyunda ve 1.00 mL min<sup>-1</sup> akış hızında olarak analiz yapmışlardır. Mobil faz olarak ilk çalışmada 1.00 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 5.00 mM K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözeltisi % 100 olarak kullanılmıştır. Ortam pH'sı:7.00 ve pH ayarlayıcı olarak ta LiOH kullanılmıştır. Bunun sebebi de LiOH'in ortamda bulunabilecek serbest asitleri kabaca nötralize etmesidir. K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> kullanılmasının nedeni ise ortamda bulunan siyanat ve nitrat gibi grupların kolondan daha hızlı yıkanmasını sağlamak ve kromatogramda üre pikine ait alıkonma zamanı (Retention time - RT) değerini azaltmak için kullanılmıştır.

İkinci çalışmada ise mobil faz olarak 5.00 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ile 0.50 mL min<sup>-1</sup> akış hızında alıkonma zamanı değeri artmıştır. Bu değeri düşürmek için akış hızı 1.00 mL min<sup>-1</sup>'e çıkarılmış ve netice itibari ile nitrat otuz birinci ve sülfat ise ellinci dakikada pik vermiştir. Çalışmada; üre için RT: 3.9 dk ve limit: 0.2 mg L<sup>-1</sup>; biüret için RT: 5.0 dk, L: 0.025 mg L<sup>-1</sup>; nitrit RT: 19 dk, L:0.15 mg L<sup>-1</sup> ve nitrat RT: 31 dk, L:0.15 mg L<sup>-1</sup> değerleri bulunmuştur.

Diğer kullanılan kolonlar ise Phenomenex (Torrance, CA) Synergi Polar-RP 80A, ZIC®-HILIC, Inertsil Amide, Primisep N, Waters Novapak Cla, Puresil C18 ve LiChrospher RP-18 olarak sayılabilir.

Zhang ve ark, 2014 yılında yaptıkları bir çalışmada alkollü içeceklerde bulunan etil karbamat (EC) ve üre türevlerinin floresansına dayalı olarak, alkollü içeceklerde EC ve ürenin aynı anda tespiti için floresans algılama ile birleştirilmiş yüksek performanslı bir sıvı kromatografi yöntemi geliştirmişlerdir. Belirlenen koşullar altında tespit limiti, standart sapma, doğrusal aralık ve geri kazanım EC için sırasıyla 4.8 µg L<sup>-1</sup>, % 1.0 - 4.2, 10 - 500 µg L<sup>-1</sup> ve % 93.8 - 104.6; üre için ilgili değerler sırasıyla 0.003 mg L<sup>-1</sup>, % 1.20 - 4.80, 0.01 - 100 mg L<sup>-1</sup> ve % 90.7 - 105 olarak tespit etmişlerdir.

Wang ve ark., 2014 yılında Çin sarı pirinç şarabında Etil karbamat (EC) ve üre eş zamanlı analiz için HPLC metodunu kullanmışlardır. EC ve üre, girişim yapan diğer moleküllerden kromatografik olarak ayrıldıktan sonra FLD ( $\lambda_{ex} = 234$  nm,  $\lambda_{em} = 600$  nm) şartlarında flüoresan maddeler üretmek üzere hidroklorik asit solüsyonu altında Xanthidrol (9H-xanthen-9-ol) ile reaksiyona tabi tutmuşlardır. Böyle bir yöntemin doğrusal ilişki (korelasyon katsayısı,  $R^2 > 0.999$ ), tekrarlanabilirlik (RSD < % 3.4) ve geri kazanım (% 94.4 - 101) sağladığını; tespit limiti (LOD) ve ölçüm limiti (LOQ) EC için sırasıyla 7.00 µg L<sup>-1</sup> ve 20.7 µg L<sup>-1</sup>; üre için sırasıyla 100 µg L<sup>-1</sup> ve 300 µg L<sup>-1</sup> olarak tayin etmişlerdir.

Wang ve ark., 2016 yılında yaptıkları çalışmada üre kremi tayini için bir santrifüjlü bölme kromatografisi (CPC) yöntemi önermişlerdir. CPC yönteminde, p-dimetilamino-benzaldehit (PDAB), CPC bölme hücreleri içerisinde kremdeki üre ile reaksiyona giren bir türetme ajanı olup, bunu CPC ile ayırmışlar ve UV detektörü (430 nm) ile tespit etmişlerdir. Çalışmada tayin limiti, doğrusal aralık, RSD ve geri kazanım değerlerini sırasıyla; 00989 ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), 0.1006 - 0.5032 ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), % 0.5 ve % 98.9 olarak bulmuşlardır.

Macmahon ve ark., 2012 yılında yaptıkları çalışmada ekonomik bozulmada süt ürünlerinde ve yığın proteinlerindeki azot içeriğini arttırmak için kullanılacak altı (6) bileşiğin varlığını belirlemek için yeni bir analitik yöntem geliştirmişlerdir. Rezidüler % 2.00 formik asit ile matrinden çıkarıldıktan sonra proteinlerin çöktürülmesini sağlamak için süt ürünlerine asetronitril ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ) ilave etmişler ve elde edilen ekstraktlar, elektrosprey iyonlaştırma (ESI) tekniği kullanılarak kütle spektrometrisi (LC-MS / MS) ile bir ZIC-HILIC kolonu kullanılarak sıvı kromatografisiyle analiz etmişlerdir. Süt ürününe ilgili bileşiklerin konsantrasyonu 1.00 ppm olacak şekilde aşılama (spike) yapılmak suretiyle ortalama geri kazanım ve bağıl standart sapma değerlerini Cyilazine (CY) % 95.9 (% 7.5 RSD), disiyandiamit (DC) % 98.1 (% 5.6 RSD), üre % 103 (% 8.6 RSD), biuret (BU) % 97.2 (% 6.60 RSD), triüre (TU) % 97.7 (% 5.70 RSD) ve amidinourea (AU) % 93.4 (% 7.40 RSD) olarak tayin etmişlerdir.

Üre, fizyolojik önemi bulunan bir bileşiktir. Memelilerin vücudunda protein maddelerinin yakılması sonucu meydana gelen amonyak, karaciğerde karbondioksit ve üreye dönüşür. Duong ve Rhae çalışmalarında üre tayini için pH duyarlı membran üzerine kapladıkları CdSe/ZnS kullanmıştır. Geliştirilen yöntemin üre tayini için doğrusal aralığı 0 - 10 mM'dır. CdSe/ZnS ile immobilize edilmiş sol-jel membranların iki aydan daha fazla kararlı olduğu, çevre ve biyomedikal örneklere de uygulanabileceği belirtilmiştir.

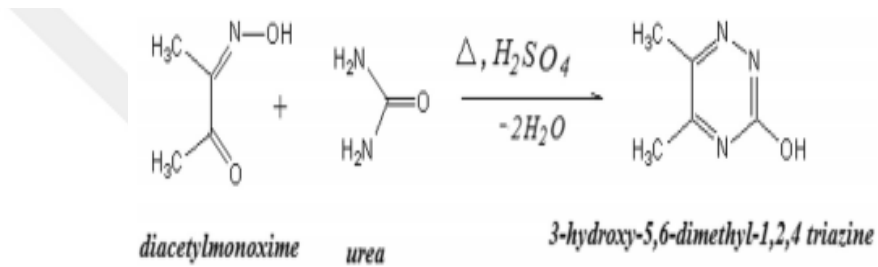
Diğer bir çalışmada ürenin kantitatif tayini için CdSe/ZnS kuantum noktacığı (KN) kullanmıştır. Üreaz ve KN karışımı ile ürenin nicel tayininin yapılabileceğini belirtilmiştir. pH ve tampon çözelti derişiminin kontrolü ile üre için doğrusal derişim aralığının 0.01-100 mM olduğu belirtilmiştir. Yöntemlerinin diğer yöntemlere göre düşük maliyetli, seçiciliğı yüksek, kararlı basit ve enzim immobilizasyonu gerektirmemesi gibi avantajları olduğunu açıklamışlardır (Oymak, 2011).

Mondal ve ark., 2013 yılında yaptıkları bir çalışmada hem amperometrik hem de impedimetrik teknik kullanılarak polipirrol (PPy) kaplı platin elektrod kullanılarak üre

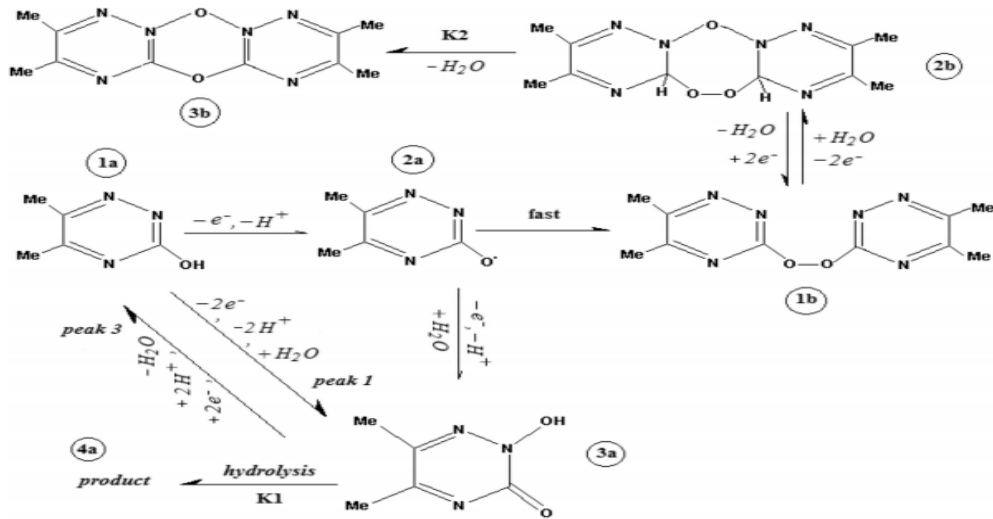


biyosensör geliştirmişlerdir. Modifiye edilen elektrotun üre tespit limitinin 0.001 - 7.728 nM olduğunu, inek sütünde yapılan 10 tekrarlı doğruluk çalışmalarında RSD değerini % 0.52 ve hassasiyetin  $1.00 \times 10^{-3}$  nM olduğunu bulmuşlardır.

Alizadeh ve ark., 2017 yılında yaptıkları bir çalışmada insan kan ve idrar örneklerinin yanı sıra toprak ve kanalizasyon sularında üreyi tespit etmek adına enzimatik olmayan sensör [Grafit (Modifiye CNT)/Pt; Ag/AgCl] geliştirmişler. Reaksiyon ortamı olarak ürenin kolorimetrik tayini için kullanılabilen yaklaşık 489 nm'de bir emilim bandına sahip sarı renkli bir bileşik üreten **diasetil monoksim** kullanılmış ve üre reaksiyonu sonucunda oluşan renkli bileşiğin bir **elektroaktif bileşik** olduğunu tespit etmişlerdir.



Şekil 2.2. Diasetilmonoksim ile ürenin reaksiyonu sonucu oluşan renkli bileşik



Şekil 2.3. Üre diasetil monoksim reaksiyon ürününün dönüşümlü voltametri davranışından sorumlu olduğu düşünölen, farklı kimyasal reaksiyonlarla birleştirilmiş elektron transfer reaksiyonları için muhtemel mekanizma

Azadbakht ve Gholivand, 2014 yılında yaptıkları çalışmada insan kanındaki üreyi analiz etmek için yeni bir elektrot modifiye etmişlerdir. Bunun için çalışma

elektrotu olarak modifiye edilmiş Au (Au/AuNPs/PNA/CdS-QDs/Ni-PDA); referans elektrot olarak 3.00 M KCl içinde Ag/AgCl ve karşıt elektrot olarak ise Pt tel kullanılmıştır. Çalışma elektrotunun karakterizasyonu için SEM; modifiye elektrot yüzeyinde üre oksidasyonu dönüşümlü voltametri, elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS), hidrodinamik voltametri ve kronoamperometri yöntemleri ile araştırılmıştır. Standart üre çözeltileri 0.10 M NaCl içinde hazırlanmış. Modifiye elektrotun üre analizi için lineer aralığı 100 - 10000 mM iken tespit limiti 4.70 mM olarak bulunmuştur.

Alizadeh ve ark., 2013 yılında yaptıkları bir çalışmada insan kan ve idrar örneklerinde bulunan üreyi tespit etmek amacıyla lineer aralığı  $1.00 \times 10^{-11}$  -  $1.00 \times 10^{-4}$  M olan bir biyosensör [Grafit (Modifiye biyo)/Pt; Ag/AgCl] geliştirmişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre, gelişmiş tayin metodu önemli oranda tiyoüre, glukoz, alanin, arginin, ürik asit, tartarik asit, sitrik asit, kreatinin, askorbik asit, ürik asit ve dopaminin varlığında etkilenmediğini rapor etmişlerdir.

Ancak,  $Mg^{2+}$  ve  $Ca^{2+}$  gibi bazı iyonik ajanların sensörün üre seçiciliğini yok ettiğini, bununla birlikte, ardışık sensör hazırlanmasında tekrarlanabilirliğin halen zayıf olduğunu, bu nedenle bu durumda daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğunu rapor etmişlerdir.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Elektrokimyasal Çalışmalar

##### 3.1.1. Kullanılan Cihaz ve Kimyasallar

Çalışmada tüm voltametrik ölçümler, sisteminde Gamry Framework, Echem Analyst, PHE200 Physical Electrochemistry System ve EIS300 Electrochemical Impedance Spectroscopy System gibi yazılımlar bulunduran GAMRY Series 750 ve Reference 600+ Potentiostat/Galvanostat/ZRA (Gamry Instruments, Warminster, USA) cihazları ile yapılmıştır.

Sulu ortam çalışmalarında, ortamın pH'sını ölçmek için VWR MARKA pH elektrodu ve onun bağlı bulunduğu Thermo Orion Model 9206BNWP pH-iyon metre, çözeltilerin hazırlanması ve elektrot temizleme işlemlerinde BANDELİN SONOREX marka sonikatör, ultra saf su elde etmek için Mp Minipure Marka Ultra Saf Su cihazı (Cihazdan elde edilen suyun direnci 18.2 MΩ.cm'dir.) ve tüm hassas tartımlar için 0.10 mg duyarlılıkta A&D COMPANY N92 model hassas terazi kullanılmıştır.

Kullanılan kimyasal maddeler [NBu<sub>4</sub>BF<sub>4</sub>, ferrosen, potasyum ferrisiyanür, potasyum ferrosiyanür, sodyum nitrit, asetonitril, üre, dimetilaminobenzaldehit (DMAB), potasyum klorür, sülfürik asit, hidroklorik asit, asetik asit, fosforik asit ve dietil eter] mümkün olduğunca saf olup Merck, Fluka, Riedel veya Sigma-Aldrich'ten temin edilmiş ve herhangi bir ön saflaştırmaya tabii tutulmadan kullanılmışlardır. Elektrot temizleme işlemlerinde kullanılan zımpara kâğıdı Buehler P4000, parlatma işlemlerinde kullanılan alümina 0.30 µm tanecik boyutuna sahip Alfa Aesar marka süspansiyonlar kullanılmıştır.

Deneylerde kullanılan geleneksel üç elektrotlu sistem içerisinde; çalışma elektrodu olarak BAS (Bioanalytical Systems Inc., West Lafayette, USA) marka 0.071 cm<sup>2</sup> yüzey alanına sahip MF-2012 GC, referans elektrot olarak susuz ortam çalışmalarında Ag/Ag<sup>+</sup> (0.01 M) [BAS Model MF-2042 marka Ag/Ag<sup>+</sup> (10.00 mM AgNO<sub>3</sub> in 100 mM NBu<sub>4</sub>BF<sub>4</sub>) elektrot] ve sulu ortam çalışmalarında Ag/AgCl [BAS Model MF-2063 marka Ag/AgCl 3.00 M KCl elektrot] referans elektrotlar kullanılırken karşıt elektrot olarak ise BAS Model MW-1032 marka Pt tel kullanılmıştır.

### 3.1.2. Stok çözeltilerin hazırlanması

Çalışmada, modifikasyon işlemlerinde kullanılan 4-nitroanilin çözeltisi  $1.00 \times 10^{-3}$  M olacak şekilde 0.10 M tetrabutylamonyumtetrafloroborat ( $\text{NBu}_4\text{BF}_4$ ) içeren asetonitrilde çözülmesiyle hazırlanmıştır. CV çalışmaları ile karakterizasyonlarda kullanılan her redoks probu  $1.00 \times 10^{-3}$  M olup Ferrosen 0.10 M  $\text{NBu}_4\text{BF}_4$  içeren asetonitril'de; ferrisiyanür ( $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ) çözeltisi ise 0.10 M KCl içeren her biri pH: 2.00 olmak üzere Britton-Robinson (BR) tamponu veya 0.10 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ile hazırlanmıştır.

EIS deneylerinde kullanılan ferrisiyanür/ferrosiyanür çözeltisi ise  $1.00 \times 10^{-3}$  M  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  ve  $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$  karışımıyla 0.10 M KCl'den hazırlanmıştır. Çalışmada kullanılmak üzere hazırlanan bütün çözeltiler çözünmenin tam olarak sağlanması için 5 dakika sonikatörde tutulmuştur.

#### 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 modifiye elektrotun sulu ortamda karakterizasyonu için destek elektrolit çözeltisi olarak 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 ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ), 2.29 mL asetik asit ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) ve 2.472 g borik asit ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ) 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. Fosfat tampon çözeltisinin (PBS) hazırlanması

Çalışmamızda üre 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 ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) ve 8.709 g potasyum bifosfat ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ) tuzları tartılır, balon jöjeye koyulur ve saf su ilave edilerek 500 mL'ye tamamlanır. Hazırlanan çözeltinin

pH'sı 6.80 ile 7.10 arasındadır. İstenilen pH ayarı için 0.10 M veya 1.00 M'lık NaOH kullanılır. Deneylerde destek elektrolit olarak 7.10 pH değerine sahip olan PBS tamponu kullanılmıştır.

