

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**POLİFENOL TÜREVLİ ANTIOKSİDANLAR İÇİN SENSÖR
GELİŞTİRİLMESİ VE ANALİTİK UYGULAMALARI**

NURCAN AYHAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

MALATYA

HAZİRAN 2018

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**POLİFENOL TÜREVLİ ANTIOKSİDANLAR İÇİN SENSÖR
GELİŞTİRİLMESİ VE ANALİTİK UYGULAMALARI**

NURCAN AYHAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

MALATYA

HAZİRAN 2018

Tezin Başlığı: Polifenol Türevli Antioksidanlar için Sensör Geliştirilmesi ve Analitik Uygulamaları

Tezi Hazırlayan: NURCAN AYHAN

Sınav Tarihi: 25/06/2018

Yukarıda adı geçen tez jürimizce değerlendirilerek Kimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Sınav Jürisi Üyeleri

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Serap TİTRETİR DURAN.

İnönü Üniversitesi

Prof Dr. Fırat AYDIN

Dicle Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Ebru KUYUMCU

İnönü Üniversitesi

Prof.Dr. H. İbrahim ADIGÜZEL

Enstitü Müdürü

ONUR SÖZÜ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Polifenol Türevli Antioksidanlar için Sensör Geliştirilmesi ve Analitik Uygulamaları” başlıklı bu çalışmanın bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurmaksızın tarafımdan yazıldığını ve yararlandığım bütün kaynakların hem metin içinde hem de kaynakçada yöntemine uygun biçimde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir, bunu onurumla doğrularım.

Nurcan AYHAN

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

POLİFENOL TÜREVLİ ANTIOKSİDANLAR İÇİN SENSÖR GELİŞTİRİLMESİ VE ANALİTİK UYGULAMALARI

Nurcan AYHAN

İnönü Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

70 + xvi sayfa

2018

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Serap TİTRETİR DURAN

Eş Danışman: Prof. Dr. Süleyman KÖYTEPE

Bu çalışmada amaç; gallik asit, kafeik asit ve kateşin gibi polifenol türevli antioksidanların yan yana ve/veya bu antioksidanlardan birine veya birkaçına karşı seçicilik gösterebilen polimer kaplı film elektrotlar geliştirmektir.

Bu amaçla öncelikle poliimit ve poliüretan temelli polimerlerin karakterizasyonları FTIR, SEM, DSC, TGA ve DTA ile gerçekleştirilmiş ve sıvı temas açıları ölçülmüştür. Ardından poliimit ve poliüretanların n-metilpirolidon (NBS) içindeki çözeltisinden platin elektrot üzerine damlatılarak polimer film elektrotlar hazırlanmıştır.

Hazırlanan polimer elektrotların amperometrik sensör karakteristikleri üzerine askorbik asit, kumarik asit gibi elektroaktif ve sükroz, maltoz, früktoz ve glukoz gibi elektroaktif olmayan interferansları engellemek için polimer türü, kurutma süresi ve polimer film kalınlığı gibi parametreler optimize edilmiştir. Daha sonra hazırlanmış olan gallik asit, kafeik asit ve kateşin sensörlerinin interferanslar yanında seçicilik, kararlılık ve duyarlılığı değerlendirilmiştir.

Sonuç olarak; her biri için ayrı ayrı hazırlanmış olan polimer kaplı elektrotların interferansları engellerken; gallik asit, kafeik asit ve kateşine düzenli DPV yanıtları verdiği bulunmuştur. Gallik asit, kafeik asit ve kateşin için sırasıyla regresyon katsayısı (R^2) 0.9935, 0.9938, 0.9933; tayin sınırı (LOD), 0.027, 0.507 0.023 ve kantitasyon sınırı (LOQ) değerleri, 0.081, 1.522, 0.069 olarak hesaplanmıştır. Gallik asit, kafeik asit ve kateşin için elektrokimyasal sensörler başarıyla geliştirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kafeik Asit, Gallik Asit, Kateşin, Sensör, Polimer

ABSTRACT

Master Thesis

SENSOR DEVELOPMENT AND ANALYTIC APPLICATIONS FOR POLYFENOL DERIVATIVE ANTIOXIDANTS

Nurcan AYHAN

İnönü Universty

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Chemistry

70 + xvi pages

2018

Supervisor: Dr. Instructor Serap TİTRETİR DURAN

Cosupervisor: Prof. Dr. Süleyman KÖYTEPE

In this study; coated film electrodes which can be selective against polyphenol-derived antioxidants such as gallic acid, caffeic acid and catechin side-by-side and / or against one or several of these antioxidants. For this purpose, the characterizations of polyimide and polyurethane based polymers were performed by FTIR, SEM, DSC, TGA and DTA and liquid contact angles were measured. Polymer film electrodes were then prepared by dropping the polyimide and the polyurethanes from the solution in n-methylpyrrolidone (NMP) onto the platinum electrode. Parameters such as polymer type, drying time and polymer film thickness have been optimized to prevent electroactive interferences such as ascorbic acid, coumaric acid, and sucrose, maltose, fructose and glucose on the amperometric sensor characteristics of the prepared polymer electrodes. The selectivity, stability and susceptibility of gallic acid, caffeic acid and catechin sensors prepared later were evaluated in addition to interferences.

As a result; the polymer coated electrodes separately prepared for each of them interferes with the interferences; gallic acid, caffeic acid and catechin were shown to give regular DPV responses. The regulatory coefficient for gallic acid, caffeic acid and catechin, respectively, (R^2) 0.9935, 0.9938, 0.9933; limit of determination (LOD), 0.081, 1.522, 0.069 and the quantitation limit (LOQ) values were calculated as 0.081, 1.522, 0.069. electrochemical sensors for gallic acid, caffeic acid and catechin were successfully developed.

Keywords: Caffeic acid, Gallic acid, Catechin, Sensor, Polymer

TEŞEKKÜR

Bu çalıőmamda her tűrlű desteęini, yardımını esirgemeyen, beni yűnlendiren, maddi ve manevi olarak daima yanımda olan kıymetli danıőman hocam Sayın Dr. Őęr. Ŭyesi Serap TİTRETİR DURAN'a;

Bilgisinden ve engin tecrűbelerinden yararlandıęım eő danıőmanım Sayın Prof. Dr. Sűleyman KűYTEPE'ye, çalıőmalarım esnasında fikirleriyle destek olan Doç. Dr. Aziz PAŐAHAN'a, çalıőmamın her aőamasında yardımlarını esirgemeyen Arő. Grv. Dr. Őznur GŬNGŐR'e, katkı ve desteklerinden dolayı arkadaőlarım İmren ŐZCAN, Bűőra AKSOY ve Muammer BURÇ'a;

Bu çalıőmanın gerçekleőmesinde 2016/16 No'lu proje ile tűm maddi imkânları saęlayan İnnűnű Ŭniversitesi Bilimsel Araőtırma Projeleri Birimine ve Kimya Bűlűm Baőkanlıęına;

Ayrıca Őęrenim hayatım boyunca bana her tűrlű maddi ve manevi destek veren deęerli AİLEM'e

Teőekkűr ederim.

Nurcan AYHAN

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xi
TABLOLAR LİSTESİ	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xv
1 GİRİŞ.....	1
2 KURAMSAL TEMELLER.....	3
2.1 Voltametri.....	3
2.1.1 Elektrotlar.....	3
2.1.2 Elektrolitler.....	7
2.1.3 Hücreler.....	9
2.1.4 Voltametrik teknikler.....	10
2.2 Elektrot Modifikasyonu.....	13
2.2.1. Elektrot modifikasyonunda polimerik membranlar.....	14
2.3. Polifenoller ve Medikal Önemi.....	18
2.3.1. Kafeik asit	21
2.3.2 Gallik asit.....	22
2.3.3 Katesin.....	23
3 MATERYAL VE YÖNTEM.....	26

3.1	Ölçümde Kullanılan Aygıt ve Gereçler.....	26
3.2	Kimyasal Maddeler.....	28
3.3	Elektrotlar.....	28
3.3.1	Elektrotların temizliği.....	29
3.3.2	Elektrotların modifikasyonu.....	29
4	ARAŞTIRMA BULGULARI.....	30
4.1	Kafeik Asit Tayini için Optimizasyonlar	30
4.1.1.	Kafeik asit tayininde kullanılacak polimer yapısının karakterizasyonu ...	30
4.1.2.	Kafeik asit pik potansiyelinin belirlenmesi.....	35
4.1.3.	Kafeik asit tayininde kullanılacak polimer türünün belirlenmesi.....	36
4.1.4.	Kafeik asit tayini için polimer film kalınlığının belirlenmesi.....	37
4.1.5.	Amperometrik kafeik asit tayini.....	38
4.1.6.	Kafeik asit seçici elektrotların kararlılığının belirlenmesi.....	39
4.2.	Gallik Asit Tayini İçin Optimizasyonlar	41
4.2.1	Gallik asit tayininde kullanılacak polimer yapısının karakterizasyonu	41
4.2.2.	Gallik asit pik potansiyelinin belirlenmesi.....	46
4.2.3.	Gallik asit tayininde kullanılacak polimer türünün belirlenmesi	47
4.2.4.	Gallik asit tayin için polimer film kalınlığının belirlenmesi.....	48
4.2.5.	Amperometrik gallik asit tayini	49
4.2.6.	Gallik asit seçici elektrotların kararlılığının belirlenmesi	50
4.3.	Kateşin Tayini için Optimizasyonlar.....	51
4.3.1	Kateşin tayininde kullanılacak polimer yapısının karakterizasyonu	51
4.3.2.	Kateşin pik potansiyelinin belirlenmesi	54

4.3.3. Kateşin tayininde kullanılacak polimer türünün belirlenmesi	55
4.3.4. Amperometrik kateşin tayini	57
4.3.5. Kateşin seçici elektrotların kararlılığının belirlenmesi	58
5 SONUÇ VE ÖNERİLER.....	60
6 KAYNAKLAR.....	62
7 ÖZGEÇMİŞ.....	70

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 2.1. a) Dönüşümlü voltametri de elektroda uygulanan potansiyel programı b) elde edilen akım-potansiyel eğrisi.....	10
Şekil 2.2. Diferansiyel puls voltametri için sinyal grafikleri.....	12
Şekil 2.3. Poliimitlerin genel kimyasal yapıları.....	15
Şekil 2.4. Poliimid sentez şeması.....	16
Şekil 2.5. Poliüretanların genel kimyasal yapıları.....	17
Şekil 2.6. Poliüretan sentez şeması.....	18
Şekil 2.7. Genel polifenol yapıları.....	20
Şekil 2.8. Kafeik asitin molekül yapısı.....	21
Şekil 2.9. Kafeik asitin yükseltgenme reaksiyonu	22
Şekil 2.10. Gallik asitin molekül yapısı.	22
Şekil 2.11. Kafeik asitin yükseltgenme reaksiyonu	23
Şekil 2.12. Keteşin molekülünün kimyasal yapısı.	24
Şekil 2.13. Kateşinin yükseltgenme reaksiyonu	25
Şekil 3.1. BAS 100W elektrokimyasal analizör.	26
Şekil 3.2. yardımcı elektrot, çalışma elektrodu ve referans elektrottan oluşan voltametrik hücre ve montajı	27
Şekil.4.1. Guar temelli polimerin FT-IR Spektrumları.....	30
Şekil 4.2. Guar temelli polimerik filmlerin TGA termogramları.....	32
Şekil 4.3. Guar temelli polimerik filmlerin DTA termogramları.....	32
Şekil 4.4. Guar temelli polimerik filmlerin DSC termogramları ve Tg	

Değerleri.....	33
Şekil 4.5. PU filmlerin sıvı temas açısı ölçümleri ve temas açısı değerleri.	33
Şekil 4.6. Çıplak elektrot (a) ve guar temelli PU film (b) için SEM fotoğrafları	34
Şekil 4.7. Çıplak elektrotta A) KA'in CV; B) KA, KU, GA ve AA'in DPV davranışları.....	35
Şekil 4.8. PU kaplı elektrotların 1 mM AA, 1 Mm KU, 1 mM GA ve 1 mM KA'nın pH 7.0 PBS içerisindeki sonuçları. (A;PU-G-1%, B;PU-G-3%, C;PU-G-5% ve D;PU-G-10%).....	36
Şekil 4.9. KA yanıtları üzerine %1'lik PU-G'nin film kalınlığının etkisi. (film kalınlıkları: a; 2 µL, b; 4 µL, c; 6 µL, d; 8 µL and e; 10 µL).....	37
Şekil 4.10. PU kaplı elektrotta interferanslar varlığında kafeik asitin artan konsantrasyonları. (a; kafeik asit konsantrasyonu: 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12; 13; 14; 15×10^{-4} M; b; düşük kafeik asit konsantrasyonu: 0.25; 0.5; 1.0; 1.5; 2.0; 2.5; 3.0; 3.5; 4.0×10^{-4} M) (interferanslar: KU, AA, GA, LK, SK, FK, ML, GL = 2 mM).....	38
Şekil.4.11. %1'lik PU-G'li elektrotta Kafeik Asit kalibrasyonu.....	38
Şekil.4.12. PU modifiye elektrodun 2 mM interferanslar ve farklı iki derişiminde KA varlığında Guar için elektrokimyasal tekrarlanırlığı (A: kafeik asit konsantrasyonu: 0.5 mM; B: kafeik asit konsantrasyonu: 4 mM) (interferanslar: kumarik asit, askorbik asit, gallik asit, laktoz, sukroz, fruktoz, maltoz, glukoz 2 mM)	40
Şekil.4.13. PU kaplı elektrotta 4 mM KA'in gün analizi. (interferanslar: kumarik asit,askorbik asit, gallik asit, laktoz, sukroz, fruktoz, maltoz, glukoz 2 mM).....	41
Şekil 4.14. PI temelli polimerin FT-IR Spektrumları.....	41
Şekil 4.15. Naftalen temelli polimerik filmlerin TGA termogramları.....	42
Şekil 4.16. PI temelli polimerik filmlerin DTA termogramları.....	43
Şekil 4.17. Naftalen temelli polimerik filmlerin DSC termogramları.....	43
Şekil 4.18. Naftalen temelli polimerik filmlerin sıvı temas açısı ölçümleri...	44
Şekil 4.19. Çıplak elektrotta (a) düşük, (b).yüksek büyütme ile ve sırasıyla PI-1, PI-2 ve PI-3 kaplı elektrotta (c), (e), (g) düşük, (d), (f), (h), yüksek büyütme ile SEM görüntüleri.....	45
Şekil 4.20. Çıplak elektrotta pH 7.0 PBS içerisinde A) GA'in CV'si,	

B) KA, KU, AA ve GA'in DPV yanıtları.	46
Şekil 4.21. PI kaplı elektrot da pH 7.0 PBS içerisinde 1 mM AA, 1 Mm KU, 1 mM GA ve 1 mM KA içerisinde DPV yanıtları. (A; PI-1, B; PI-2 ve C; PI-3).....	47
Şekil 4.22. Farklı kalınlıklarda ki PI-1 filmlerinin GA'e verdiği ampometrik yanıtlar. (a; 2 µL, b; 4 µL, c; 6 µL, d; 8 µL and e; 10 µL PI).....	48
Şekil 4.23. PI kaplı elektrotta interferanslar varlığında gallik asitin artan konsantrasyonları. (a; gallik asit konsantrasyonu: 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12; 13; 14; 15x10 ⁻⁴ M; b: düşük konsantrasyonda gallik asit: 0.25; 0.5; 1.0; 1.5; 2.0; 2.5; 3.0; 3.5; 4.0x10 ⁻⁴ M) (interferanslar: kumarik asit, askorbik asit, gallik asit, laktoz, sukroz, fruktoz, maltoz, glukoz = 1 mM)	49
Şekil 4.24. PI-1 elektrot için Gallik Asit kalibrasyonu.....	50
Şekil 4.25. Naftalen temelli PI modifiye elektrodun 1 mM interferanslar ve 2 mM derişiminde GA varlığında elektrokimyasal tekrarlanırlığı (interferanslar: kumarik asit, askorbik asit, gallik asit, laktoz, sukroz, fruktoz, maltoz, glukoz 1 mM).....	50
Şekil 4.26. TAT temelli polimerin FT-IR Spektrumları.....	51
Şekil 4.27. Çıplak elektrot (a, b) ve TAT temelli polimerin (c, d, e, f) SEM görüntüleri.....	53
Şekil 4.28. pH 7.0 PBS içerisinde çıplak elektrot yanıtları.(a:KU b: KT c:AA d:GA).....	54
Şekil 4.29. pH 7.0 PBS içerisinde 2 mM AA (a), 2 mM KU (b), 2 mM GA (c) ve 2 mM KT (d) çözeltileri için TAT temelli elektrotlarla alınan DPV sonuçları. (A; 1/1, B; 1/2, C; 1/3, D; 2/1, E; 3/1).....	55
Şekil 4.30. TAT 1:1 elektrodunun film kalınlığının kateşin yanıtlarına etkisi (2 mM AA (a), 2 mM KU (b), 2 mM GA (c) ve 2 mM KT (d) çözeltileri) (A; 0.5 µL,B; 1 µL, C; 2µL TAT).....	56
Şekil 4.31. İnterferanslar varlığında kateşinin artan konsantrasyonlarına TAT polimer kaplı elektrodun verdiği DPV yanıtları (kateşin konsantrasyonu: 0.05 mM, 0.10, .15,0.20, 0.25, 0.30, 0.35 mM, B) 0.5, 1:0, 2:0, 3:0, 4:0, 5:0 mM; (interferanslar: KU, AA, GA, LK, SK, FK, ML, GL = 2 mM)	57
Şekil.4.32. Kateşine ait kalibrasyon eğrisi.....	58
Şekil 4.33. İnterferanslar varlığında 2 mM kateşin için naftalen modifiye edilmiş elektrodun elektrokimyasal tekrarlılığı (interferanslar: KU, AA, GA, LK, SK, FK, ML, GL = 1mM).....	58

TABLolar DİZİNİ

	Sayfa No
Tablo 2.1. Diferansiyel puls voltametik analizlerin tipik uygulamaları.....	12
Tablo 5.1 Kafeik asit, gallik asit ve kateşin tayini için kullanılan metodun analitik değerlendirmesi.....	60

SİMGELER VE KISALTMALAR

1,5-DAN	1,5-diaminonaftalin
AA	Askorbik asit
AC	Alternatif akım
BPDA	3,3', 4,4'-benzofenonetra-karboksilik dianhidrit
CV	Dönüşümlü voltametri
DMF	Dimetil formamid
DMF	N, N-dimetil formamid
DMSO	Dimetil sülfoksit
DPV	Diferansiyel puls voltametri
DSC	Diferansiyel Taramalı Kalorimetre
DTA	Diferansiyel termal analiz
EG	Etilenglikol
E_{pa}	Anodik pik potansiyeli
E_{pc}	Katodik pik potansiyeli
FR	Fruktoz
FT-IR	Fourier transform kızılötesi spektroskopisi
G	Guar
GA	Gallik asit
GL	Glukoz
GLA	(+)-galaktoz
HPLC	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
I	Akım
I_{pa}	Anodik pik akımı
I_{pc}	Katodik pik akımı

J	Akım yoğunluğu
KA	Kafeik asit
KT	Kateşin
KU	p-kumarik asit
LOD	Tayin sınırı
LOQ	Kantitasyon sınırı
LK	Laktoz
m	Eğim
MDA	Diaminodifenilmetan
MDI	4,4-diizosiyonodifenilmetan
N	Ölçüm sayısı
NMP	n-metilpirolidon
NMP	N-metil-2-pirolidon
ODPA	Oksidifalik anhidrit
PBS	Fosfat tamponu
PI	Poliimid
PMDA	Piromellitikdianhidrit
PMDA	Piyromititik dianhidrid
PU	Poliüretan
R ²	Regrasyon katsayısı
RSD	Bağıl standart sapma
s	Standart sapma
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
SK	Sükroz
TAT	Triaminotriazin
TGA	Termogravimetrik Analiz
THF	Tetrahidrofur

1. GİRİŞ

Elektrokimyasal sensör konstrüksiyonunda yaygın olarak kullanılan modifikasyonlarından biri elektrot yüzeyinde polimerik bir destek katmanının oluşturulması ve bu katmana analit ile spesifik olarak etkileşmeye giren bir ajanın katılması ya da uygun kavitelelerin oluşturulmasıdır.

Oldukça hızlı potansiyel tarama imkanını veren modern puls voltametrik tekniklerinin gelişmesi sonucunda iyonik ve moleküler türlerin 10^{-7} M'a kadar düşük derişimlerinin tayin edilebilmesi kolaylıkla mümkün olabilmektedir. Ancak, yanyana bulunan türlerden birinin analizinin yapılabilmesi için diğerlerinin elimine edilmiş olması şartı vardır. Belirli bir durumda birbirlerine girişim yapan türlerin voltametrik pik vermeleri elektrotların modifikasyonu ile önlenmektedir. Gerek klinik kimya, gerekse çevre kimyası açısından analizi önemli olan çok sayıdaki tür pozitif potansiyel bölgelerinde elektroaktivite göstermektedirler. Pozitif potansiyel bölgesinde kullanılan platin, altın, grafit ve camsı karbon gibi elektrotlarla yapılan çalışmalarda karşılaşılan en önemli olumsuzluk; kimi hallerde bunların yüzeylerinin hızla kirlenmesi veya pasifleşmesidir. Elektrot yüzey pasivasyonunu önlemek için çoğunlukla yüzey modifikasyonu işlemine başvurulmaktadır. Modifikasyon ile sağlanan avantajlar: Elektrokataliz, permselektivite ve elektrosalmadır. Modifikasyon için çok sayıda araç çok değişik yöntemlerle uygulanmaktadır. İletken ve yalıtkan polimerler bu araçların bir bölümünü oluşturmaktadır. İletken polimerler elektropolimerizasyonla, yalıtkan polimerler ise monomerlerin uygun çözücülerde çözüldükten sonra çıplak elektrot yüzeylerine kaplanarak kullanılmaktadır [1-4].

Elektrokimyasal sensör oluşumunda yüzey kaplayıcı olarak kullanılan materyalin fiziksel özellikleri; ilgili sensörün, substrata karşı duyarlılığını, doğrusallığını, kullanım ömrünü ve değişik interferans etkisine sahip maddelere karşı permselektif özelliğini etkileyen faktörlerin başında gelmektedir.

Literatürde, birçoğu heteroaromatik yapıda olan monomerlerin polimerizasyonu ile elde edilen polimerlerin sensör amaçlı kullanıldığı görülmektedir [1,2]. Son yıllarda biyolojik öneme sahip moleküllerin tayinine yönelik çalışmalara önem verilmiş olup, polifenol esaslı sensör geliştirme çalışmalarının sınırlı olduğu dikkati çekmiştir [5,6]. Bu çalışmalardan birinde, Kafeik asit sensörü olarak altın-citosan nanopartikülleri geliştirilmiş ve geleneksel analitik yöntemlere göre daha

yüksek duyarlık ve seçicilik ile hızlı bir tepki sürecine ulaşılmasını sağlayan bu sensör kullanarak insan sıvıları içinde düşük seviyelerdeki kafeik asitin tayini gerçekleştirilmiştir [5]. Bir diğer çalışmada ise fenol ve türevlerini içeren fenolik bileşiklerin tayini için tirozinaz biyosensörü geliştirilmiş ve sensörün yüksek seçicilik, nanomolar seviyede tayin sınırı ve tekrarlanabilirlik gibi parametreler dikkate alındığında mükemmel analitik performans sergilediği belirtilmiştir [6]. Zang ve arkadaşları quercetin tayini [7], Han ve arkadaşları ise katekol tayini için nanokompozitler hazırlamışlardır [8].

Bu çalışmada literatürde kullanımı ile ilgili çalışmalar bulunan poliimit ve poliüretanlar ile kaplı elektrotlar üzerinde gallik asit, kafeik asit ve kateşinin analizi için sensör geliştirme imkanlarının araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla elektrot modifikasyonu için platin elektrotlar üzerine poliimit ve poliüretanların damlatılması ile kaplama gerçekleştirilecektir. Her bir antioksidan için polimer türü, polimer film katmanının kalınlığı gibi parametreler diferansiyel puls voltametri (DPV) kullanılarak incelenecek ve analit derişimi ile doğrusal olarak yanıt alınıp alınmadığı belirlenecektir. Ayrıca analit için elektroaktif olan ve elektroaktif olmayan girişim yapabilecek türlerin yanında sensörün performansı belirlenecektir.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. Voltametri

Voltametri, potansiyel birimi olan volt ile akım birimi olan amperin birleştirilmesinden türetilmiş olup, elektrokimyasal hücrede uygulanan potansiyel sonucu meydana gelen redoks reaksiyonundaki kimyasal değişim geçen akımın ölçüldüğü tekniklerin genel adıdır. Elde edilen akım-potansiyel ilişkisini gösteren grafiğe de *voltamogram* adı verilmektedir [9].

Dengedeki bir elektrokimyasal hücreye dışarıdan farklı bir potansiyel uygulanırsa, denge belli bir süreliğine bozulur. Yeniden dengeye ulaşmaya çalıştığı süre içinde elektrot üzerinde bir tepkimesi meydana gelir ve bu tepkimede alınan verilen elektronlar sonucunda akım geçer. Voltametrik hücrede çalışma elektrodu ile bir referans elektrot arasına uygulanan potansiyele karşı, çalışma elektrodu ile yardımcı elektrot arasındaki akım ölçülür. Bu akım iki elektrotlu hücrelerde indikatör elektrot ve referans elektrot arasında meydana gelir. Voltametride, elektrokimyasal davranışı incelenecek türün potansiyel aralığı çözücü türü, çalışma elektrodu, elektrolitin türü ve elektrolitin pH'sına bağlıdır.

Bazı voltametrik tekniklerde (Puls ve alternatif akım, AC,) potansiyel taraması genellikle daha hızlıdır. Bu tekniklerde genellikle akım çoğunlukla belli zaman aralıklarında belli bölgelerde örneklenir.

2.1.1. Elektrotlar

Elektrokimyasal pillerde ve potansiyometrik ölçümlerde iki elektrot kullanılırken voltametrik ölçümlerde, elektroanalitik işlemlerde üç elektrot kullanılır. Bu elektrotlardan biri üzerinde incelenen elektrokimyasal kimyasal reaksiyonun gerçekleştiği elektrottur ki buna iki elektrotlu sistemlerde indikatör elektrot, üç elektrotlu sistemlerde ise çalışma elektrodu adı verilmektedir. Bu elektrodun görevi elektrokimyasal ölçüm bölgesini oluşturmaktır. Bu elektrotlar amaca bağlı olarak soy (inert) veya soy olmayan metallere seçilebilir.

İkinci elektrot, karşılaştırma veya referans elektrot olarak bilinen bu elektrot polarizlenemeyen elektrot olarak tanımlanır. Referans elektrodun potansiyeli sabit kalması istenen, pil hücresinde potansiyeli ölçülen diğer elektrotlarla karşılaştırma

görevi bulunmaktadır. Bu elektrodun potansiyelinin değişmemesi istense de akım, zaman ve diğer değişkenlerdeki değişimlerden minimum ölçüde etkilenebilmektedir. Bu nedenle arasıra KCl çözeltisi içinde tam tersinir bir reaksiyon çifti olan ferri/ferrosiyaniür çözeltisi içinde CV alınarak potansiyelinin değişip değişmediği kontrol edilmelidir. Bu elektrotlar genel olarak ikinci türden metalik elektrotlar olarak bilinirler.

Üçüncü elektrot yardımcı elektrottur, aynı zamanda karşıt elektrot olarak da bilinir. Bu elektrodun görevi, pilden akımın geçmesini temin etmek amacıyla elektronlara kaynak oluşturmaktır. Çoğunlukla potansiyeli ölçülmez ve bilinmez. Genellikle soy metallerden seçilir.

Çalışma elektrotları

Çalışma elektrotları fonksiyonları itibariyle diğer elektrotlarla birleştirilemez ve fiziksel olarak daima mevcuttur. Diğer iki elektrodun fonksiyonları ise kimi zaman birleştirilebilir ve böylece sistemde biri çalışma elektrodu olmak üzere iki fiziksel elektrot bulunur. Bu düzenlemenin avantajı basit ve pratik oluşu, dezavantajı ise referans ve karşıt elektrot fonksiyonlarının birbirleriyle tam olarak uyumlu olmamasından kaynaklanır. Karşıt elektrottan akım geçmesi sonucunda referans elektrodun potansiyelindeki kararlılık olumlu yönde etkilenir. Bu nedenle iki elektrotlu sistemler referans elektrodun polarizasyonuna neden olmadığı durumlarda kullanılabilir.

Çalışma elektrodu seçilirken potansiyel sınırlamaları, elektrodun ortamda söz konusu olan elektrokimyasal tepkimeye katılması ve elektrodun elektron aktarım tepkimesinin kinetiğine uygunluğu göz önüne alınması gereken parametrelerdir.

Bir elektrodun potansiyelindeki değişmeyi belirleyen parametre akımın (I) kendisinden daha çok, akım yoğunluğudur (j). Akım yoğunluğu; elektrodun birim alanından geçen akım miktarıdır. Bir elektrodun boyutlarıyla tanımlanan geometrik alanından ve moleküler düzeydeki gerçek alanından bahsedilebilir. Gerçek alan geometrik alandan genellikle daha büyük veya ona eşittir. Civa gibi bir sıvı elektrot için, gerçek alan/geometrik alan oranı hemen hemen 1 iken, katı elektrotlar için bu oran 1'den çok büyüktür. Bu oran elektrodun pürüzlülük faktörü olarak bilinir ve yüzey hazırlama işlemleri aynı olsa bile farklı elektrotlar için daima farklıdır. Bu fark katı ve sıvı elektrotlar arasında çok yüksektir. Hatta aynı bir elektrot materyali için

bile, eğer bunlar farklı deneylerde veya ard arda deneylerde kullanılmışlarsa, farklı olabilir. Elektrot yüzeyinin mekanik veya elektrokimyasal olarak temizlenmiş olması bu faktörü azaltmakla birlikte, 1'e eşit olmasını sağlayamaz.

Çalışma veya karşıt elektrot olarak en yaygın şekilde kullanılan materyaller; platin, altın, cıva, bakır ve grafitir. Bu elektrotlardan cıva hariç diğer elektrotlar Teflon veya Kel-F gibi inert çubuk içine preslenmek suretiyle disk haline getirilirler. Cıva, karşıt elektrot olarak cıva havuzu şeklinde kullanılırken, çalışma elektrodu olarak cıva havuzu da dahil olmak üzere çok çeşitli şekillerde kullanılmaktadır.

Katı elektrotlar olarak platin ve altından başka gümüş, palladyum, rodyum, rutenyum ve iridyum da kullanılmaktadır. Bunlar çubuk, tel veya levha halinde olabilirler. Bütün katı elektrotların hidrojen aşırı gerilimi, hidrojenin cıva elektrottaki aşırı geriliminden yaklaşık olarak 1 volt daha düşüktür.

Anodik bölgede ise bu materyaller, cıvadan daha zor yükseltgendiğinden kullanılabilir potansiyel sınır cıvanınkinden yaklaşık 1 volt daha yüksektir. Öte yandan elektrolitin halojenür ve siyanür gibi kompleksleştiriciler içermesi halinde bu materyaller de cıva gibi kolaylıkla yükseltgendiklerinden daha dar bir potansiyel aralığında kullanılabilirler.

Katı metal elektrotlar düşünüldüğü kadar inert olmayabilirler ve elektrot yüzeylerinin hazırlanması hiç de basit bir işlem değildir. Bütün soy metaller yüzeylerinde hidrojen adsorbe ederler. Altın, platinden daha az adsorbe ederken, palladyum hidrojeni metal içine absorbe eder. Bu nedenle palladyum protik çözücülerde katot olarak kullanılmamalıdır.

Karbon hem sulu, hem de susuz çözeltiler için hem yükseltgenme, hem de indirgenme işlemleri için kullanılabilen bir elektrotur. Elektriksel iletkenliği olan karbon türü grafitir. Çoğunlukla spektroskopik kalite grafit çubuklar kullanılır. Ancak, bunların yüzey alanları poroziteleri nedeniyle çok iyi tanımlanamamaktadır. Bu çubuklar sıcak waxa daldırılacak olursa, elektroaktif yüzey alanı küçüldüğü gibi aynı zamanda tekrarlanabilirliği de artmaktadır. Diğer bir karbon türü karbon pastası olup, toz halindeki grafitin Nujol ile pasta halinde hazırlanıp, bir tüp içine sıkıştırılması ile elde edilir. Son yıllarda ise daha az gözenekli olmaları nedeniyle tercih edilen karbon türleri ise camsı karbon ve pirolitik grafitir.

Referans Elektrotlar

Bir elektrodun potansiyelini ölçmek için bu elektroda potansiyeli bilinen ve daima sabit olan referans elektrot olarak tanımlanan bir yarım pil eşlik ettirililerek oluşan pilin elektromotor kuvveti (emk) ölçülür. Referans elektrodun potansiyeli bilindiğinden buradan potansiyeli bilinmeyen elektrodun potansiyeli hesaplanabilir. Referans elektrodu olarak en fazla kullanılan elektrotlar; Ag/AgCl ve kalomel elektrottur.

Akım, referans elektrot potansiyelinin kararlılığını olumsuz yönde etkileyeceğinden bu elektrottaki akım yoğunluğu pratikçe sıfır olmalıdır. Bu, referans elektrot akımı küçük ve/veya yüzey alanını büyük tutarak gerçekleştirilebilir.

Standart hidrojen elektrodu

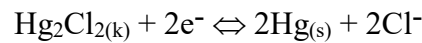
25 °C'de hidrojen gazı 1 atm ve çözeltideki hidrojen iyonu aktifliği bir olan elektrottur. Bu elektrodun standart potansiyel değerinin sıfır olduğu varsayılır. 1 atm basıncındaki hidrojen gazı asit çözeltisine daldırılmış bir platin tel üzerine kabarcıklar şeklinde gönderilir.

Platin, yarı pil tepkimesi için iletken elektrot olarak davranır. Platin elektrot üzerine adsorbe olan hidrojen gazı yarı pil tepkimesinin en önemli birimidir.

Bütün bunlara rağmen standart hidrojen elektrodu pek fazla pratik değildir. Hazırlanan hidrojen iyonunun birim aktiviteye sahip olması ve hidrojen gazının 1 atm basınçta patlayıcı olması bu elektrodun kullanımını sınırladığından diğer referans elektrotların hazırlanmasını gerektirmiştir.

Kalomel elektrot

En fazla kullanılan referans elektrotlardan biridir. Civa, üstte kalomel (Hg₂Cl₂) ve bunun üstünde de derişimi belli KCl çözeltisinden oluşmaktadır. Yarı-pil reaksiyonu



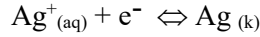
şeklindedir.

Kalomel elektrodun potansiyeli klorür iyonlarının aktivitesine bağlıdır. KCl çözeltisi 0.1 N, 1 N veya doymuş olduğunu belirtmek amacıyla elektroda desinormal, normal ve doymuş kalomel elektrot adı verilir. Yapımı ve saklanması kolaylığı

bakımından pratikte doygun kalomel elektrot kullanılır.

Ag/AgCl elektrot

Çok bilinen ve yaygın olarak kullanılan bir diğer referans elektrot da Ag/AgCl elektrotudur. Genel olarak bir platin tel önce AgCN çözeltisinde gümüş ile kaplanır. Sonra bir klorür çözeltisi içinde anot olarak AgCl tabakasıyla kaplanır. Böyle bir elektrot klorür çözeltisi içine daldırılırsa Ag/AgCl elektrot elde edilmiş olur. Bu sırada oluşan tepkime:



şeklindedir.

2.1.2. Elektrolitler

Voltametrik hücrede meydana gelen çözeltide alınan ve verilen elektronların ve iyonların elektroda ulaşabilmesi için bir ortama ihtiyaç duyulur. Bu ortam elektrolit adı verilen basit bir sulu çözücü olabildiği gibi, tuz karışımlarının çözeltisi, bir tampon çözelti, bir asit ya da baz çözeltisi, katı veya bir gaz bile olabilir. Bir elektrolit yukarıda bahsedilen birkaç bileşenden meydana gelir ve bu bileşenlerin her biri hücredeki tepkimeyi etkiler. Bu bileşenlerden vazgeçilmez olanı çözücüdür, diğerlerinden biri veya birkaçı bulunabilir. En iyi bir çözücü dielektrik sabiti en yüksek olandır. Bu nedenle dielektrik sabiti 80 (diğer organik çözücülere göre daha yüksek) olan su en iyi elektrokimyasal çözücüdür denilebilir. Çünkü elektroanalitik çalışmaların pek çoğu sulu ortamlarda gerçekleşmektedir. Su; yüksek saflıkta elde edilebilmesi, bulunabilmesi ve saflaştırılmasının kolay olması, ucuzluğu gibi birçok avantaja sahiptir. Ancak, büyük organik molekülleri ve polar olduğu için apolar maddeleri yeterince çözmemesi gibi dezavantaja sahiptir fakat bu dezavantaj DPV gibi duyarlı teknikler kullanıldığında az da olsa giderilmektedir. İkinci bir dezavantajı ise protik bir çözücü olması, yani hidrojen iyonları bulundurmasıdır. Bu dezavantaj da proton içeren elektrokimyasal tepkimelerin gerçekleşeceği ortamın tamponlanması ile bertaraf edilebilir. Ancak, bazı durumlarda organik çözücüler ve karışık çözücüler de gerekebilir.

Susuz çözücülerin çoğu aprotiktir. Bu tür çözücülere örnek olarak erimiş tuzlar ve asetonitril verilebilir. Susuz çözücülerin kullanılma nedeni bazı

elektrokimyasal türlerin sulu ve karışık çözücülerde çözünmemesidir. Ancak, çözmedeki bu avantajının yanında saflaştırılmalarının zorluğu, atmosferdeki su ve oksijenle reaksiyon vermeleri veya otodegradasyon gibi dezavantajları da göz ardı edilmemelidir.

Karışık çözücüler kullanılarak çözücünün çözücülüğü artırılabilir. Karışık çözücülerle çalışılırken de referans elektrot olarak doygun kalomel elektrot kullanılması zorunluluğu vardır.

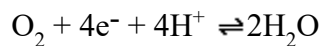
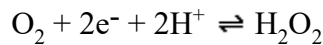
Verilen herhangi bir elektrokimyasal teknik için evrensel bir elektrolit yoktur. Ancak, o tekniğin pratiği dikkate alınarak bazı tavsiyeler yapılabilir. Örneğin klasik polarografi için yaygın elektrolit türleri 0.1 M KCl, HCl, LiCl, veya NH₄Cl'dir. Tampon olarak; Fosfat tamponu, asetik asit/asetat ve amonyum/amonyak tamponu kullanıldığı gibi sitrat ve malonat tamponları da kullanılabilir.

Çözücünün yanında bazen destek elektroliti de kullanılması gerekmektedir. Destek elektroliti ortamın iletkenliğini ve elektroaktif maddenin elektrot yüzeyine yalnızca diffüzyonla taşınmasını sağladığı gibi bazen ortamın pH'sını ayarlayabilmek için bir tampon ya da kompleksleştirici bir ligant görevini de üstlenebilir.

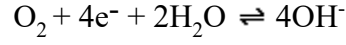
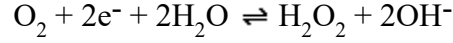
Bazı organik çözücüler suya göre daha zor yükseltgenir ya da daha zor indirgenir. Bazı çözücülerde ise hem indirgenme sınırı, hem de yükseltgenme sınırı suya göre daha yüksek potansiyel değerlerinde ortaya çıkar. Böylece susuz çözücülerin kullanılması ile ve uygun bir elektrot malzemesi ve destek elektrolit seçilerek çalışabilen voltametrik potansiyel sınırları hem anodik hem de katodik yönde daha büyük potansiyel değerlerine kaydırılabilir.

Ayrıca normal şartlarda havayla dengede bulunan bir çözeltideki çözünmüş olarak bulunan elektroaktif oksijen molekülü konsantrasyonu 2×10^{-4} M'dir. Bu ortamdaki oksijen oldukça belirgin bir pik verir. Bu pik hem asidik, hem de bazik ortamda aşağıdaki tepkimeleri meydana getirir:

Asidik çözeltisinde:



Nötral veya bazik çözeltilerde:



Bu reaksiyonların gerçekleşmesinin istenmediği durumlarda ortamdan inert bir gaz, Ar veya N₂ uzun bir süre geçirilir. Ucuz olmasından dolayı genellikle N₂ tercih edilir.

2.1.3. Hücreler

Genel olarak ölçümler için kullanılan elektrokimyasal hücreler, 5-50 mL çözelti ile çalışılabilecek şekilde yapılmıştır. Teflondan yapılmış kapağa elektrotlar takılır. Bir ince boru yardımıyla çözeltilerden Ar ya da N₂ gazı geçirilir. Hücre yüzeyde soğurum yapmayan payrex camdan yapılmıştır. Sıcaklık kontrolünün gerektirdiği ölçümlerde hücrenin dış kısmında sıcak suyun dolaşmasına imkan veren özel hücreler kullanılmaktadır.

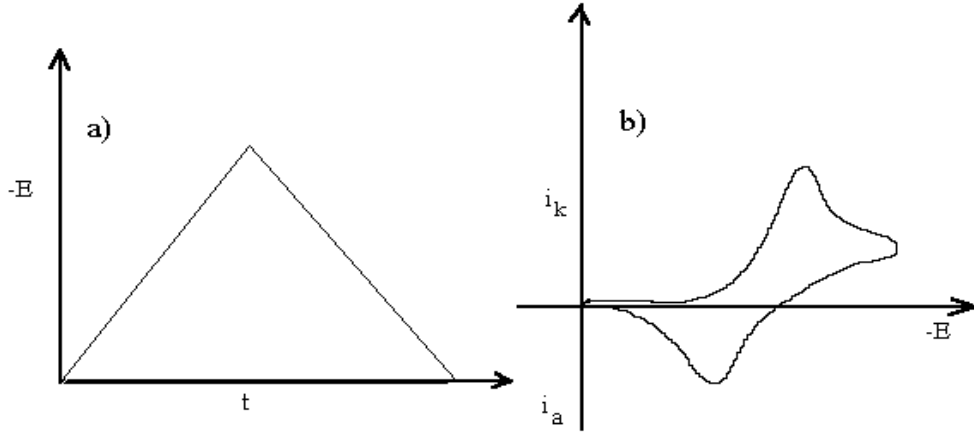
Elektrokimyasal hücreler iki elektrotlu ve üç elektrotlu olmak üzere sınıflandırılabilir. İki elektrotlu hücrelerde bir indikatör elektrot ve referans elektrot bulunur. Eğer referans elektrot uygun yapılmışsa potansiyeli, kendi üzerinden büyükçe bir akım geçişiyle değişmez. Ancak, düşük dirençli çözeltiler kullanıldığında çalışma elektrodunun potansiyeli değişmektedir. Bu değişimin önüne geçebilmek için direnci yüksek çözeltiler kullanılmalı veya iki elektrodun birbirine çok yakın yerleştirilmelidir. Üç elektrotlu sistemlerde bu gibi zorluklar yaşanmamaktadır. Üç elektrotlu sistemin asıl avantajı ise akımın referans elektrot üzerinden geçmemesidir.

Üç elektrotlu sistemde çalışma elektrodu, referans elektroda ilaveten bir de yardımcı elektrot bulunur. Potansiyel, çalışma elektrodu ve yardımcı elektrot arasında kontrol edilir. Hücre akımı çalışma elektrodu ve yardımcı elektrot arasında ölçülür.

2.1.4. Voltametrik Teknikler

Dönüşümlü Voltametri

Dönüşümlü voltametri, durgun bir elektrot potansiyelini doğrusal olarak değiştirerek akım-potansiyel ilişkisini inceleyen ve elektrot tepkimelerinin aydınlatılmasında başta gelen yöntemlerden biridir. Potansiyel önce belli bir değere kadar artırılır. Genellikle aynı hızda başlangıç potansiyel noktasına getirilir. Dönüşüm bir döngü halinde yapılabildiği gibi, birçok kez de tekrarlanabilir. Şekil 2.1’de bu yöntem ile uygulanan potansiyel programı ve elde edilen akım-potansiyel eğrisine birer örnek gösterilmiştir.



Şekil 2.1. a) Dönüşümlü voltametri de elektroda uygulanan potansiyel programı, b) elde edilen akım-potansiyel eğrisi [9].

Dönüşümlü voltametri de ileri yöndeki potansiyel taraması sırasında pik gözlenebildiği gibi, bazı durumlarda potansiyel taraması ters yöne çevrildiğinde pik gözlenir. Elektrot üzerinde meydana gelen reaksiyon tersinir ise her iki yöndeki tarama sırasında da pik gözlenir. Buradan bir tepkimenin tersinir olup olmadığı dönüşümlü voltametri ile belirlenebileceği anlaşılmaktadır. İleri yöndeki tarama sırasında bir elektroindirgenme olmuşsa, geri yöndeki pik indirgenme sırasında oluşan ürünün elektrot üzerine yeniden yükseltgenmesi nedeniyle oluşur.

Tersinir bir elektrot tepkimesinde anodik pik potansiyeli, E_{p_a} , ile katodik pik potansiyeli, E_{p_k} , arasında $(0.059/n)$ V'luk bir potansiyel farkı olmalıdır. İleri yöndeki tarama sırasında oluşan ürün kimyasal olarak kararlı ise anodik pik akımı, I_{p_a} , katodik pik akımına, I_{p_k} , eşittir. Ürünün kararlı olmadığı durumlarda katodik pik

akımı anodik pik akımının değerine göre daha küçük olur ve ürünün çok hızlı bir biçimde tüketildiği durumlarda geri pik tamamen kaybolur.

Dönüşümlü voltamogramların dikkatli incelenmesiyle, bir sistemin hangi potansiyelerde ve kaç basamakta indirgenip yükseltgendiğini, elektrokimyasal açıdan tersinir olup olmadığını, elektrot tepkimesinin bir çözelti tepkimesi ile el ele yürüyüp yürümediğini, indirgenme ve yükseltgenme ürünlerinin kararlı olup olmadığını, elektrot tepkimesinde rol alan maddelerin yüzeye tutunup tutunmadığını kolayca anlamak mümkündür.

Elektrot tepkimesinin tersinirliği azaldıkça katodik ve anodik pikler birbirlerinde daha uzak potansiyelerde ve daha yayvan olarak gözlenir. Bir başka deyişle ΔE değerleri elektrot tepkimesinin hız sabitinin bir ölçüsüdür. Tam tersinmez bir elektrot tepkimesinde ise geri pik gözlenmez. Tam tersinmez elektrot tepkimelerinde de pik akımı tarama hızının karekökü ile orantılıdır. Pik potansiyeli ise tarama hızı arttıkça negatif potansiyellere kayar.

Dönüşümlü voltametriden kantitatif amaçlar için yararlanılmaz. Organik ve metal-organik sistemlerde indirgenme ve yükseltgenme tepkimelerinin hız ve mekanizmalarının aydınlatılması için bu yöntem kullanılmaktadır. Dönüşümlü voltametride genel olarak Pt elektrot kullanılmaktadır.

Dönüşümlü voltametri elektrokimyasal tepkimeler hakkında kalitatif bilgi edinmek için oldukça fazla kullanılan bir tekniktir. Pek çok biyolojik öneme sahip molekülün redoks mekanizmaları ve elektron transfer kinetiğinin aydınlatılmasında, ilaç ve biyomoleküllerin farmakolojik aktifliğinin veya in-vivo redoks prosesini etkileme şiddetinin anlaşılmasında oldukça etkin bir şekilde kullanılmaktadır.

Puls Teknikleri

Destek elektroliti yüklemeye akımını ortadan kaldırmak için voltametrik puls teknikleri geliştirilmiştir. Bu tekniklerin kullanılmaya başlamasıyla birlikte voltametrik çalışmalarda tayin sınırı daha da düşmüştür.

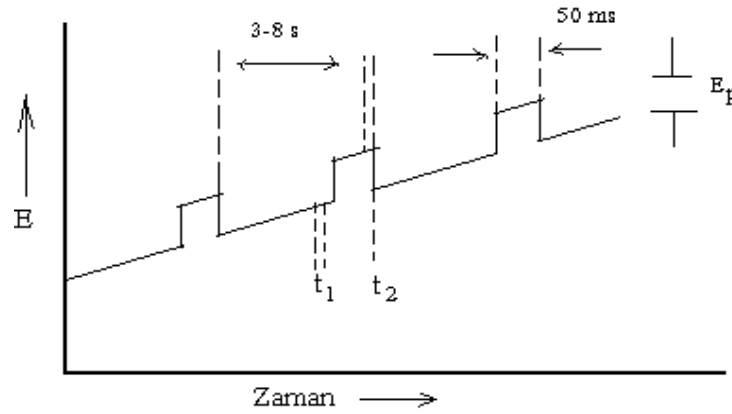
Puls teknikleri bir sabit veya değişen DC (doğru akım) sinyali üzerine bir kare dalganın biniştirilmesi ile oluşan bir uyarıcı sinyalin uygulandığı tekniklerdir. Bu tekniklerinin avantajı sinyal/gürültü oranını iyileştirerek, 10^{-7} - 10^{-8} M derişimlerin tayinine imkan vermektedir.

Diferansiyel puls voltametri (DPV)

Diferansiyel puls teknikleri tayin sınırının çok düşük olmasından dolayı pek çok elektroaktif türün iz miktarlarının tayininde kullanılmaktadır.

Diferansiyel puls tekniği, diğer tekniklere kıyasla çok daha yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu teknikte uyarıcı sinyal, hafifçe yükselen doğru akım sinyali üzerine yükseklikleri sabit voltaj pulslarının binıştırılması ile oluşmaktadır. Oluşan akım, pulstan hemen önce ve pulsun sonuna doğru iki kez ölçülmekte ve bu iki akım arasındaki fark çıktı olarak kaydedilmektedir (Şekil 2.2).

Diferansiyel puls tekniğinin avantajı, sinyal/gürültü oranını iyileştirerek, 10^{-7} - 10^{-8} M derişimlerin tayinine imkan vermesidir.



Şekil 2.2: Diferansiyel puls voltametri için sinyal grafikleri

Diferansiyel puls voltametri ile yapılan çalışmalara birkaç örnek Tablo 2.1'de verilmiştir.

Tablo 2.1. Diferansiyel puls voltametrik analizlerin tipik uygulamaları [9].

Analit	Örnek	Elektrot
Parasetamol	Plazma	Karbon pasta
Acetaminophen	Plazma	Karbon pasta
Chlorpromazine	İdrar	Karbon pasta
Dontrolone	Plazma, idrar	HMDE

2.2. Elektrot Modifikasyonu

Herhangi bir elektrot olarak seçilebilecek materyalin en temel özelliği yük transferi yapabilmesi veya sınırlayıcı olmamasıdır. Yük transferi çeşitli şekillerde ortaya çıkar. Örneğin metallerde yük transferi iletkenlik bantlarındaki elektronların taşınmasıyla, yarı iletkenlerde iletkenlik bantlarındaki elektronlar veya valens bantlarındaki pozitif boşlukların taşınması ile gerçekleşir. Bazı oksit ve sülfürlerde ise yük transferi kristal örgüdeki iyonların hareketiyle sağlanır.

Elektroanalitik kimyada elektrot/elektrolit ara yüzeyini geçen elektron sayısı ölçülerek pek çok analitik yöntemin geniş bir uygulanma alanına sahip olduğu bilinmektedir. Ancak, elektrotların elektron transfer edebilme yeteneği bazı spesifik olaylar sonucunda azalmakta ve bu tür elektrotların analitik uygulamaları sınırlanmaktadır. Sözü edilen spesifik olaylar elektrot yüzeyinde istenmeyen çökme veya adsorpsiyon ile bir aşırı gerilimin uygulanmasını gerektiren yavaş reaksiyon olaylarıdır. Bu olaylar elektrot yüzeyinin hazırlanması ile kısmen kontrol edilebilirse de 1970 ortalarına kadar yaygın olarak kullanılan elektrot materyalleri C, Au, Pt ve Hg ile sınırlı kalmıştır [9].

Elektrokimyada modifiye elektrot yaklaşımı elektrokimyacının elektrot yüzeyini kontrol edebilme arzusundan kaynaklanmıştır. Elektrot yüzeyine bazı kimyasal ajanların tutturulması ile elektrot yüzeyinin özellikleri artık çıplak elektrodunkinden farklı olup, tamamen tutturulan ajanın kimyasal özelliklerine sahip olacağı düşünülmüştür. Böylece elektrokimyasal reaksiyonların hızlarının ve seçiciliklerinin kontrolü sağlanmış; istenmeyen adsorpsiyonlar engellenmiş ve bazı durumlarda optik özellikler de kazandırılmış olabilmektedir.

Elektrot modifikasyonu ile temelde dört kullanım alanı öngörülmektedir. Bunlar elektrokataliz, ön derişim, membran engeli ve elektro-salmadır.

Elektrot modifikasyonundaki ilk çalışmalar, elektroaktif ajanların monomoleküler katman halinde yüzeye adsorpsiyonu araştırmalarını içermiştir. Bu ilk kemisorpsiyon çalışmalarını ajanların belli kovalent bağlarla elektrot yüzeyindeki fonksiyonel gruplara tutturulması izlemiştir.

Günümüzde en yaygın olarak kullanılan kimyasal modifikasyon şeması elektroaktif polimer veya çok moleküllü katman filmleridir. Bu tür ajanlar kovalent bağlı mono katmanlara kıyasla, elektrot yüzeylerine çok daha kolaylıkla uygulanır. Bundan başka, bu polimer filmleri 10^5 mono moleküler katmana eşdeğerde

elektroaktif merkezler içerebileceklerinden elektrokimyasal özellikleri çok daha kolaylıkla gözlenir.

Elektroaktif veya inaktif polimer filmler ön deriştirme ortamı veya membran engeli olarak kullanılabilirler halde, mono katmanlar bu amaç için genellikle güvenilir sonuç vermezler.

Polimer filmler; elektrot yüzeyine polimer çözeltilerinin, elektroaktif değilse damlatılarak/daldırılarak kurutulmasıyla, monomer elektroaktif ise monomerin elektrokimyasal yöntemle elektrot yüzeyinde polimerleştirilmesiyle uygulanır

2.2. 1. Elektrot modifikasyonunda polimerik membranlar

Amperometrik sensör uygulamalarında elektrotların modifikasyonu için kullanılan en önemli yöntemler polimerik membran ya da sol-jel kaplama ile elektrot yüzeyinin amaca uygun olarak değiştirilmesidir. Bu sayede analizlenecek analata uygun olarak seçici ve daha duyarlı bir elektrot yüzeyi elde edilebilir. Gözenekli polimerler, polimer fırça, iletken polimerler ve biyopolimerik malzemeler gibi farklı polimerik malzemeler sınıfı, elektrotların modifikasyonunda modifiye edici olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır [10-11]. Elektrotların modifikasyonu, farklı polimer tiplerinin kaplanması ve nanomateryaller, antikorlar ve enzimler gibi bazı modifiye edicilerin eklenmesiyle yapılabilir. Elektrotların modifikasyonunda polimerik membranlar iki şekilde uygulanabilir [12]. Bu yöntemler;

- Elektropolimerizasyon
- Kimyasal kaplamadır.

Elektropolimerizasyon, iletken polimerin bir monomer çözeltisinden bir iletken substrat üzerine oluşturulduğu ve biriktirildiği bir kaplama prosedürüdür. Bu genellikle nispeten küçük alanları kaplamada tercih edilen yöntemdir. Özellikle uygulanan potansiyel ve akımın elektropolimerizasyon koşullarını seçerken dikkatli olunmalıdır. Uygulanan potansiyel, monomeri okside etmek ve polimerize etmek için yeterince yüksek, ancak metali çözmek veya korozyonu indüklememek için yeterince düşük olmalıdır [13].

Kimyasal kaplamada ise hazır bir polimer çözeltisi elektrot yüzeyine düzenli ve kontrollü bir kaplama prosedürü ile uygulanır. Bu sayede geniş yüzeyler

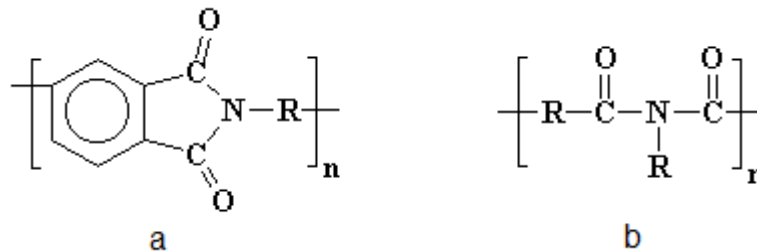
kaplanabilir ve kaplanan polimerin molekül ağırlığı ve kimyasal yapısı kontrollüdür. Kimyasal kaplama yöntemi ile en çok tercih edilen polimer türleri, poliimidler, poliüretanlar ve poliesterlerdir. Bu tez kapsamında poliimid ve poliüretan türü polimerik kaplamalar elektrot yüzey modifikasyonu için tercih edilmiştir.