### 3.1.3. Yapılan Çalışmalar İçin Hazırlanan Çözeltiler ve Hazırlanma Şartları

Çalışmalar süresince kullanılan kimyasal maddeler ve bunların hazırlanma şartları Çizelge 3.1'de verilmiştir. Çözelti hazırlanmasında yapılan tartımlar 0.0001 g (onbinde bir) hassasiyetli analitik terazide yapıldığından dolayı tartımdan gelen herhangi bir hata olmadığı düşünülmektedir. Çözeltiler günlük olarak hazırlanmış ve çalışma sonucunda artan çözeltiler kesinlikle tekrar kullanılmamıştır.

Çizelge 3.1. Yapılan çalışmalar için hazırlanan çözeltiler ve hazırlanma şartları

Madde	Konsantrasyon	Çözelti Hacmi (mL)	Alınan Miktar	Çözücü
NBu4BF4	100 mM	1000	32.927 g	Asetonitril
KCl	100 mM	500	3.727 g	Su
H2SO4	100mM	500	2.72 mL	Su
K3Fe(CN)6	1.00 mM	50.0	0.0165 g	100mM H2SO4
K3Fe(CN)6/K4Fe(CN)6	1.00 mM	50.0	0.0165 g 0.0211 g	100 mM KCl
Ferrosen	1.00 mM	50.0	0.0164 g	CH3CN / 100 mM NBu4BF4
4-nitroanilin	1.00 mM	50.0	0.0070 g	CH3CN / 100 mM NBu4BF4
Üre	1.00 mM	50.0	0.0030 g	PBS
DMAB (Czauderna, 2009)	1.00 mM	50.0	0.0074 g	% 20.0 HCl

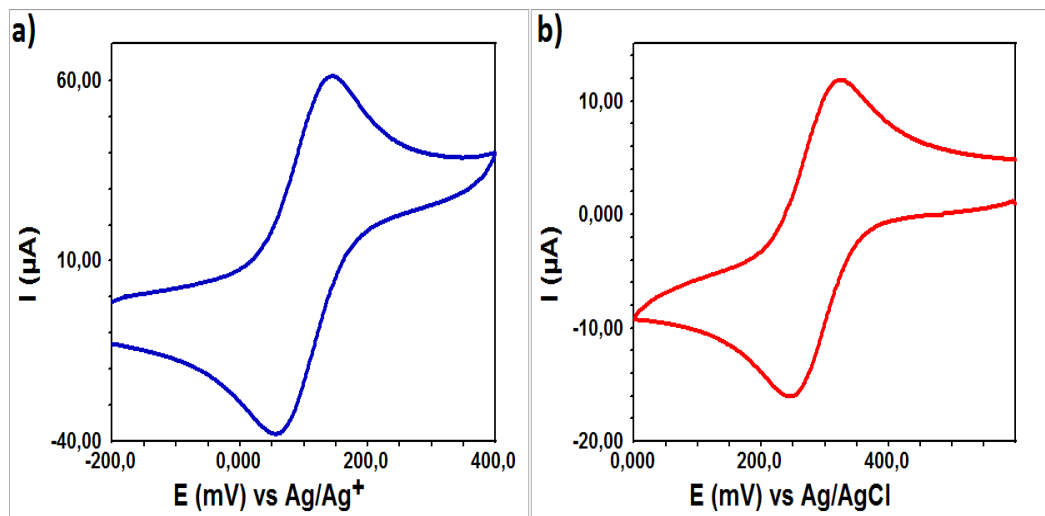
### 3.1.4. Çalışma Elektrotlarının Temizlenmesi ve Parlatılması

Modifikasyon işleminde kullanılacak olan çalışma elektrodu önce 2400, sonra 4000'lik Buehler zımpara kâğıtları ile temizlendikten sonra elektrot saf su ile yıkanır ve

sırasıyla 1.00  $\mu\text{m}$ , 0.30  $\mu\text{m}$  ve 0.05  $\mu\text{m}$  tanecik boyutlarına sahip alümina tozları ile işleme tâbi tutulur. Farklı boyutlar arasındaki alümina tozları ile müdahale edilen elektrot her seferde saf su ile yıkandıktan sonra elektrot önce saf suda daha sonra asetonitril ve izopropil alkolün 1:1 oranındaki karışımında 10 dakika sonikasyon işlemine tâbi tutulur. Bu haliyle yüzeyinde istenilmeyen moleküllerden arındırılmış olan elektrot yeni modifikasyon işlemi için temiz, parlak ve tek tabaka oluşumuna uygun düzgün yüzeye sahip olur.

### 3.1.5. Çalışmalarda Kullanılan Elektrotların Kalibrasyonu

Voltametrik ölçümlere başlamadan önce çalışma elektrotlarının yeterince temizlenip temizlenmediğini tespit etmek amacıyla elektrotların kalibrasyonu test edilmiştir. Susuz ortam referans elektrot ve sulu ortam referans elektrotların ölçümlerinin ne derece doğru olduğunu görmek amacı ile susuz ortamda asetonitrilde çözülmüş 0.10 M  $\text{NBu}_4\text{BF}_4$  destek elektroliti içerisinde hazırlanan 1.00 mM ferrosen çözeltisi ile pozitif tarama, sulu ortamda ise 0.10 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ 'de hazırlanmış 1.00 mM HCF (III) (hegzasiyanoferrat) çözeltisi ile negatif tarama yapılarak yüzey testleri yapılmıştır. Yapılan bu işlem elektrotların kalibrasyonları olarak adlandırılabilir. Çalışmada belirli sürelerle elektrotlar bu kalibrasyona tabi tutulmuştur. Bu çalışma ile ilgili veriler Şekil 3.1'te verilmiştir. Burada ferrosen yüzey testi için  $\Delta E_p$  değeri 75.0 mV, HCF (III) için ise 83.0 mV olarak elde edilmiştir.



Şekil 3.1. Çıplak GC yüzeyi için testler. a) ferrosen testi, -0.20/+0.40 V potansiyel aralığında ve  $100 \text{ mV s}^{-1}$  tarama hızında, b) HCF (III) testi, +0.60/0.00 V potansiyel aralığında ve  $100 \text{ mV s}^{-1}$  tarama hızında

### 3.1.6. Deneylerde Kullanılan Elektrokimyasal Teknikler

#### 3.1.6.1. Dönüşümlü Voltametri Deneyleri

Dönüşümlü voltametri deneyleri; çalışmada kullanılan elektrotların kalibrasyonunda ve ürenin tayini için modifikasyonda kullanılacak olan 4-NA maddesinin elektrokimyasal davranışlarının belirlenmesinde kullanılmıştır. Elektrot kalibrasyonları bölüm 3.1.5'te anlatılmıştır. Elektrokimyasal davranışların incelenmesi için 7.00 mg 4-NA 50 mL balon jofede tartılmış ve bir miktar  $\text{NBu}_4\text{BF}_4$  ( $\text{CH}_3\text{CN} / 100$  mM) çözeltisi ilave edilerek 5 dakika sonikatörde tutularak tamamen çözünmesi sağlanmıştır. Daha sonra  $\text{NBu}_4\text{BF}_4$  çözeltisi ile 50 mL'ye tamamlanmıştır. 1.00 mM konsantrasyonda hazırlanan 4-NA çözeltisinin CV tekniği kullanılarak önce 0/+3000 mV potansiyel aralığında,  $100 \text{ mV s}^{-1}$  tarama hızında ve tek döngülü olarak dönüşümlü voltamogramları alınmıştır. Böylelikle maddenin çözelti içerisinde okside olduğu potansiyel aralığı tespit edilmiş ve sistemin tersinir olup olmadığı incelenmiştir.

#### 3.1.6.2. Diferansiyel puls voltametri deneyleri

Çalışma metodunu belirlemek için gerçekleştirilen diferansiyel puls voltametri deneyleri, çalışılan tüm modifikasyon maddeleri için denenmiştir. DPV deneyleri Ag/AgCl referans elektrot varlığında gerçekleştirilmiştir. DPV kullanılarak PBS (pH: 7.10) tamponu içerisindeki üre konsantrasyonuna göre değişen DMAB molekülünün puls voltametri ve diferansiyel puls adsorptif sıyırma voltametri ile analizinde elde edilen voltamogramlar kıyaslanarak DPV tekniğinin kendi içinde değerlendirilmesi yapılmıştır.

#### 3.1.6.3. Kare dalga voltametri deneyleri

Çalışmanın yöntemini geliştirmede kullandığımız diğer bir teknik de kare dalga voltametri tekniğidir. Kare dalga voltametri deneyleri PBS (pH: 7.10) tampon çözeltisi kullanılarak belirlenen uygun derişimdeki üre çözeltisinde, Ag/AgCl referans elektrot varlığında gerçekleştirilmiştir. SWV kullanılarak üre konsantrasyonuna göre değişen DMAB molekülünün 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 tayini yapılacak olan ürenin değişen konsantrasyonlarına göre orantılı bir şekilde değişiklik göstermemiştir. Bu yüzden analitik çalışmalara SWV tekniği kullanılarak devam edilmiştir.

### **3.1.7. Modifiye GC/AP Elektrotun Optimum Hazırlanma Koşullarının Belirlenmesi**

GC/AP elektrot hazırlamak için 4-NA molekülünün GC yüzeyine optimum modifikasyon koşulları belirlenmiştir.

#### **3.1.7.1. GC/NP Elektrot İçin Modifikasyon Potansiyel Aralığının Belirlenmesi**

GC/NP elektrot elde etmek için önce 1.00 mM konsantrasyonda hazırlanan 4-NA çözeltisinin CV tekniği kullanılarak önce 0/+3000 mV potansiyel aralığında, 100 mV s<sup>-1</sup> tarama hızında ve tek döngülü olarak dönüşümlü voltamogramları alınmıştır. Böylelikle maddenin çözelti içerisinde okside olduğu potansiyel aralığı tespit edilmiş ve sistemin tersinir olup olmadığı incelenmiştir.

#### **3.1.7.2. GC/NP Elektrotun Dönüşümlü Voltametri (CV) İle Hazırlanması**

4-NA çözeltisinin GC yüzeyine CV tekniği kullanılarak modifikasyon için belirlenen potansiyel aralığında 10 döngülü ve 100 mV s<sup>-1</sup> tarama hızında voltamogramı alındı.

#### **3.1.7.3. GC/NP Elektrotun Dönüşümlü Voltametri (CV) İle Hazırlanmasında Döngü Sayısının Belirlenmesi**

4-NA çözeltisinin GC yüzeyine CV tekniği kullanılarak modifikasyon için belirlenen potansiyel aralığında 10, 20, 30, 40 döngülü ve 100 mV s<sup>-1</sup> tarama hızında voltamogramları alındı. Çalışmada kullanılacak en uygun döngü sayısı belirlendi.

### 3.1.7.4. GC/NP Yüzeyinin Dönüşümlü Voltametri (CV) İle Elektrokimyasal İndirgemesi

GC/NP yüzeyindeki nitro grubu, 0,01 M HCl ortamında yaklaşık 0/-1300 mV potansiyel aralığında 100 mV s<sup>-1</sup> tarama hızında 10 çevrim olarak dönüşümlü voltametri ile taranarak amine indirgenmiştir.

### 3.1.8. Elektrotların Yüzey Karakterizasyonlarının İncelenmesi

#### 3.1.8.1. Dönüşümlü Voltametri (CV)

Çeşitli redoks problemleri (ferrosen ve ferrisiyanür) karakterizasyon işlemlerinde de CV tekniğinden yararlanılmıştır. Ferrosen probu, 0.10 M NBu<sub>4</sub>BF<sub>4</sub> içeren asetonitrilde 1.00×10<sup>-3</sup> M ferrosenin çözülmesiyle hazırlanmıştır. Yüzeylerin karakterizasyonu genellikle 0/+700 mV potansiyel aralığında pozitif taramayla yapılmıştır. Ferrisiyanür testi, 0.10 M KCl içeren her biri pH: 2.00 olmak üzere Britton-Robinson (BR) tamponu veya 0.10 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> içerisinde çözülmüş 1.00×10<sup>-3</sup> M (K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]) ile yapılmıştır. CV tarama aralığı genellikle +500 / -200 mV aralığı'dır.

#### 3.1.8.2. Elektrokimyasal İmpedans Spektroskopisi (EIS)

Modifiye ve sade camsı karbon elektrotun impedans ölçümü (EIS) Bölüm 3.1.2'de anlatıldığı şekilde hazırlanan redoks probunda 0.01 / 100.000 Hz frekans aralığında alındı. Modifiye ve yalın elektrot için ölçüm verilerinden yararlanarak Nyquist eğrileri çizildi ve elektrot-çözelti ara yüzeyindeki dirençleri karşılaştırıldı.

### 3.1.9. Modifiyeli Elektrotun Optimum Çalışma Koşullarının Belirlenmesi

Ürenin kantitatif tayini için daha hassas ve düşük tayin sınırlarına ulaşabilen SWAdSV tekniği kullanılarak elektrokimyasal cevabın optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Bunlar modifiye madde miktarı, elektrolit pH'sı, biriktirme potansiyeli, biriktirme süresi yapılmıştır.

### 3.1.9.1. pH

Doğal numune olarak sütün yanında kan, idrar (pH: 6.80 – 7.40) örneklerinde de ürenin tayininde bu yöntemin kullanılması amaçlandığı için tampon çözelti olarak fosfat tamponu (PBS) seçilmiş ve pH değerinin 7.10 olması analizin gerçekleşmesi için uygun görülmüştür.

### 3.1.9.2. Modifiye Madde Miktarı

Elektrot yüzeyine modifiye edilecek olan 4-NA konsantrasyonu 1.00 mM olacak şekilde  $\text{NBu}_4\text{BF}_4$  ( $\text{CH}_3\text{CN} / 100 \text{ mM}$ ) çözeltisinde hazırlandı. Hazırlanan bu çözelti ile uygun şartlarda modifiye edilen elektrotun sabit DMAB ve artan üre konsantrasyonlarında SWAdsSV yöntemiyle akım değerleri kaydedildi.

### 3.1.9.3. Biriktirme Potansiyeli

Modifiye maddesi 4-NA olan camısı karbon elektrot için optimum çalışma potansiyelini belirlemek için; 0.20, 0.40, 0.60, 0.80, 1.00, 1.20 V potansiyel değerlerinde akım değerleri elde edildi. Her bir potansiyel için pH değeri 7.10 olan 0,1 M'lık fosfat (PBS) tamponunda çalışılmıştır. Çalışmalarda kullanılacak en uygun potansiyel değeri belirlendi.

### 3.1.9.4. Biriktirme Süresi

Modifiye maddesi 4-NA olan camısı karbon elektrot için optimum biriktirme süresinin belirlenebilmesi için; 60, 120, 180, 240, 300, 360 saniyede biriktirme yapıldı. Her bir süre için pH değeri 7.10 olan 0,1 M'lık fosfat (PBS) tamponunda çalışma yapılmıştır. Ölçülen akım cevapları karşılaştırılarak çalışmalarda kullanılacak en uygun biriktirme süresi belirlendi.

### 3.1.10. Modifiye Elektrotun Performans Faktörlerinin Belirlenmesi

Üre tayini için hazırlanmış olan GC/AP elektrotunun en uygun çalışma koşulları belirlendikten sonra bu koşullarda doğrusal çalışma aralığı ve

gözlenebilme sınırı gibi performans faktörleri incelendi ve sonuçlar yorumlanarak karşılaştırıldı.

### **3.1.10.1. Doğrusal Çalışma Aralığı ve Gözlenebilme Sınırı**

Belirlenen optimum şartlarda bölüm 3.1.7’de hazırlanan GC/AP modifiye elektrotun doğrusal çalışma aralığı ve gözlenebilme sınırının belirlenmesi amacıyla; en iyi pH, biriktirme potansiyeli, biriktirme süresi ve çalışma potansiyelinde analit derişimi değiştirilerek akım cevapları ölçülmüştür. Elde edilen akım değerleri artan üre konsantrasyonuna bağlı olarak azalan DMAB konsantrasyonuna karşı grafiğe geçirilmiş ve kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Bu grafikten yararlanarak elektrotun doğrusal çalışma aralığı, duyarlılığı ve gözlenebilme sınırı bulunmuştur.

### **3.1.11. Gerçek numune çözeltilerinin temini ve hazırlanması**

Çalışmada gerçek numune olarak kullanılmak üzere marketlerde satılan UHT süt kullanılmıştır. İlk olarak elektroanalitik teknikle kıyaslama yapılacak geçerli yöntem olan HPLC yöntemi ile süt örneğinin üre konsantrasyonu belirlenmiştir. Daha sonra iki yöntemle de tayin edilebilecek konsantrasyon, süt örneklerinin sulandırılmasıyla ayarlanmıştır.

Elektroanalitik yöntemle ürenin kantitatif tayini yapılacak süt numunesi herhangi bir ön işleme tabi tutulmamış, PBS (pH: 7.10) tamponuna ilave edilerek üre tayini yapılmıştır.

## **3.2.Kromatografik Çalışmalar**

Tezin kromatografik çalışmaları T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Konya İl Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü Katkı Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

### **3.2.1. Kullanılan Cihaz ve Kimyasallar**

Çalışmada kromatografik ölçümler için Agilent Technologies 1260 Infinity HPLC sistemi ve kolon olarak ise Phenomenex Synergi 4 µm Polar-RP 80 Å (250x2.0 mm) kullanılmıştır (Quan, 2010).