Poliimidler

Polimidler, şaşırtıcı derecede ısı ve kimyasal olarak dirençli olan inanılmaz derecede güçlü sentetik polimerlerdir. Özellikleri, bu malzemelerin çoğu zorlu endüstriyel uygulamalarda sıklıkla cam ve çeliğin yerini alabilecek kadar büyüktür. Bazı otomobillerde ve bazı bölümlerdeki destekler ve şasi için kullanılırlar, çünkü otomobillerin gerektirdiği yoğun ısıya ve aşındırıcı yağlara, yakıtlara ve soğutma sıvılarına dayanabilirler.

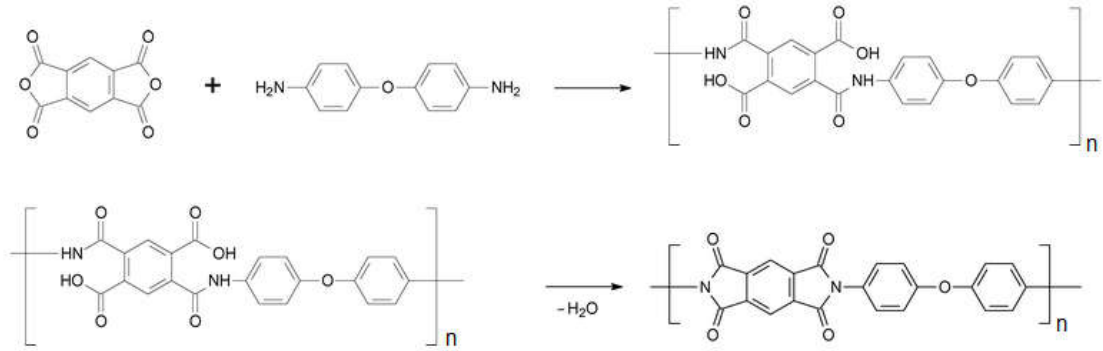
Polimidler birçok günlük uygulamada bile kullanılmaktadır. Mikrodalga pişirme gereçleri, yazıcılar, hoparlörler, bilgisayar kartları ve gıda ambalajları gibi birçok günlük uygulamalarda kullanılmaktadır. Devre kartlarında, yalıtımlarda, koruyucu giysiler, kompozit malzemeler ve yapıştırıcılar için de kullanılabilirler [14].

Poliimidler genellikle Şekil 2.3.'de gösterilen iki kimyasal formdan birini alır. Bu yapıların ilki, imid grubunun polimer zincirindeki bir aromatik ünitenin parçası olduğu bir heterosiklik yapıdır. İkincisi, imid grubunun atomlarının bir doğrusal zincirin parçası olduğu doğrusal bir yapıdır [15].



Şekil 2.3. Poliimidlerin genel kimyasal yapıları.

Şekil 2.3. (a) yapısındaki gibi aromatik heterosiklik polimidler, Sabc'ten Ultem (orijinal olarak G.E. Plastics) ve DuPont'un Kapton reçinesi gibi çoğu ticari polimidin tipik bir örneğidir. Bu polimerler, elektroniğin, otomotivin ve hatta havacılık endüstrisindeki yüksek performanslı uygulamalarda bazı metallerin ve camların yerini aldıkları inanılmaz mekanik ve termal özelliklere sahiptir. Bu özellikler, polimer zincirleri arasındaki güçlü moleküller arası kuvvetlerden gelir. Bu kuvvetler, polar etkileşimleri, aromatik istiflemeyi ve burada en önemlisi, yük aktarım kompleksini içerir. Bir yük transfer kompleksini içeren bir polimer, iki farklı tipte, bir elektron verici ve bir elektron alıcısından oluşur. Azot grupları nedeniyle etrafta dolaşacak çok sayıda elektron vardır [16,17]. Böylelikle verici, elektronlarından bazılarını alıcıya sıkı sıkıya bağlıyor ve iki parçayı sıkıca birbirine tutuyor. Poliimidler genellikle iki adımlı bir sentez yöntemi ile sentezlenirler (Şekil 2.4).



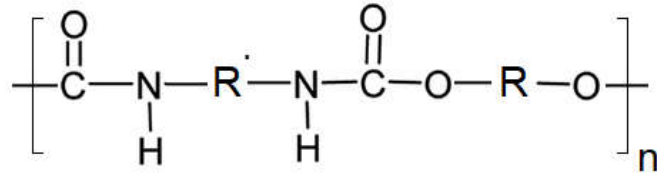
Şekil 2.4. Poliimid sentez şeması.

Yüksek performanslı polimerik malzemeler olarak, poliimidlerin yüksek sıcaklık kararlılığı, fiziksel, kimyasal ve mekanik direnç, elektriksel özellikleri, düşük dielektrik sabiti, üstün yüksek hidrolitik stabilitesi, yüksek mekanik mukavemeti, düşük termal genleşme katsayısı, tribolojik ve yapıştırıcı özellikleri, mekanik özellikler gibi mükemmel özellikleri sergiler [18–23]. Son zamanlarda, poliimid membranlar, inert yapı, kimyasal stabilite ve yüksek biyo-uyumluluk nedeniyle çok dikkat çekmektedir [24-25]. Bu nedenle, glikoz sensörleri, [26-27] gaz sensörleri, [28-33] nem sensörleri, [34-36] piezoelektrik dokunma sensörleri [37] ve basınç sensörleri [38-39] için poliimidler yaygın olarak kullanılmaktadır. Literatürde, permselektif membran olarak çeşitli poliimid filmler hazırlanmıştır [40-41]. Polimerlerin artan moleküler ağırlığına bağlı olarak; Termal imidizasyon yönteminde

yüksek oranda yığılmış polimer yapısı meydana gelmiştir. Bu nedenle, bu sentezde, polimid filmlerin hazırlanması için asimetrik diamin monomeri kullanılmıştır. Asimetrik monomerle hazırlanmış PI yapıları, yüksek çözünürlük, düşük istifli yapı, yüksek yüzey pürüzlülüğü ve Pt elektrotları üzerinde gözeneklilik nedeniyle selektif membran uygulamaları için uygundur.

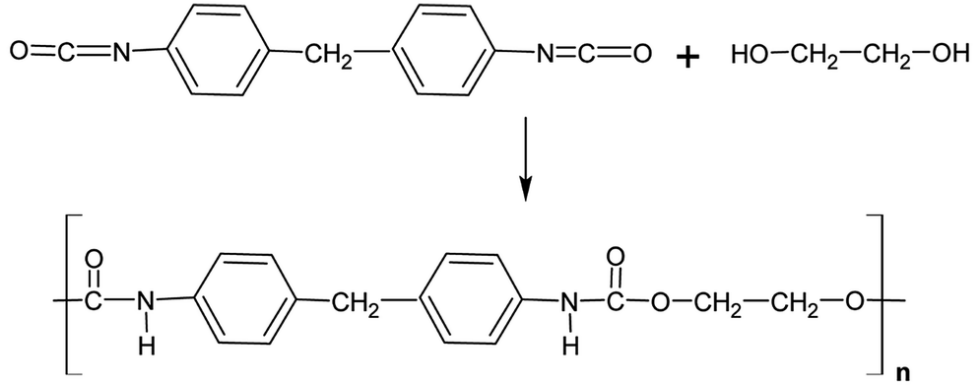
Poliüretanlar

Poliüretanlar olarak bilinen polimerik materyaller (Şekil 2.5), esas olarak diğer birçok plastikten farklı olan ve bir üretan monomeri olarak bilinen diizosiyanatların OH grupları ile katılma reaksiyonu ile oluşturduğu, esnek, dayanıklı ve kolay şekillendirilebilen bir polimer ailesi oluştururlar. İki molekül arasındaki reaksiyonun oluşturduğu grup 'üretan bağı' olarak bilinir. Poliüretan molekülünün önemli bir parçasıdır [42].



Şekil 2.5. Poliüretanların genel kimyasal yapıları.

Poliüretanlar alkoller arasındaki ekzotermik reaksiyonlarla yapılır. Molekül başına iki veya daha fazla reaktif hidroksil (-OH) grubu (dioller, trioller, polioller) ve her molekül için birden fazla reaktif izosiyanat grubuna (-NCO) sahip olan izosiyanatlardır (diizosiyanatlar, poliizosiyanatlar). Örneğin bir diizosiyanat bir diol ile reaksiyona girer (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. Poliüretan sentez şeması [43].

Bununla birlikte, literatürde, elektrokimyasal yöntem kullanılarak çeşitli interferans moleküllerinin varlığında kafeik asidin saptanması hakkında çok az şey bildirilmiştir [44]. Özellikle polimerler benzersiz özellikleri, tasarımdaki esneklik ve düşük maliyet nedeniyle, biyokimyasal molekülün belirlenmesi için girişim yapabilecek türlerin elimine edilmesinde başarılı bir şekilde kullanılmıştır [45]. Bu polimerler arasında, poliüretanlar (PU'ler), sensör için önemli yapısal, morfolojik ve kimyasal özelliklere sahiptir. Böylece, poliüretanlar basınç sensörleri [46-47] glikoz sensörleri [48-49], gaz sensörleri [50-52], nem sensörleri [53-54], piezoelektrik dokunma sensörleri [55-56] ve hormon sensörleri [57-58] nin basit hazırlanması, yüksek biyoyumluluk, mekanik ve termal kararlılıklarından dolayı yaygın olarak kullanılmaktadır.

2.3. Polifenoller ve Medikal Önemi

Polifenoller, doğal bitki besin kaynaklarında bol miktarda bulunan ve antioksidan özelliklere sahip bileşikler anlamına gelen fitokimyasallardır. Çay, şarap, çikolata, meyve, sebze ve sızma zeytinyağı gibi gıdalarda bulunan 8000'in üzerinde polifenol bulunmaktadır. Polifenoller sağlığınız için ve sağlığınıza korumak için önemli bir rol oynar. Bir grup olarak antioksidanlar vücudunuzdaki hücreleri serbest radikal hasarından korur, böylece yaşınızdaki oranı kontrol eder. Vücudunuz yeterli koruma sağlayamazsa, serbest radikaller hücrelerde bazı hasarlara neden olabilir ve hücrelerinizin kötü performans göstermesine hatta bazı doku ve organların

bozulmasına yol açabilir. Örneğin kalp hastalığı, kanser ve Alzheimer hastalığı gibi hastalıklara sebep olabilir. Bu gibi durumlarda antioksidanlar adı verilen bileşikler bu serbest radikallerin süpürülmesine ve vucüt sisteminin düzelmesini sağlar [59].

Antioksidanlar; üç ana gruba ayrılabilir:

- Karotenoidler
- Alil sülfidler
- Polifenoller (fenolik olarak da bilinir)

Bu antioksidanlar içerisinde belkide en önemli ve yaygın grubu polifenoller oluştururlar. Fenolik bileşikler, bitkilerden sentezlenen sekonder metabolitlerdir. Yaygın olarak tüketilen pek çok meyve, sebze, tahıl ürünleri, herbal ürünler ve içeceklerde önemli ölçüde bulunurlar. Farklı doğal ürünlerden, flavonoidleri, fenolik asitleri, kumarinleri, stilbenleri ve taninleri içeren sekiz binin üzerinde fenolik bileşik izole edilmiştir. Her bir grup, kimyasal yapısına göre kendi içinde alt gruplara bölünür. Polifenoller, içerdikleri fenol halkalarının sayısına bağlı olarak ve bu halkaları birbirine bağlayan yapısal elemanlara dayanarak, ek alt gruplarla dört kategoriye ayrılabilir. Bu yapılar genel olarak Şekil 2.7.'de verilmiştir.

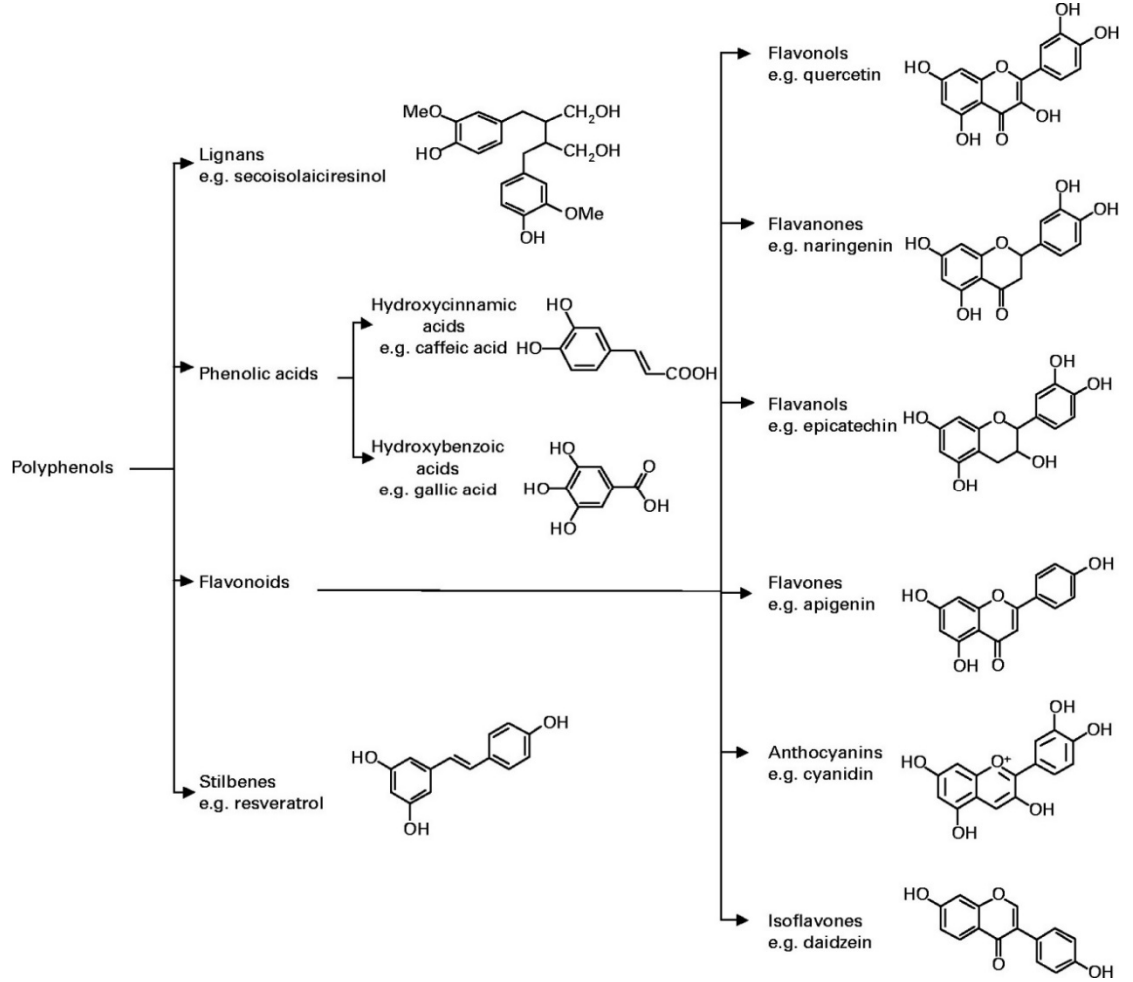
a) Flavonoidler: Antioksidan ve antienflamatuvar özelliklere sahip olan flavonoidler, meyveler, sebzeler, baklagiller, kırmızı şarap ve yeşil çayda bulunur. Alt sınıfları;

- Flavonlar
- Flavonoller
- Flavanonlar
- İzoflavonlar
- Antosiyaninler
- Kalkonlar
- Kateşin

b) Stilbenler: Kırmızı şarap ve fıstıkta bulunan stilbenes (resveratrol en çok bilinen)

c) Liganlar: Keten, baklagiller, tahıllar, tahıllar, meyveler, algler ve bazı sebzeler gibi tohumlarda bulunan polifenoller liganlar olarak adlandırılırlar.

d) Fenolik asitler: Çayda bulunan hidroksibenzoik asitler ve tarçında bulunan fakat ayrıca kahve, yaban mersini, kivi, erik, elma ve kirazda bulunan hidroksisinnamik asitler bu grupta yer alırlar.

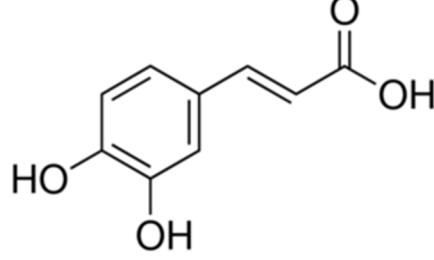


Şekil 2.7. Genel polifenol yapıları [59].

Polifenoller, insan sağlığı için çok önemlidir ve destekleyici bir rol oynayarak; kanser hücrelerine karşı mücadele ve anjiyogenezin (bir tümör besleyen kan damarlarının büyümesi) inhibe edilmesinde fayda sağlayabilir, cildimizi ultraviyole ışınlarına karşı korumak, serbest radikallerle savaşmak ve yaşlanmanın görünümünü azaltmak, Beyin sağlığını desteklemek, inflamasyonu azaltmak, normal kan şekeri seviyelerini desteklemek, kardiyovasküler sisteminizi korumak ve normal kan basıncını teşvik etmek gibi önemli işlevleri olabilir [60].

2.3.1. Kafeik asit

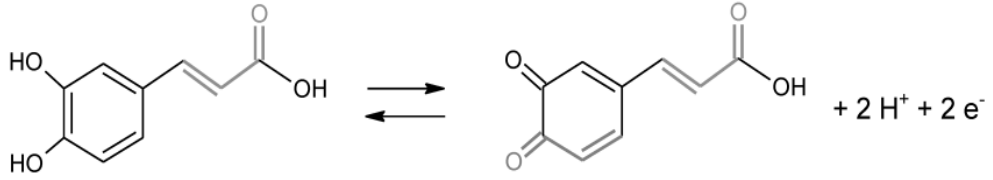
Fenolik bileşiklerden biri olan kafeik asitin (3,4-dihidroksisinnamik asit) kimyasal formülü şekil 2.8’de verilmiştir.



Şekil 2.8. Kafeik asitin molekül yapısı.

Hem serbest hem de esterleşmiş haldeki kafeik asit en fazla bulunan fenolik asittir. Kafeik asit kahve, çay, zeytinyağı, meyve, sebze ve şarapta bulunur [61-62]. Kafeik asitin antioksidan, antikanserojenik aktiviteler, antidepresif, antiinflamatuvar, antimutagenik, antianksiyeti ve HIV replikasyonunun inhibisyonu vb. dahil olmak üzere çok çeşitli biyolojik fonksiyonları gösterdiği bilinmektedir [63-66]. Kafeik asit, sadece koruyucu antioksidan özelliği nedeniyle değil, aynı zamanda kanserler, kardiyovasküler hastalıklar, nörolojik hastalıklar, immüno-regülasyon hastalıkları, astım ve alerjik reaksiyonlara karşı etkinliği nedeniyle en çok araştırılan türevlerden biridir [67]. Ayrıca son yapılan çalışmalarda Kafeik asit türevleri gösterilmiştir. HIV entegrasyonuna karşı potansiyel aktivite sergilemiştir ve hücre kültüründe orta düzeyde anti-HIV aktivitesi ile HIV replikasyonu inhibe edebilir [68-69]. Son yıllarda, kafeik asitin belirlenmesi için birçok yöntem kullanılmıştır. Bu yöntemler arasında enzimatik sensörlerin [70-71], yüksek basınçlı sıvı kromatografisiyle (HPLC) [72-73] ve gaz kromatografisiyle [74-75], UV-vis spektrofotometri ile kılcal damarlarda [76] elektroforez ve elektroanalitik teknikler ile [77], kafeik asit konsantrasyonunun tayini gerçekleştirilmiştir. Ancak, bu yöntemlerin nispeten pahalı olduğu, ön tedavi gerektirdiği ve zayıf bir duyarlılığa ve seçiciliğe sahip olduğu iddia edilmektedir.

Kafeik asitin elektrokimyasal tayini Şekil 2.9’da gösterilen yükseltgenme reaksiyonuna dayanmaktadır.

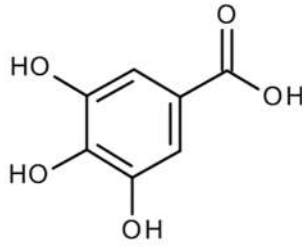


Şekil 2.9 Kafeik asit'in yükseltgenme reaksiyonu

Elektrokimyasal yöntemler, düşük tespit limiti, hızlı tepki süresi, kullanımı kolay, yüksek duyarlılık, daha az pahalı olması nedeniyle çok dikkat çekmiştir [78-79].

2.3.2. Gallik asit

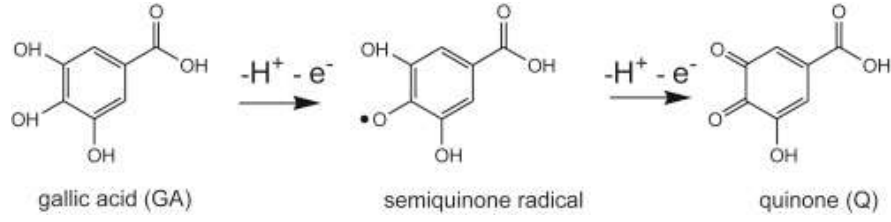
Önemli bir polifenol olan gallik asit (GA), kateşin türevleri, esterler ve serbest asitler şeklinde bitkilerde meydana gelir ve üzüm, yaban mersini, kantaşı, muz ve diğer bazı meyvelerde bulunur [80-81]. Formülü şekil 2.9'da gösterilmiştir.



Şekil 2.10. Gallik asitin molekül yapısı

Diğer hücrelere zarar vermeden kanserli hücrelere sitotokisite etkisi gösterir. Sağlıklı hücrelere zarar veren serbest radikalleri etkisiz hale getirebilecek kadar etkili bir antioksidandır. Üzüm çekirdeğinin prostat kanserini engellediği bildirilmiştir. Aynı zamanda gallik asitin lösemiye karşı çok önemli bir etkisi de vardır. Kalp hastalıkları ve kansere karşı çok etkilidir. Anti enflamatuvar özellik taşıyan stokin ve histamin gibi enflamatuvar özellikteki kimyasalların aktivitelerini engellemektedir. Genellikle gıda endüstrisinde ve ilaç endüstrisinde kullanılır [82]. GA, bazı biyolojik bitki, gıda ve meyve suyu örneklerinin fenol içeriğini belirlemek için bir standart olarak kullanılmaktadır. Son yıllarda, fenolik bileşiklerin belirlenmesi için kemilüminesans spektrofotometrisi ve kapiller elektroforez gibi birçok yöntem ve kromatografi uygulanmıştır [83-86]. Elektrokimyasal yöntemlerle GA'nın tayini yükseltgenme

reaksiyonu sonucunda ortaya çıkan elektronlar sayesinde gerçekleşmektedir. GA'nın yükseltgenmesine ait reaksiyon Şekil 2.11'de verilmiştir.

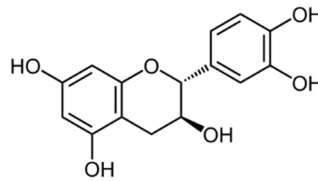


Şekil 2.11. Gallik asitin yükseltgenme reaksiyonu.

Özellikle, GA'nın bir polifenol olarak belirlenmesi için elektrokimyasal yöntemler yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yöntemler çok hızlı tepki süresi, düşük tespit limiti, düşük maliyet, yüksek hassasiyet ve basitlik nedeniyle geleneksel yöntemlerden daha avantajlıdır [87-89]. Özellikle, seçici polimerik zarlar, vücut sıvılarında elektroaktif molekülün belirlenmesi için birbirine karışan bileşiklerin eliminasyonunda kullanılmıştır. Bu polimerik membranlar benzersiz özelliklere, üretim kolaylığına, iyi yapıştırıcı özelliklerine, uygun gözenekliliğe, tasarımda esnekliğe, ayarlanabilir gözenek boyutuna ve düşük maliyete sahiptir [90]. Daha yakın zamanlarda, gözenekli polimerler, polimer fırça, iletken polimerler ve biyopolimerik malzemeler gibi farklı polimerik malzemeler sınıfı, elektrotların modifikasyonunda modifiye edici olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır [10-11]. Elektrotların modifikasyonu, farklı polimer tiplerinin kaplanması ve nanomateryaller, antikorlar ve enzimler gibi bazı modifiye edicilerin eklenmesiyle yapılabilir.

2.3.3. Kateşin

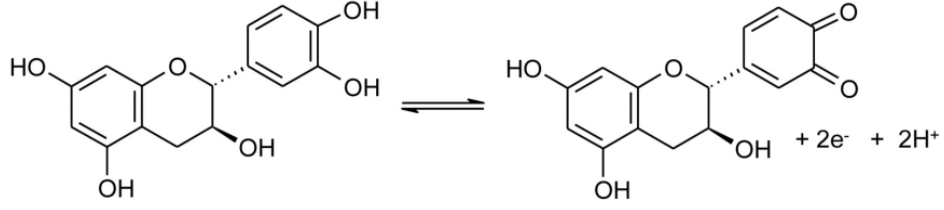
Kateşin birçok diyet ürünü, bitki, meyve (elma, yaban mersini, bektaşi üzümü, üzüm çekirdeği, kivi, çilek gibi), yeşil çay, kırmızı şarap, bira, kakao likörü, çikolata, kakao vb. içinde bulunan önemli bir polifenoldür [91]. Moleküler yapısı Şekil 2.12'de verilmiştir.



Şekil 2.12. Kateşin molekülünün kimyasal yapısı.

Kateşinin antioksidan etkisi, çeşitli in vitro, in vivo ve fiziksel yöntemlerle iyi bir şekilde ortaya konulmuştur. Ayrıca, kateşin, anjiyogenez, hücre dışı matriks bozunması, hücre ölümünün düzenlenmesi ve kanserlerde ve ilgili bozukluklarda, çoklu ilaç direncinde rol alan moleküler mekanizmaları etkiler. Antioksidatif, antihipertansif, antienflamatuar, antiproliferatif, antitrombojenik ve antihiperlipidemik vb. gibi çeşitli etkilere bağlı olarak yeşil çay tüketimi ile kardiyovasküler sağlık arasındaki pozitif ilişki, epidemiyolojik ve deneysel çalışmalara dayanarak iyi bir şekilde oluşturulmuştur. Klinik çalışmalar, kateşinin antioksidan etkisinden dolayı yararlı etkilerini göstermiştir [91]. Yeşil çay ve bunun kateşin bileşenlerinin, serbest radikalleri temizleyerek, pro-oksidan enzimleri inhibe ederek ve antioksidan enzimleri uyararak antioksidan aktiviteyi uyardığı bilinmektedir [92]. Kateşinlerin hızlı ve yoğun bir şekilde metabolize olması, antioksidan aktivitelerini in vivo olarak göstermenin önemini vurgular. Siyah çay ve yeşil çay kateşinlerinin, özellikle oksidatif DNA hasarı olmak üzere oksidatif stresin biyobelirteçleri üzerindeki etkileri, hayvansal modellerde çok ümit verici görünmektedir, ancak insanlarda in vivo oksidatif stresin biyobelirteçleri hakkındaki veriler sınırlıdır [93]. Siyah çay ve yeşil çay kateşin alımının lipitlere, proteinlere ve DNA'ya oksidatif hasarın biyolojik belirleyicileri üzerindeki etkilerini inceleyen daha büyük insan çalışmaları gerekmektedir. Bu nedenle pek çok gıda içerisinde bulunan kateşin miktarının ve biyolojik sıvılarda (kan serumu, idrar, ter, tükürük vb.) bulunan kateşin miktarlarının belirlenmesi bu çalışmaların yapılabilmesi için önemlidir. Bu tür kateşin tayinleri özellikle gıdaların antioksidatif kapasitelerinin belirlenmesi için pek çok analitik teknik ile gerçekleştirilmiştir. Örneğin, gaz kromatografisi, yüksek basınçlı sıvı kromatografi (HPLC), spektrofotometri ve elektrokimyasal analiz bu tekniklerden bazılarıdır [94]. Fakat bu teknikler zaman alıcı ve maliyetlidir. Bunlara önemli bir alternatif enzimlerle modifiye edilen elektrotlar kullanılarak elektrokimyasal biyoalgılama yöntemidir [95]. Bu yöntemde, tirozinaz, lakkaz, peroksidaz vb. enzimler çalışılmıştır [95]. Ancak enzim elektrotlarda yapılan çalışmalarda zamanla enzim aktivitelerinin kaybolması, bu elektrotların raf ömrünün az olması, tekrarlanabilirliğin ve ardıl kullanım olasılığının düşük olması gibi zorluklar seçici membran modifiye elektrotlara yönelilme ihtiyacını doğurmuştur. Bu sensörlerde kateşin grupları elektrot yüzeyine taşıyan ve diğer interferantların geçişine izin vermeyen bir membran yapısı kullanılır. Bu sayede sadece kateşin molekülleri elektrot yüzeyine ulaşarak orada okside olurlar. Şekil 2.13.'de gösterilen

bu oksidasyon reaksiyonu esnada oluşan $2e^-$ bir sinyal olarak kaydedilir. Analat yapısındaki kateşin miktarı arttıkça oluşan elektrot ve dolayısı ile de okunacak sinyal doğrusal olarak büyümektedir. Sonuç olarak analattaki kateşin miktarı hızlı etkin ve duyarlı olarak belirlenmiş olur.



Şekil 2.13. Kateşinin yükseltgenme reaksiyonu.

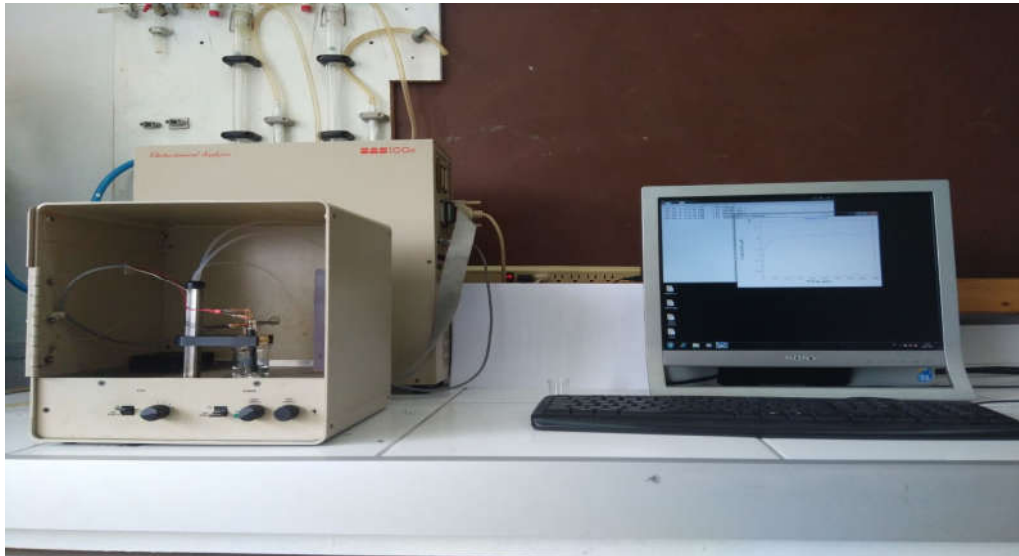
3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Ölçümde Kullanılan Aygıt ve Gereçler

Pt elektrodunun yüzey modifikasyonu için kullanılan polimer film yapısını belirlemek için KBr diskleri kullanarak 400-4000 cm^{-1} aralığında Fourier transform kızılötesi spektroskopisi (FT-IR) (Mattson 1000) kullanıldı. Sentezlenen poliimidin termal davranışları ve kararlılığı, bir hava atmosferi altında TGA-50 (Shimadzu, Japonya) ve DTA-50 (Shimadzu, Japonya) kullanılarak ve 20 ila 900 ° C sıcaklıkta 10 ° C / dakikalık ısıtma hızında belirlendi. DSC ölçümleri bir DSC-60 (Shimadzu, Japonya) üzerinde gerçekleştirilmiştir. Tüm numuneler (5 mg), 10 ° C / dakikalık bir tarama hızında nitrojen akışı (25 mL / dakika) altında ısıtılmadan önce kapalı alüminyum kaplara yerleştirilmiştir.

Hazırlanan poliimid membranların yüzey morfolojileri, 20 kV'da Leo-Evo 40xVP SEM cihazı kullanılarak araştırıldı. SEM ölçümleri için, sentezlenmiş poliimidler cam yüzey üzerinde kaplandı ve bir püskürtmeli kaplayıcıda (Bal-Tec SCB 050) 100 Å kalınlığında bir altın-paladyum tabakası ile kaplanmıştır.

Elektrokimyasal deneyler (CV ve DPV ölçümleri) Şekil 3.1'de gösterilen BAS (Bioanalytical Systems, Inc.) 100BW elektrokimyasal analizör kullanılarak oda koşullarında gerçekleştirilmiştir. Bu analizör bir kişisel bilgisayara bağlanmış, aygıtın kontrolü, veri depolaması ve işlenmesi bilgisayara yüklenmiş ve MS-Windows altında çalışan bir yazılım kullanılarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.1. BAS 100W elektrokimyasal analizör

Bilgisayar program menüsü 28 farklı elektrokimyasal tekniğin seçilmesine ve bunların genel veya spesifik parametrelerinin çok hızlı bir şekilde değiştirilmesine imkan vermektedir. Analizör ayrıca elektrokimyasal hücre çözeltisinden gaz geçirilmesine veya çözeltinin karıştırılmasına yine kontrol yazılımı vasıtasıyla imkan vermektedir.

Çalışmada elektrokimyasal hücre, aynı firmanın, dış elektrik ve manyetik etkilerden yalıtımı sağlayan, (cell stand) içine yerleştirilmiş, C2 hücre kafesi kullanılmıştır.

Tüm elektrokimyasal deneyler; Şekil 3.2’de gösterilen özel olarak yaptırılmış, yaklaşık 10 mL hacimli pyrex cam hücre içinde gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.2. Yardımcı elektrot, çalışma elektrodu ve referans elektrottan oluşan voltametrik hücre ve montajı

pH ölçümleri için Hanna HI 8314 pH-metre kullanılmıştır. Her deneyden önce pH metrenin kalibrasyonu sırasıyla pH=7 (Merck 4939) ve pH=4 (Merck 9475) tampon çözeltileriyle gerçekleştirilmiştir.

Elektrotların tam olarak temizlenmesi ve çözeltilerin hazırlanması esnasında Branson marka 3510 model ultrasonik banyo kullanılmıştır.

Kimyasal maddelerin tartımı için Kern marka ABJ-NM/ABS-N model terazi kullanılmıştır.

Gerek hücrelerin, gerekse diğer cam malzemelerin temizliği önce deterjan ile yapılmış distile su ile çalkalandıktan sonra en az bir saat olmak üzere tercihen bir gece 6 M HNO₃ çözeltisinde bekletildikten sonra en az üç kez distile su ile çalkalanıp etüvde kurutularak yapılmıştır.

Tüm kimyasal maddelerin ve cam malzemelerin kurutulması için Nüve marka EN 400 Model etüv kullanılmıştır.

Çözeltilerin hazırlanması ve seyreltme işlemleri için kullanılmış olan su; Millipore marka Elix 20 model su sisteminden elde edilmiştir.

3.2 Kimyasal Maddeler

Selektif membran olarak polimidlerin ve poliüretanların sentezinde kullanılan tüm dianhidritler (piyromititik dianhidrid (PMDA), oksidifalik anhidrit (ODPA) ve 3,3', 4,4'-benzofenonetra-karboksilik dianhidrit (BPDA) Sigma-Aldrich'den elde edilmiştir. Asros Organics Company'den simetrik olmayan monomer olarak 4,4'-Diaminodifenilmetan (MDA) ve 1,5-diaminonaftalin (1,5-DAN) elde edildi. N-metil-2-pirolidon (NMP-% 99.5), Metanol (% 99.8), N, N-dimetil formamid (DMF-% 98) ve tetrahidrofuran (THF-% 99.9) Merck Chemical'dan satın alınmıştır.

Amperometrik çalışmalar için guar (G), gallik asit, GA, (3-hidroksitiaminyum klorür), kafeik asit (KA), p-kumarik asit (KU), askorbik asit (AA), kateşin (KT), laktoz (LK), fruktoz (FR), D (+)-galaktoz (GLA) ve glukoz (GL) analitik derecedir. ve Sigma-Aldrich Chemical Company veya Merck firmasından temin edilmiştir. Destek elektrolit çözeltisi olarak 0.1 M, pH 7 fosfat tamponu (PBS) kullanıldı. Fosfat tamponu içeriği: 125 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 0.1 M Na₂HPO₄, 0.1 M KH₂PO₄.

3.3. Elektrotlar

Yardımcı elektrot olarak platin tel elektrot (MW-1032), referans elektrot olarak 3 M KCl içindeki Ag/AgCl (BASİ RE-5B), elektrodu ve çalışma elektrodu olarak ise çıplak platin elektrot (CHI102), ve farklı polimerlerle modifiye edilmiş Pt elektrotlar kullanılmıştır.

3.3.1. Elektrotların Temizliği

Referans elektrotlar distile su ile yıkanmış ve s¼rekli olarak 3 M KCl ç¼zeltisi içinde saklanmıştır.

Yardımcı elektrot olarak kullanılan platin elektrotların temizliği, zaman zaman çıplak ateşte ısıtılarak veya 3 M HNO₃ ç¼zeltisi içinde ultrasonik banyoda 1-2 dakika tutulduktan sonra ise distile su ile yıkanarak yapılmıştır.

Çalışma elektrodu olarak kullanılan platin elektrotların temizliği için ¼nce naylon disk ıslatılarak ¼zerinde "8" izdirilecek şekilde fazla bastırılmadan 1-2 dakika hareket ettirilmış, daha sonra elektrot 90° d¼nd¼r¼lerek aynı işlem tekrarlanmıştır. Naylon ¼zerinde gittikçe azalan derişimlerde (15 µM, 3 µM ve 1 µM) sulu elmas pastası damlatılarak yapılmış, distile su ile yıkanıp ultrasonik banyoda 1-2 dakika tutulmuş ve tekrar distile su ile yıkanmıştır.

Aynı işlemler kadife disk ¼zerinde de birkaç damla sulu al¼mina pastası damlatılarak tekrarlanmış ve son olarak ultra saf su ile yıkanıp ultrasonik banyoda 1-2 dakika tutulmuş ve tekrar distilesu ile yıkanmıştır.

3.3.2. Elektrotların Modifikasyonu

Gallik asit için; naftalen bazlı poliimid elektrotlar hazırlandı. Bu amaçla ilk olarak, naftalen bazlı koyu amber toz poliimid yaklaşık 0.1 gramı 1 mL n-metilpirolidon (NMP) içinde ç¼z¼lm¼ř. Daha sonra, poliimid ç¼zelteleri (2, 4, 6, 8, 10 µL), ıplak platin çalışma elektrotlarının y¼zeyine damlatılarak kaplanmış ve en az 48 saat oda sıcaklığında kurutulmuştur.

Kafeik asit için; PU ç¼zeltisi, 20 mg guar bazlı poli¼retanın 2 mL NMP içinde ç¼z¼lmesi ile hazırlanmış ve ıplak Pt alışma elektrotları elektrotları ¼zerine (2, 4, 6, 8, 10 µL) poli¼retan ç¼zeltisi damlatılarak modifiye edilmiştir. Kuruması için en az 24 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir.

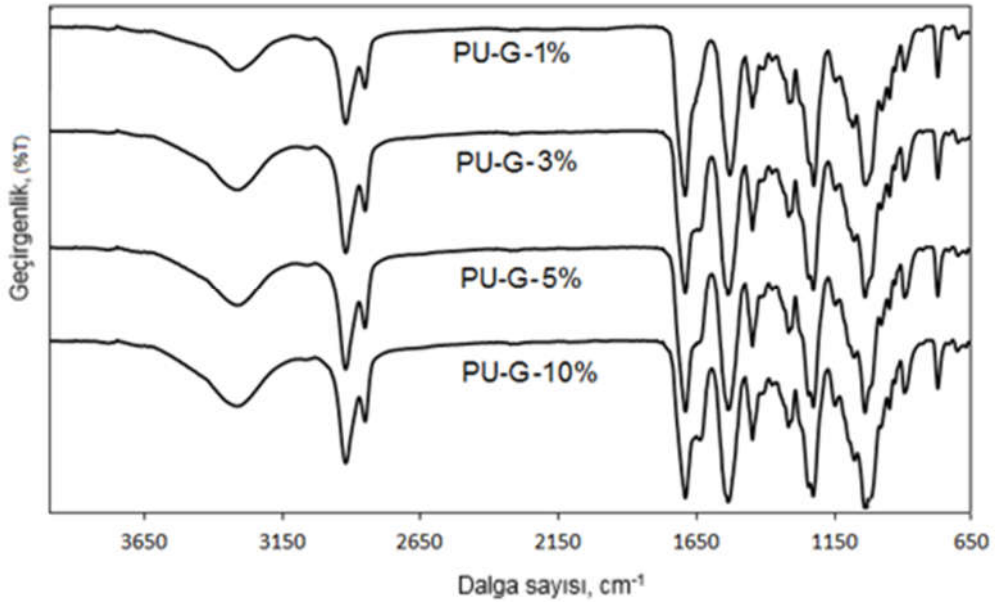
Kateşin için ise triaminotriazin temelli poliimid yaklaşık 0.1 gramı 1 mL NMP içinde ç¼z¼lm¼ř, daha sonra, poliimid ç¼zelteleri (2, 4, 6, 8, 10 µL), ıplak platin çalışma elektrotları y¼zeyine damlatılarak kaplanmıştır. Kuruması için en az 48 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

İlgili çalışma kapsamında polifenol türü aktif bileşenlerin tespitine yönelik seçici geçirgen membran temelli voltametrik sensörler hazırlanmış ve üç farklı polifenol için temel elektrokimyasal analizleri incelenmiştir. Polifenol türü olarak kafeik asit, gallik asit ve kateşin gibi yaygın kullanılan üç farklı polifenol türü tercih edilirken elektrot yüzey modifikasyonlarında polimer türü olarak Poliimid (PI) ve Poliüretan (PU) türü polimerler kimyasal modifikasyon yöntemi ile uygulanmıştır. PI ve PU türü polimerlerin kullanılmasının en önemli nedeni; yüksek kimyasal ve termal kararlılıkları kolay uygulanabilir olmaları ve yüksek adhezyon özelliği göstermeleridir. Çalışma kapsamında sırasıyla; PU modifiye elektrotla KA, PI modifiye elektrot ile GA ve KT tayinleri gerçekleştirilmiştir.

4.1. Kafeik Asit Tayini İçin Optimizasyonlar

4.1.1. Kafeik asit tayininde kullanılacak polimer yapısının karakterizasyonu



Şekil.4.1. Guar temelli polimerin FT-IR Spektrumları.

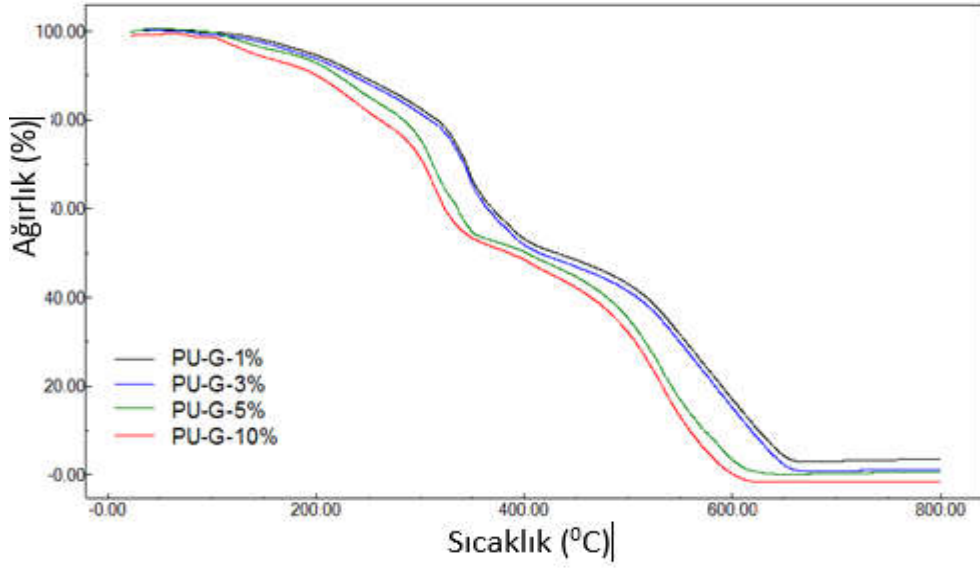
Çalışma kapsamında KA tayini için etilenglikol (EG), guar ve 4,4-diizosiyonodifenilmetan (MDI) monomerik ünitelerinden elde edilmiştir. PU seçici geçirgen membran olarak kullanılmıştır. Kullanılan polimer yapısı içerdiği monomer

ünitesi sayılarına bağlı olarak dört farklı şekilde şekillendirilmiştir. PU-G%1, PU-G%3, PU-G%5, PU-G%10. Bu polimerlerin sırasıyla MDI:G:EG oranları; 1:0.01:0.99, 1:0.03:0.97, 1:0.05:0.95 ve 1:0.1:0.9 olarak gösterilmiştir. İlgili PU yapısı 20 mg alınarak 2 mL NMP içerisinde çözünerek çalışma elektrodun modifikasyonunda kullanılmıştır.

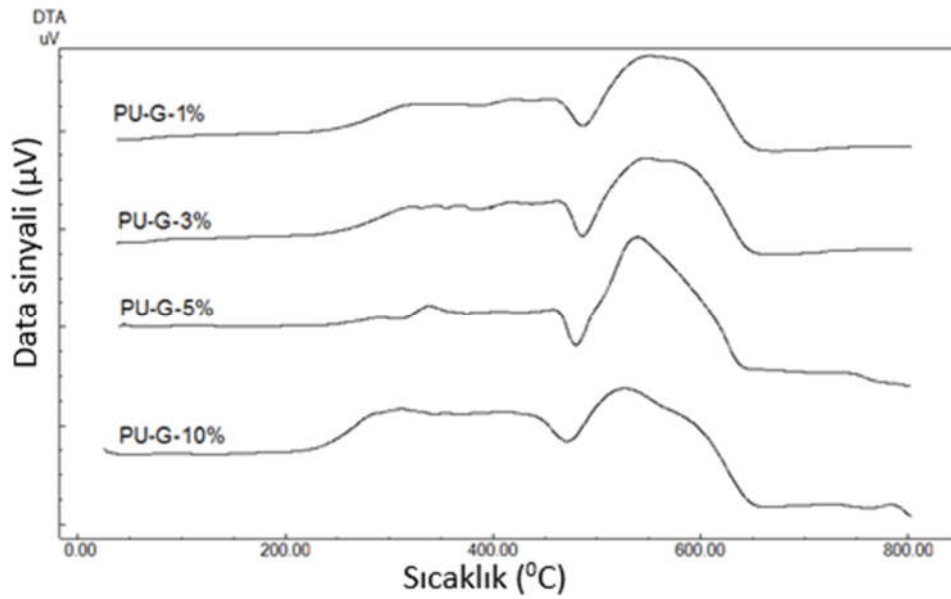
Guar temelli PU filmlerin elektrot uygulamalarında önce yapısal özellikleri farklı karakterizasyon yöntemleri kullanılarak aydınlatılmıştır. Guar temelli PU'ların kimyasal ve molekül yapısı FT-IR spektroskopisi ile aydınlatılmıştır. Elde edilen spektrumlar Şekil 4.1'de gösterilmiştir. Guar temelli PU FT-IR spektrumlarında öncelikle 2265cm^{-1} 'de serbest izosiyonat pikinin olmadığı görüldü. Bu bulgu yapıda serbest MDI grubunun kalmadığını bize ispatlamaktadır. Ayrıca ilgili spektrumlarda üretan bağında kaynaklı 1614cm^{-1} 'de karbonil gerilme titreşimi 1733cm^{-1} 'de ester üniteleri karbonil gerilme titreşimi 1367cm^{-1} 'de C-N gerilme titreşimi ve 1276cm^{-1} 'de C-O-C gerilme titreşimi PU yapısını bize ispatlamaktadır. EG ünitelerinden kaynaklı alifatik $-\text{CH}_2-$ gruplarından kaynaklı C-H gerilme titreşimi $2850-2937\text{cm}^{-1}$ 'de belirgin olarak görülmektedir. Yine guar yapısından kaynaklı hidrojen bağları $3100-3600\text{cm}^{-1}$ 'de geniş bir bant olarak görülmektedir. Yapıdaki guar miktarı artıkça bu pik de belirginleşmektedir.

Sonuç olarak kullanılan üretan yapısı teorik bulgularla uyuşmaktadır. Bu PU yapısının temel özelliklerinin incelenmesinde ise; Şekil 4.2, Şekil 4.3 ve Şekil 4.4'de verilen TGA, DTA ve DSC analizleri kullanılmıştır.

Şekil 4.2'de verilen TGA termogramında üç temel kütle kaybı söz konusudur. Birinci kütle kaybı; $110-180\text{ }^\circ\text{C}$ arasında görülmekte olup guar ünitelerinin dehidroksilasyonundan kaynaklanmaktadır. İkinci kütle kaybı; $180-360\text{ }^\circ\text{C}$ olup PU yapısındaki yumuşak segmentlerin bozunmasından kaynaklanmaktadır. Üçüncü kütle kaybı ise; $400-620\text{ }^\circ\text{C}$ arasında görülmekte olup aromatik izosiyonat gruplarının bozunmasından kaynaklanmaktadır.

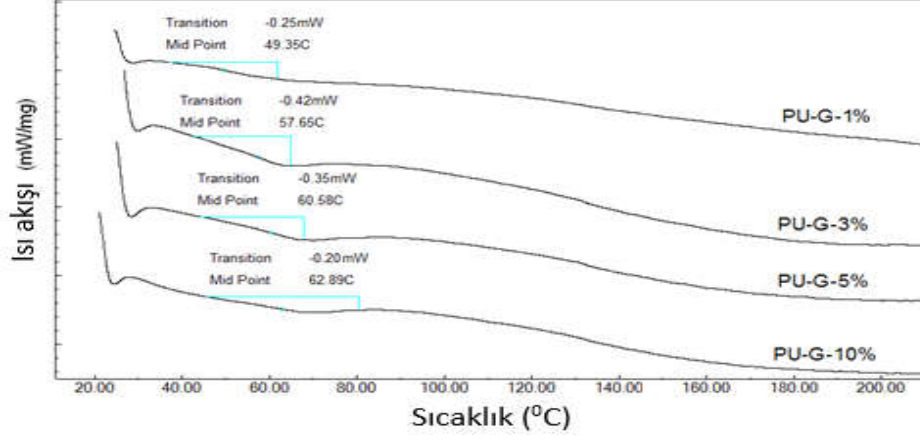


Şekil 4.2. Guar temelli polimerik filmlerin TGA termogramları.



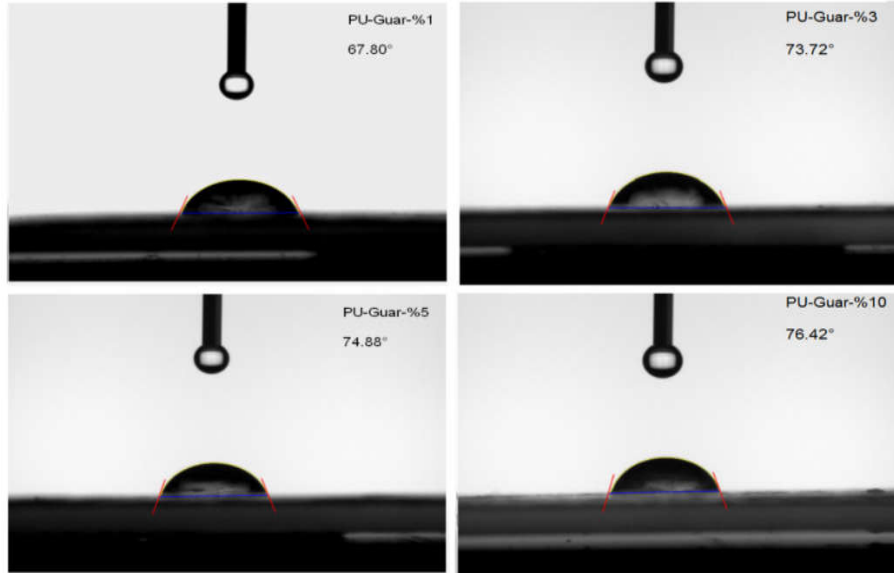
Şekil 4.3. Guar temelli polimerik filmlerin DTA termogramları.

Tüm bu bulgular Şekil 4.3’de verilen DTA termogramları ile uyumludur. Bu termogramlarda genel olarak üç temel ekzotermik pik görülmüştür. Birinci pik; 180-300°C ikinci pik; 300-460°C üçüncü pik; 475-650’de görülmektedir. Artan guar miktarına bağlı olarak PU yapısının termal kararlılığında artışı görülmektedir.



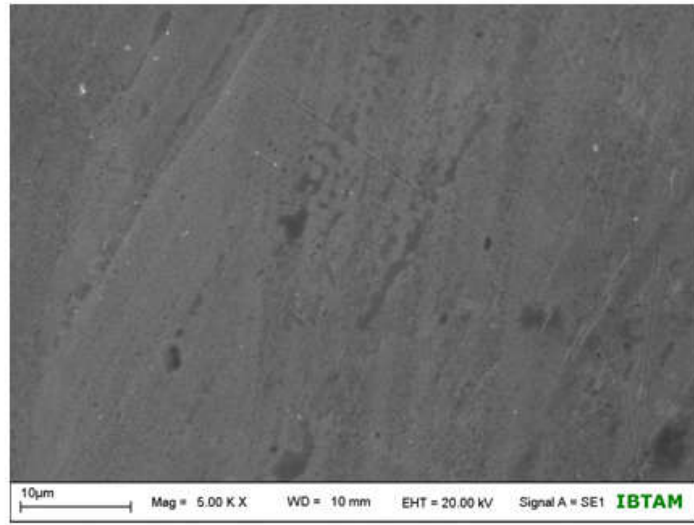
Şekil 4.4. Guar temelli polimer filmleri DSC termogramları ve Tg değerleri.

Kullanılan polimerlerin esneklikleri ve elektrot yüzey modifikasyonu sırasında kullanım özellikleri Tg değerleri ile ilgilidir. Bu nedenle Tg değerlerinin belirlenmesinde DSC analizleri gerçekleştirilmiş ve sonuçlar Şekil 4.4’de verilmiştir. Bu sonuçlara göre guar temelli PU Tg değerleri 49.3-62.9 arasında değişmektedir. Yapıdaki guar miktarı arttıkça Tg değeride büyümektedir. Bu büyüme yapıdaki çapraz bağ oranının artması ve polimerin rijiditesinin artması anlamına gelir.

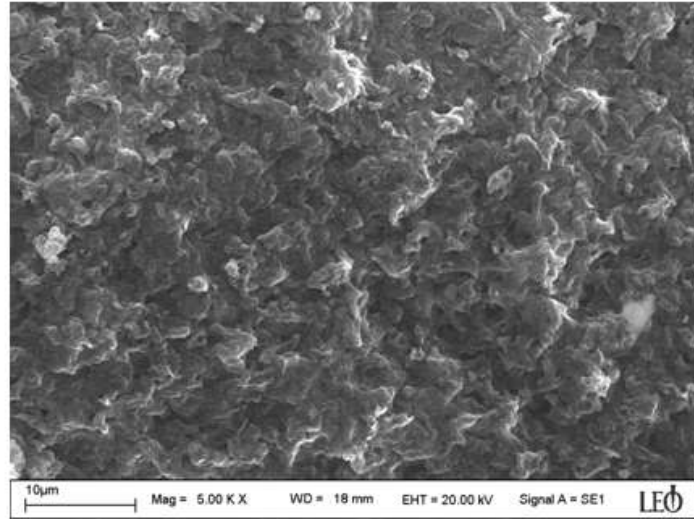


Şekil 4.5. PU filmlerin sıvı temas açısı ölçümleri ve temas açısı değerleri.