Kromatografik ölçümler için gerekli olan ortamın pH'sını ölçmek için WTW pH 330i pH metre, çözeltilerin ısıtılması için Nüve BM 302 su banyosu, ultra saf su elde etmek için Mp Minipure Marka Ultra Saf Su cihazı (Cihazdan elde edilen suyun direnci 18.2 MΩ.cm'dir.), tüm hassas tartımlar için 0.10 mg duyarlılıkta Sartorius CP 224 S model hassas terazi, çözelti hazırlanmasında vorteksleme için Velp Scientifica 2X<sup>3</sup>, santrifüj işlemi için Hettich Rotofix 32A ve sonikasyon için BANDELİN SONOREX marka sonikatör kullanılmıştır.

Kullanılan kimyasal maddeler (Sodyum tungstat dihidrat, diasetil monoksim (DAM), CH<sub>3</sub>CN, sülfürik asit, hidroklorik asit, asetik asit ve fosforik asit) mümkün olduğunca saf olup Merck, Fluka, Riedel veya Sigma-Aldrich'ten temin edilmiş ve herhangi bir ön saflaştırmaya tabi tutulmadan kullanılmışlardır.

### **3.2.2. Kullanılan Çözeltiler**

#### **3.2.2.1. Üre Standart Çözeltileri**

Ana stok çözeltisi (1000 ppm) hazırlamak için 200 mg üre (% 99.0) 200 mL'lik balon jøjeye konuldu. Bir miktar ultra saf su ile çözüldükten sonra yine ultra saf su ile balon jöjenin çizgisine kadar tamamlandı. Bu çözeltiden ultra saf su ile seyreltilerek 100 ppm'lik ara çözelti hazırlandı.

#### **3.2.2.2. Asit Karışımı**

Ekstraksiyon işleminde kullanılmak üzere standart fosforik ve sülfürik asitin 1:1 oranında karışımı dikkatli bir şekilde balon jøjede hazırlandı.

#### **3.2.2.3. Diasetilmonoksim (DAM) Çözeltisi**

Üreye spesifik sarı rengi veren DAM çözeltisi (20.0 mM) % 2.0'lik asetik asit ile standart DAM maddesinden hazırlandı.

#### **3.2.2.4. Mobil Faz Çözeltisi**

% 0.20 asetik asit içeren metanol ve ultra safsu 90:10 (hacim/hacim) oranında hazırlandı ve ultrasonik su banyosunda degaze edildi.

### 3.2.3. Örneklerin Hazırlanması

#### 3.2.3.1.Süt Örneklerinin Toplanması

Çalışmada gerçek numune olarak kullanılmak üzere marketlerde satılan UHT süt kullanılmıştır. İlk olarak elektroanalitik teknikle kıyaslama yapılacak geçerli yöntem olan HPLC yöntemi ile süt örneğinin üre konsantrasyonu belirlenmiştir. Daha sonra iki yöntemle de tayin edilebilecek konsantrasyon, süt örneklerinin sulandırılmasıyla ayarlanmıştır.

İçerisinde yaklaşık olarak önceden belirlenen çalışma konsantrasyonunda üre bulduran sulandırılmış süt örneği HPLC sistemine verilmeden önce ön işleme tabi tutulmuştur.

#### 3.2.3.2.Örneklerin Ekstraksiyonu

Örneklerin ekstraksiyon işlemleri için Hussain ve ark, 2002 çalışması esas alınmıştır. Bu literatüre göre yapılan çalışmada;

1. 5 mL süt örneği üzerine 2.50 mL sodyum tungstant (NaW - % 10) ve 2.50 mL sülfürik asit (0.34 M) eklendikten sonra 25.0 mL'ye ultra saf su ile tamamlanmıştır. Santrifüj cihazında 4000 rpm dönme hızında 5 dk süre ile santrifüj edilmiştir.

2. Santrifüj sıvısından alınan 5.00 mL süzüntüye 10.0 mL asit karışımı ve 2.00 mL DAM (20.0 mM) ilave edildikten sonra 25.0 mL'ye ultra saf su ile tamamlanmıştır. Önceden 80°C'ye getirilen su banyosunda 30 dk bekletilmiştir.

3. Su banyosundan çıkarılan çözelti oda sıcaklığına geldikten sonra ucuna 0.45 µm gözenekli filtre takılan plastik enjektör yardımıyla ölçü alınan çizgiye (baseline) denge haline gelen HPLC sistemine verilmek üzere viyale alınmıştır. Numunenin ekstraksiyondan viyale alınmasına kadar kullanılan bütün cam malzemelerin renklendirilen ürenin bozulmaması ve dolayısıyla hatalı sonuçlara sebep olmaması için amber renkli olmasına dikkat edilmiştir.

4. Temin edilen süt örneklerinde üre miktarı 284 ppm ( $4.70 \times 10^{-3}$  M) olarak tespit edilmiştir.

Kromatografik koşullar altında inilebilecek minimum konsantrasyon değeri olan  $1.00 \times 10^{-5}$  M olacak şekilde ultra saf su yardımıyla süt örnekleri seyreltilmiş ve daha sonra ekstraksiyon işlemine geçilmiştir.

### 3.2.4. Ürenin Foto Diyot Dizi Dedektör (DAD) Donanımlı HPLC ile Analizi

Ürenin süt örneklerinde analizi DAD dedektör donanımlı HPLC cihazında gerçekleştirilmiştir. Üre analizi için optimum kromatografik çalışma koşulları Çizelge 3.2’de gösterilmiştir.

**Çizelge 3.2.** Üre analizi için optimum kromatografik çalışma koşulları

<b>Kolon</b>	Phenomenex Synergi 4 µm Polar-RP 80 Å (250x2.0 mm)
<b>Mobil Faz</b>	Metanol (% 0.20 HAc):Su (90:10), izokratik sistem
<b>Akış Hızı</b>	1.00 mL/dakika
<b>Enjeksiyon Hacmi</b>	100 µL
<b>Basınç</b>	Minimum 0 bar, Maksimum 300 bar

### 3.3. Sonuçların İstatiksel Olarak Değerlendirilmesi

Çalışmanın analitik uygulamaları için T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı (G.T.H.B., 2018) validasyon rehberi esas alınmıştır. Süt örneğinde her iki metot içinde 10 tekrarlı olarak ölçüm yapılmıştır.

İki metot ölçümleri arasındaki uygunluğu kıyaslamak için;

Ölçüm ortalamaları esas alınarak t (% 95 güven seviyesi, df:18) ve iki metotun standart sapmaları esas alınarak F (% 95 güven seviyesi, df:18) testleri kullanılmıştır.

#### 4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

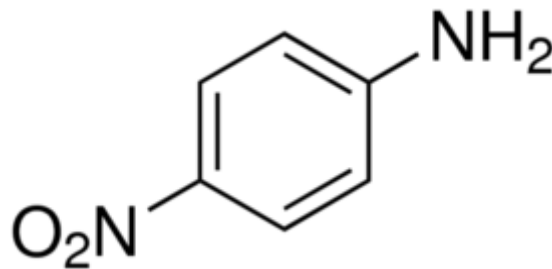
Bu tez çalışmasında sütte üre tayini için modifiye elektrot hazırlanarak yeni bir elektrokimyasal sensör geliştirilmiştir. Sensör tasarımında Necmettin Erbakan Üniversitesi Eğitim Fakültesi Kimya Bölümü Araştırma Laboratuvarlarında sentezlenen GC/AP elektrot kullanılmıştır. Optimum çalışma şartları belirlenerek bu koşullarda deneysel çalışmalar yapılmıştır.

Elektrokimyasal olarak sütte üre analizinden elde edilen verileri kıyaslamak için yine aynı konsantrasyon aralığında ( $1.00 \times 10^{-3}$  –  $1.00 \times 10^{-7}$  M) kalibrasyon eğrisi çizilmiş ve mevcut üre metodu olan HPLC metodu ile de sütte üre analizi yapılmıştır.

Elde edilen araştırma sonuçları ve yorumları aşağıda maddeler halinde verilmiştir.

##### 4.1. Elektroanalitik Çalışmalar

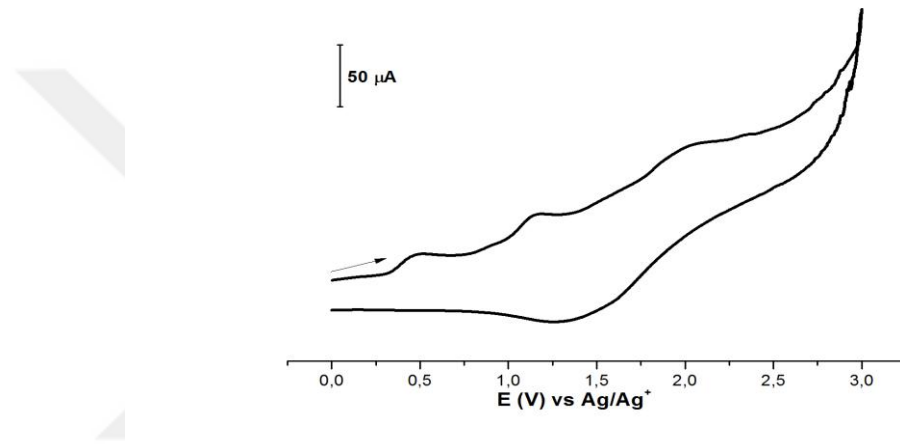
Doğal numunelerde (süt) bulunan ürenin kantitatif tayininin amaçlandığı bu tez çalışmasında, üre molekülünün tayini amacıyla 4-NA (4-nitroanilin) olarak kısaltılan (Şekil 4.1) madde kullanılmıştır. Modifikasyon ve karakterizasyon işlemlerinin CV tekniği kullanılarak yapıldığı çalışmada, yine karakterizasyon işlemleri için elektrokimyasal olarak EIS tekniği kullanılmıştır. Çalışmanın elektroanalitik uygulama kısımları ise SWV tekniği kullanılarak yapılmıştır.



Şekil 4.1. Çalışmada kullanılan 4-nitroanilin molekülünün yapısı

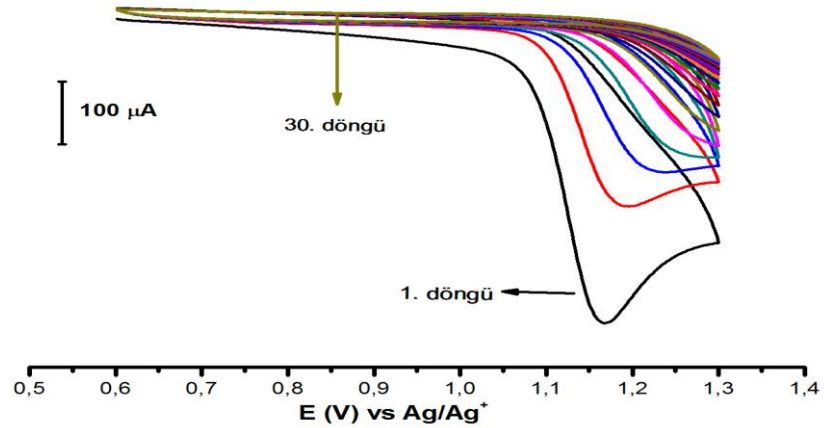
#### 4.1.1. 4-NA Molekülünün GC Elektrot Yüzeyine Modifikasyonu

Çalışmada öncelikle modifikasyon aralığını belirlemek amacıyla susuz ortamda 100 mM NBu<sub>4</sub>BF<sub>4</sub> (CH<sub>3</sub>CN içerisinde) destek elektrolit çözeltisi içerisinde hazırlanmış olan 1.00 mM 4-NA çözeltisi kullanılarak GC elektrot yüzeyine CV tekniği ile 0.00/+3000 mV potansiyel aralığında, 100 mV s<sup>-1</sup> tarama hızında ve tek döngülü olarak voltamogramı alınmıştır. Modifikasyon aralığı belirleme voltamogramı Şekil.4.2’de gösterilmektedir.



**Şekil 4.2.** 4-nitroanilin molekülünün GC elektrot yüzeyine CV tekniği kullanılarak alınan modifikasyon aralık belirleme voltamogramı. (0.00/+3.00 V potansiyel aralığında, tek döngülü ve 100 mV s<sup>-1</sup> tarama hızında)

Bu sayede elde edilen voltamogramın incelenmesi ile 4-NA molekülünün GC elektrot yüzeyine bağlanma modifikasyon aralığı +600/+1300 mV potansiyel olarak karar verilmiştir. Bu potansiyel aralığında yapılan modifikasyon işleminde 4-NA molekülünde bulunan -NH<sub>2</sub> grubu üzerinde bulunan protonun ayrılması ile azot oksidasyonu üzerinden modifikasyon gerçekleştirilmiştir. Burada modifikasyonun gerçekleşmesi için amin oksidasyonu metodu kullanılmıştır. Gerçekleşen amin oksidasyonu modifikasyonuna ait voltamogram Şekil 4.3’de verilmiştir. Voltamogramda 1100 - 1300 mV civarında görülen pik molekülde bulunan -NH<sub>2</sub> grubunun oksidasyonuna ve bir proton ile bir elektronun ayrılmasına aittir (Paliwal ve ark., 2018).

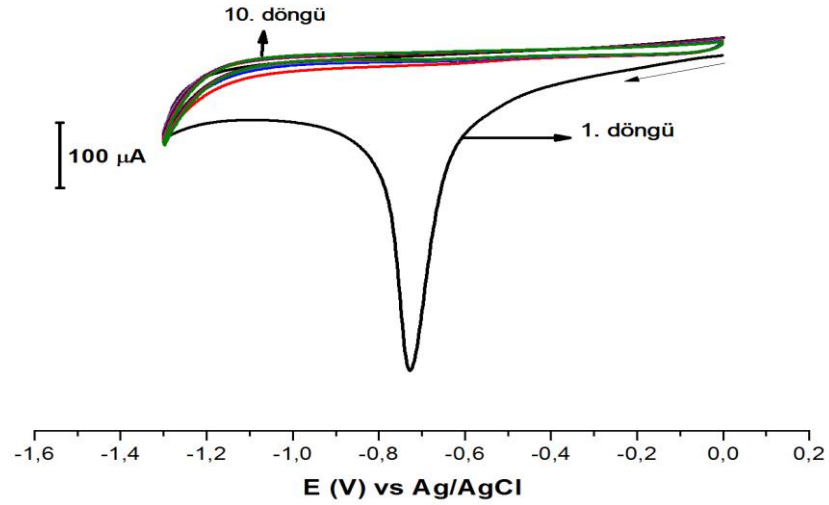


**Şekil 4.3.** 4-nitroanilin molekülünün GC elektrot yüzeyine CV tekniği kullanılarak alınan modifikasyon voltamogramı. +0.60/+1.30 V potansiyel aralığında, 30 döngülü ve  $100 \text{ mV s}^{-1}$  tarama hızında

Şekil.4.3'te görüldüğü gibi 4-NA molekülü elektrot yüzeyine ilk döngünün alınması ile birlikte bağlanmıştır. 4-NA molekülü GC yüzeyine direk oksidasyon ile modifiye edilmiştir.

Yapılan literatür araştırmalarında elde edilen bilgilere göre 4-NA ve bunun gibi küçük molekül kullanılarak yapılan modifikasyonlarda ilgili molekülün elektrot yüzeyine daha homojen halde bağlanabilmesi ve bu sayede pin hole adı verilen küçük boşlukların kalmaması amacıyla 10-20-30-40 döngülü olarak modifikasyon gerçekleştirildiği görülmüştür. Bu çalışmada farklı döngü sayıları (10-20-30-40) ile modifikasyon yapılarak karakterizasyon çalışmaları ışığında en uygun döngü sayısının 30 döngü olduğu tespit edilmiştir.

4-NA, GC yüzeyine  $-\text{NH}_2$  grubu ucundan bağlandığı ve oluşan yüzeyde serbest halde bulunan  $-\text{NO}_2$  grubunun indirgenmesi amacıyla CV kullanılarak alınan (0.10 M HCl) indirgenme voltamogramı (0.00/-1.30 V potansiyel aralığında, 10 döngülü ve  $100 \text{ mV s}^{-1}$  tarama hızında) Şekil 4.4'de görülmektedir.

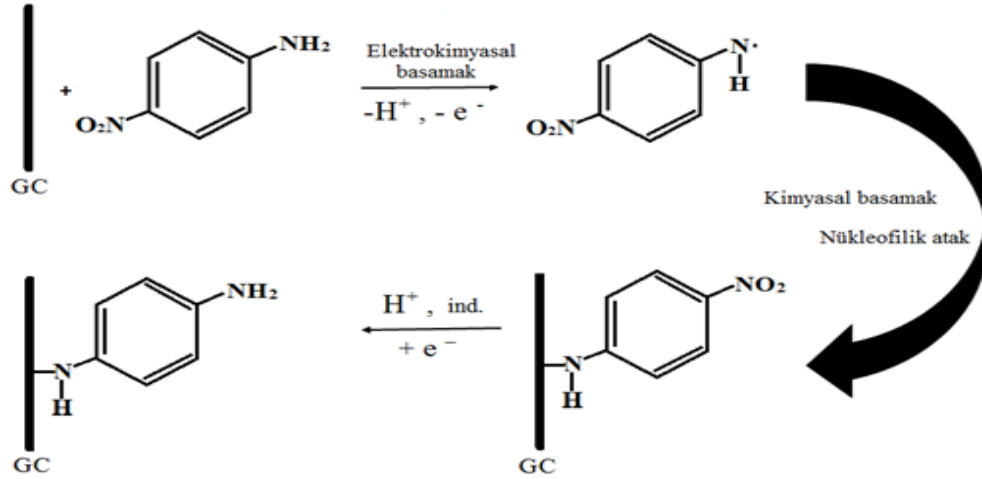


**Şekil.4.4.** GC/NP yüzeyindeki  $-\text{NO}_2$  gruplarının  $-\text{NH}_2$  gruplarına 0.10 M HCl ortamında indirgenme CV voltamogramı (0.00/-1.30 V potansiyel aralığında, 10 döngülü ve  $100 \text{ mV s}^{-1}$  tarama hızında)

#### 4.1.2. 4-NA Molekülünün GC Elektrot Yüzeyine Bağlanma ve İndirgenme Mekanizması

Şekil 4.3’de verilen modifikasyon ve Şekil 4.4’de verilen indirgenme işlemine ait EC mekanizması Şekil 4.5’de verilmiştir. Verilen bu mekanizma tahmin edilen en yüksek ihtimalli mekanizmadır. GC/NP yüzeyinin indirgenmesi ile oluşan yüzey amino fenil modifiye camısı karbon (GC/AP) olarak adlandırılmıştır.