Elektrot yüzeyinin hidrofilitesini ve ıslanabilirliğinin belirlenmesi amacıyla sıvı temas açısı ölçümleri gerçekleştirildi. Bu ölçümlerde PU yapıları için sıvı temas açısı 67.80-76.42 arasında değişmektedir. Bu değerler elektrot yüzeyinin sulu ortamlarda çalışmaya uygun ve ıslanabilir nitelikte olduğunu bize ıspatlamaktadır.



a

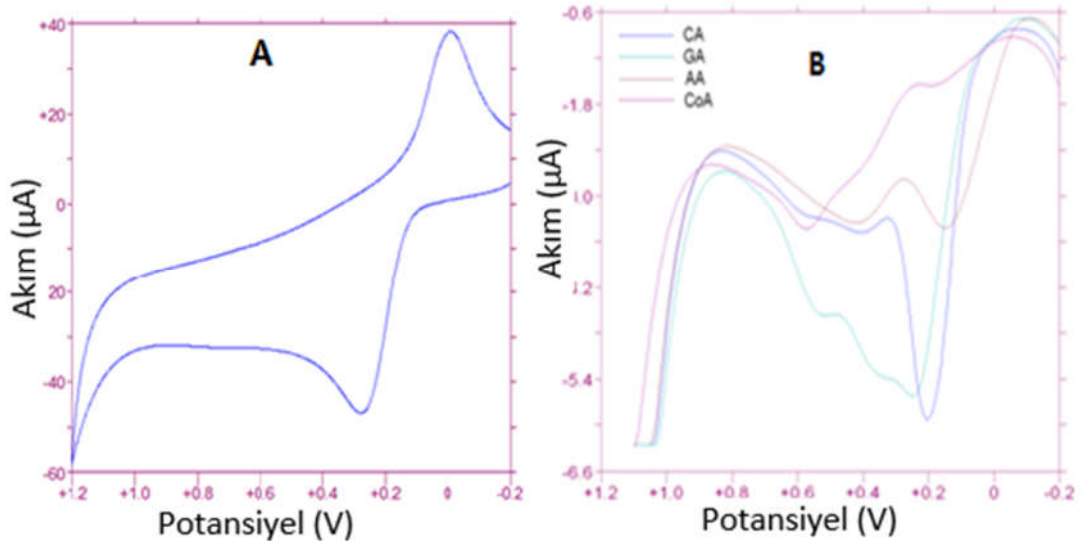


b

Şekil 4.6. Çıplak elektrot (a) ve guar temelli PU film (b) için SEM fotoğrafları.

Guar temelli PU yapıları elektrot yüzeylerine kaplatılarak elektrot yüzey modifikasyonlarında kullanılmıştır. Bu modifikasyonlarda yüzeydeki film yapısının morfolojisi SEM analizi ile gerçekleştirilmiş olup bu fotoğraflarda polimerik uygulama sonrasında düzgün elektrot yüzeyinin yüzey alanını artırarak daha kaviteli ve pürüzlü bir hal aldığı görülmektedir. 2500 kat büyütme sonrasında elektrot yüzeyinin oldukça büyüdüğü açıkça görülmektedir.

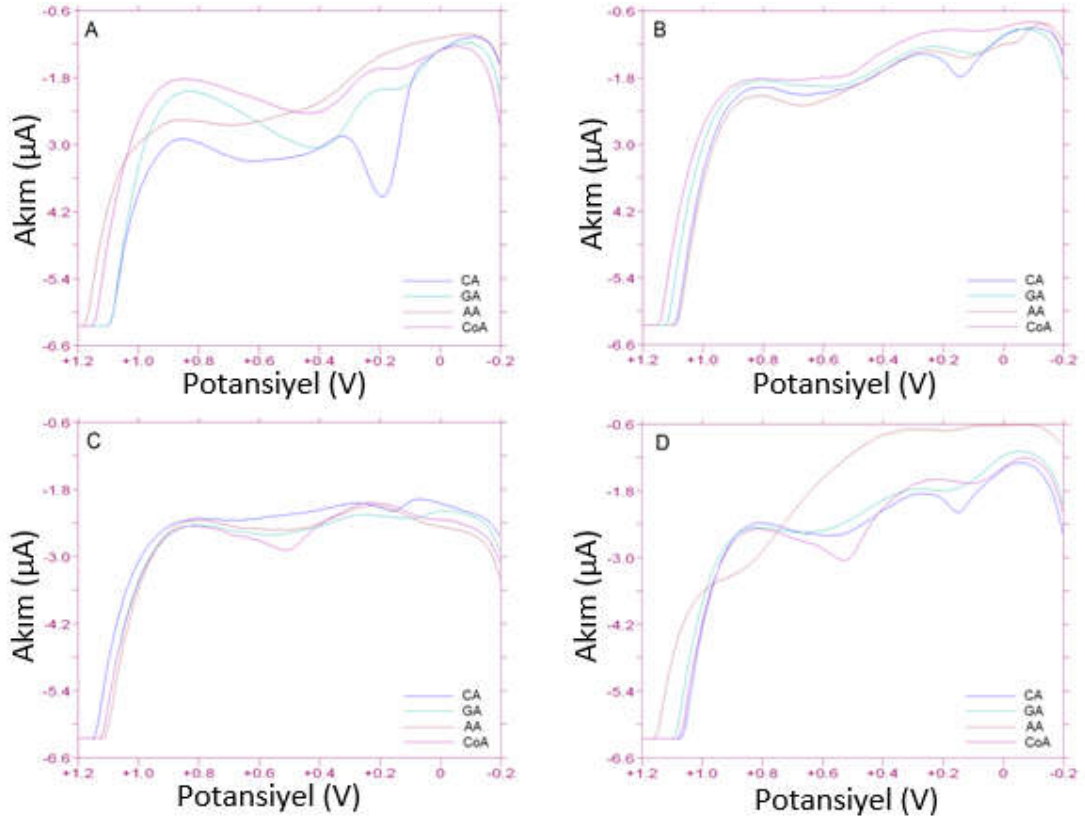
4.1.2. Kafeik asit pik Potansiyelinin belirlenmesi



Şekil 4.7. Çıplak elektrotta A) KA'nın CV; B) KA, KU, GA ve AA'nın DPV davranışları.

Şekil 4.7'de KA tayini için pH 7:0'de PBS içerisinde öncelikle çıplak platin çalışma elektrodu kullanılarak 2 mM KA, GA, KU ve AA yanıtları belirlenmiştir. Bu yanıtlara göre; KA +0.2 V, GA +0.25V, AA +0.15V ve KU +0.54V'da yükseltgenme pikleri verilmektedir. Bu pikler genellikle yayvan ve çakışık durumda görülmektedir. Bu nedenle çıplak elektrotta AA, KU, GA varlığında KA tayini mümkün görülmemektedir.

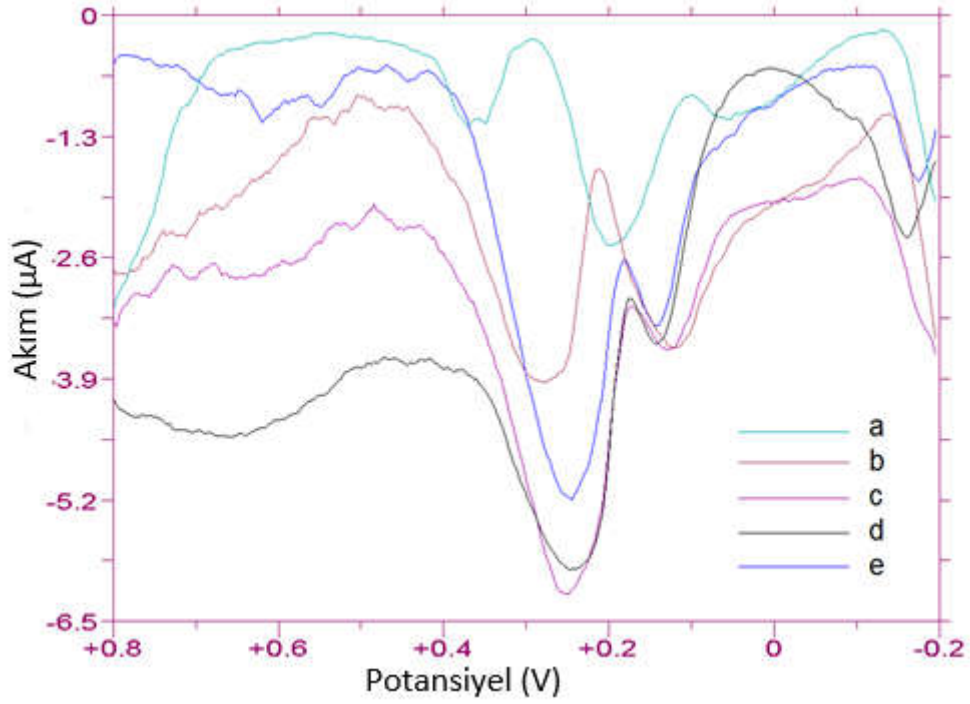
4.1.3. Kafeik Asit Tayininde Kullanılacak Polimer Türünün Belirlenmesi



Şekil 4.8. PU kaplı elektrotların 1 mM AA, 1 mM GA, 1 mM CA ve 1 mM KA'nın pH 7.0 PBS içerisindeki sonuçları. (A; PU-G-1%, B; PU-G-3%, C; PU-G-5% ve D; PU-G-10%).

Şekil 4.8'de kullanılan farklı PU film yapılarına bağlı olarak GA, KA, AA, GA yanıtları görülmektedir. Bu yanıtlara göre; PU-G-1% yapısına ait voltomogramda en yüksek KA yanıtı elde edilmiştir. Diğer interferansların oldukça elimine edildiği açıkça görülmektedir. Bu nedenle bu polimer yapısı seçilerek KA sensörü olarak diğer uygulamalarda kullanılmasına karar verilmiştir.

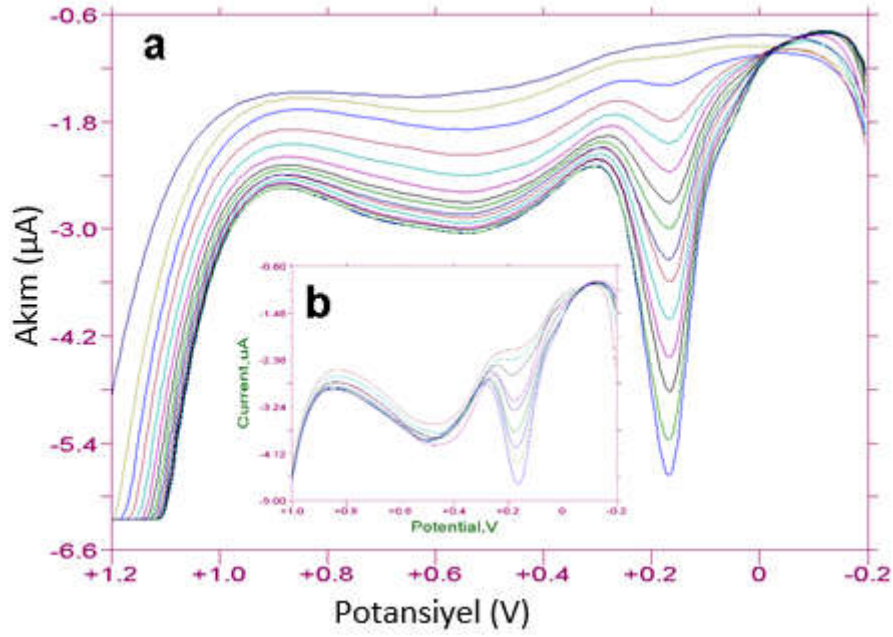
4.1.4. Kafeik asit tayini için polimer film kalınlığının belirlenmesi



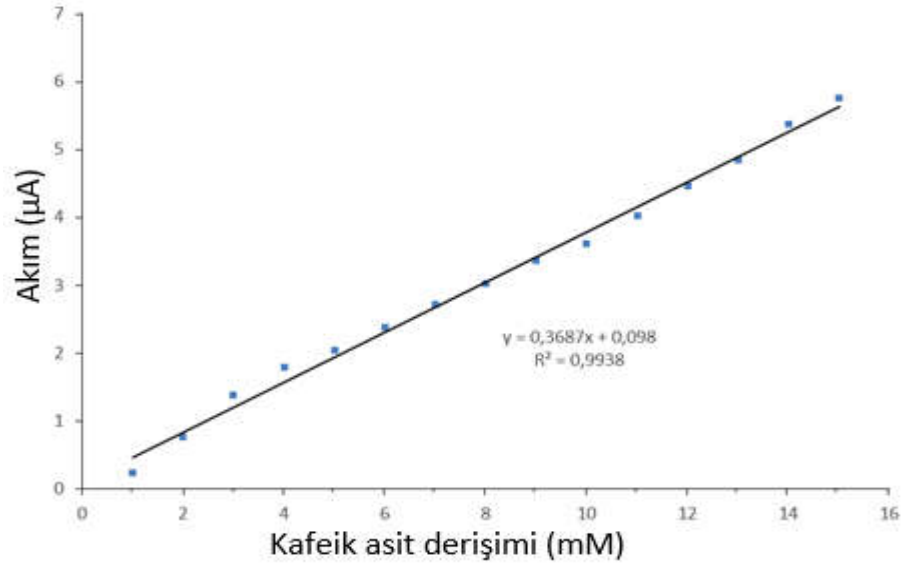
Şekil 4.9. KA yanıtları üzerine %1'lik PU-G'nin film kalınlığının etkisi. (film kalınlıkları: a; 2 µL, b; 4 µL, c; 6 µL, d; 8 µL and e; 10 µL).

%1'lik polimerin elektrot yüzeyindeki film kalınlığının KA üzerindeki etkisi incelenmiştir ve Şekil 4.9'da verilmiştir. Bu uygulama için 2 µL, 4 µL, 6 µL, 8 µL ve 10 µL PU çözeltisi platin elektrot yüzeyine damlatılarak kurutulmuştur. Bu yapılara ait KA yanıtları incelendiğinde 6 µL kalınlığında çalışılmaya karar verildi. Optimum film kalınlığı olarak 6µL PU uygulanarak kurutulmuş film kalınlığı tercih edildi.

4.1.5. Amperometrik kafeik asit tayini



Şekil 4.10. PU kaplı elektrotta interferanslar varlığında kafeik asitin artan konsantrasyonları. (a; kafeik asit konsantrasyonu: 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12; 13; 14; 15×10^{-4} M; b: düşük kafeik asit konsantrasyonu: 0.25; 0.5; 1.0; 1.5; 2.0; 2.5; 3.0; 3.5; 4.0×10^{-4} M) (interferanslar: KU, AA, GA, LK, SK, ML, GL = 2 mM).

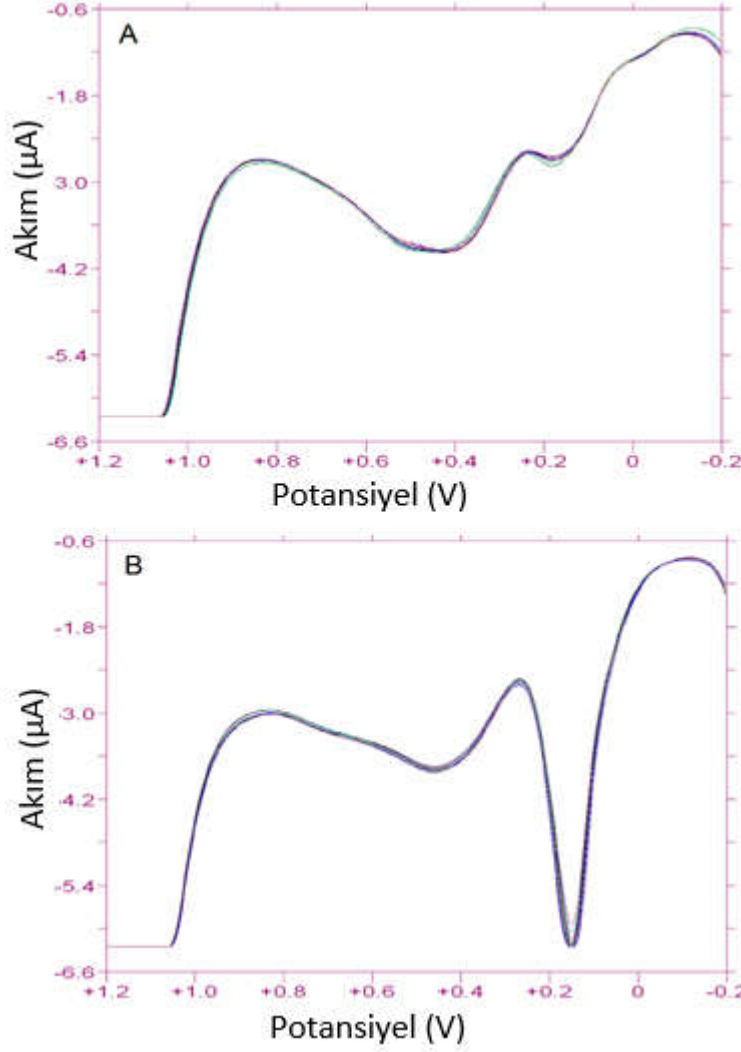


Şekil.4.11. %1'lik PU-G'ly elektrotta Kafeik Asit kalibrasyonu

PU modifiye elektrotlar kullanılarak hazırlanmış olan sensörlerin farklı elektroaktif ve elektroaktif olmayan interferanslar varlığında sensör karakteristikleri DPV tekniği kullanılarak belirlendi. Öncelikle 0.25 mM konsantrasyondan başlayarak artan KA derişimlerinde çalışılmıştır. Şekil 4.10'da artan KA miktarına bağlı olarak elde edilen sensör yanıtlarını göstermektedir. Şekil 4.10-a'da yüksek konsantrasyonda gerçekleştirilen ölçümler görülürken Şekil 4.10.b'de düşük konsantrasyonda elde edilen pikleri görmekteyiz. Ardışık yanıtlarda +0.19 V pik potansiyelinde artan KA miktarına bağlı olarak pik şiddetinin de büyüdüğünü görmekteyiz. Bu değişim yüksek konsantrasyonda ki derişimde ve düşük konsantrasyonda ki derişimde de oldukça net ve belirgindir. Sonuç olarak PU modifiye elektrot kullanılarak hazırlanmış olan sensörlerin yanıtları etkin, hızlı ve seçici bir şekilde belirlenmiştir. Bu yanıtlara karşılık artan kalibrasyon grafiği Şekil 4.11'de görölmektedir. İlgili sensörün $R^2=0.9938$ olduğu belirlenmiştir. Bu değer oldukça yüksektir.

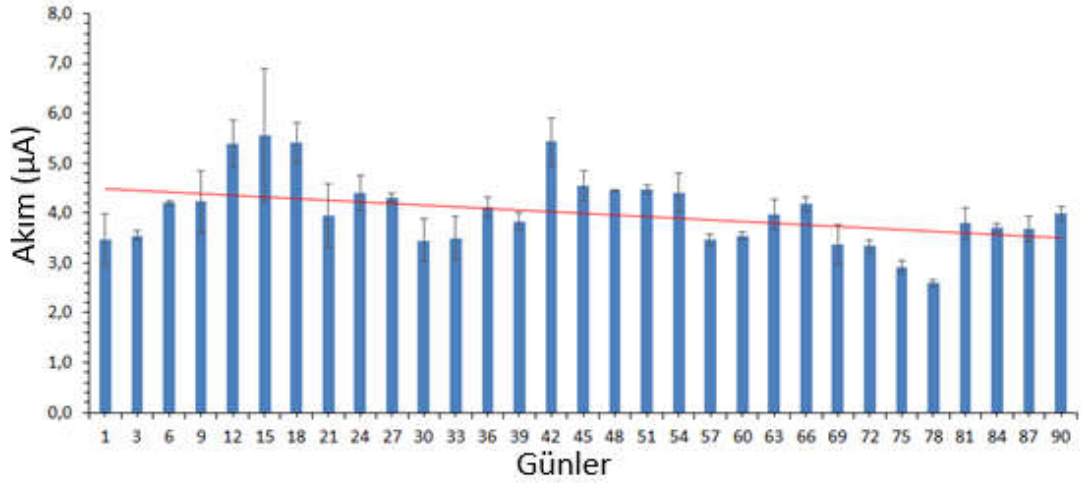
4.1.6. Kafeik asit seçici elektrotların kararlılığının belirlenmesi

Guar temelli PU modifiye elektrotların düşük ve yüksek konsantrasyonda ayrı ayrı olarak yanıt tekrarlılığı ölçölmüştür. Bu ölçüm sonuçları Şekil 4.12'de verilmiştir. Şekil 4.12-a'da 0.5 mM KA içerisinde ardıl on okuma sonuçları görölmektedir. Benzer şekilde Şekil 4.12-b'de 4 mM KA derişimi içerisinde 2 mM interferanslar varlığında (Kumarik Asit, Askorbik Asit, Gallik Asit, Laktoz, Maltoz, Sukroz, Fruktoz, Glikoz) ardışık on okumaya ait değerler görölmektedir. Ölçüm duyarlılığı oldukça yüksek ve özellikle düşük konsantrasyonda birbirine çok yakın değerler elde edilmiştir. Yüksek konsantrasyonda gerçekleştirilen ölçümlerde ilk değer ile son değer arasında yaklaşık % 6'lık bir sapma görölmüştür.



Şekil.4.12. PU modifiye elektrodun 2 mM interferanslar ve farklı iki derişiminde KA varlığında Guar için elektrokimyasal tekrarlanırlığı (**A:** kafeik asit konsantrasyonu: 0.5 mM; **B:** kafeik asit konsantrasyonu: 4 mM) (interferanslar: kumarik asit, askorbik asit, gallik asit, laktoz, sukroz, fruktoz, maltoz, glukoz 2 mM).

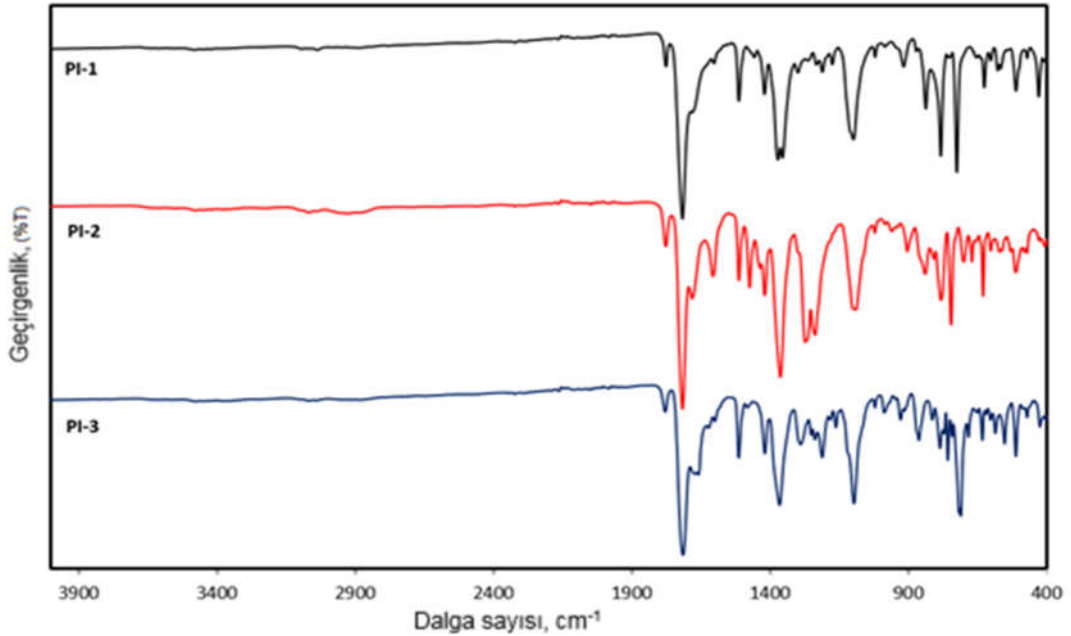
PU temelli KA sensörünün depolama kararlılığının belirlenmesi için 90 gün süresince her üç günde bir ölçümler gerçekleştirilmiştir. Bu ölçümlerde PU-G-%1 kullanılarak hazırlanmış olan elektrot 4 °C'lik şartlarda belirtilmiş ve okumalar 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar Şekil 4.13'de verilmiştir. Sonuç olarak 90 gün sonrasında 4 mM'lık KA karşılık sinyal oranı % 91.66'a düşmüştür. Bu sonuç üç aylık bir süreç için oldukça kabul edilebilir bir sonuçtur.



Şekil.4.13. PU kaplı elektrotta 4 mM KA'in gün analizi. (interferanslar: kumarik asit, askorbik asit, gallik asit, laktöz, sukroz, fruktoz, maltoz, glukoz 2 mM)

4.2. Gallik Asit Tayini İçin Optimizasyonlar

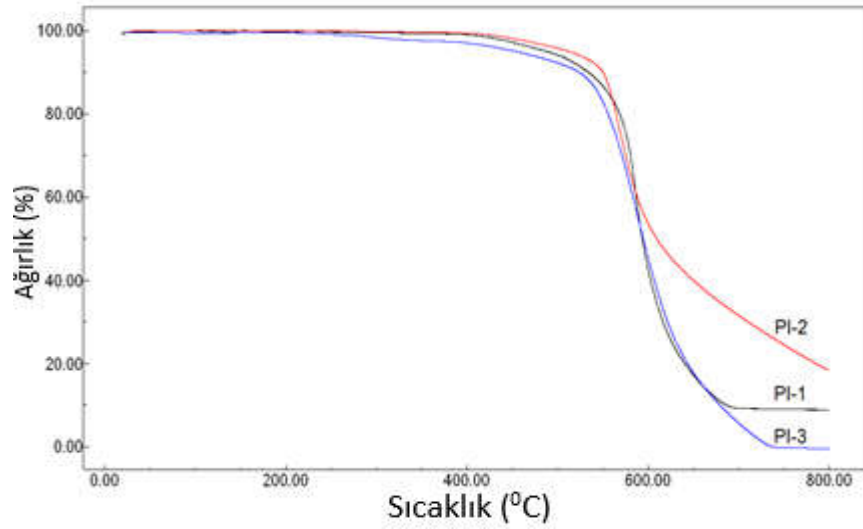
4.2.1 Gallik asit tayininde kullanılacak polimer yapısının karakterizasyonu



Şekil 4.14. PI temelli polimerin FT-IR Spektrumları.

Çalışma kapsamında GA tayini gerçekleştirebilmek için PI yapılı filmler elektrot yüzey modifikasyonunda kullanılmıştır. PI yapısının tercih edilmesinin

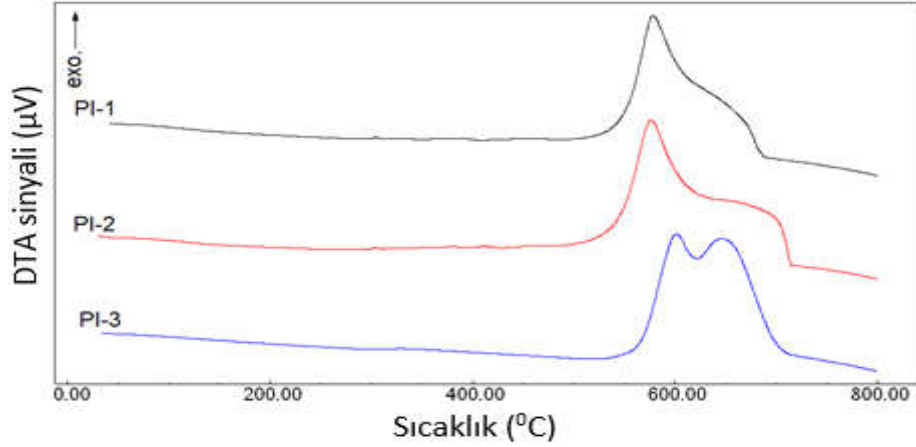
nedeni; yüksek adhezyon özelliğini göstermesi, uygun film morfolojisine sahip olması ve yapısal kararlılığının yüksek olmasıdır. Ayrıca PI yapıları genel olarak kimyasal inert olduklarından dolayı analiz sırasında analat ve interferantlarla etkileşmezler. Bu özellik sensör uygulamalarında oldukça önemli bir avantajlı sağlamaktadır. Çalışma kapsamında PI yapısı olarak 4,4-diaminodifenilmetan (MDA) ve 1,5-diaminonaftalen (1,5-DAN) kullanılarak farklı dianhidrit bileşikleriyle yapısal çeşitlilik sağlanmıştır. Üç farklı dianhidrit bileşiği ile çalışılmış ve ayrı ayrı olarak sensör modifikasyonlarında kullanılmıştır. PI yapılarının kimyasal özellikleri FT-IR spektrumları ile belirlendi ve Şekil 4.14’de verilmiştir. Bu şekilde her üç polimer yapısı içinde temel imid piklerini görmekteyiz. 1791 cm^{-1} ’de asimetrik karbonil gerilme titreşimi 1737 cm^{-1} ’de simetrik karbonil gerilme titreşimi 1384 cm^{-1} ’de C-N gerilme titreşimi 720 cm^{-1} ’de imid halkası deformasyon piki yapının PI olduğunu bize ispatlamaktadır. Ayrıca ilgili infrared spektrumunda aromatik C-H gerilme pikleri monomerlerden kaynaklı olarak görülmektedir. Her üç polimer türü de öncelikle elektrotların modifikasyonunda kullanılmış ve GA yanıtları elde edilmiştir.