Mekanizmanın tam olarak nasıl olduğuna karar verebilmek için daha üst düzey teknikler olan XPS veya Raman ölçümlerinin de alınmış olması gerekir. Ancak analitik uygulama amaçlı olarak yapılan bu çalışmada mekanizma yazmak için nispeten pahalı olan bu tekniklere başvurulmamış, eldeki veriler doğrultusunda mekanizma yazılmıştır. İlerleyen kısımlarda sonuçları verilecek olan, hem sulu hem de susuz ortamlarda yapılan yüzey karakterizasyon çalışmaları da yazılan mekanizmanın doğruluğunu destekler nitelikte bulunmuştur.



Şekil 4.5. 4-nitroanilin molekülünün GC yüzeye bağlanması ve GC/NP yüzeyindeki nitro grubunun, asidik ortamda amin gruplarına indirgenmesi ile oluşan GC/AP yüzey oluşumunun şematik gösterimi

### 4.1.3. Karakterizasyon Çalışmaları

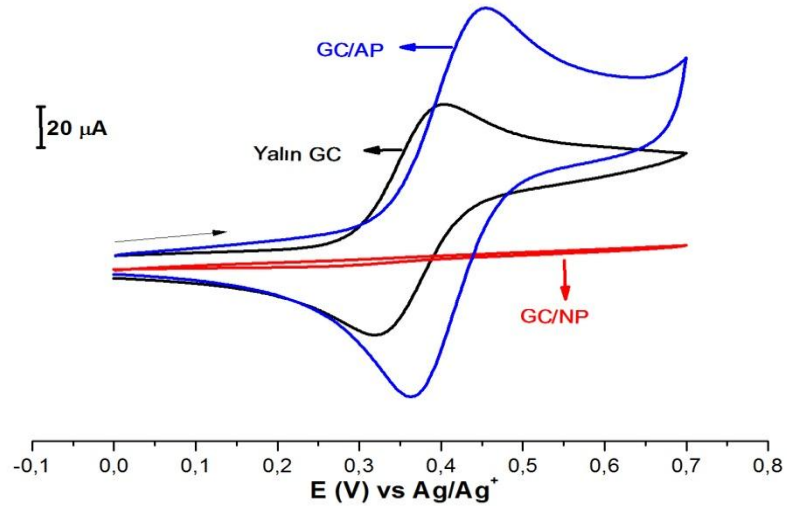
Camsı karbon elektrot yüzeyine 4-NA molekülünün susuz ortamda CV kullanılarak modifikasyonu ve GC/NP yüzeyinde serbest halde bulunan  $-\text{NO}_2$  grubunun indirgenmesi sonrası karakterizasyon işlemlerine geçilmiştir. Karakterizasyon çalışmaları, modifikasyonu hedeflenen 4-NA maddesinin elektrot yüzeyine gerçekten modifiye olup olmadığının test edildiği çalışmalardır. Bu amaçla yine CV kullanılarak önce susuz ortamda ferrosen redoks prob çözeltisi ile sonra da HCF(III) redoks prob çözeltisi ile sulu ortamda tek döngülü voltamogramlar alınmış ve bu voltamogramlar aynı işlemlerin yapıldığı çıplak GC elektrot yüzeyi için alınmış olan voltamogramlarla karşılaştırılmak suretiyle sonuçlar karşılaştırılmıştır.

#### 4.1.3.1. CV ile Ferrosen Redoks Prob Ortamında Karakterizasyon Çalışmaları

Bu karakterizasyon çalışmalarında kullanılan ferrosen çözeltisi 1.00 mM olacak şekilde 100 mM  $\text{NBu}_4\text{BF}_4$  ( $\text{CH}_3\text{CN}$  içerisinde) destek elektrolit çözeltisi içerisinde hazırlanmış ve voltamogramlar 0.00/+700 mV potansiyel aralığında,  $100 \text{ mV s}^{-1}$  tarama hızında alınmıştır. Üstüste karşılaştırılmış voltamogramdan (Şekil 4.6) görüldüğü gibi çıplak GC elektrot yüzeyinde ferrosen çözeltisinde bulunan  $\text{Fe}^{2+}$  iyonları önce  $\text{Fe}^{3+}$  iyonlarına yükseltgenirken, sonrasında tam tersi olay gerçekleşmekte ve  $\text{Fe}^{3+}$  iyonları  $\text{Fe}^{2+}$  iyonlarına indirgenmektedir. Ancak, 4-NA modifikasyonu ile tamamen kaplanmış

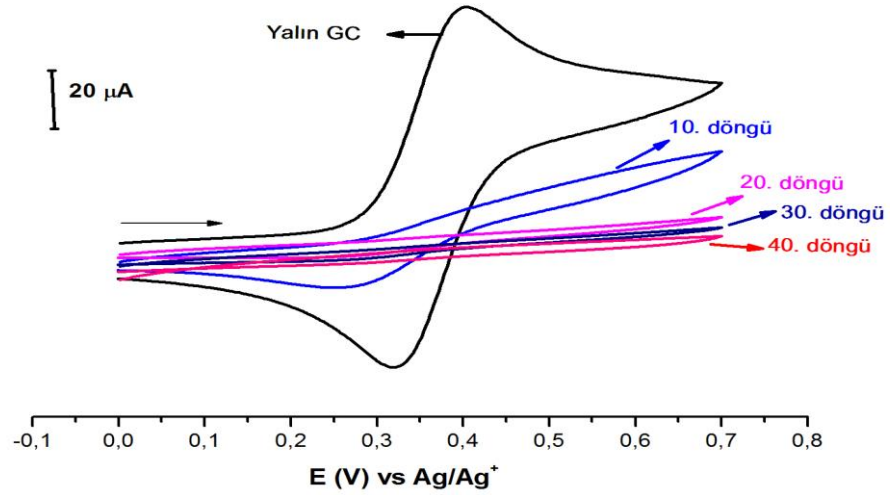
olan GC elektrot yüzeyinde beklendiği gibi ferrosen molekülünün yükseltgenme veya indirgenmesine ait bir pik görünmemektedir. Çünkü 4-NA molekülünün aktif gruplarından olan  $-NH_2$  grubunu GC elektrot yüzeyine bağlamak için kullanmış ve dolayısıyla ferrosen çözeltisinde bulunan  $Fe^{2+}$  iyonlarının yükseltgenmesini sağlayacak bir yüzey oluşturamamıştır.

Öte yandan GC/NP yüzeyinin 0.10 M HCl ortamında indirgenmesi ile serbest halde bulunan  $-NO_2$  grubunun  $-NH_2$  haline dönüşmesi sonucu oluşan GC/AP yüzeyi çıplak yüzeye göre daha aktif ve ferrosen çözeltisinde bulunan  $Fe^{2+}$  iyonlarının yükseltgenmesini sağlayacak bir hal almıştır.



**Şekil 4.6.** GC yüzeyine 4-nitroanilin modifikasyonu sonrası CV kullanılarak alınan ferrosen voltamogramı, modifiye elektrodun indirgenmesi sonrası alınan ferrosen ve çıplak GC yüzeyi için alınan ferrosen voltamogramı ile karşılaştırılmış görüntüsü. (0.00/+0.70 V potansiyel aralığında, tek döngülü ve  $100 \text{ mV s}^{-1}$  tarama hızında)

4-NA molekülünün GC yüzeye homojen ve sıkı bir istiflenmesi ve bunun neticesinde yüzeyde pin hole denilen boşlukların bulunmaması adına yapılan farklı döngü sayılarındaki modifikasyon işlemlerine ait ferrosen testi Şekil 4.7’de verilmiştir.



**Şekil 4.7.** GC yüzeyine 4-nitroanilin farklı döngü modifikasyonu sonrası CV kullanılarak alınan ferrosen voltamogramının çakıştırılmış görüntüsü. (0.00/+0.70 V potansiyel aralığı ve  $100 \text{ mV s}^{-1}$  tarama hızında)

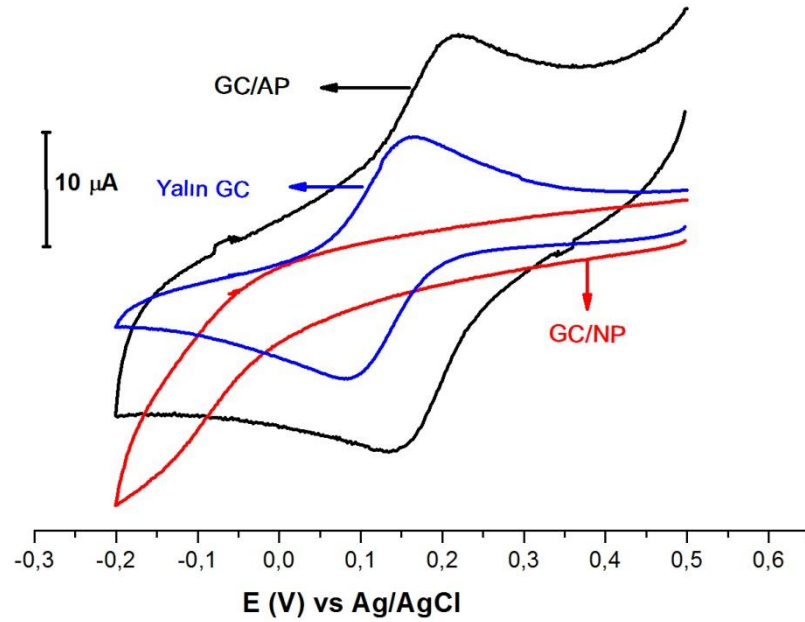
Buradan da görüldüğü gibi özellikle 10 döngülü yapılan modifikasyonda elde edilen modifiye yüzeyinin halen indirgenme eğiliminin olduğu ve dolayısıyla homojen bir yüzey elde edilemediğini göstermektedir. Küçük yapı 4-NA molekülünün rastgele dizilimi sonucu oluşan pin hole boşluklarından dolayı böyle bir durum meydana geldiği tahmin edilmektedir. Farklı döngü sayılarındaki modifikasyonlara ait çakıştırılmış ferrosen testi voltamogramlarına bakıldığında en ideal yüzeyin 30 döngülü yapılan modifikasyon ile elde edilen yüzey olduğu görülmektedir.

#### 4.1.3.2. CV ile HCF(III) Redoks Prob Ortamında Karakterizasyon Çalışmaları

Susuz ortamda görülen davranışların sulu ortamda da görülüp görülmeyeceğinin belirlenmesi amacıyla; susuz ortamda ferrosen redoks prob kullanılarak yapılan karakterizasyon işlemine benzer bir işlem de sulu ortamda HCF(III) redoks prob kullanılarak yapılmıştır. Bu amaçla, 1.00 mM olacak şekilde HCF(III) çözeltisi BR pH 2.00 tampon çözeltisi içerisinde hazırlanmış ve bu çözelti içerisine daldırılan çıplak GC, 4-NA modifiye GC ve indirgenmiş GC/NP elektrot yüzeylerinin voltamogramları ayrı ayrı alınmıştır. Burada HCF(III) redoks prob çözeltisi kullanılarak yapılan yüzey karakterizasyon işlemi ferrosen redoks prob çözeltisi kullanılarak yapılan yüzey karakterizasyon işleminden ayıran en önemli özellik, sulu ortamda yapılmasının yanında çözelti içerisinde  $\text{Fe}^{3+}$  iyonlarının bulunması ve dolayısıyla öncelikle

indirgenmenin gerçekleşmesi için voltamogramın katodik tarama yönünde başlatılmasıdır.

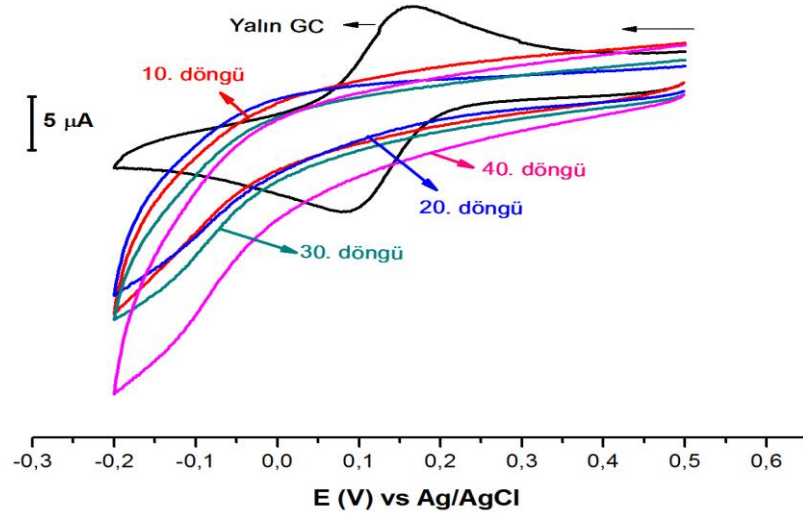
Şekil 4.8’de görüldüğü gibi, 1.00 mM HCF(III) redoks prob çözeltisi ortamında alınan voltamogram, +700/0.00 mV potansiyel aralığında, 100 mV s<sup>-1</sup> tarama hızında ve tek döngülü olarak alınmıştır. Ferrosen voltamogramına benzer biçimde burada da çıplak GC elektrot yüzeyinde indirgenme ve yükseltgenmeye ait pikler görünürken, 4-NA modifiye GC elektrot yüzeyinde bu pikler tamamen gözden kaybolmuştur. Öte yandan GC/NP yüzeyinin 0.10 M HCl ortamında indirgenmesi ile serbest halde bulunan -NO<sub>2</sub> grubunun -NH<sub>2</sub> haline dönüşmesi sonucu oluşan GC/AP yüzeyi çıplak yüzeye göre daha aktif ve HCF(III) çözeltisinde bulunan Fe<sup>3+</sup> iyonlarının indirgenmesini sağlayacak bir hal almıştır. Bu durum ferrosen ile susuz ortamda yapılan yüzey karakterizasyon çalışması ile birebir örtüşmekte ve her iki sonuç da birbirini desteklemektedir.



**Şekil 4.8.** GC yüzeyine 4-nitroanilin modifikasyonu sonrası CV kullanılarak alınan HCF(III) voltamogramı, modifiye elektrodun indirgenmesi sonrası alınan HCF(III) ve çıplak GC yüzeyi için alınan HCF(III) voltamogramı ile karşılaştırılmış görüntüsü. +0.50/-0.20 V potansiyel aralığında, tek döngülü ve 100 mV s<sup>-1</sup> tarama hızında

4-NA molekülünün GC yüzeye homojen ve sıkı bir istiflenmesi ve bunun neticesinde yüzeyde pin hole denilen boşlukların bulunmaması adına yapılan farklı döngü sayılarındaki modifikasyon işlemlerine ait ferrosen testine benzer sulu ortamda

HCF(III) redoks prob kullanılarak yapılan teste ait voltamogramlar Şekil 4.9'da verilmiştir.



**Şekil 4.9.** GC yüzeyine 4-nitroanilin farklı döngü modifikasyonu sonrası CV kullanılarak alınan HCF(III) voltamogramının çakıştırılmış görüntüsü. (+0.50/-0.20 V potansiyel aralığı ve 100 mV s<sup>-1</sup> tarama hızında)

Buradan da görüldüğü üzere ferrosen testinde olduğu gibi özellikle 10 döngülü yapılan modifikasyonda homojen bir yüzey elde edilemediği görülmektedir. Küçük yapılı 4-NA molekülünün rastgele dizilimi sonucu oluşan pin hole denilen boşluklarından dolayı böyle bir durumun meydana geldiği tahmin edilmektedir. Farklı döngü sayılarındaki modifikasyonlara ait çakıştırılmış HCF(III) testi voltamogramlarına bakıldığında en ideal yüzeyin 30 döngülü yapılan modifikasyon ile elde edilen yüzey olduğu görülmektedir.

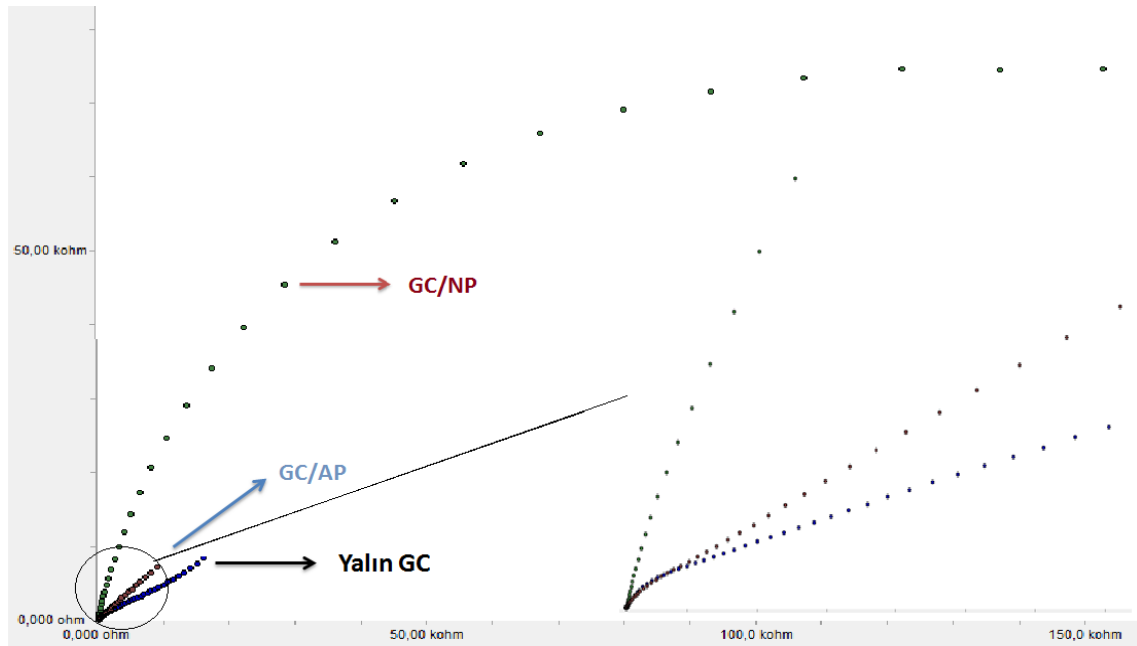
Elektrokimyasal çalışmalar teorik olarak Nernst eşitliğine (Eşitlik 4.1) bağlıdır ve bu eşitliğe uygun olmalıdır. Gerek ferrosen redoks prob kullanılarak ve gerekse HCF(III) redoks prob kullanılarak susuz ve sulu ortamlarda yapılan yüzey karakterizasyon işlemlerinden elde edilen voltamogramlardan okunan anodik ve katodik pik potansiyel farklarının Nernst eşitliğine göre 1 elektron transfer mantığıyla 59.0 mV'tan büyük ve dolayısıyla 118 mV'tan küçük olması gerekir.

$$E = E^{\circ} - \frac{RT}{nF} \ln \frac{[\text{Red}]}{[\text{Ox}]} \quad (4.1)$$

Bu işlemler sonrası çıplak GC elektrot için susuz ve sulu ortamda  $\Delta E_p$  değerleri sırasıyla 82.0 mV ve 91.0 mV olarak hesaplanmıştır. Tüm çalışmalarda bu değerler belirli aralıklarla kontrol edilmiş ve elektrotların daima kararlı olması sağlanmıştır.

#### 4.1.3.3. EIS ile HCF(II/III) Redoks Prob Ortamında Karakterizasyon Çalışmaları

CV ile yapılan sulu ve susuz ortam yüzey karakterizasyon işlemlerine ilaveten yine elektrokimyasal bir teknik olan EIS tekniği kullanılarak da yüzey karakterizasyonları yapılarak CV test sonuçlarının doğruluğu incelenmiştir. EIS tekniği ile yapılan işlemlerden elde edilen Nyquist eğrilerin genel görünüşüne bakılarak yüzeyde bulunan molekülün elektron aktarımına ne derece direnç gösterdiği diğer bir ifade ile elektron aktarımına ne derece izin verdiği yorumlanabilir. Bu amaçla HCF(II) ve HCF(III) çözeltileri 1:1 oranında 1.00 mM olacak şekilde 100 mM KCl destek elektrolit çözeltisi içerisinde karışım olarak hazırlanmışlardır. Bu çözelti içerisinde CV tekniğinde olduğu gibi çıplak, GC/NP ve indirgenmiş GC/NP yüzeylerinde 0.01 Hz ile 100.000 Hz frekans aralığında ve yaklaşık 10.0 mV kadar potansiyel altında impedans ölçümleri yapılmış ve elde edilen Nyquist eğrileri üst üste çakıştırılmıştır (Şekil 4.10).



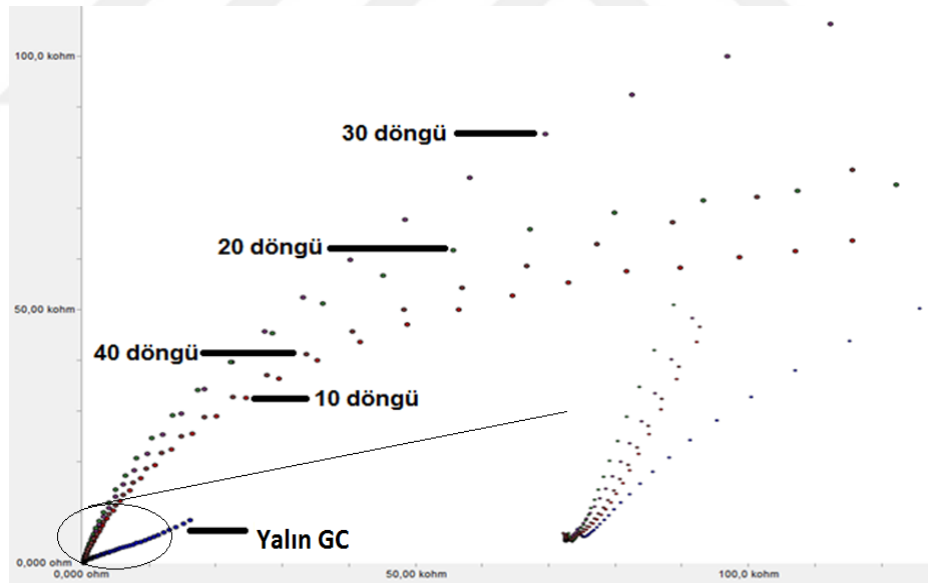
**Şekil 4.10.** GC yüzeyine 4-nitroanilin modifikasyonu sonrası EIS kullanılarak alınan HCF(II/III)\* Nyquist eğrisinin çıplak GC yüzeyi için alınan Nyquist eğrisi ile çakıştırılmış görüntüsü. 0.01 Hz/100.000 Hz frekans aralığında

\*HCF(II/III) redoks prob çözeltisi 100 mM KCl çözeltisi içerisinde 1.00 mM olarak hazırlanmıştır.

Şekil 4.10 incelendiğinde GC/NP elektrot yüzeyi çıplak GC elektrot yüzeyine göre daha fazla direnç göstererek elektron aktarımına izin vermediği, ancak GC/NP yüzeyinin indirgenmesi sonucu elde edilen yüzeyin (GC/AP) bu direnci kırarak aktif hale geldiği yani elektron aktarımına izin verdiği görülmektedir. Nyquist eğrilerinde görülen yarım dairenin büyüklüğü yüzeyin elektron aktarımına izin verip vermemesi ile doğrudan ilişkilidir. Öyle ki, burada yarım daire ne kadar büyük ise yüzey elektron aktarımına o derece direnç gösteriyor demektir.

Çıplak yüzey, GC/NP ve GC/AP elektrot yüzeyi için alınan impedans ölçümlerinin hem ferrosen redoks prob kullanılarak susuz ortamda alınan yüzey karakterizasyon voltamogramları ile hem de HCF(III) kullanılarak sulu ortamda alınan yüzey voltamogramları ile uyumlu olduğu ve sonuçların birbirleri ile örtüştüğü görülmektedir.

4-NA molekülünün GC yüzeye homojen ve sıkı bir istiflenmesi ve bunun neticesinde yüzeyde pin hole denilen boşlukların bulunmaması adına yapılan farklı döngü sayılarındaki modifikasyonu sonrası EIS kullanılarak alınan HCF(II/III) Nyquist eğrileri Şekil 4.11’de verilmiştir.



**Şekil 4.11.** GC yüzeyine farklı döngülerde 4-nitroanilin modifikasyonu sonrası EIS kullanılarak alınan HCF(II/III) Nyquist eğrisinin çıplak GC yüzeyi için alınan Nyquist eğrisi ile karşılaştırılmış görüntüsü. 0.01 Hz/ 100.000 Hz frekans aralığında

Buradan da anlaşılacağı gibi özellikle 10 döngülü yapılan modifikasyonla elde edilen yüzeyin direncinin daha az olduğu ve dolayısıyla homojen bir yüzey elde edilemediği görülmektedir. Küçük yapıları 4-NA molekülünün rastgele dizilimi sonucu

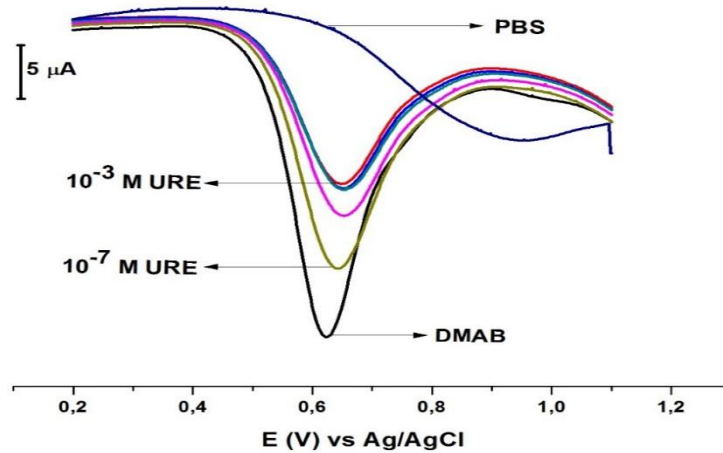
oluşan pin hole denilen boşluklardan dolayı böyle bir durumun meydana geldiği tahmin edilmektedir. Farklı döngü sayılarındaki modifikasyonlara ait karşılaştırılmış Nyquist eğrilerine bakıldığında en ideal yüzeyin 30 döngülü yapılan modifikasyon ile elde edilen yüzey olduğu görülmektedir. Burada elde edilen eğriden de anlaşılacağı gibi yüzey oldukça yüksek bir direnç göstermekte ve elektron aktarımına izin vermemektedir. Elde edilen bu eğriler CV tekniği ile sulu ve susuz ortamda yapılan HCF(III) ve ferrosen testlerinden çıkan sonuçları doğrulamaktadır.

Sonuç olarak bu çalışmada; yukarıda yapılan karakterizasyon işlemlerine dayanılarak GC yüzeyi önce 0.10 M 4-nitroanilin (asetonitril içinde) çözeltisinde 30 döngülü olarak modifiye edilmiş, daha sonra bu yüzey 0.10 M HCl içinde 10 döngülü olarak indirgenmek suretiyle GC/AP yüzeyi elde edilmiştir.

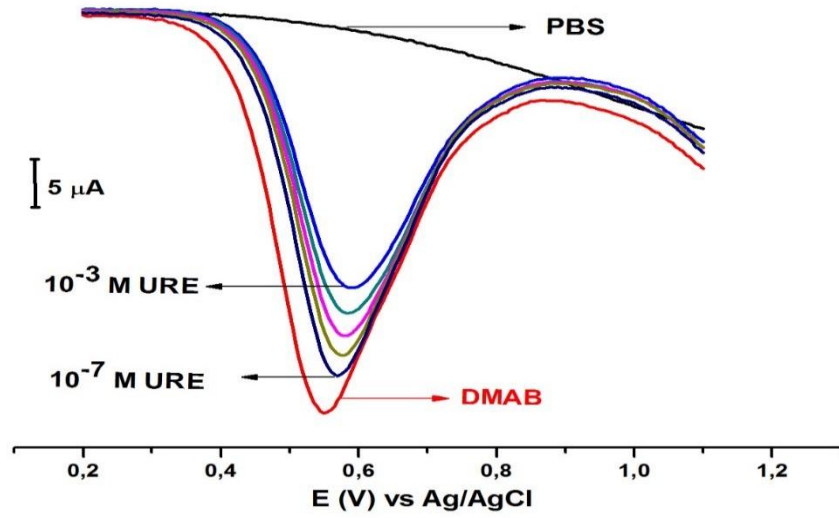
#### 4.1.4. Optimizasyon Çalışmaları

##### 4.1.4.1. Kantitatif Amaçlı Kullanılacak Voltametrik Tekniğin Belirlenmesi

Bu tip çalışmalarda kantitatif amaçlı olarak en yaygın kullanılan iki teknik DPV ve SWV teknikleridir. Öncelikle sensör elektrot kullanılarak PBS tampon çözeltisine ilave edilen 1.00 mM DMAB (asetonitril içinde) ve artan konsantrasyonlarda üre çözeltisi kullanılarak DPV tekniği ile +200/+1100 mV aralığında voltamogram alınmış ve bu voltamogram Şekil 4.12’de verilmiştir. Daha sonra aynı çalışma SWV ile yapılmış ve buradan elde edilen voltamogramda Şekil 4.13’de verilmiştir.



Şekil 4.12. 1.00 mM DMAB ve artan üre konsantrasyonlarına bağlı olarak +200/+1100 mV potansiyel aralığında alınan DPV voltamogramı



**Şekil 4.13.** 1.00 mM DMAB ve artan üre konsantrasyonlarına bağlı olarak +200/+1100 mV potansiyel aralığında alınan SWV voltamogramı

Her iki şekilde dikkatle incelendiğinde SWV ile alınan voltamogramın DPV ile alınan voltamograma göre çok daha düzgün olmasının yanında artan farklı konsantrasyonlara karşılık doğru orantılı olarak azalan akım değerlerine sahip olduğu görülmektedir. Bu nedenle yapılan bu ön çalışma sonrası GC/AP modifiye elektrot yüzeyinin DMAB molekülüne duyarlı olduğu ve artan üre konsantrasyonuna bağlı olarak azalan DMAB miktarı baz alınarak yapılacak olan bu kantitatif analiz çalışmasının SWV tekniği kullanılarak rahatlıkla yapılabileceği sonucuna varılmıştır.

Bu tez çalışmasında ürenin voltametrik olarak tayin edilmesi amacıyla adsorptif sıyırma kare dalga voltametri yönteminde yararlanılmıştır. Adsorptif sıyırma yönteminin geliştirilmesinde adsorpsiyonu ve sıyırmayı etkileyen iki etken vardır. Birinci etken biriktirme potansiyeli iken ikinci etken ise biriktirme süresidir. Bu yöntemde biriktirme potansiyeli olarak SWV yönteminde kullanılan potansiyel aralığı (+200/+1100 mV) kullanılmıştır.

#### 4.1.4.3. pH

Elektrokimyasal yüzey karakterizasyonu yapılan GC/AP elektrot için en uygun çalışma pH' sı bölüm 3.1.9.1'de anlatıldığı gibi tampon çözelti olarak fosfat

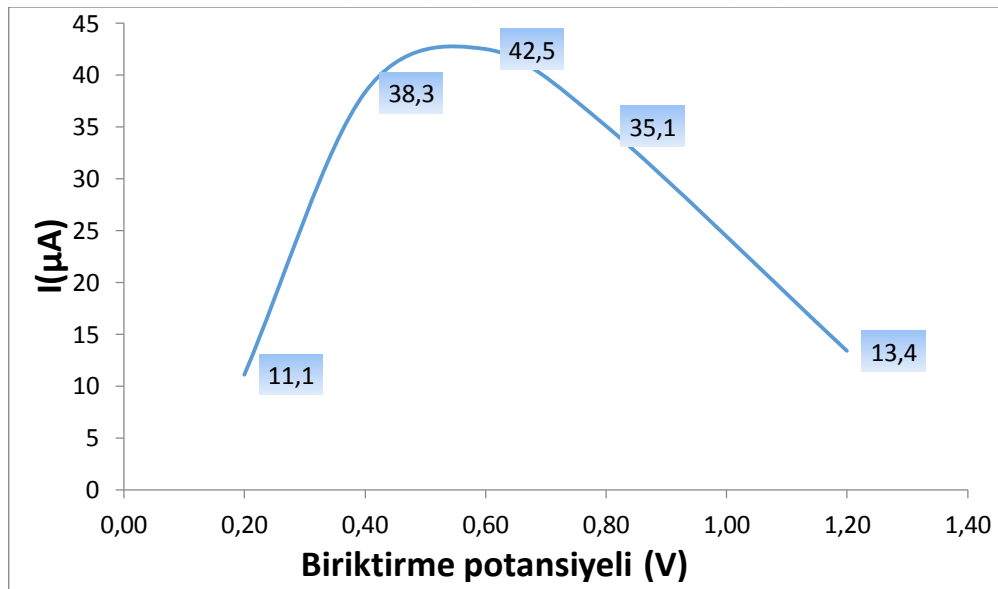
tamponu (PBS) seçilmiş ve pH değerinin 7.10 olması analiz için uygun görülmüştür.

#### 4.1.4.4. Modifiye Madde Miktarı

Elektrot yüzeyine modifiye edilecek olan 4-NA konsantrasyonu 1.00 mM olacak şekilde  $\text{NBu}_4\text{BF}_4$  ( $\text{CH}_3\text{CN}$  / 100 mM) çözeltisinde hazırlanmıştır. Hazırlanan bu çözelti ile uygun şartlarda modifiye edilen elektrotun sabit DMAB ve artan üre konsantrasyonlarında SWAdsSV yöntemiyle akım değerleri kaydedilmiştir.