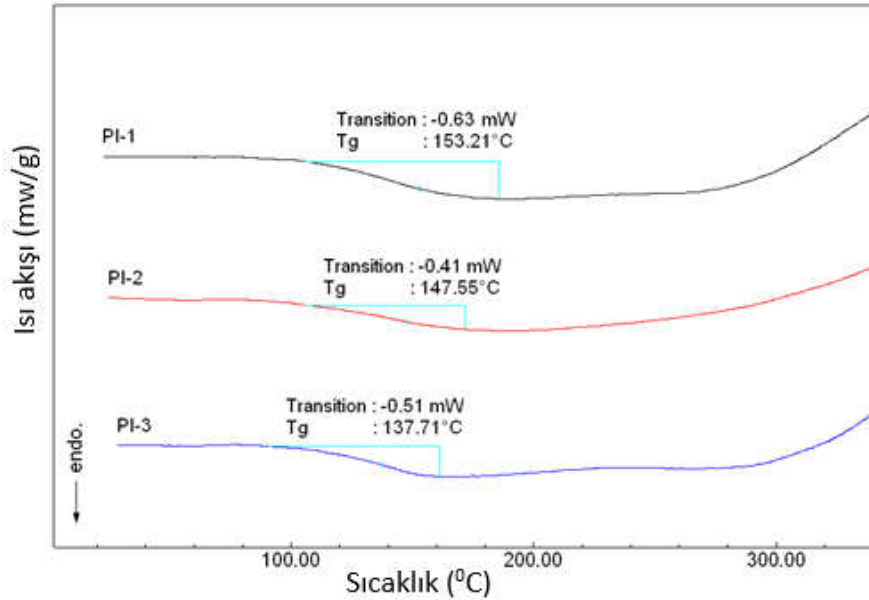
Şekil 4.15. Naftalen temelli polimerik filmlerin TGA termogramları.

PI yapılarına ait TGA Şekil 4.15’de verilmiştir. Bu termogramda PI kararlılıklarının oldukça yüksek olduğu özellikle PI-1 ve PI-3 yapısının bozunmaya başlangıç sıcaklıkları sırasıyla 401-405 °C olarak görülmektedir. TGA

termogramlarında 409-694 °C aralığında tek ve net bir kütle kaybı görülmektedir. Bu kütle kaybı PI oksidatif termal bozunmasından kaynaklanmaktadır. Bu değerlerin yüksek olması PI'lerin elektrot yüzeyinde gerçekleştirilecek olan uygulamada ısıl kararlılık gibi uygulamalara dayanabileceğinin bir ispatıdır.



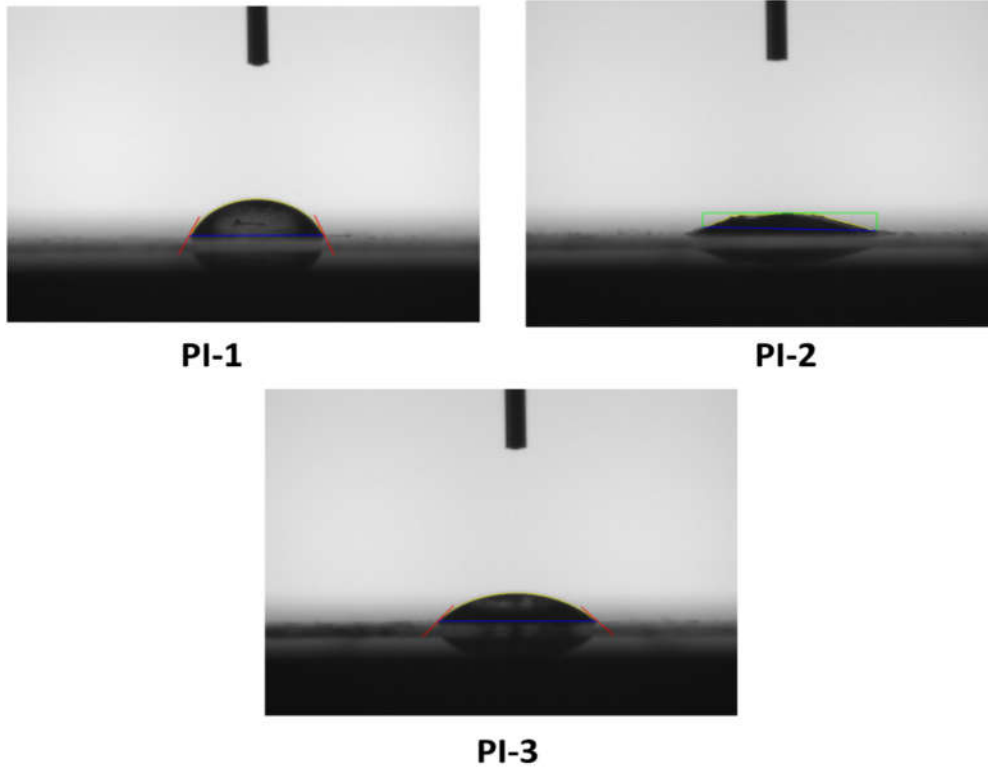
Şekil 4.16. PI temelli polimerik filmlerin DTA termogramları.



Şekil 4.17. Naftalen temelli polimerik filmlerin DSC termogramları.

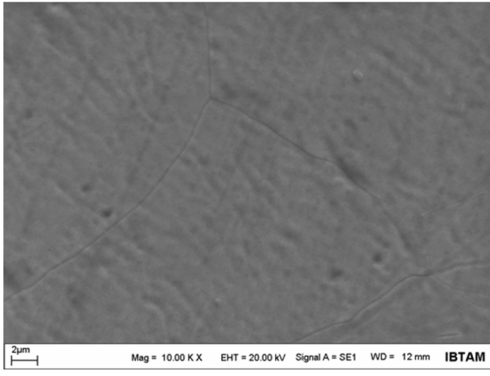
Şekil 4.16'da naftalen temelli PI'den DTA termogramları görülmektedir. Her üç termogramda da yaklaşık 500 °C sıcaklıkta başlayan temel bir egzoterm görülmektedir. PI-1 ve PI-2 yapısı tek kademeli bir bozunma gösterirken PI-3 yapısı iki kademeli bir termal bozunma piki göstermiştir. Bu sonuçlar TGA sonuçları ile uyumlu olduğu görülmüştür.

Şekil 4.17'de çalışma kapsamında kullanılan naftalen temelli PI'e ait DSC termogramları görülmektedir. 30-350 °C aralığında verilen DSC termogramlarına göre PI-1'in Tg değeri: 153.21 °C, PI-2'in Tg değeri: 147.55 °C , PI-3'ün Tg değeri: 137.71 °C olarak görülmüştür. Bu değerler kararlı ve mekanik dayanıklılığı sensör için oldukça uygundur.

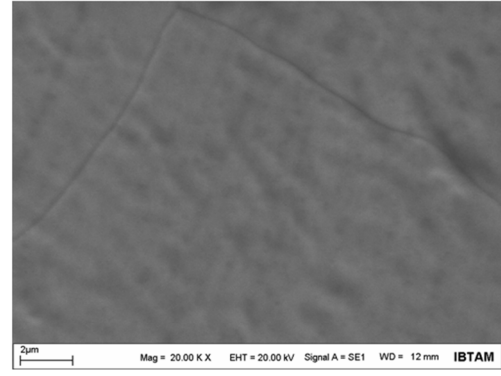


Şekil 4.18. Naftalen temelli polimerik filmlerin sıvı temas açısı ölçümleri.

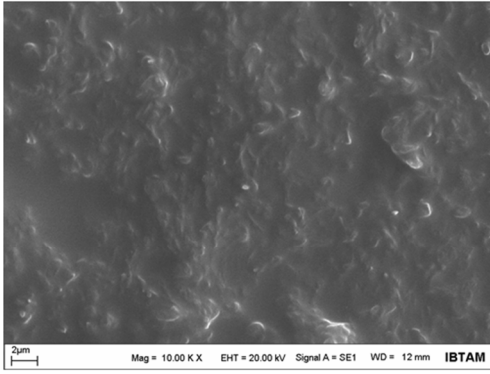
PI-1 yapılarının ıslanabilirlikleri ve hidrofilitik düzeyinin belirlenmesinde sıvı temas açısı ölçümü gerçekleştirilmiş olup sonuçlar Şekil 4.18'de verilmiştir. Bu sonuçlar sensör yüzeyinde uygun okuma yapılabilecek düzeyde olduğunu bize ıspatlamaktadır



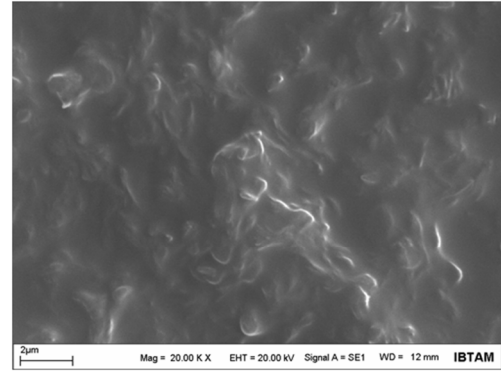
a



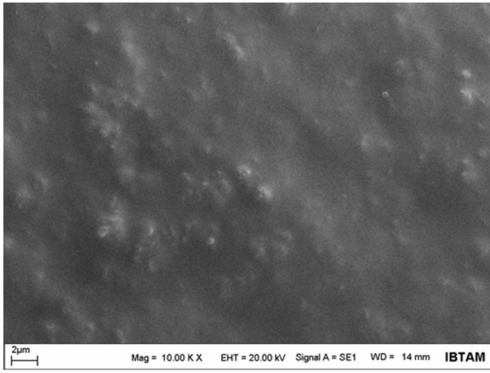
b



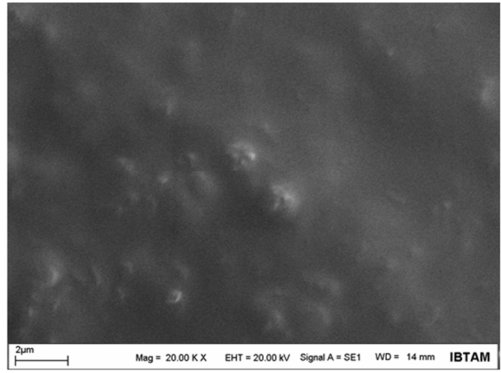
c



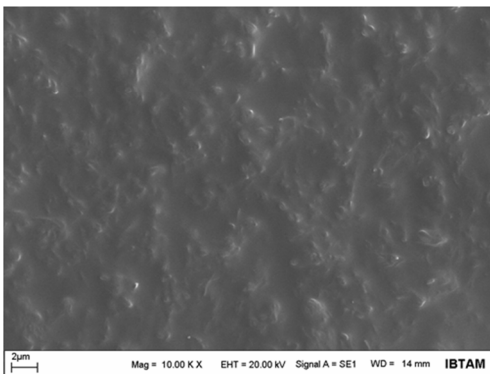
d



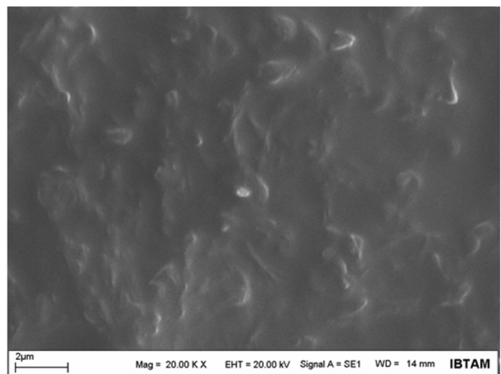
e



f



g

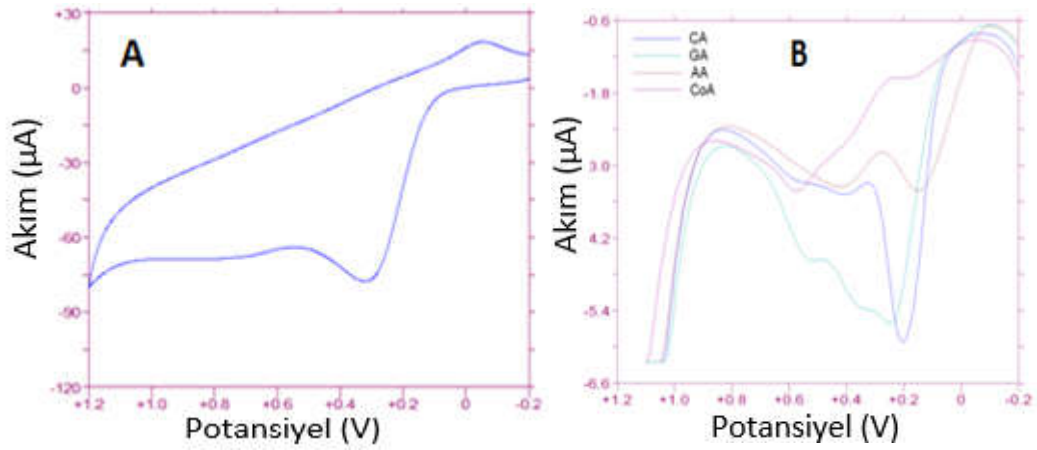


h

Şekil 4.19. Çıplak elektrotta (a) düşük, (b).yüksek büyütme ile ve sırasıyla PI-1, PI-2 ve PI-3 kaplı elektrotta (c), (e), (g) düşük, (d), (f), (h), yüksek büyütme ile SEM görüntüleri.

Yapısal karakterizasyonu gerçekleştirilen PI yapıları elektrot yüzeyleri kaplanarak çıplak elektrot yüzey ile karşılaştırılmıştır. Bu sonuçlar Şekil 4.19'da SEM olarak verilmiştir. Şekil 4.19-a ve Şekil 4.19-b'de verilen çıplak elektrot yüzeyinde ait SEM görüntüleri ile kıyaslandığında PI yüzeyleri daha pürüzlü olduğu açıkça görülmektedir. Bu pürüzlülük yüzey alanının artmasına ve elektrot duyarlılığının artmasına neden olmaktadır. SEM görüntülerine göre her üç polimerde düzgün, homojen ve kesiksiz yüzey filmleri vermiştir.

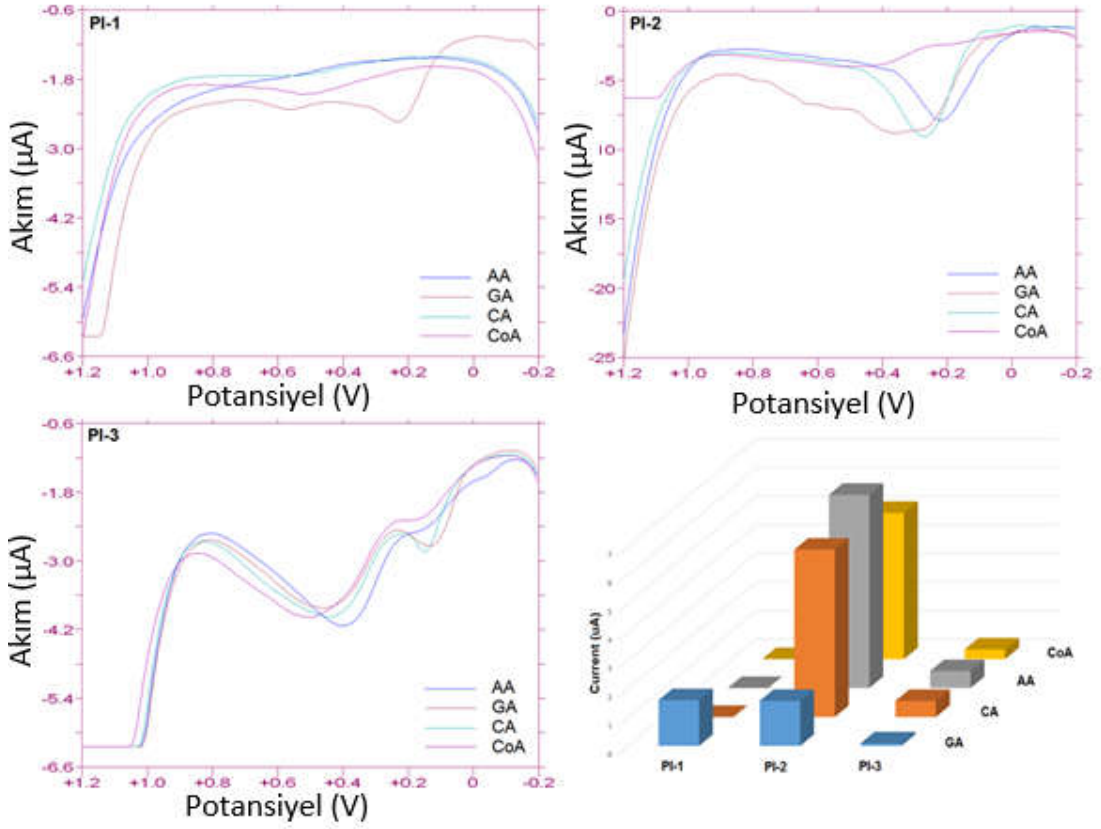
4.2.2. Gallik asit pik potansiyelinin belirlenmesi



Şekil 4.20. Çıplak elektrotta pH 7.0 PBS içerisinde A) GA'nın CV'si, B) KA, KU, AA ve GA'nın DPV yanıtları.

Çalışmanın temelini oluşturan GA öncelikle hangi potansiyelde çalışılacağına karar verebilmek için DPV ölçüldü. Bu ölçüme ait DPV sonucu Şekil 4.20'de verilmiştir. Bu şekilde -0,2 V - +1.2 V aralığında gerçekleşen DPV sonucuna göre 2 mM GA için pH :7.0 PBS tamponu içerisinde GA 'nın pik potansiyeli +0.25 V olarak belirlenmiştir.

4.2.3. Gallik asit tayininde kullanılacak polimer türünün belirlenmesi

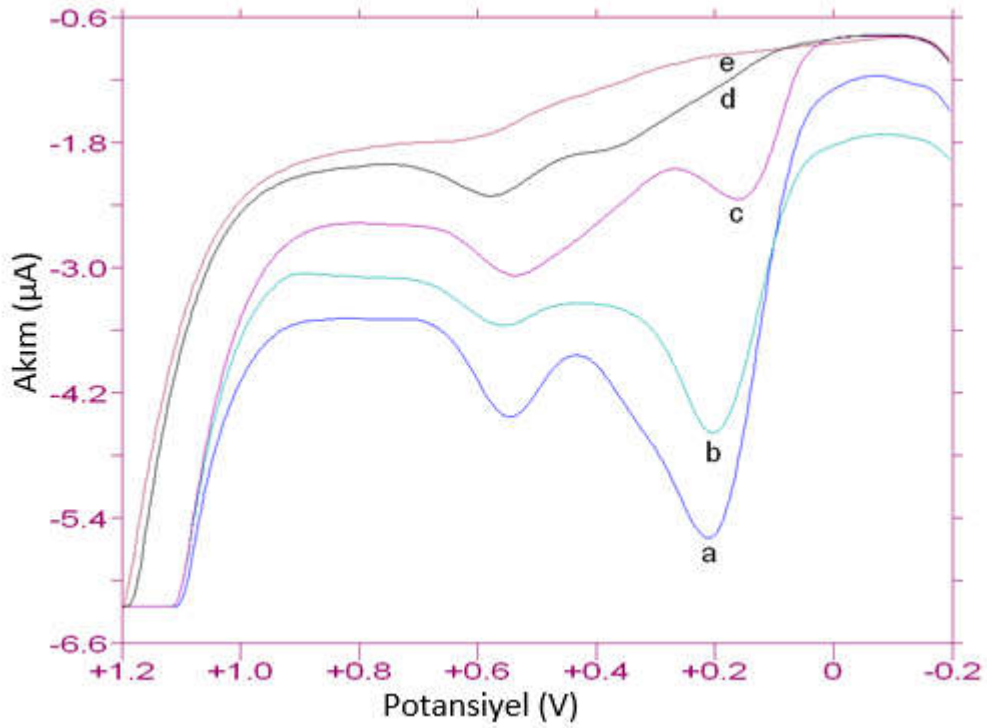


Şekil 4.21. PI kaplı elektrot da pH 7.0 PBS içerisinde 1 mM AA, 1 mM KU, 1 mM GA ve 1 mM KA içerisinde DPV yanıtları. (A; PI-1, B; PI-2 ve C; PI-3).

GA tayininde kullanılacak PI tespitinde ise her üç PI ile hazırlanmış olan elektrotların ayrı ayrı AA, GA, KA ve KU için 1 mM derişimlerde sinyalleri alınmıştır. PI-3 ve PI-2 için AA, GA, KA ve KU yanıtlarına bakıldığında GA yanında diğer interferantların da yanıt verdiği görülmektedir. Bu nedenle sensör modifikasyonu için uygun değildir. Ancak Şekil 4.21’de PI-1 için alınan yanıtlar incelenecek olursa sadece GA’nın yanıt verdiği, diğer interferantların ise yanıt vermediği görülmüştür. Bu nedenle polimer türü olarak PI-1 tercih edilmiştir.

4.2.4. Gallik asit tayin için polimer film kalınlığının belirlenmesi

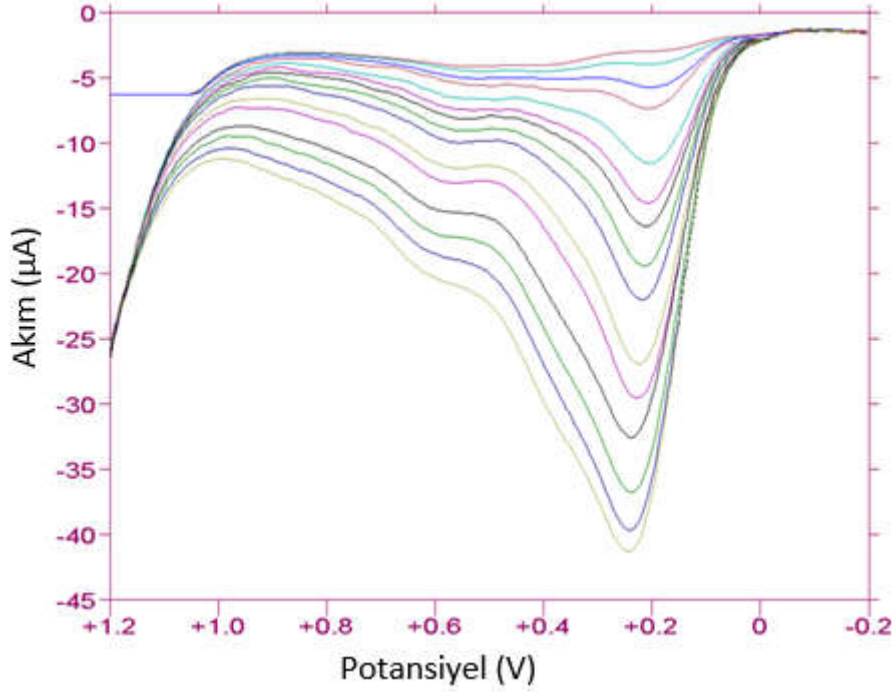
GA tayini için Şekil 4.22’de PI-1 polimeri kullanılarak 2 μ L, 4 μ L, 6 μ L, 8 μ L ve 10 μ L film kaplamaları gerçekleştirilmiştir. Beş farklı film kaplaması dikkate alındığında en uygun film kalınlığının 2 μ L olduğu en yüksek GA yanıtını bu kaplamada elde edildiği görülmüştür. İleri sensör çalışmaları için PI-1 film ve 2 μ L kalınlıkta çalışılmaya karar verildi.



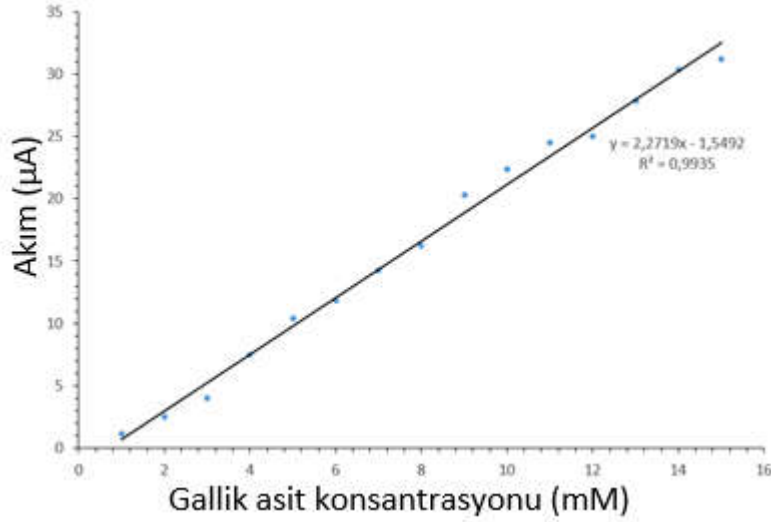
Şekil 4.22. Farklı kalınlıklarda ki PI-1 filmlerinin GA’ye verdiği amporemetrik yanıtlar. (a; 2 μ L, b; 4 μ L, c; 6 μ L, d; 8 μ L and e; 10 μ L PI).

4.2.5. Amperometrik gallik asit tayini

Polimer türü ve birim kalınlığı optimizasyonundan sonra GA sensör çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalarda 1mM KA, KU, AA, GL, LK, FR ve SK interferantları varlığında artacak şekilde GA yanıtları alınarak sonuçlar Şekil 4.23'de verilmiştir. Bu şekilde 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12; 13; 14; 15×10^{-4} M olacak şekilde GA konsantrasyonları çalışılmıştır. Artan GA derişiminde bağı olarak pik şiddetinin de düzenli olarak arttığı görülmüştür.



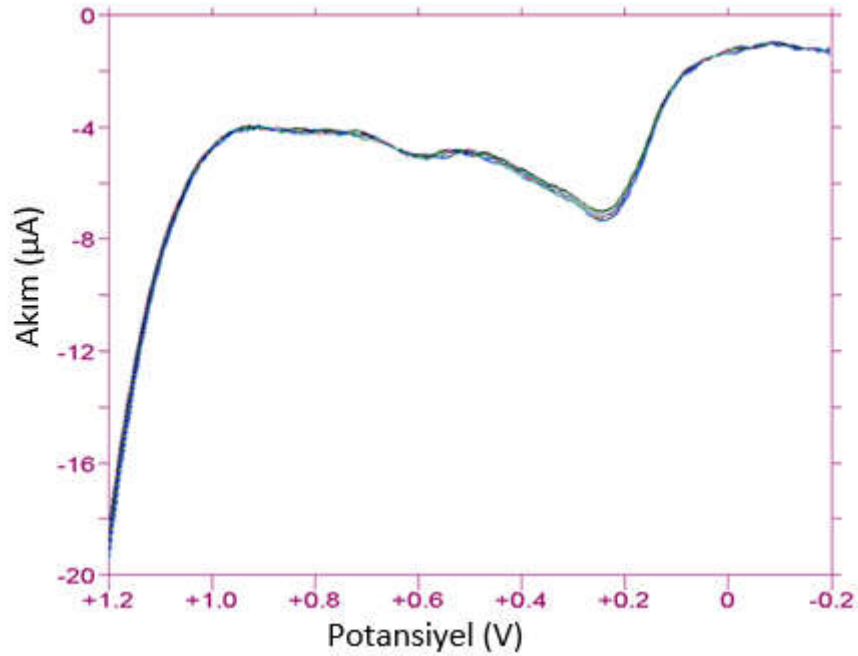
Şekil 4.23. PI kaplı elektrotta interferanslar varlığında gallik asitin artan konsantrasyonları. (GA konsantrasyonu: 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12; 13; 14; 15×10^{-4} M



Şekil 4.24. PI-1 elektrot için GA kalibrasyonu

Bu sonuçlara bağlı olarak Şekil 4.24'de artan kalibrasyon eğrisi verilmiştir. Bu kalibrasyon eğrisi lineer olup $R^2=0.9935$ tir.