#### 4.1.4.5. Biriktirme Potansiyeli

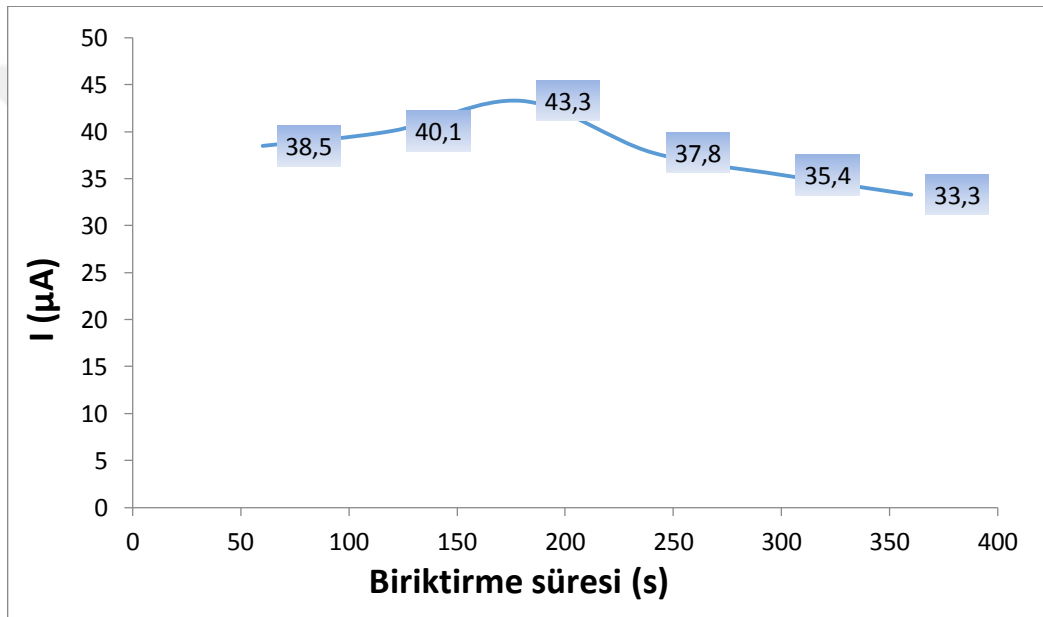
Modifiye maddesi 4-NA olan camsi karbon elektrot için optimum çalışma potansiyelini belirlemek için; 0.20, 0.40, 0.60, 0.80, 1.00, 1.20 V potansiyel değerlerinde akım değerleri elde edilmiştir. pH değeri 7.10 olan 0,1 M'lık fosfat (PBS) tamponunda her bir potansiyel için ölçülen akım değerlerinden en yüksek değer olan 0.60 V çalışmalarda kullanılacak en uygun potansiyel olarak belirlenmiştir (Şekil 4.14).



Şekil 4.14. GC-AP elektrotun üreye cevabına biriktirme potansiyelinin etkisi (0,1 M PBS içinde DMAB; 0.60 V, oda sıcaklığı)

#### 4.1.4.6. Biriktirme Süresi

GC/AP elektrot için optimum biriktirme süresinin belirlenebilmesi için; 60, 120, 180, 240, 300, 360 saniyede biriktirme yapılmıştır. Her bir süre için pH değeri 7.10 olan 0,1 M'lık fosfat (PBS) tamponunda çalışılmış ve biriktirme süresinin artan üre konsantrasyonuna bağlı olarak azalan DMAB konsantrasyon cevabına olan etkisi incelendiğinde bu çalışmada kullanılacak en uygun biriktirme süresinin 180 s olacağı kanaatine varılmıştır (Şekil 4.15).



Şekil 4. 15. GC/AP elektrotun üreye cevabına biriktirme süresinin etkisi (0,1 M PBS içinde DMAB; 0.60 V, oda sıcaklığı)

#### 4.1.5. Analitik Uygulamalar ve Performans Faktörlerinin Belirlenmesi

4-nitroanilin molekülünün GC elektrot yüzeyine modifikasyonu ve karakterizasyonu için yapılan tüm bu çalışmalar sonrasında modifiye elektrotun sensör elektrot olarak kullanılması aşamasına geçilmiştir. Burada elde edilen GC/AP elektrotun doğal numuneler içerisinde bulunan veya sonradan katılan üre maddesinin kantitatif tayinlerinde kullanılıp kullanılmayacağı öncelikle incelenmiş, alınan olumlu veriler

doğrultusunda, sensör elektrot kullanılarak sütte üre tayini başarılı bir biçimde gerçekleştirilmiştir.

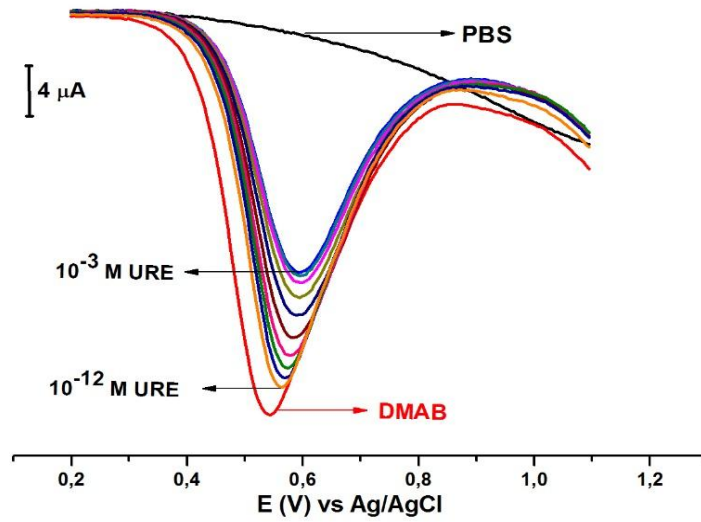
Elde edilen GC/AP elektrot PBS ve diğer tampon çözeltilerde (BR, asetat) hazırlanan 1.00 mM üre çözeltisine daldırılmak suretiyle test edildiğinde elektrotun üreye duyarlı olmadığı tespit edilmiştir. Yapılan literatür araştırmalarında ürenin kalitatif ve kantitatif tayini için elektrokimyasal sensör olarak çoğunluğu enzimatik (ureaz enzimi) biyosensör olarak; kromatografik ve spektrofotometrik çalışmalarda ise üreyi renklendirici maddelerle kompleks oluşturmak suretiyle tayin edildiği görülmüştür. Özellikle kromatografik ve spektrofotometrik tayinlerde renklendirici bileşik oluşturmak üzere Dasetil monoksim (DAM), 2,4 dinitrofenilhidrazin (2,4-DNFH), Dimetilaminobenzaldehit (DMAB) gibi maddeler kullanılmıştır.

Buradan yola çıkarak GC/AP elektrotu yukarıda sayılan maddelerin (DAM, 2,4-DNFH, DMAB) uygun çözücülerde hazırlanan çözeltilerine duyarlılığı araştırılmıştır. Netice olarak GC/AP elektrotu PBS tamponuna eklenen 1.00 mM konsantrasyonunda ki DMAB (asetonitril içinde) molekülüne duyarlılık göstermiştir. Bu sisteme üre çözeltisi ilave etmek suretiyle farklı üre konsantrasyonlarına ait DMAB voltamogramları incelendiğinde, artan üre konsantrasyonuna bağlı olarak DMAB voltamogram akım değerinin orantılı olarak düştüğü gözlemlenmiştir.

Sonuç olarak bu çalışmada modifiye edilen GC/AP elektrotu kullanılarak artan üre konsantrasyonuna bağlı olarak azalan DMAB akım değeri dikkate alınarak kalibrasyon eğrisi çizilmiş ve bu metotla gerçek numunelerde ürenin kantitatif tayini gerçekleştirilmiştir.

#### **4.1.5.1. Farklı Konsantrasyonlarda Standart Üre Çözeltilerinin GC/AP Elektrot Yüzeyinde SWAdsSV ile Tayini ve Kalibrasyon Grafiğinin Çizilmesi**

Çalışmada kullanılacak SWAdsSV tekniği ve şartları belirlendikten sonra kalibrasyon grafiğinin çizilmesine geçmeden önce GC/AP elektrotu kullanılarak SWAdsSV tekniği ile en düşük tayin edilecek konsantrasyon belirlenmiştir. Bu amaçla GC/AP elektrotunu içerisinde 1.00 mM bulunan DMAB, daha sonra  $1.00 \times 10^{-12}$  M üreden başlayarak artan üre konsantrasyonlarına bağlı azalan DMAB voltamogramları Şekil 4.16'da gösterilmiştir.



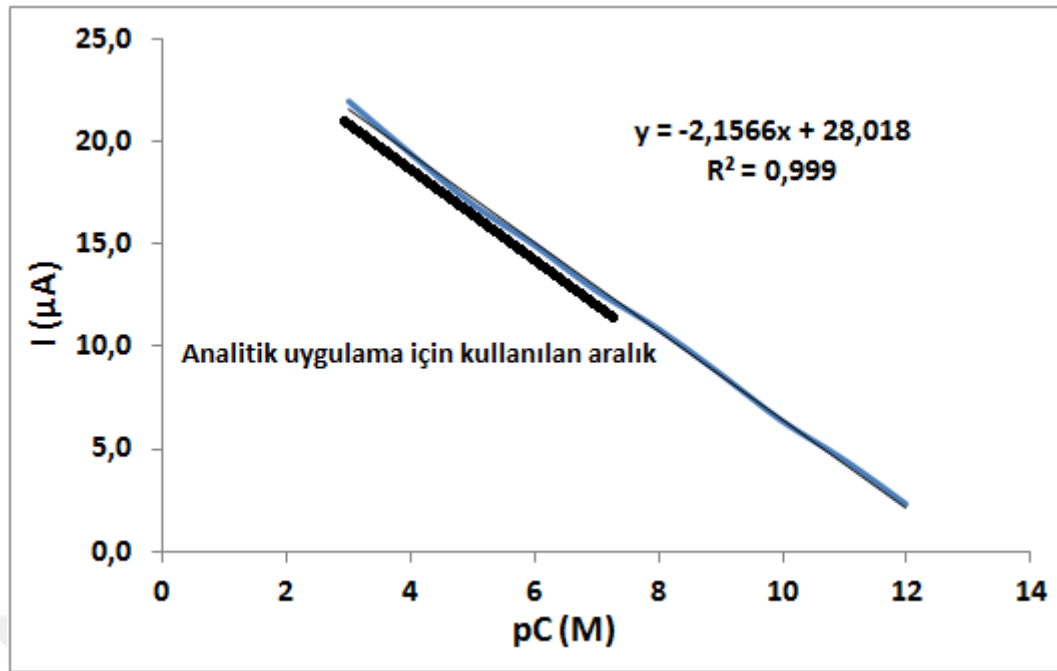
**Şekil 4.16.** 1.00 mM DMAB ve artan üre konsantrasyonlarına bağlı olarak +200/+1100 mV potansiyel aralığında alınan SWAdSV voltamogramı (180 s biriktirme)

Şekil 4.16’da anlaşılacağı üzere modifiye edilen GC/AP elektrotu ve optimal şartları belirlenen SWAdSV tekniği ile ürenin  $1.00 \times 10^{-12}$  M seviyesinde kantitatif olarak tayinin mümkün olduğu görülmektedir.

Ancak bu çalışmada karşılaştırma metodu olarak kullanılan HPLC yönteminde bu konsantrasyona kadar inilemediğinden dolayı analitik uygulamalarda kullanılmak üzere çizilen kalibrasyon eğrisinde gerçek numunede  $1.00 \times 10^{-5}$  M üreyi kantitatif olarak tayin edecek aralık ( $1.00 \times 10^{-3}$  –  $1.00 \times 10^{-7}$  M) kullanılmıştır.

Kalibrasyon eğrisini çizmek amacıyla 0.10 M PBS içerisinde hazırlanan üre çözeltisinden  $1.00 \times 10^{-3}$  M ile  $1.00 \times 10^{-12}$  M aralığında çözeltiler birbirlerinden seyreltilmek yoluyla hazırlanmış, modifiye edilen GC/AP elektrot önce PBS, sonra 1.00 mM DMAB ve sonra sistemde  $1.00 \times 10^{-12}$  M üre konsantrasyonundan başlayarak  $1.00 \times 10^{-3}$  M üre olacak şekilde aşılama yapmak suretiyle artan üre konsantrasyonuna bağlı olarak azalan DMAB voltamogramları; 180 s biriktirme ve +200/+1100 mV potansiyel aralığında SWAdSV tekniği ile alınmıştır.

Şekil 4.16’da gösterilen voltamogramlardan okunan pik akımları kullanılarak [DMAB için ölçülen akım – Artan üre konsantrasyonu bağlı azalan DMAB için ölçülen akım] artan üre konsantrasyonuna bağlı azalan DMAB çözeltilerinin farklı konsantrasyonlarına karşı çizilen kalibrasyon grafiği de Şekil 4.17’de verilmiştir.



**Şekil 4.17.** Artan üre konsantrasyonuna bağlı olarak azalan DMAB molekülü için SWAdSV ile alınan voltamogramlardan okunan pik akım farkları ile konsantrasyonlar arasında çizilen kalibrasyon grafiği

#### 4.1.5.2. Doğrusal Çalışma Aralığı ve Duyarlık

Bölüm 4.1.5.1.'de anlatıldığı gibi GC/AP elektrotun akım cevapları SWAdSV yöntemi ile art arda yapılan üre ilavelerinden sonra azalan DMAB konsantrasyonlarına ait akım değerleri ölçülmüş ve akım değerleri derişime karşı grafiğe geçirilerek kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur (Şekil 4.17). Bu eğri kullanılarak doğrusal çalışma aralığı  $1.24 \times 10^{-3} - 1.41 \times 10^{-12}$  M ve elektrotun duyarlığı ise  $2.16 \mu\text{A M}^{-1}$  olarak bulunmuştur.

#### 4.1.5.3. Gözlenebilme Sınırı ve Alt Tayin Sınırı

En düşük gözlenebilme (kalitatif) sınırı ve alt tayin (kantitatif) sınırı aşağıda verilen eşitlikler ile hesaplanmıştır. Eşitliklerde  $\delta$ , en düşük derişimlerde 10 ölçümün akım değerinin standart sapması ve  $s$  ise kalibrasyon grafiğinin eğimidir (Skoog, 1998).

$$\text{LOD} = 3.3\delta \text{ s}^{-1}$$

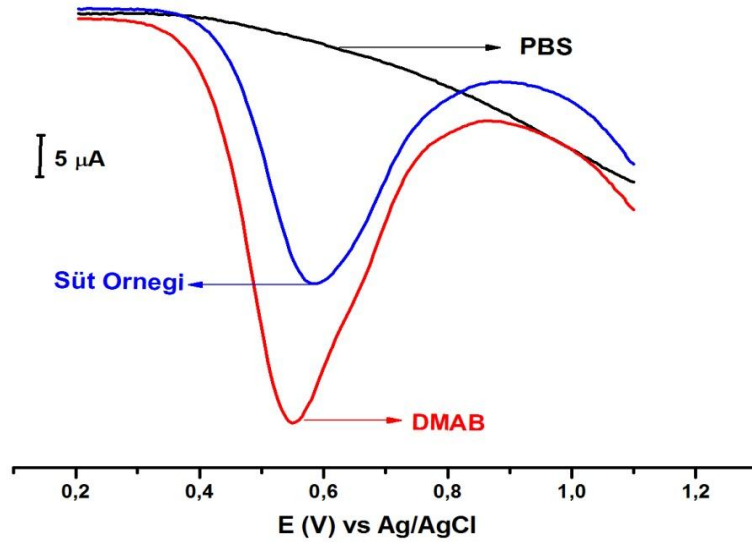
$$\text{LOQ} = 10\delta \text{ s}^{-1}$$

En düşük kalitatif ve kantitatif derişimler (LOD ve LOQ) sırasıyla  $3.19 \times 10^{-13}$  M ve  $1.05 \times 10^{-12}$  M olarak hesaplanmıştır.

#### 4.1.5.3. Süt Örneklerinde SWAdsSV tekniği ile Üre Tayininin Yapılması

Şekil 4.17’de verilen kalibrasyon grafiği için korelasyon katsayısı ( $R^2$ ) 0.999 olarak bulunmuştur. Çalışmada süt örneğinde bulunan ürenin tayini SWAdsSV tekniği ve elde edilen kalibrasyon grafiği kullanılarak yapılmıştır.

Bu amaçla önceden kromatografik metotla üre miktarı tayin edilen süt örneği SWAdsSV tekniğinde aşılama hacmi olarak belirlenen 100  $\mu$ L hacimde  $1.00 \times 10^{-5}$  M üre olacak şekilde 0.10 M PBS tamponu ile seyreltilmek yoluyla hazırlanmıştır. Modifiye edilen GC/AP elektrot önce PBS, sonra 1.00 mM DMAB ve sonra sisteme  $1.00 \times 10^{-5}$  M üre içeren süt örneği ilave edilerek; 180 s biriktirme ve +200/+1100 mV potansiyel aralığında SWAdsSV tekniği ile voltamogramlar alınmıştır (Şekil 4.18).



Şekil 4.18. Süt örneği içerisinde bulunan ürenin tayini için SWAdsSV tekniği ile alınan voltamogramlar

Gerek kromatografik gerekse elektroanalitik çalışmalar 10 tekrarlı olarak yapılmıştır. Çizelge 4.1’de süt örneğinde 10 tekrar ölçüm yapılarak elde edilen

voltamogramlara ait pik akımları ve bu pik akımlarına karşılık gelen üre konsantrasyonları verilmiştir.

**Çizelge 4.1.** Süt örneğinde tekrarlanan ölçümlere ait pik akımları ve bu akımlara karşılık gelen üre düzeyleri

Tekrar No	Pik Akımı ( $\mu\text{A}$ )	Üre Konsantrasyonu (M)
1	38.8	$1.06 \times 10^{-5}$
2	38.1	$9.56 \times 10^{-6}$
3	37.1	$9.22 \times 10^{-6}$
4	37.4	$9.67 \times 10^{-6}$
5	38.5	$9.13 \times 10^{-6}$
6	37.3	$1.02 \times 10^{-5}$
7	37.6	$9.39 \times 10^{-6}$
8	37.6	$1.04 \times 10^{-5}$
9	37.8	$9.89 \times 10^{-6}$
10	37.8	$9.63 \times 10^{-6}$
<b>Ortalama</b>	<b>37.8</b>	<b><math>9.76 \times 10^{-6}</math></b>

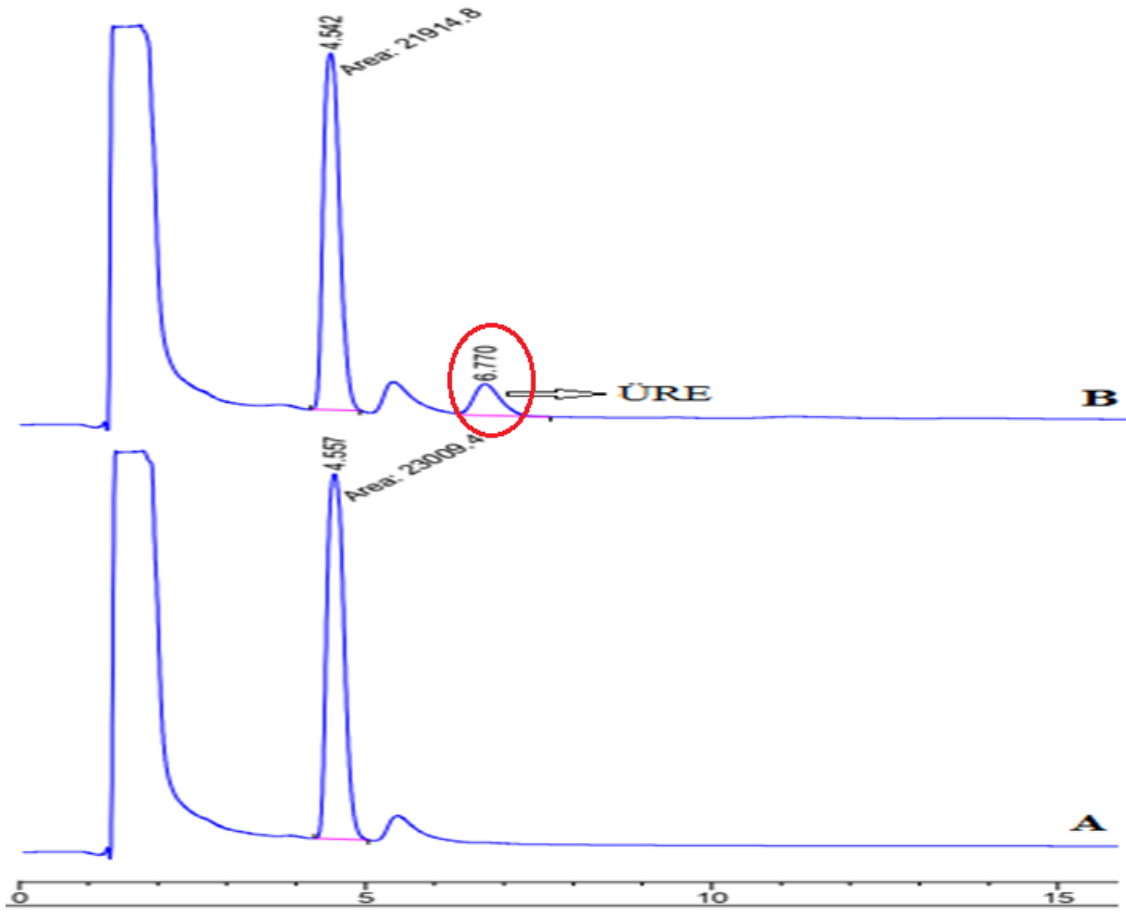
Ortama süt örneği ilavesi ile azalan DMAB pik akımı 10 tekrar için ortalama  $37.8 \mu\text{A}$ 'dir. Kalibrasyon grafiği ve denklemi kullanılarak süt örneğinde bulunan üre miktarı ortalama  $9.76 \times 10^{-6}$  M olarak hesaplanmıştır.

## 4.2. Kromatografik Çalışmalar

### 4.2.1. Süt Örneklerinde HPLC ile Üre Tayininin Yapılması

Süt örneğinde üre tayinine geçmeden önce ürenin kromatogramda alıkonma zamanını tespit etmek amacıyla içerisinde üre bulunmayan (A) ve  $2.00 \times 10^{-5}$  M üre bulunan (B) su örnekleri ekstraksiyona tabi tutulup kromatogramları alınmıştır (Şekil 4.19). Kromatogramlardan da görüldüğü üzere üreye ait pik 6.7 dakikada (RT) gelmiştir.

Ürenin kromatogramda alıkonma zamanının belirlenmesinden sonra  $1.00 \times 10^{-5}$  M konsantrasyonu tespit edecek şekilde kalibrasyon grafiği çizildi. Kromatogramlarda kalibrasyon eğrisi oluşturma esnasında da karşılaşılan alıkonma zamanları 4.3 ve 5.4 dk olan pikler ile bunun öncesinde gürültü olarak gelen pik ekstraksiyon işleminde yer alan çözücü sistemine [asit karışımı (fosforik ve sülfürik asit)] ve reaksiyona girmeyen DAM molekülüne aittir.



Şekil 4.19. İçerisinde üre bulunmayan (A) ve  $2.00 \times 10^{-5}$  M üre bulunan (B) su örneklerine ait kromatogramların karşılaştırılması

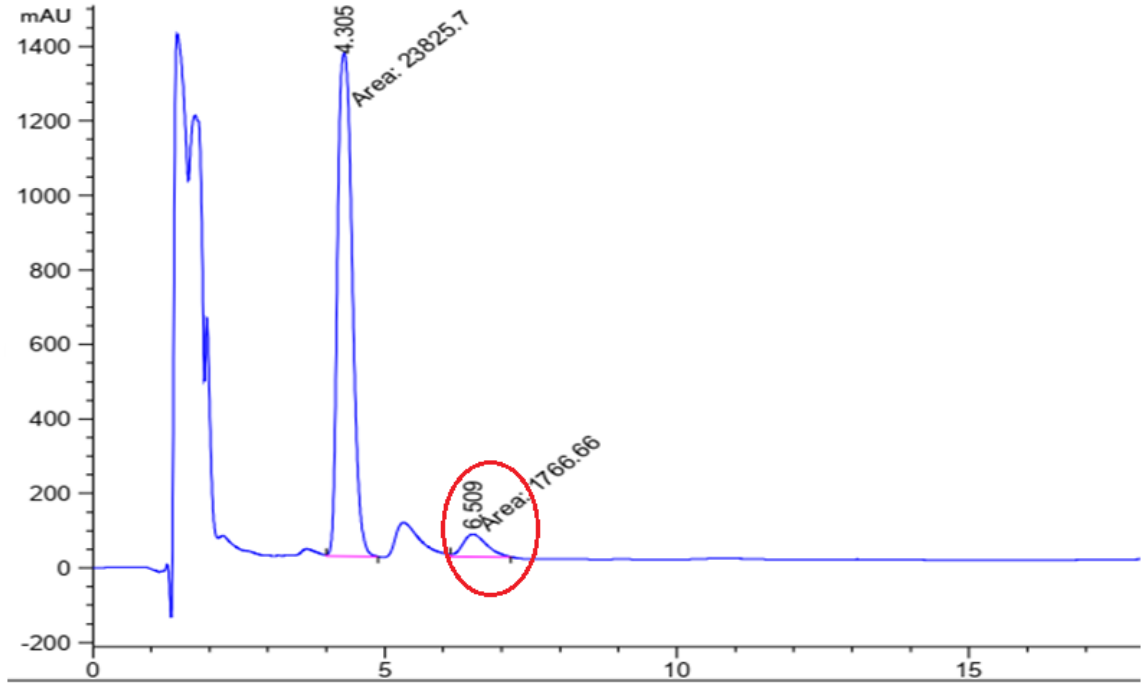
Çizelge 4.2’de kromatografik koşullar ve üreye ait alıkonma zamanı görülmektedir.

Çizelge 4.2. HPLC optimal kromatografik koşullar ve ürenin alıkonma zamanı

<b>Kolon</b>	Phenomenex Synergi 4 $\mu$ m Polar-RP 80 Å (250x2.0 mm)
<b>Mobil Faz</b>	Metanol (% 0.20 Hac):Su (90:10), izokratik sistem
<b>Akış Hızı</b>	1.00 mL/dakika
<b>Enjeksiyon Hacmi</b>	100 $\mu$ L
<b>Basınç</b>	Minimum 0 bar, Maksimum 300 bar
<b>Dalga Boyu</b>	212 nm
<b>Alıkonma Zamanı</b>	6.7 dk

Marketten temin edilen süt örneğinde gerekli ekstraksiyon işlemlerinden sonra HPLC sisteminde okutulması sonucu üre miktarı 284 ppm ( $4.70 \times 10^{-3}$  M) olarak tespit edildi. Kromatografik koşullar altında inilebilecek minimum konsantrasyon değeri olan  $1.00 \times 10^{-5}$  M olacak şekilde ultra saf su yardımıyla süt örneği seyreltilti. Daha sonra ekstraksiyon işlemine geçildi.

Elde edilen süt ekstratının HPLC sistemine verilmesi sonucu elde edilen kromatogram Şekil 4.20’de verilmiştir.



Şekil 4.20. İçerisinde  $1.00 \times 10^{-5}$  M (601 ppb) üre bulunan süt örneğine ait kromatogram

Çizelge 4.3’de süt örneğinde 10 tekrar ölçüm yapılarak elde edilen ve HPLC Agilent yazılım tarafından hesap edilen üre konsantrasyonları verilmiştir.

Çizelge 4.3. Kromatografide ölçülen tekrarlara ait üre düzeyleri

Tekrar No	Üre Konsantrasyonu (601 ppb)	Üre Konsantrasyonu ( $1,00 \times 10^{-5}$ M)
1	607	$1.01 \times 10^{-5}$
2	553	$9.21 \times 10^{-6}$
3	532	$8.86 \times 10^{-6}$
4	559	$9.31 \times 10^{-6}$
5	657	$1.09 \times 10^{-5}$
6	571	$9.51 \times 10^{-6}$
7	579	$9.64 \times 10^{-6}$
8	635	$1.06 \times 10^{-5}$
9	546	$9.09 \times 10^{-6}$
10	591	$9.84 \times 10^{-6}$
<b>Ortalama</b>	<b>583</b>	<b><math>9.71 \times 10^{-6}</math></b>

### 4.3. Sonuçların İstatiksel Olarak Değerlendirilmesi

İki metot ölçümü ile elde edilen verilerin metotların kendi içinde ve metotlar arasındaki uygunluğu denetlemek amacıyla yapılan istatistiki değerlendirmelere ait sonuçlar Çizelge 4.4’de verilmiştir.

Çizelge 4.4. Sonuçlara ait istatistiksel değerlendirmeler

	HPLC	ELEKTROANALİTİK
	601 (ppb)	601 (ppb)
1	607	634
2	553	574
3	532	554
4	559	581
5	657	548
6	571	610
7	579	564
8	635	627
9	546	594
10	591	578
<b>ORTALAMA</b>	583	586
<b>SD</b>	40.0	29.5
<b>RSD</b>	0.069	0.050
<b>t-test (kritik değer: 1,73)</b>	Deneysel: 1.29	
<b>F-test (kritik değer: 3,18)</b>	Deneysel: 0.54	

Çizelge 4.4’de verilen sonuçlar incelendiğinde; kromatografik çalışmalarda ortalama üre konsantrasyonu 583 ppb ( $9.71 \times 10^{-6}$  M), elektroanalitik ölçümlerde ise bu değer 586 ppb ( $9.76 \times 10^{-6}$  M) olarak bulunmuştur.

İki metot ölçümleri arasındaki uygunluğu test etmek için ise t (% 95 güven seviyesi, df:18) ve F (% 95 güven seviyesi, df:18) testleri kullanılmıştır.

Çizelge 4.4’de verilen iki metotun ölçüm ortalamaları t testi ile analiz edildiğinde deneysel verinin (1.29) t kritik değerden (1.73) daha küçük olduğu için iki metot arasında bir fark gözlenmemiştir.

Çizelge 4.4’te verilen F-testi sonuçlarına göre karbonsu sensör elektrot esaslı ürenin kantitatif tayini ile kromatografik ürenin kantitatif tayin yönteminin kesinlikleri arasında % 95 güvenilirlik aralığında, önemli bir farklılığın olmadığı görülmüştür.

## 5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Doktora tezi olarak yapılan bu çalışmada doğal numunelerde (süt) bulunan ürenin kantitatif analizi için yeni bir kimyasal sensör elektrot geliştirilmesi ve bu modifiye elektrot ile yapılan ölçümlerden alınan sonuçların Konya İl Gıda Kontrol Laboratuvarında referans metot olarak kullanılan kromatografik (HPLC) metot ile kıyaslanması hedeflenmiştir. Bu amaçla kullanılan GC/AP modifiye sensör elektrot hedeflerimiz doğrultusunda başarılı bir şekilde kullanılmıştır.

Yapılan literatür çalışmalarında üreye duyarlı sensörlerin büyük bir çoğunluğunun biyosensör olduğu ve bu sensörlerin seçiciliklerinin iyi olması avantajının yanında daha düşük konsantrasyonları kantitatif olarak tespit edememesi ve kararlılıklarının düşük olması gibi dezavantajlara sahip oldukları görülmüştür.

Doğal numunelerde bulunan ürenin kantitatif olarak belirlenebilmesi diğer tüm kimyasal analizlerde olduğu gibi elektroanalitik kimya alanında da oldukça önemli bir yere sahiptir. Kan, yem, süt, organ vb. gibi kompleks numunelerde azotlu bileşikler grubunda yer alan ürenin diğer bileşiklerden ayrılması ve kantitatif olarak tayin edilmesi hususunda büyük sorunlarla karşılaşmış, analizden önce yoğun bir ekstraksiyon işlemine ihtiyaç duyulmuştur.

Yapmış olduğumuz çalışmada ayırma işlemine ihtiyaç duyulmadan doğal numune (süt) direk analiz çözeltilisine ilave edilerek oldukça düşük ( $1.00 \times 10^{-12}$  M) seviyesinde ürenin kantitatif tayini gerçekleştirilmiştir. Her iki metottan elde edilen sonuçların istatistiki değerlendirilmesi iki yönden yapılmıştır. Her iki metodun kullanılması ile elde edilen ortalamaların karşılaştırılmasında % 95 güven seviyesinde iki ortalama arasında önemli farkın olmadığı ortaya konulmuştur ( $t_{\text{kritik}}: 1.73 > t_{\text{deneysel}}: 1.29$ ). Ayrıca her iki metodun kesinliklerini karşılaştırdığımızda ise yine her iki metodun kesinlikleri arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir ( $F_{\text{kritik}}: 3.18 > F_{\text{deneysel}}: 0.54$ ).

Yapılan bu doktora çalışması; ilk olarak basitliği ve ucuzluğu, ikincisi herhangi bir ön ayırma işlemine tabi tutmadan ürenin tayininin yapılabilmesi, üçüncüsü az kimyasal ve çözücü kullanımından dolayı çevreci ve ekonomik bir metot olması dördüncüsü ürenin rutin analizinde HPLC metoduna alternatif yeni bir referans metot olarak kullanılabilir olması ve sonuncu olarak da çok düşük üre derişimin bulunduğu

durumlarda  $1 \times 10^{-12}$  M seviyesinde (LOD:  $3.19 \times 10^{-13}$  M, LOQ:  $1.05 \times 10^{-12}$  M) üre tayinine imkan tanınması bu çalışmanın önemli avantajları olarak sayılabilir.

Elektroanalitik olarak yapılan analizlerin sonuçlarının son derece güvenilir olması yapılan bu çalışmanın diğer bir artışı olarak değerlendirilebilir. Bu çalışma ile ilgili olarak, elde edilen sonuçlar ilgili kurumlarla paylaşılacaktır.

Rutin analiz yapan özel ve kamu kuruluşlarının güncel kullandıkları diğer metotlar göz önünde alındığında ön ekstraksiyon işlemleri için kullanılan kimyasal maddelerin ekonomik anlamda azımsanmayacak şekilde kuruluşlara maddi yük getirdiği ve bu metotlarda yapılan analizlerin sonuca bağlanıp raporlanması hemen hemen bir günü aldığından, zaman olarak değerlendirildiğinde elektroanalitik tekniklerin yine diğer tekniklerden bir adım önde olduğu unutulmamalıdır.

Sadece süt numunesinde yapılan bu çalışma yukarıda belirtilen ve içerisinde üre bulunan diğer doğal numunelere de (kan, yem vb.) kolaylıkla uygulanabilir.

## 6. KAYNAKLAR

- Alghamdi, A. H., 2010, Applications of stripping voltammetric techniques in food analysis, *Arabian Journal of Chemistry*, 3, 1-7.
- Alizadeh, T. and Akbari, A., 2013, A capacitive biosensor for ultra-trace level urea determination based on nano-sized urea-imprinted polymer receptors coated on graphite electrode surface, *Biosensors and Bioelectronics*, 43, 321–327.
- Alizadeh, T., Ganjali, M. R., Rafiei, F., 2017, Trace level and highly selective determination of urea in various real samples based upon voltammetric analysis of diacetylmonoxime-urea reaction product on the carbon nanotube/carbon paste electrode, *Analytica Chimica Acta*, 974, 54-62.
- Association of Official Analytical Chemistry, 1975, Official Method of Analysis of the Association of Official Analytical Chemistry, 12th Edition, Association of Official Analytical Chemistry, Washington DC, p. 132.
- Association of Official Analytical Chemistry, 2002, Official Method of Analysis of the Association of Official Analytical Chemistry, 16th Edition, Association of Official Analytical Chemistry, Washington DC.
- Azadbakht, A. and Gholivand, M. B., 2014, Covalent attachment of Ni-2,3-pyrazine dicarboxylic acid onto gold nanoparticle gold electrode modified with penicillamine-CdS quantum dots for electrocatalytic oxidation and determination of urea, *Electrochimica Acta*, 125, 9–21.
- Bard A. J. and Faulkner L. R., 2001, *Electrochemical Methods*, 2nd edition, John Wiley & Sons, New York.
- Boggs, B., King, R., Botte, G., 2009, Urea electrolysis: direct hydrogen production from urine, *Chem. Commun.* 32, 4859–4861.
- Brainina, Kh. Z., 1972, *Stripping voltammetry in chemical analysis*, John Wiley and Sons. Inc., New York.
- Cabeza, A., Urtiaga, A., Rivero, M. J., Ortiz, I., 2007, Ammonium removal from landfill leachate by anodic oxidation, *J. Hazard. Mater.*, 144, 715–719.
- Commission Regulation (EC) No. 152/2009 of 27 January 2009, Laying down the Methods of Sampling and Analysis for the Official Control of Feed, *Official Journal of the European Union*.
- Czauderna, M. and Kowalczyk, J., 2009, Easy and Accurate Determination of Urea in Milk, Blood Plasma, Urine and Selected Diets of Mammals by High-Performance Liquid Chromatography with Photodiode Array Detection Preceded by Pre-column Derivatization, *Chem. Anal. (Warsaw)*, 54, 919-937.
- Çiftçi, A., 2009, Diazonyum tuzu indirgenmesi ile hazırlanan yüzeylerin elipsometrik ve elektrokimyasal metotlarla incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 9-22.