4.2.6. Gallik asit seçici elektrotların kararlılığının belirlenmesi



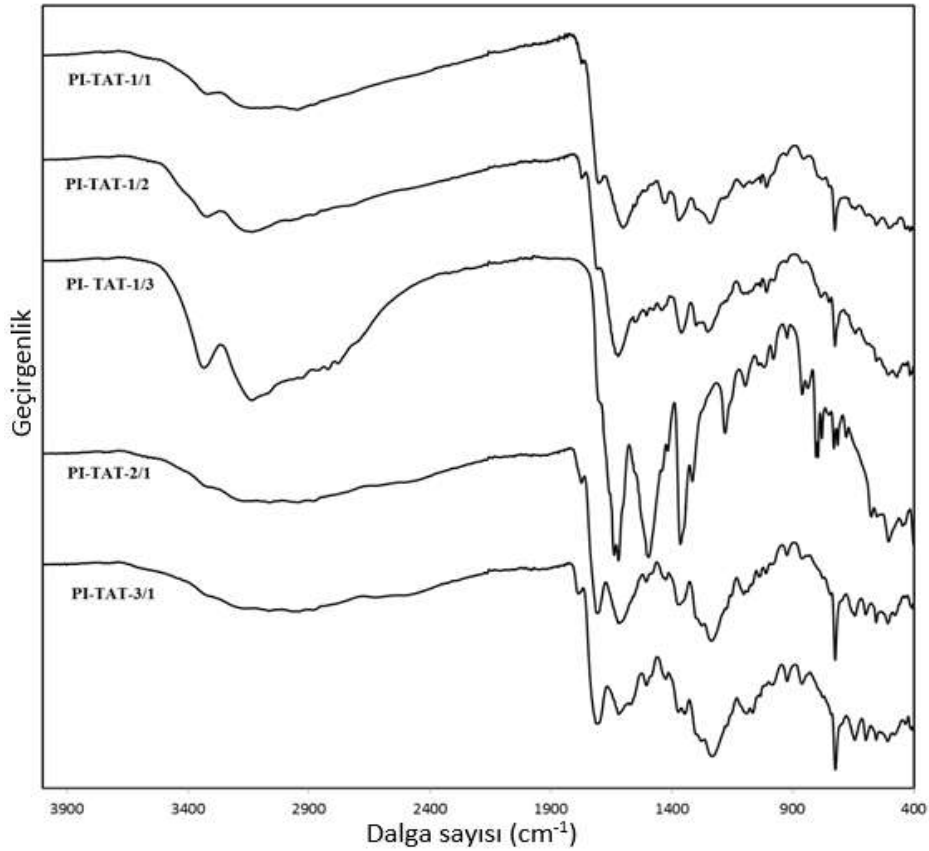
Şekil 4.25. Naftalen temelli PI modifiye elektrodun 1 mM interferanslar ve 2 mM derişiminde GA varlığında elektrokimyasal tekrarlanırlığı (interferanslar: kumarik asit, askorbik asit, gallik asit, laktöz, sukroz, fruktoz, maltoz, glukoz 1 mM).

Şekil 4.25’de naftalen temelli PI kullanılarak hazırlanmış olan elektrokimyasal sensörün duyarlılığının belirlenmesi için gerçekleştirilen ölçümler verilmiştir. Bu ölçümlerde 2 mM’lık GA için ard arda gerçekleştirilen 10 ölçüme ait sonuçlar görülmektedir. 1 mM ‘lık KU, AA, KA, LK, SK, ML, FR ve GL varlığında gerçekleştirilen bu ölçümlerde ardıl duyarlılığın çok yüksek olduğu pik değerinin başlangıca göre % 99 oranında 10 ölçüm sonucunda korunduğu belirlenmiştir.

İlgili elektrotlar için depolama kararlılığı 3 günde 1 ölçüm gerçekleştirmek suretiyle 12 gün devam etmiştir. Ancak 12. günün sonunda pik şiddetinde % 30’a varan yanıt kaybı görülmüş olup 12. günün sonrasında film düşmüştür. İlk iki ölçüm ile pik şiddetindeki değişimin % 91 olarak tespit edilmiştir. Depolama kararlılığı maksimum 6 gün olduğu gözlemlenmiştir.

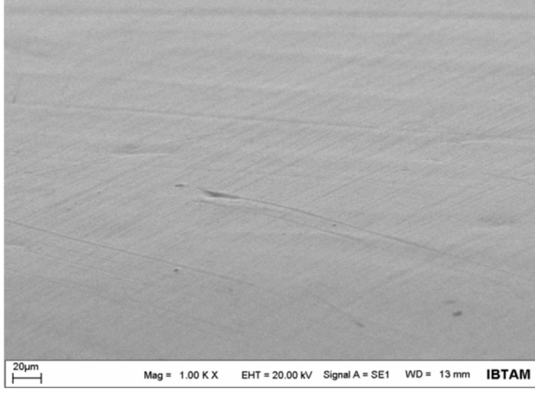
4.3. Katesin Tayini İçin Optimizasyonlar

4.3.1 Katesin tayininde kullanılacak polimer yapısının karakterizasyonu

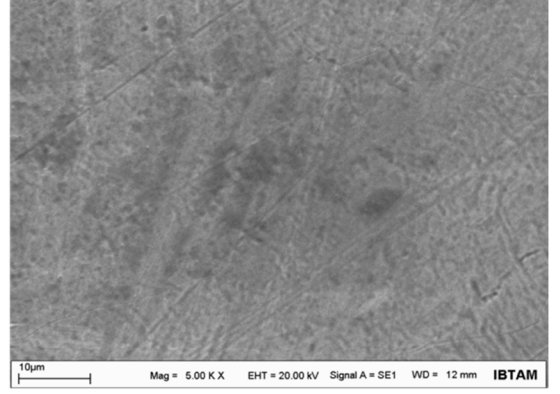


Şekil 4.26. TAT temelli polimerin FT-IR Spektrumları.

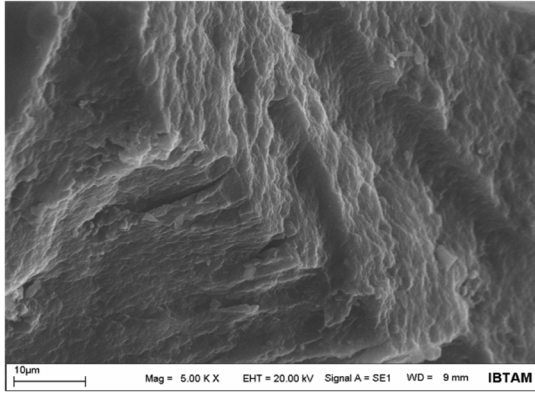
Kateşin tayini için çapraz bağ yoğunluğu yüksek triaminotriazin temelli PI yapıları tercih edilmiştir. Özellikle triaminotriazin (TAT) ve piromellitikdianhidrit (PMDA) oranları değiştirilerek elektrot yüzeyinde elde edilecek olan selektif membranın gözenek boyutu ve dağılımı değiştirilmesi amaçlandırılmıştır. Bu plan dâhilinde TAT: PMDA oranları; 1:1, 1:2, 1:3, 2:1 ve 3:1 olarak çalışılmıştır. Bu oranlar ile kullanılan PI yapılarına ait FT-IR spektrumları Şekil 4.26'da verilmiştir. Bu spektrumlar incelendiğinde tüm PI yapılarında temel imid piklerini açıkça görmekteyiz. Örneğin; 1780 cm^{-1} 'de asimetrik imid gerilme titreşimi ve 1720 cm^{-1} 'de simetrik imid titreşimini görmekteyiz. Bunlara ek olarak 1381 cm^{-1} 'de C-N gerilme titreşimini ve 725 cm^{-1} 'de imid halkası deformasyon pikini görmekteyiz. Ayrıca aromatik halka C-H gerilme titreşimi 825 cm^{-1} 'de görülmektedir. Triazin halkasından kaynaklı olarak 1440 cm^{-1} 'de C-N-C gerilme titreşimleri yapıyı doğrulamaktadır. Bu yapılara ait temel karakterizasyon incelemesine SEM (Figure 4.27) analizleri ile gerçekleştirilmiştir.



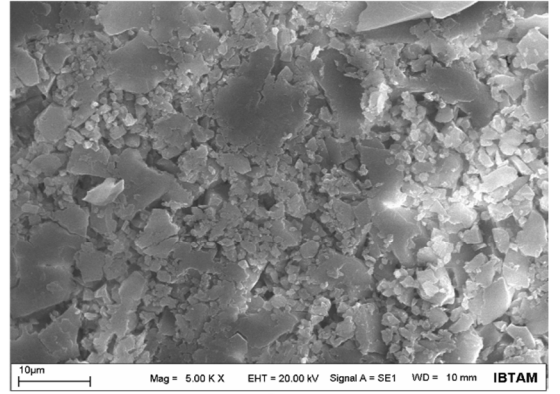
a



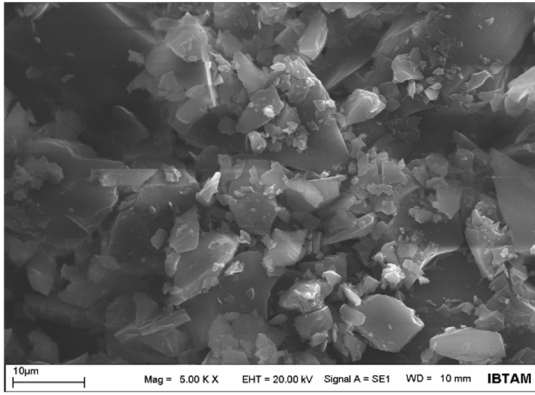
b



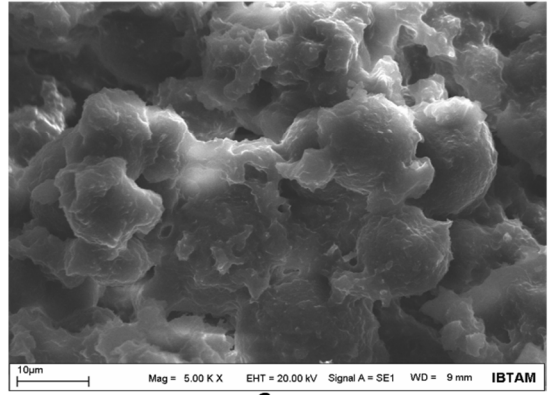
c



d



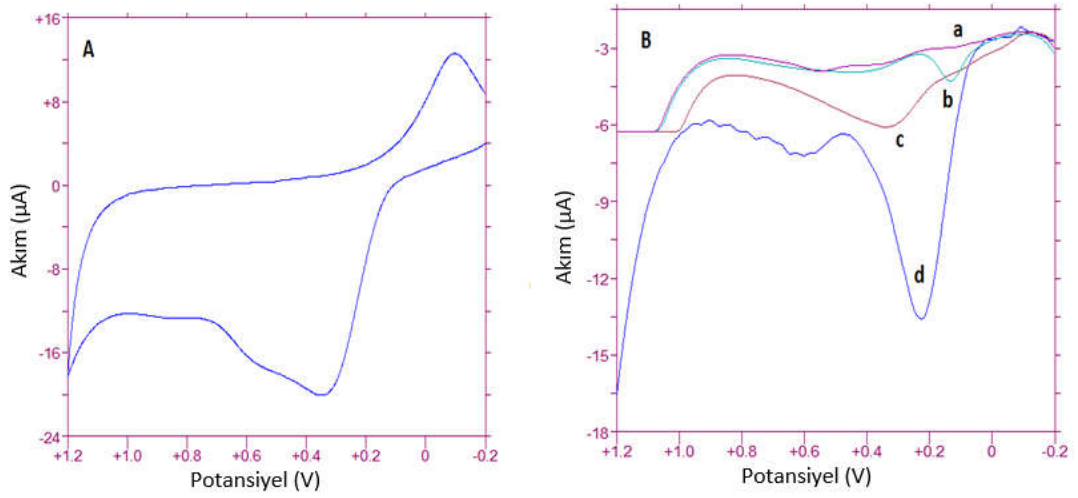
e



f

Şekil 4.27. Çıplak elektrot (a, b) ve TAT temelli polimerin (c, d, e, f) SEM görüntüleri.

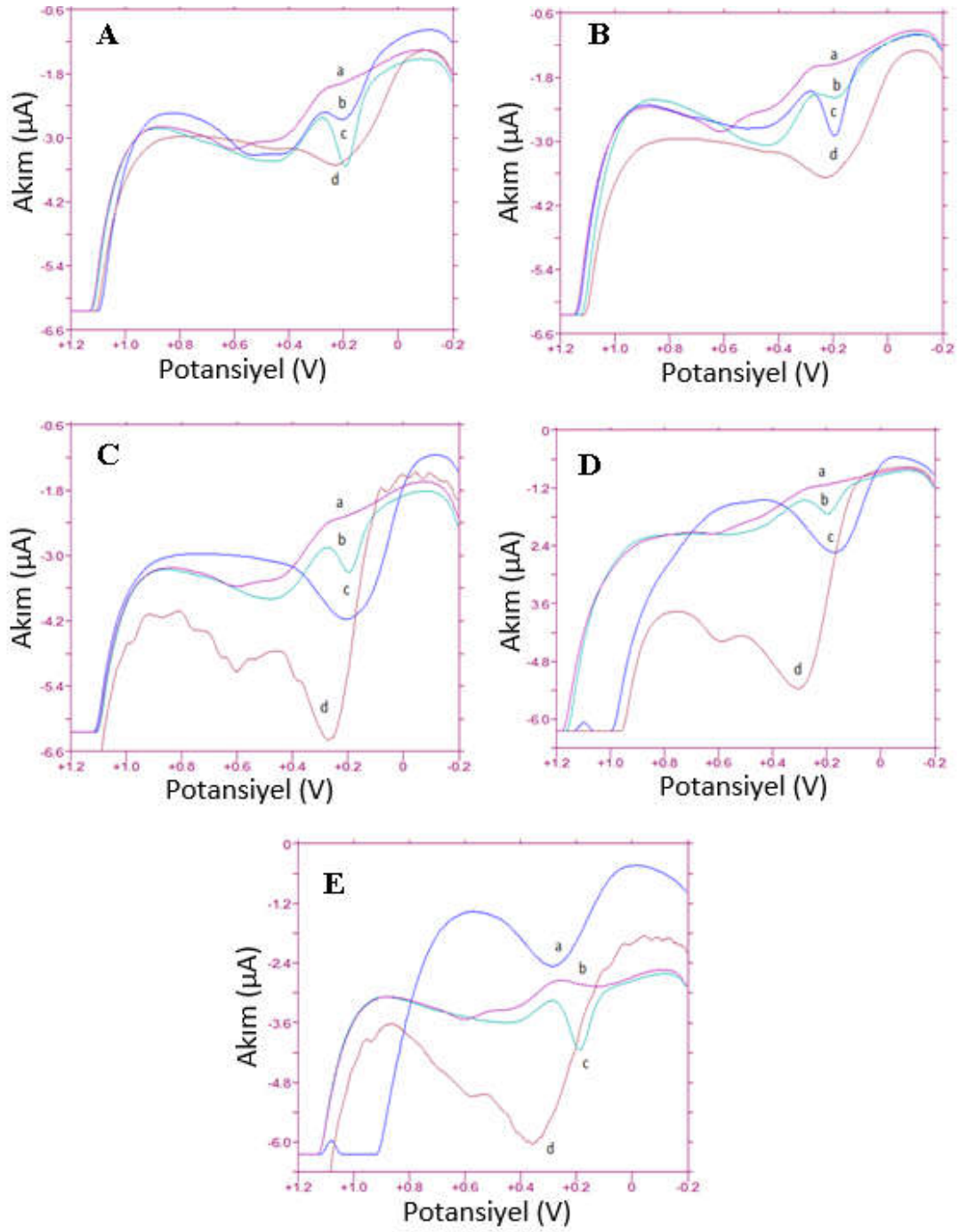
4.3.2. Kateşin pik potansiyelinin belirlenmesi



Şekil 4.28. pH 7.0 PBS içerisinde çıplak elektrotta A) KA CV, B) DPV yanıtları.(a:KU b: KT c:AA d:GA)

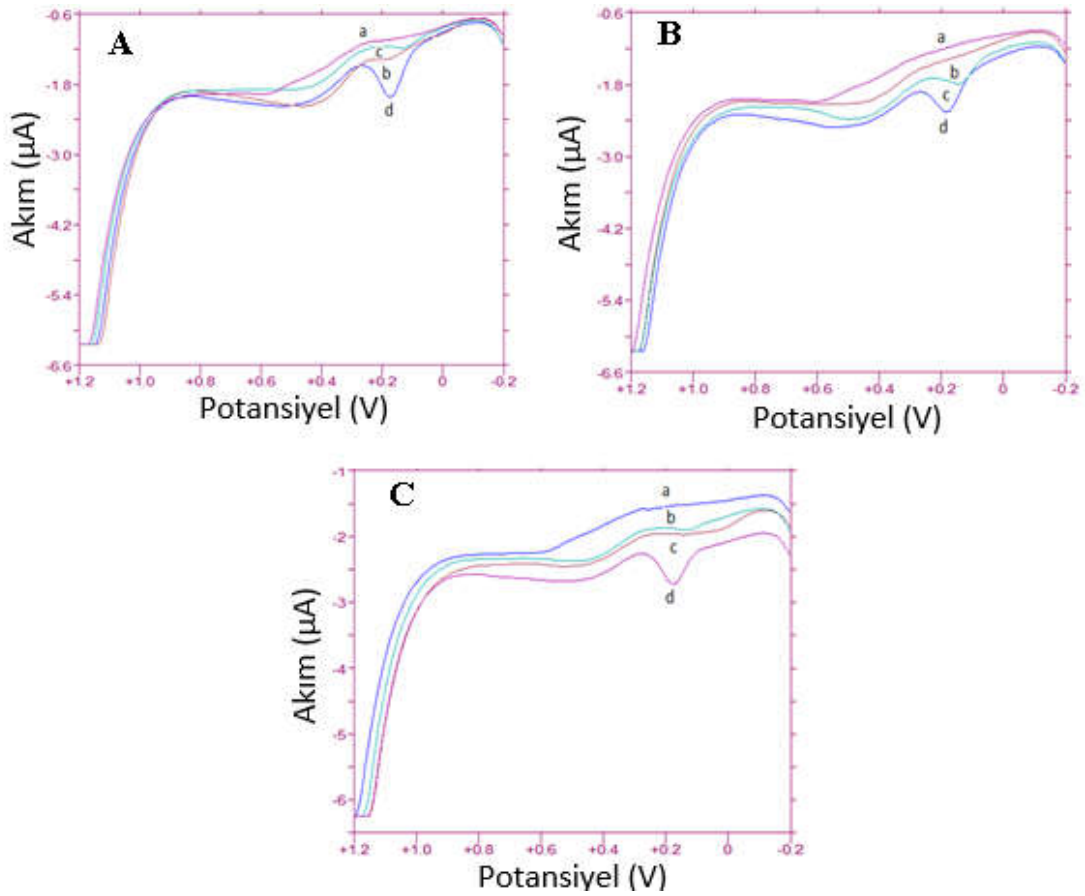
Kateşinin çalışma kapsamında öncelikle kateşin grubuna ait pil potansiyelinin belirlenmesi için 2 mM KT, 2 mM AA, 2 mM GA, 2 mM KU'a ait pikleri Şekil 4.28'de verilmiştir. Bu pikler incelendiğinde çıplak elektrot yapısında tüm piklerin birbirine çakıştığı net olarak görülmektedir. Kateşin için +0.13 V'da net ve belirgin bir pik potansiyeli tespit edilmiştir.

4.3.3. Katesin tayininde kullanılacak polimer türünün belirlenmesi



Şekil 4.29. pH 7.0 PBS içerisinde 2 mM AA (a), 2 mM KU (b), 2 mM GA (c) ve 2 mM KT (d) çözeltileri için TAT temelli elektrotlarla alınan DPV sonuçları. (A; 1/1, B; 1/2, C; 1/3, D; 2/1, E; 3/1).

Kateşin tayininde kullanılacak polimer türünün belirlenmesi için 1 mM AA, 1 mM GA, 1 mM KU ve 1 mM KT için pH 7:0 PBS tamponu içerisinde yanıtlar alınmıştır ve bu yanıtlara ait voltomogramları Şekil 4.29’da verilmiştir. İlgili pik şiddetleri ve interferant yapabilecek türlerin durumu düşünüldüğünde en ideal polimer türü PI-TAT-1/1 yapısı olduğu belirlenmiş olup ileri ki çalışmalarda bu yapı ile devam etme kararı verilmiştir. Özellikle 1/1 polimeri dışındakiler de çok yüksek pik girişimi yapabilecek GA ve AA yanıtları görülmektedir. Bu nedenle 1/1 nolu polimer optimum polimer olarak tercih edilmiştir.

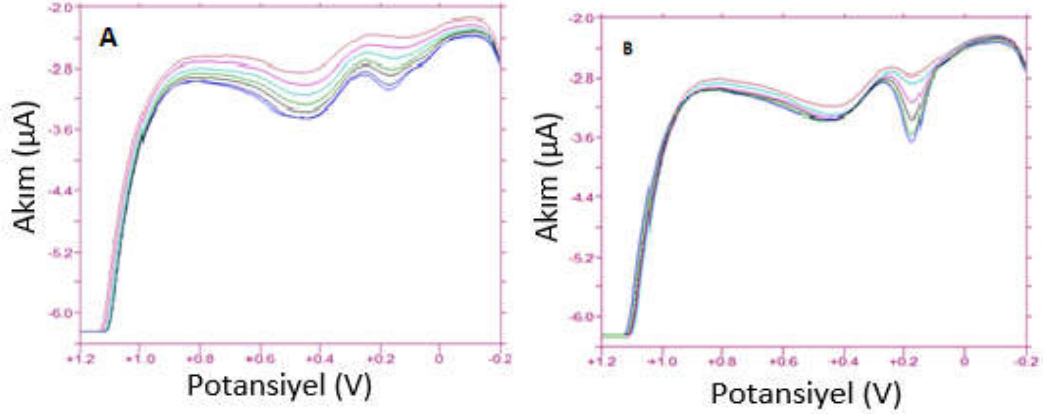


Şekil 4.30. TAT 1:1 elektrodunun film kalınlığının kateşin yanıtlarına etkisi (2 mM AA (a), 2 mM KU (b), 2 mM GA (c) ve 2 mM KT (d) çözeltileri) (A; 0.5 µL, B; 1 µL, C; 2 µL TAT).

TAT-PI-1/1 polimerin film kalınlığının yanıtlar üzerindeki etkisini incelemek için üç farklı film kalınlığı incelenmiştir. Elektrot üzerinde farklı film kalınlıkları elde edebilmek için 0.5 µL, 1 µL, 2 µL polimer solüsyonu damlatılarak elektrot

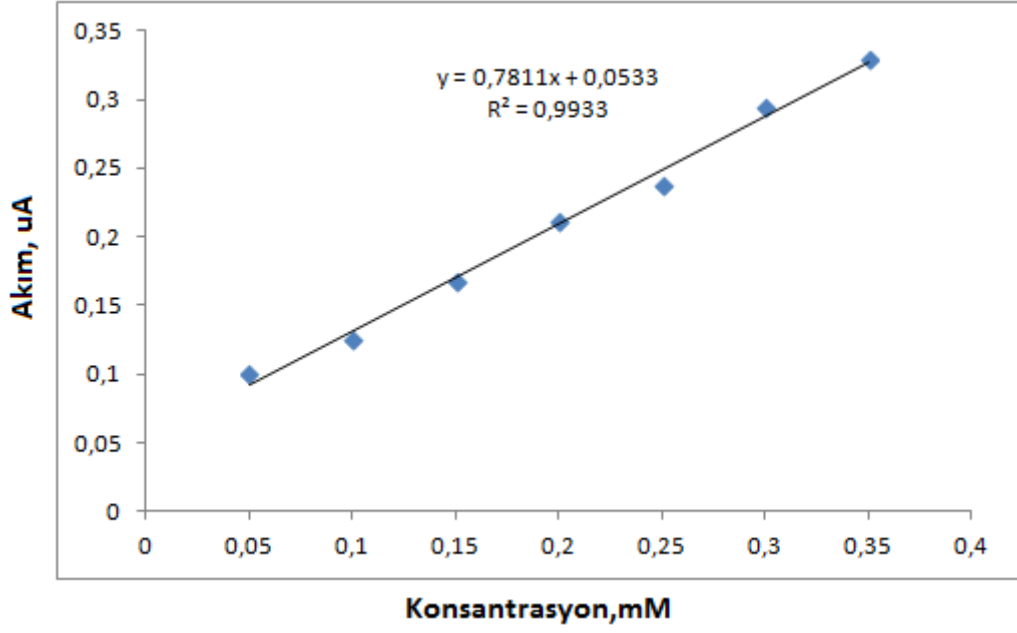
yüzeyinde kurutulmuştur ve ilgili sonuçlar Şekil 4.30’da verilmiştir. Bu sonuçlara göre 2 µL film kalınlığı optimum film kalınlığı olarak tercih edilmiştir.

4.3.4. Amperometrik kateşin tayini



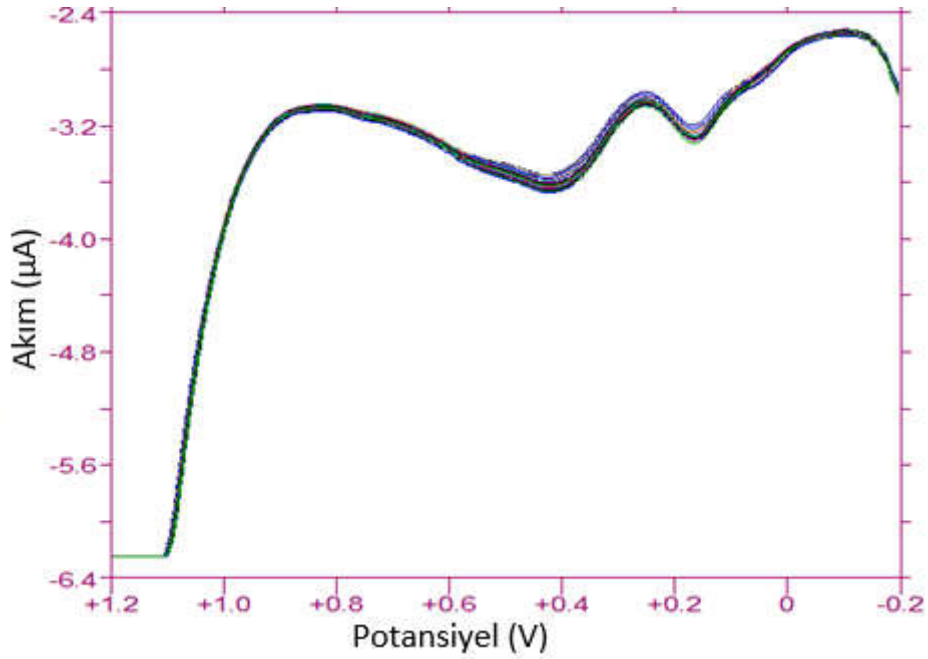
Şekil 4.31. İnterferanslar varlığında kateşinin artan konsantrasyonlarına TAT polimer kaplı elektrodun verdiği DPV yanıtları (kateşin konsantrasyonu: **A**) 0.05 mM, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25, 0.30, 0.35 mM, **B**) 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mM; (interferanslar: KU, AA, GA, LK, SK, FK, ML, GL = 2 mM).

Amprometrik kateşin tayini optimizasyonunu gerçekleştirilmiş olan TAT-PI-1/1 polimerinin 2 µL film kalınlığında hazırlanan elektrot ile düşük (Şekil 4.31 A) ve yüksek (Şekil 4.31 B) konsantrasyonlarda çalışılmıştır. Sensör sonuçlarına ait DPV voltamogramları Şekil 4.31’de verilmiştir. Artan kateşin miktarına bağlı olarak pik şiddetlerinde orantılı olarak büyüdüğü görülmektedir. Düşük konsantrasyondaki DPV yanıtlara ait kalibrasyon eğrisi Şekil 4.32’de verilmiş olup $R^2=0.9933$ olarak tespit edilmiştir.



Şekil.4.32. Kateşine ait kalibrasyon eğrisi.

4.3.5. Kateşin seçici elektrotların kararlılığının belirlenmesi



Şekil 4.33. İnterferanslar varlığında 2 mM kateşin için naftelen modifiye edilmiş elektrodun elektrokimyasal tekrarlılığı (interferanslar: KU, AA, GA, LK, SK, FK, ML, GL = 1mM).

Kateşin tayini için geliştirilmiş olan PI temelli sensörlerin kararlılığı 2 mM KT için 20 ardışık okuma sonucu belirlenmiştir (Şekil 4.33). İlgili sonuçlar incelendiğinde pik tekrarlanabilirliğinin ve pik şiddetinin oldukça benzer olduğu görülmüştür. İlk okuma ile son okuma arasındaki benzer, % 98 kararlı sonuç elde edilmiş olup bu değer ampometrik bir sensör için oldukça uygundur.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasının temel amacı, genel olarak poliimit ve poliüretan polimerleri kullanarak modifiye edilmiş elektrotlar yardımıyla kafeik asit, gallik asit ve kateşin tayini için; basit, ucuz, doğru, kesinliği yüksek ve duyarlı bir elektrokimyasal metot geliştirmektir.

Çalışmanın ilk aşamasında öncelikle yukarıda adı geçen polimerlerin karakterizasyonları SEM, TGA, DSC, FT-IR ile gerçekleştirilmiş ve bu polimerler kullanılarak çalışma elektrodu olarak kullanılacak olan platin elektrotlar kaplanmıştır

Çalışmanın ikinci aşamasında ise çıplak ve polimer kaplı elektrotların DPV yanıtlarının değerlendirilmesiyle kafeik asit, gallik asit ve kateşin analitleri için; voltametrik parametreler ayrıntılı olarak optimize edilmiştir. Bunlardan en önemlisi hem analit hem de interferans derişim sinyalini etkilediği için film kalınlığıdır. Burada kafeik asit, gallik asit ve kateşin için sırasıyla optimum film kalınlığı 6, 2 ve 2 μ L olarak belirlenmiştir.

Bu aşamada yapılan çalışmalar sonucunda kafeik asit, gallik asit ve kateşin için sırasıyla tayin sınırı (LOD), 3s/m; kantitasyon sınırı (LOQ) ise 3LOD formülü kullanılarak ve korelasyon katsayıları (R^2) hesaplanmıştır (Tablo 5.1).

Bu metot ile adı geçen analitler için elde edilen sonuçlar literatürdekilerle [96-98] karşılaştırılmış ve uyumlu olduğu görülmüştür.

Tablo 5.1 Kafeik asit, gallik asit ve kateşin tayini için kullanılan metodun analitik değerlendirmesi

	Gallik Asit	Kafeik Asit	Kateşin
LOD , 3s/m, $N=10$, mM	0.027	0.507	0.023
LOQ , 3LOD, $N=10$, mM	0.081	1.522	0.069
R²	0.9935	0.9938	0.9933
RSD , s/ x_{ort}	0.02	0.15	0.02
Doğrusal Aralık , mM	0.5-16	0.5-16	0.05-5

Çalışmamızda hazırlanmış olan gallik asit, kafeik asit ve kateşin sensörleri hazırlanması kolay, ucuz, kararlı, seçici ve duyarlılıkları oldukça düşüktür. Bu özellikleri dikkate alındığında Daha sonraki çalışmalarda gerçek örneklerde uygulamalarının yapılması önerilebilir ve grubumuzca çalışılması planlanmaktadır.

6. KAYNAKLAR

- [1] Paşahan, A., Köytepe, S., Cengiz, M.A., Seçkin, T. (2013). Preparation and properties of selective polyurethane films and their use for the development of biomedical dopamine sensor. *Polym. Int.* **62**, 246-250.
- [2] Güngör, Ö., Paşahan, A., Cengiz, M.A., Köytepe, S., Seçkin, T. (2013). Fructose-Based Polyurethane Membranes: Synthesis, Characterization, and Their Use as Voltammetric pH Electrode. *International Jurnal of Polimeric Materials and Polimeric Biomaterials*, **62**, 642-647.
- [3] Erdoğan, G., Mark, H.B., Karagözler, A.E (1996). Selective Detection of Dopamine in the Presence of Ascorbic Acid at Poly (m-Aminobenzene Sulfonic Acid). *Analytical Letters*, **29**(2), 221-231.
- [4] Özden, M., Ekinci, E., Karagözler, A.E. (1998). Synthesis, Characterization of a New Organosoluble Polyimide and Its Application in Development of Glucose Biosensor. *J.Solid State Electrochem.* **2**, 427-431.
- [5] Carlo, G.D., Curulli, A., Toro, R.G., Bianchini, C., Caro, T.D., Padeletti, G., Zane, D., Ingo, G.M. (2012). Green synthesis of gold-chitosan nanocomposites for caffeic acid sensing. *Langmuir*. **28**, 5471-5479.
- [6] Han, E., Yang, Y., He, Z., Cai, J., Zhang, X., Dong. (2015). Development of tyrosinase biosensor based on quantumdots/chitosan nanocomposite for detection of phenolic compounds. *Analytical Biochemistry*. **486**, 102-106.
- [7] Zhang, Z., Gu, S., Ding, Y., Shen, M., Jiang, L.(2014). Mild and novel electrochemical preparation of β -cyclodextrin/graphene nanocomposite film for super-sensitive sensing of quercetin. *Biosensor and Bioelectronics*. **57**, 239-244.
- [8] Han, J.T., Huang, K.J., Li, J., Liu, Y.M., Yu, M. (2012). β -cyclodextrin-cobalt ferrite nanocomposite as enhanced sensing platform for catechol determination. *Colloid and Surface B: Biointerfaces*, **1**, 98, 58-62.
- [9] Titretir, S. (2001). *Polimerlerle Modifiye Edilmiş Civa Film Elektrotların Biyolojik ve Çevre Örneklerindeki İz Metallerin Sıyırma Analizi için Kullanımı*. Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi, Malatya.
- [10] Güngör, Ö., Paşahan, A., Cengiz, M. A., Köytepe, S., Seçkin, T. (2015). Fructose-Based Polyurethane Membranes: Synthesis, Characterization, and Their Use as Voltammetric pH Electrode. *Int. J. Polym. Mater. Polym. Biomater.*, **63**, 563-569.
- [11] Paşahan, A., Köytepe, S., Ekinci, E. (2011). Poly[tris((p-aminophenoxy)phosphineoxide)-3,3',4,4'-benzophenonetetracarboxylicdiimide] as a New Polymeric Membrane for the Fabrication of an Amperometric Glucose Sensor. *Int. J. Polym. Mat.*, **60**, 1079-1090.

- [12] Aksoy, B., Köytepe, S., Ateş, B., Seçkin, T. (2016). Biyosensörlerin Hazırlanmasında Poliüretan Membranlar. *Putech & Composites*, **8(30)**, 12-18.
- [13] Leon, A., Advincula, R.C. (2014). Conducting Polymers with Superhydrophobic Effects as Anticorrosion. *Intelligent Coatings for Corrosion Control*, **22**, 409-430
- [14] Köytepe S. (2007). *Hibrit Poliimidlerin Piridin Temelli Monomerlerden Sentezlenmesi ve Özelliklerinin İncelenmesi*. Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi, Malatya.
- [15] Hasegawa, M., Horie, K. (2001). Photophysics, Photochemistry and optical properties of polyimides.; *Progress in Polymer Science*, **26**, 2, 259-335.
- [16] Liaw, D.J., Wang, K.L., Huang, Y.C., Lee, K.R., Lai, J.Y., Ha, C.S. (2012). Advanced polyimiden materials: Syntheses physical properties and applications. *Progress in Polymer Science*, **37**, 7, 907-974.
- [17] Liaw, D.J., Wang, K.L., Huang, Y.C., Lee, K.R., Lai, J.Y., Ha, C.S. (2009). Polyimides membranes for pervaporation and biofuels separation. *Progress in Polymer Science*, **34**, 1135-1160.
- [18] Sheng, W., Chen, Q., Yang, P., Chen, C. (2015). Synthesis, characterization, and enhanced properties of novel graphite-like carbon nitride/polyimide composite films. *High Perform. Polym.*, **27**, 950 .
- [19] Ghosh, M.K., Mittal, K.L. (1996) *Polyimides: fundamentals and applications*. Wiley, New York, 49.
- [20] Ba, C. Y., Economy, J. (2010). Preparation of PMDA/ODA polyimide membrane for use as substrate in a thermally stable composite reverse osmosis membrane. *J. Membr. Sci.*, **363**, 140-148.
- [21] Ekinci, E., Köytepe, S., Pasahan, A., Seckin, T. (2006). Preparation and Characterization of an Aromatic Polyimide and Its Use as a Selective Membrane for H₂O₂. *Turk. J. Chem.*, **30**, 277.
- [22] Darvishmanesh, S., Degreve, J. and Van der Bruggen, B. (2010). Performance of solvent-pretreated polyimide nanofiltration membranes for separation of dissolved dyes from toluene. *Ind. Eng. Chem. Res.*, **49**, 9330-9338.
- [23] Mitta, K. L. (1984). 1, *Polyimides: Synthesis, Characterization and Applications*, Wiley, New York, 2, 1-10.
- [24] Köytepe, S., Pasahan, A., Ekinci, E. and Seçkin, T. (2005). Synthesis, characterization and H₂O₂-sensing properties of pyrimidine-based hyperbranched polyimides. *Europ. Polym. J.*, **41**, 121-127.
- [25] Wilson, D., Stenzenberger, H.D. and Hergenrother. (1990). P. M., *Polyimides*, New York: Blackie, 129.

- [26] Wessa, T., Rapp, M. and Ache, H. J. (1999). New immobilization method for SAW-biosensors: covalent attachment of antibodies via CNBr. *Biosens. Bioelectron.*, **14**, 93-98.
- [27] Lange, K., Rapp, B.E., Rapp, M. (2008). Surface acoustic wave biosensors: a review *Anal. Bioanal. Chem.*, **391**, 1509-1519.
- [28] Wind, J.D., Paul, D.R. and Koros, W.J. (2004). Natural gas permeation in polyimide membranes. *J. Membr. Sci.*, **228**, 227-236.
- [29] Powell CE, Xavier J, Duthie XJ, Kentish SE, Qiao GG, Stevens GW (2007). Reversible diamine cross-linking of polyimide membranes. *Journal of Membrane Science*, **291**, 199–209.
- [30] Chang KS, Tung CC, Wang KS, Tung KL (2009) Free Volume Analysis and Gas Transport Mechanisms of Aromatic Polyimide Membranes: A Molecular Simulation Study. *J. Phys. Chem. B.*, **113**, 9821–9830.
- [31] Briand D, Colin S, Gangadharaiyah A, Velab E, Dubois P, Thiery L, de Rooij NF (2006) Micro-hotplates on polyimide for sensors and actuators. *Sensors and Actuators A*, **132**, 317–324.
- [32] Nather N., Henkel H., Schneider A., Schöning M.J. (2009) Investigation of different catalytic active and passive materials for the realisation of a hydrogen peroxide gas sensor. *Phys. Status Solidi A*. **206**, 449-54.
- [33] Hiroki A., LaVerne J.A. (2005) Decomposition of hydrogen peroxide at water-ceramic oxide interfaces. *J. Phys. Chem. B.* **109**, 3364-70.
- [34] Kim J.H., Hong S.M., Moon B.M., Kim K. (2010) High-performance capacitive humidity sensor with novel electrode and polyimide layer based on MEMS technology, *Microsyst Technol.* **16**, 2017–2021.
- [35] Kim J.S., Lee M.Y., Kang M.S., Yoo K.P., Kwon K.H., Singh V.R., Min N.K. (2010) Fabrication of high-speed polyimide-based humidity sensor using anisotropic and isotropic etching with ICP. *Thin Solid Films, Procedia Engineering.* **5**, 264–267
- [36] Ingram J.M., Grep M., Nicholson J.A., Fountain A.W. (2003) Polymeric humidity sensor based on laser carbonized polyimide substrate. *Sensors and Actuators B*. **96**, 283–289.
- [37] Liu, C. (2007). Recent Developments in Polymer MEMS. *Adv. Mater.*, **19**, 3783-3790.
- [38] Chang, S.P. and Allen, M.G. (2004). Demonstration for integrating capacitive pressure sensors with read-out circuitry on stainless steel substrate. *Sens. Actuat. A. Chem.*, **116**, 195-204.
- [39] Kuoni, A., Holzherr, R., Boillat, M. and De Rooij, N. F. (2003). Polyimide membrane with ZnO piezoelectric thin film pressure transducers as a differential pressure liquid flow sensor. *J. Micromech. Microeng.*, **13**, 103-107.

- [40] Aksoy, B., Pasahan, A., Gungor, O., Koytepe, S., Seckin, T. (2017). A novel electrochemical biosensor based on polyimide-boron nitride composite membranes. *Int. J. Polym. Mater. Polym. Biomater.*, **66**, 203-212.
- [41] Duran, S. T., Paşahan, A., Ayhan, N., Güngör, Ö., Cengiz, M. A., Köytepe, S. (2017). Synthesis, Characterization of Guar-Containing Polyurethane Films and Their Non-Enzymatic Caffeic Acid Sensor Applications. *Polym. Plast. Technol. Eng.*, **56**, 16, 1741–1751.
- [42] Chattopadhyay, D.K., Raju, K.V.S.N. (2007). Structural engineering of polyurethane coatings for high performance applications. *Progress in Polymer Science*, **32**, 352-418.
- [43] Petrovic, Z.S., Ferguson, J. (1991). Polyurethane elastomers. *Prog. Polym. Sci.*, **16**, 695-836.
- [44] Medina-Plazaa, C., García-Cabezónb, C., GarcíaHernándezc, C., Bramorskia, C., Blanco-Valb, Y., Martín-Pedrosab, F., Kawaic, T.; de Sajad, J.A.; Rodríguez-Méndezc, M.L. (2005). Analysis of organic acids and phenols of interest in the wine industry using Langmuir–Blodgett films based on functionalized nanoparticles. *Anal. Chim. Acta*, **853**, 572–578.
- [45] Seeber, R., Terzi, F., Zanardi, C. (2014). Functional materials in amperometric sensing. *Polymeric, Inorganic, and Nanocomposite Materials for Modified Electrodes*, Series: Monographs in Electrochemistry, *Springer: New York, Chapter 1*, 1–21.
- [46] Muthukumar, N., Thilagavathi, G., Kannaian, T. (2015). Polyaniline-coated polyurethane foam for pressure sensor applications. *High Perform. Polym.* **28**, 368–375.
- [47] Brady, S., Diamond, D., Lau, K.T. (2005). Inherently conducting polymer modified polyurethane smart foam for pressure sensing. *Sensor. Actuat. A Phys.* **119**, 398–404.
- [48] Shin, J.H., Marxer, S.M., Schoenfisch, M.H. (2004). Nitric oxide-releasing sol-gel particle/polyurethane glucose biosensors. *Anal. Chem.* **76**, 4543–4549.
- [49] Koh, A., Lu, Y., Schoenfisch, M.H. (2013). Fabrication of nitric oxide-releasing porous polyurethane membranes coated needle-type implantable glucose biosensors. *Anal. Chem.* **85**, 10488–10494.
- [50] Chen, S.G., Hu, J.W., Zhang, M.Q., Rong, M.Z. Effects. (2005). of temperature and vapor pressure on the gas sensing behavior of carbon black filled polyurethane composites. *Sensor. Actuat. B.*, **105**, 187–193.
- [51] Zhao, B., Fu, R.W. Zhang, M.Q., Zhang, B., Zeng, W., Rong, M.Z., Zheng, Q. (2007). Analysis of gas sensing behaviors of carbon black/waterborne polyurethane composites in low concentration organic vapors. *J. Mater. Sci.* **42**, 4575–4580.

- [52] Hu, J.W., Chen, S.G., Zhang, M.Q., Li, M.W., Rong, M. Z. Low. (2004). carbon black filled polyurethane composite as candidate for wide spectrum gas-sensing element. *Mater. Lett.* **58**, 3606–3609.
- [53] Bosch, P., Fernández, A., Salvador, E.F., Corrales, T., Catalina, F., Peinado, C. (2005). Polyurethane-acrylate based films as humidity sensors. *Polymer*, **46**, 12200–12209.
- [54] Peng, H.S., Li, X.H., You, F.T., Teng, F., Huang, S.H. (2013). Sensing water in organic solvent using a polyurethanesilica hybrid membrane doped with a luminescent ruthenium complex. *Microchim. Acta.* **180**, 807–812.
- [55] Hwang, H.Y. (2011). Piezoelectric particle-reinforced polyurethane for tactile sensing robot skin. *Mech. Compos. Mater.* **47**, 137–144.
- [56] Tung, T.T., Robert, C., Castro, M., Feller, J.F., Kim, T.Y., Suh, K.S. (2016). Enhancing the sensitivity of graphene/ polyurethane nanocomposite flexible piezo-resistive pressure sensors with magnetite nano-spacers. *Carbon*, **108**, 450–460.
- [57] Savan, E.K., Paşahan, A., Aksoy, B., Güngör, Ö., Köytepe, S., Seçkin, T. (2016). Preparation and properties of selective polyurethane films and their use for the development of biomedical dopamine sensor. *Int. J. Polym. Mater. Polym. Biomater.* **65**, 402–408.
- [58] Pasahan, A., Koytepe, S., Cengiz, M.A., Seckin, T. (2013). Synthesis and characterization of polyurethanes containing glucose for selective determination of epinephrine in the presence of a high concentration of ascorbic acid. *Polym. Int.* **62**, 246–250.
- [59] Spencer, J.P.E., Mohsen, M.M.A.E., Minihane, A.M., Mathers, J C. (2008). Biomarkes of the intake of dietary polyphenols: strengths, limitations and application in nutrition research. *British Journal of Nutrition*, **99**, 12-22.
- [60] Kondratyuk T.P, Pezzuto J.M. (2004). Natural Product Polyphenols of Relevance to Human Health. *Pharm Biol.* **42**, 46-63.
- [61] Williamson, G., Manach, C. (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* **81**, 243S–255S.
- [62] Clifford, M.N. (2000). Chlorogenic acids and other cinnamates: Nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism. *J. Sci. Food Agric.* **80**, 1033–1043.
- [63] Chung, M.J., Walker, P.A. (2006). Dietary phenolic antioxidants, caffeic acid and Trolox, protect rainbow trout gill cells from nitric oxide-induced apoptosis. *Aquat. Toxicol.* **80**, 321–328.
- [64] Moghaddam, A.B., Ganjali, M.R., Norouzi, P., Niasari, M. (2007). A green method on the electro-organic synthesis of new caffeic acid derivatives: Electrochemical properties and LC–ESI–MS analysis of products. *J. Electroanal. Chem.* **601**, 205–210.

- [65] Gültekin, A., Karanfil, G., Kuş, M., Sönmezoğlu, S., Say, R. (2014). Preparation of MIP-based QCM nanosensor for detection of caffeic acid. *Talanta* **119**, 533–537.
- [66] Bhat, S.H., Azmi, A.S., Hadi, S.M. (2007). Prooxidant DNA breakage induced by caffeic acid in human peripheral lymphocytes: Involvement of endogenous copper and a putative mechanism for anticancer properties. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **218**, 249–255.
- [67] Xiang, X., Shib, J., Huang, F., Zheng, M., Deng, Q. (2015). Quantum dots-based label-free fluorescence sensor for sensitive and non-enzymatic detection of caffeic acid. *Talanta* **141**, 182–187.
- [68] Bailly, F., Cotel, P. (2005). Anti-HIV activities of natural antioxidant caffeic acid derivatives: Towards an antiviral supplementation diet. *Med. Chem.* **12**, 1811–1818.
- [69] Behpour, M., Masoum, S., Meshki, M. (2014). Determination of trace amounts of thymol and caffeic acid in real samples using a graphene oxide nanosheet modified electrode: Application of experimental design in voltammetric studies. *RSC Adv.* **4**, 14270–14280.
- [70] Diaconu, M., Litescu, S.C., Radu, G.L. (2011). Tyrosinase/laccase bienzyme biosensor for amperometric determination of phenolic compounds. *Microchim. Acta* **172**, 177–184.
- [71] Diaconu, M., Litescu, S.C., Radu, G.L. (2010). Laccase MWCNT-chitosan biosensor—A new tool for total polyphenolic content evaluation from in vitro cultivated plants. *Sensor. Actuat. B.* **145**, 800–806.
- [72] Porgalı, E., Büyüktuncel, E. (2012). Determination of phenolic composition and antioxidant capacity of native red wines by high performance liquid chromatography and spectrophotometric methods. *Food Res. Int.* **45**, 145–154.
- [73] Fracassetti, D., Lawrence, N., Tredoux, A.G.J.; Tirelli, A., Nieuwoudt, H.H., Du Toit, W.J. (2011). Quantification of glutathione, catechin and caffeic acid in grape juice and wine by a novel ultra-performance liquid chromatography method. *Food Chem.* **128**, 1136–1142.
- [74] Wang, H., Provan, G.J., Helliwell, K. (2004). Determination of rosmarinic acid and caffeic acid in aromatic herbs by HPLC. *Food Chem.* **87**, 307–311.
- [75] Grayer, R.J., Eckert, M.R., Veitch, N.C., Kite, G.C., Marin, P.D., Kokubun, T., Simmonds, M.S.J., Paton, A.J. (2003). The chemotaxonomic significance of two bioactive caffeic acid esters, nepetoidins A and B, in the Lamiaceae. *Phytochemistry* **64**, 519–528.
- [76] Xing, Y., Peng, H., Zhang, M., Li, X., Zeng, W., Yang, X. (2012). Caffeic acid product from the highly copper-tolerant plant *Elsholtzia splendens* post-phytoremediation: Its extraction, purification, and identification. *J. Zhejiang Univ. Sci. B (Biomed. Biotechnol.)* **13**, 487–493.

- [77] Kahl, M., Golden, T.D. (2014). Electrochemical determination of phenolic acids at a Zn/Al layered double hydroxide film modified glassy carbon electrode. *Electroanalysis*. **26**, 1664–1670.
- [78] Pasahan, A., Koytepe, S, Ekinçi, E., Seckin, T. (2004). Synthesis, characterization and dopamine selectivity of 1,4-bis (3- aminopropyl) piperazine-containing polyimide. *Polym. Bull.* **51**, 351–358.
- [79] Köytepe, S., Paşahan, A., Ekinçi, E., Alıcı, B., Seçkin, T. (2008). Synthesis, characterization of phosphine oxidecontaining polyimides and their use as selective membrane for dopamine. *J. Polym. Res.* **15**, 249–257.
- [80] Bjorklund, A., Dunnett, S.B. (2007). Dopamine neuron systems in the brain: an update *Trends. Neurosci.*, **20**, 194-202.
- [81] Ghaani, M., Nasirizadeh, N., Ardakani, S.A.Y., Mehrjardi, F.Z., Scampicchi, M., Farrish, S. (2016). Development of an electrochemical nanosensor for the determination of gallic acid in food. *Anal. Methods.*, **8**, 1103-1110.
- [82] Connolly, B.S., Lang, A.E. Pharmacological treatment of Parkinson disease: a review. (2014). *Journal of the American Medical Assoc.*, **311**, 1670-1680.
- [83] Wang, H.S., Li, T.H., Jia, W.L., Xu, H.Y. (2006). Highly selective and sensitive determination of dopamine using a Nafion/carbon nanotubes coated poly(3-methylthiophene) modified electrode, *Biosens Bioelectron.*, **22**, 664.
- [84] Kostic, D.A., Mitic, S.S., Mitic, M.N. and Sunaric, S.M. (2012). A Kinetic Spectrophotometric Method for Determination of Gallic Acid in Wines *Oxid. Commun.*, **35**, 153-160.
- [85] Pednekar, P.A., Kulkarni, V. and Raman, B. (2014). High performance liquid chromatographic method development and validation for the simultaneous determination of gallic acid and beta sitosterol in *Ampelocissus latifolia* (Roxb). *Planch Asian J. Pharm. Clin. Res.*, **2**, 86-89.
- [86] Adamski, J., Kochana, J., Nowak, P., Parczewski, A. (2016). On the Electrochemical Biosensing of Phenolic Compounds in Wines. *J. Food. Compos. Anal.*, **46**, 1-6.
- [87] Gu, W., Wang, M., Mao, X., Wang, Y., Li, L. and Xia, W. (2015). A facile sensitive l-tyrosine electrochemical sensor based on a coupled CuO/Cu₂O nanoparticles and multi-walled carbon nanotubes nanocomposite film. *Anal. Methods.*, **7**, 1313-1320.
- [88] Lin, L., Lian, H. T., Sun, X. Y., Yu, Y. M., Liu, B. (2015). An L-dopa electrochemical sensor based on a graphene doped molecularly imprinted chitosan film *Anal. Methods.*, **7**, 1387-1394.
- [89] Tan, X., Wu, J., Hu, Q., Li, X., Li, P., Yu, H., Li, X. and Lei, F. (2015). An electrochemical sensor for the determination of phoxim based on a graphene modified electrode and molecularly imprinted polymer. *Anal. Methods.*, **7**, 4786-4792.

- [90] Wang, C. Y., Wang, Z. X., Zhu, A. P. and Hu, X.Y. (2006). Voltammetric Determination of Dopamine in Human Serum with Amphiphilic Chitosan Modified Glassy Carbon Electrode *Sensors*, **6**, 1523-1536.
- [91] Zanzwar, A.A., Badole, S.L., Shende, P.S., Hegde, M.V., Bodhankar, S.L. (2014). Antioxidant Role of Catechin in Health and Disease, *Polyphenols in Human Health and Disease*, **1**, 267–271.
- [92] Leelayuwat, N. (2017). Update of Nutritional Antioxidants and Antinociceptives on Improving Exercise-Induced Muscle Soreness, Physical Activity and the Aging, *Brain Effects of Exercise on Neurological Function*, **19**, 199–208.
- [93] Higdon, J.V., Frei, B. (2003). Tea catechins and polyphenols: health effects, metabolism, and antioxidant functions, *Crit Rev Food Sci Nutr.* **43**(1), 89-143.
- [94] Salimi, A., Miranzadeh, L., Hallaj, R. (2008). Amperometric and voltammetric detection of hydrazine using glassy carbon electrodes modified with carbon nanotubes and catechol derivatives, *Talanta*, **75**(1), 147-156.
- [95] Rahman, M.A., Noh, H.B. and Shim, Y.B. (2008). Direct Electrochemistry of Laccase Immobilized on Au Nanoparticles Encapsulated-Dendrimer Bonded Conducting Polymer: Application for a Catechin Sensor, *Anal. Chem.* **80**, 21, 8020-8027.
- [96] Büyüktuncel, E., Porgalı E., Özkara, S. (2018). Catechin-Molecularly Imprinted Cryogel for Determination of Catechin in Red Wines by HPLC–DAD–Fluorescence Detector, *Acta Chromatographica*, **301**, 54–61.
- [97] Su, Y.L., Cheng S.H. (2015). Sensitive and selective determination of gallic acid in green tea samples based on an electrochemical platform of poly(melamine) film *Analytica Chimica Acta*, **901** 41-50.
- [98] Wang, L.H., Hsu, K.Y., Hsu, F.L. and Lin, S.J. (2008)., Simultaneous Determination of Caffeic Acid, Ferulic Acid and Isoferulic Acid in Rabbit Plasma by High Performance Liquid Chromatography, *Journal of Food and Drug Analysis*, **16**, 1, 34-40.

ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad: Nurcan AYHAN

Doğum Yeri ve Tarihi: MALATYA/ 12/11/1987

Adres: Zafer Mah. Sadrazam Sok. Cemil Kılınç Apt. No:20/7

E-Posta: Nurcan1658@hotmail.com

EĞİTİM BİLGİLERİ

Lise: 20 Mayıs Vakfı Turgut Özal Lisesi (2002 – 2005)

Lisans: İnönü Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü (2010 – 2013)

Yüksek Lisans: İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı (2015 – Devam ediyor)

TEZDEN TÜRETİLEN YAYINLAR/SUNUMLAR

- [1] Serap Titretir Duran, Aziz Paşahan, **Nurcan AYHAN**, Öznur Güngör, Mahmut Alper Cengiz, Süleyman Köytepe, Synthesis, Characterization of Guar-Containing Polyurethane Films and their Non-enzymatic Caffeic Acid Sensor Applications, *Polymer-Plastics Technology And Engineering*, 2017, Vol. 56, No. 16, 1741–1751.
- [2] Aziz PAŞAHAN, **Nurcan AYHAN**, İmren ÖZCAN, Serap TİTRETİR DURAN, Süleyman KÖYTEPE, Development of sensors based on polyimide film coated electrode for determination of gallic acid, *Turkish Journal of Chemistry* dergisine gönderildi.
- [3] Serap Titretir Duran, **Nurcan AYHAN**, Öznur Güngör, Süleyman Köytepe, Guar İçeren Poliüretan Filmlerin Sentezi, Karakterizasyonu ve Onun Enzimatik Olmayan Sensör Uygulamaları, *Sanko University Innovation in Medicine Summit-2*, May 5-7, 2016 Gaziantep, Turkey.
- [4] Süleyman KÖYTEPE, **Nurcan AYHAN**, Serap TİTRETİR, Aziz PAŞAHAN, Determination of Catechin Using A Polyimide Based Amperometric Biosensor, *SANKO University Innovation in Medicine Summit-3*, 11-13 May 2017, Gaziantep, Turkey.
- [5] Aziz PAŞAHAN, **Nurcan AYHAN**, İmren ÖZCAN, Serap TİTRETİR, Süleyman KÖYTEPE, A Sensitive Electrochemical Biosensor for Determination of Gallic Acid Based on Polyimide modified Electrode, *Biosensors 2016 3rd International Congress on Biosensors*, 5-7 October 2016 Ankara, Turkey.