- Durmuş, N., 2016, HMPD Modifiye Camısı Karbon Elektrot Kullanılarak Doğal Numunede DPV ile Bakır İyonlarının Kantitatif Tayini, Yüksek Lisans Tezi, Konya Necmettin Erbakan Üniversitesi, Konya.
- Ezhilan, M., Gumpu, M. B., Ramachandra, B. L., Nesakumar, N., Babu, K. J., Krishnan, U. M., Rayappan, J. B. B., 2016, Design and development of electrochemical biosensor for the simultaneous detection of melamine and urea in adulterated milk samples, *Sensors and Actuators B: Chemica*, SNB-20965, 1-10.
- G.T.H.B., 2018, Kimyasal ve Fiziksel Analizlerde Metot Validasyonu/Verifikasyonu Rehberi, Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Ankara.
- Hernández, M. C., Russo, N., Panizza, M., Spinelli, P., Fino, D., 2014, Electrochemical oxidation of urea in aqueous solutions using a boron-doped thin-film diamond electrode, *Diamond & Related Materials*, 44, 109–116.
- Hernlem, B. J., 2005, Electrolytic destruction of urea in dilute chloride solution using DSA electrodes in a recycled batch cell, *Water Res.*, 39, 2245–2252.
- Hussain, I., Mahmood, Z., Yasmeen, R., Jahangir, M., Hamed, R. And Nasir R., 2002, Assay of Urea with p-Dimethylaminobenzaldehyde, *Jour. Chem. Soc. Pak.*, Vol. 24, No: 2, 122-129.
- İsbir, A. A., 2007, Bazı dibenzo- bis- imino podandların camısı karbon ve modifiye camısı karbon elektrotta elektrokimyasal davranışlarının incelenmesi, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 28.
- Jha, S. K., Topkar, A., D'Souza, S. F., 2008, Development of potentiometric urea biosensor based on urease immobilized in PVA–PAA composite matrix for estimation of blood urea nitrogen (BUN), *J. Biochem. Biophys. Methods*, 70, 1145–1150.
- Kapaka, A., Fierro, S., Frontistis, Z., Katsaounis, A., Frey, O., Koudelka, M., Comninellis, C., Udert, K.M., 2009, Electrochemical behaviour of ammonia ( $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ ) on electrochemically grown anodic iridium oxide film (AIROF) electrode, *Electrochem. Commun.*, 11, 1590–1592.
- Kılıç, R., 2015, MPMHC Modifiye Gc Elektrot'un Elektrokimyasal Davranışlarının Belirlenmesi ve Cd (II) İyonlarına Karşı Duyarlılığının Voltametrik Olarak İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Konya Necmettin Erbakan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Kissinger, P. T., 1996, *Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry*:76-84-716.
- Koebel, M., Elsener, M., 1995, Determination of urea and its thermal decomposition products by high-performance liquid chromatography, *Journal of Chromatography A*, 689, 164-169.

- Macmahon, S., Begley, T. H., Diachenko, G. W., Stromgren, S. A., 2012, A liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for the detection of economically motivated adulteration in protein-containing foods, *Journal of Chromatography A*, 1220, 101–107.
- Mondal, S., Sangaranarayanan, M. V., 2013, A novel non-enzymatic sensor for urea using a polypyrrole-coated platinum electrode, *Sensors and Actuators B*, 177, 478–486.
- Mülazımoğlu, İ. E., 2008, Camsı karbon elektrot yüzeyine çeşitli flavonoid türevlerinin modifikasyonu, yüzey karakterizasyonu, elektrokimyasal ve spektroskopik özelliklerinin incelenmesi, Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, 17-45.
- 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.
- Odekov, B., 2016, Amonyum Seçici Elektroda Dayanan Katı Temaslı Potansiyometrik Üre Biyosensörü Yapımı, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara.
- Oymak, T., 2011, Yarı İletken Nanoparçacık Sentezinde Yöntem Geliştirme ve Analitik Uygulamaları, Doktora Tezi, Ankara Gazi Üniversitesi, Ankara.
- 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.
- Paliwal, R., Malik, R., Kant, R., 2018, “Electrooxidation and Kinetic Study of pNitroaniline in Acidic Solution”, *International Journal for Research in Applied Science & Engineering Technology (IJRASET)*, Volume 6, Issue II, 227-236.
- Paul, S. F., Simon, W., Lewis Kieran, F., 2002, Analytical methodology for the determination of urea: current practice and future trends, *Trends in Analytical Chemistry*, vol. 21, no: 5.
- Perrin D. D. ve Dempsey B., 1974, “Buffers for Ph and Metal Ion Control”, Chapman and Hall, London.
- Pibarot P., Pilard S., 2012, Analysis of Urea in Petfood Matrices: Comparison of Spectro-Colorimetric, Enzymatic and Liquid Chromatography Electrospray Ionization High Resolution Mass Spectrometry Methods, *American Journal of Analytical Chemistry*, 3, 613-621.

- Quan, Z., Purser, C., Baker, R. C., Dwyer, T., Bhagat, R., Sheng, Y. and Leszczynski, J. R., 2010, Determination of Derivatized Urea in Exhaled Breath Condensate by LC–MS, *Journal of Chromatographic Science*, Vol. 48, 140-144.
- Saiapina, O. Y., Pyeshkova, V. M., Soldatkin, O. O., Melnik, V. G., Kurç, B. A., Walcarius, A., Dzyadevych, S. V., Jaffrezic-Renault, N., 2011, Conductometric enzyme biosensors based on natural zeolite clinoptilolite for urea determination, *Materials Science and Engineering C*, 31, 1490–1497.
- Shorter, J., 1978, The conversion of ammonium cyanate into urea a saga in reaction mechanisms, *Chemical Society Reviews*: 7 (1), Royal Society of Chemistry, ss: 1-14.
- Simka, W., Piotrowski, J., 2007, Methods for removal of urea from aqueous solutions, *Przem. Chem.*, 86, 841.
- Skoog, D. A., West D. M. and Holler F. J., 1996, *Fundamentals of Analytical Chemistry*, Sounders Collage Publishing, Orlando, Florida.
- Skoog, D. A., Holler, F. J., Nieman, T. A., 1998, *Principles of Instrumental Analysis*, Harcourt Brace & Company, Florida.
- Skoog, D. A., West, D.M., Holler, F.J. and Crouch, S.R., 2004, *Analitik kimya temel İlkeler, Çeviri, Sekizinci baskı*, Ankara.
- Turan, Ş., 2008, Ordinazol'un elektrokimyasal davranışı ve adsorptif sıyırma yöntemleriyle tayini, *Yüksek Lisans Tezi*, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 4-13.
- Üre G.B.F., 2016, Gemlik Gübre, <http://www.gemlikubre.com.tr/images/dosyalar/ureguv.pdf>, [Ziyaret Tarihi: 5 Nisan 2016].
- Üstündağ, Z., 2008, Katyonlarda duyarlı modifiye elektrotların hazırlanması ve karakterizasyonu, *Doktora Tezi*, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 24-57.
- Van Hege, K., Verhaege, M., Verstraete, W., 2002, Indirect electrochemical oxidation of reverse osmosis membrane concentrates at boron-doped diamond electrodes, *Electrochem. Commun.*, 4, 296–300.
- Wang, J., 2000, *Analytical Electrochemistry*, John Wiley and Sons. Inc., New York, USA.
- Wang, J., 2006, *Analytical Electrochemistry*, John Wiley and Sons. Inc., New York, USA.
- Wang, J., Gao, Y., Dorshorst, D. W., Cai, F., Bremer, M., Milanowski, D., Staton, T. L., Cape, S. S., Dean, B., Ding, X., 2016, Development of a multi-matrix LC–MS/MS method for urea quantitation and its application in human respiratory

- disease studies, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, PBA-10910, 1-9.
- Wang, R., Wu, H., Zhou, X. and Chen, L., 2014, Simultaneous Detection of Ethyl Carbamate and Urea in Chinese Yellow Rice Wine by HPLC-FLD, *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 37:39–47.
- Wang, Y. Q., Wang, S. S., Zhu, J., Wang, L., Jiang, B. H., Zhao, W. J., 2016, Determination of urea content in urea cream by centrifugal partition chromatography, *journal of food and drug analysis*, 24, 399-405.
- Yalçın, G., 2007, Bazı kimyasal maddelerin DNA ile etkileşmesinin biyosensörler ile algılanması, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir,14-17.
- Yılmaz S., 2012, Uygulama Örnekleriyle Elektroanalitik Kimya, 2.cilt, Kriter Yayınları, İstanbul, 235-261.
- Zhang, J., Liu, G., Zhang, Y., Gao, Q., Wang, D. and Liu, H., 2014, Simultaneous Determination of Ethyl Carbamate and Urea in Alcoholic Beverages by High-Performance Liquid Chromatography Coupled with Fluorescence Detection, *J. Agricultural Food Chemistry*, 62, 2797-2802.

## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

**Adı Soyadı** : Abdullah ALTAY  
**Uyruğu** : T.C.  
**Doğum Yeri ve Tarihi** : Konya / 10.07.1982  
**Telefon** : (544) 661 31 13  
**Faks** : -  
**e-mail** : kimyager42@gmail.com

### EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	: Veteriner Sağlık Mes. L. / Karatay / Konya	2000
Üniversite	: Selçuk Üni. / Selçuklu / Konya	2004
Yüksek Lisans	: Selçuk Üni. / Selçuklu / Konya	2010
Doktora	: Necmettin Erbakan Üni. / Meram / Konya	2021

### İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2004	Erzurum İspir İlçe Tarım Müd.	Veteriner Sağ. Tek.
2009	Eskişehir Toprak ve Su Kay. Araş. Ens.	Kimyager
2011	Eskişehir Geçitkuşuğu Araş. Ens. Müd.	Yük. Kimyager
2015	Konya Veteriner Kontrol Ens. Müd.	Yük. Kimyager
2018	Konya Gıda Kontrol Lab. Müd.	Mühendis

### UZMANLIK ALANI

**Polimer Kimyası**  
**Kimyasal Gübre, Toprak ve Su Analizleri**  
**Hayvansal Antibiyotik İlaç Etken Madde Analizleri**  
**Toksikoloji**  
**Gıda Katkı Madde Analizleri**  
**Arıcılık**  
**Bahçe Bitkileri**

### YABANCI DİLLER

**İngilizce**

**YAYINLAR**

**ALTAY A., OKUDAN A., ALTAY F., 2010, “NIPAAm/NTBA/X Hidrojelinin Faz Geçiş Sıcaklığı (LCST) ve Termal Özelliklerine NHMAAm ve MMA Komonomerlerinin Etkisinin İncelenmesi”, 24. Ulusal Kimya Kongresi, 29 Haziran-2 Temmuz 2010, Karaelmas Üniversitesi, Zonguldak, (Sözlü Bildiri). (Yüksek Lisans tezinden yapılmıştır)**

**ALTAY A., OKUDAN A., 2010, “NIPAAm/MMA/X Hidrojelinin Faz Geçiş Sıcaklığı (LCST) ve Termal Özelliklerine NTBA ve AA monomerlerinin Etkisinin İncelenmesi”, I. Ulusal Su Kaynakları Yönetimi Sempozyumu, 20-22 Ekim 2010, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Karaman, (Sözlü Bildiri). (Yüksek Lisans tezinden yapılmıştır)**

**ALTAY A., 2010, “Tarımda Su Tutucu Olarak Kullanılan Hidrojelin Farklı KNO<sub>3</sub> Çözeltilerindeki Fiziksel Özelliklerinin Belirlenmesi”, I. Ulusal Su Kaynakları Yönetimi Sempozyumu, 20-22 Ekim 2010, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Karaman, (Sözlü Bildiri).**

**ALTAY, A., 2011, “Tarımda Su Tutucu Olarak Kullanılan Hidrojelin Fiziksel Özelliklerine Asidik ve Nötr Tuzların Etkisinin Belirlenmesi”, GAP VI. Tarım Kongresi, 09-12 Mayıs 2011, Harran Üniversitesi, Şanlıurfa, (Sözlü Bildiri).**

**ALTAY A., 2010, “Tarımda su tutucu olarak kullanılan hidrojelin farklı (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözeltilerindeki fiziksel özelliklerinin belirlenmesi”, Uluslararası Sürdürülebilir Su ve Atıksu Yönetimi Sempozyumu 2010, 26-28 Ekim 2010, Büyükşehir Belediyesi KOSKİ, Konya, (Poster).**

**ALTAY A., OKUDAN A., 2010, “NIPAAm/NTBA/X Hidrojelinin Faz Geçiş Sıcaklığı (LCST) ve Termal Özelliklerine NHMAAm ve MMA monomerlerinin Etkisinin İncelenmesi”, Uluslararası Sürdürülebilir Su ve Atıksu Yönetimi Sempozyumu 2010, 26-28 Ekim 2010, Büyükşehir Belediyesi KOSKİ, Konya, (Poster). (Yüksek Lisans tezinden yapılmıştır)**

**ALTAY, A., 2010, “Tarımda Su Tutucu Olarak Kullanılan Hidrojelin Farklı KNO<sub>3</sub> Çözeltilerindeki Fiziksel Özelliklerinin Belirlenmesi”, Tarım Bilimleri Araştırma Dergisi, 3 (2): 49-51.**

**ALTAY, A., OKUDAN, A., 2011, “NIPAAm/MMA/X Hidrojelinin Faz Geçiş Sıcaklığı (LCST) ve Termal Özelliklerine NTBA ve AA Monomerlerinin Etkisinin İncelenmesi”, Tarım Bilimleri Araştırma Dergisi, 4 (2): 31-34. (Yüksek Lisans tezinden yapılmıştır)**

**ALTAY, A., OKUDAN, A., 2010, “Investigation of effect of NHMAAm and MMA monomers to thermal properties and phase transition temperature (LCST) of NIPAAm/NTBA/X hydrogels”, International Sustainable Water and Wastewater Management Symposium Proceedings, Volume 2, 1345-1352. (Yüksek Lisans tezinden yapılmıştır)**

**ALTAY, A., 2010, “Determination of the physical properties in different (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> solutions of used as water-retaining hydrogel in agriculture”, International**

Sustainable Water and Wastewater Management Symposium Proceedings, Volume 2, 1353-1356.

**ALTAY, A.**, 2011, "Tarımda Su Tutucu Olarak Kullanılan Hidrojelin Fiziksel Özelliklerine Asidik ve Nötr Tuzların Etkisinin Belirlenmesi", GAP VI. Tarım Kongresi Bildiri Kitabı, 343-347.

**ALTAY, A.**, 2008, "Hidrojeller ve Kullanım Alanları", Yüksek Lisans Semineri, Fen-Edebiyat Fakültesi, Selçuk Üniversitesi, Konya.

**ALTAY A.**, 2010, "Hidrofobik Grup İçeren Hidrojellerin Sentezi ve Bu Grupların poli (N-izopropil akrilamid) Hidrojelinin LCST Sıcaklığına Etkisinin İncelenmesi", Yüksek Lisans Tezi (SÜ-BAP-FBE 09201019), Fen Fakültesi, Selçuk Üniversitesi, Konya.

**OKUDAN, A., ALTAY, A.**, 2019, Investigation of the Effects of Different Hydrophilic and Hydrophobic Comonomers on the Volume Phase Transition Temperatures and Thermal Properties of N-IsopropylacrylamideBased Hydrogels, International Journal of Polymer Science, Volume 2019, 1-12. (Yüksek Lisans tezinden yapılmıştır)

**ÖZKAN, A., GÜNKAYA, Z., BANAR, M., KULAÇ, A., YALÇIN, G., TAŞPINAR, K., ALTAY, A.**, 2015, Pyrolysis of Zinc Contaminated Biomass From Phytoremediation, Anadolu University of Sciences & Technology - A: Applied Sciences & Engineering, 2015, Vol. 16 Issue 3, 385-393.

**ÖZKAN, A., GÜNKAYA, Z., BANAR, M., KULAÇ, A., YALÇIN, G., TAŞPINAR, K., ALTAY, A.**, 2016, Fitoremediasyon ve piroliz işlemlerinin ardışık uygulamasıyla kadmiyum stabilizasyonu, Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi, Cilt 22, Sayı 6, 497-502.

**ÖZKAN, A., GÜNKAYA, Z., BANAR, M., KULAÇ, A., YALÇIN, G., TAŞPINAR, K., ALTAY, A.**, 2014, Pyrolysis of Hyperaccumulator Plants Used for the Phytoremediation of Lead Contaminated Soil, Ekoloji Dergisi, Cilt 23, Sayı 92, 51-56.

**ÖZKAN, A., GÜNKAYA, Z., BANAR, M., KULAÇ, A., YALÇIN, G., TAŞPINAR, K., ALTAY, A.**, 2013, Pyrolysis of Used Hyperaccumulator Plants in Phytoremediation of Soil Contaminated with Zinc, Journal of Selcuk University Natural and Applied Science, Part I, 544-552.