

**POLİPİROL TEMELLİ SENSÖR  
VE  
POTANSİYOMETRİK DEDEKTÖR  
TASARIMI VE UYGULAMALARI**

Betül USTA  
Doktora Tezi

Kimya Anabilim Dalı  
Aralık - 2011

## ÖZET

**Doktora Tezi**

### **POLİPİROL TEMELLİ SENSÖR VE POTANSİYOMETRİK DEDEKTÖR TASARIMI VE UYGULAMALARI**

**BETÜL USTA**

**Anadolu Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Kimya Anabilim Dalı**

**Danışman: Prof. Dr. Yücel ŞAHİN  
2011, 112 sayfa**

Bu çalışmada, polipirolün bazı biyolojik türlerin tayininde sensör ve potansiyometrik dedektör olarak kullanımı araştırılmıştır. Çalışmanın ilk aşamasını polipirolün askorbik asit tayininde potansiyometrik dedektör olarak kullanımı oluşturmaktadır. Elektropolimerizasyonla hazırlanan polipirol filmi iyon kromatografisi sisteminde potansiyometrik dedektör olarak kullanılmıştır. Askorbik asitin polipirol elektrot kullanılarak yapılan tayininde elektrot performansını ve kromatografik koşulları etkileyen bazı parametreler optimize edilmiştir. Elde edilen veriler polipirolün askorbik asit tayininde kullanılacak yüksek seçicilikte ve hassasiyete sahip bir dedektör malzemesi olduğunu göstermiştir. Sonraki aşamada bazı ilaç örneklerinde askorbik asit tayini yapılmıştır. Çalışmanın ikinci aşamasında, aşırı yükseltgenmiş nanofiber yapılı polipirol elektrotların parasetamol tayininde sensör olarak kullanımı araştırılmıştır. Elektrotların parasetamole karşı performansları diferansiyel puls voltametri yöntemiyle belirlenmiş ve bazı ilaç örneklerinde parasetamol tayini yapılmıştır. Tez çalışmasının son aşamasında, elektrokimyasal ön işlem uygulanan nanofiber yapılı polipirol elektrotlar dopamin tayininde kullanılmıştır. Elektrotların dopamine karşı performansları dopamin tayininde girişime neden olan askorbik asit ve ürik asit varlığında incelenmiştir. Bu moleküllerin varlığında elektrotların dopamine karşı yüksek seçicilik ve hassasiyet gösterdiği gözlemlenmiştir. Bu elektrotlarla kan serumunda ve bazı ilaç örneklerinde dopamin tayini yapılmıştır. Elde edilen veriler elektrokimyasal ön işlem uygulanmış nanofiber polipirolün dopamin tayininde sensör olarak kullanılabilceğini göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Polipirol, Potansiyometrik dedektör, Sensör, Askorbik asit, Parasetamol, Dopamin

## ABSTRACT

Ph. D. Dissertaion

### DESIGNING AND APPLICATIONS OF POLYPYRROLE BASED SENSOR AND POTENTIOMETRIC DETECTOR

BETÜL USTA

Anadolu University  
Graduate School of Sciences  
Chemistry Program

Supervisor: Prof. Dr. Yücel ŞAHİN  
2011, 112 pages

In this study, usage of polypyrrole as a sensor and potentiometric detector for the determination of biological species. The usage of polypyrrole as a potentiometric detector for determination of ascorbic acid is the first part of this study. Polypyrrole film prepared by electrochemical polymerization was used as a potentiometric detector in ion chromatography system. In the determination of ascorbic acid by using polypyrrole electrode, several parameters that effects the performance of electrode and chromatographic conditions were optimized. The results show that polypyrrole is a detector material that exhibits high selectivity and sensitivty towards ascorbic acid. Then, polypyrrole electrode was applied to determination of ascorbic acid in various pharmaceutical samples. In the second part of the study, the usage of overoxidized nanofiber structured polypyrrole electrode as a sensor for determination of paracetamol was investigated. The electrochemical performances of electrodes towards paracetamol were investigated with differential pulse voltammetry method and paracetamol was determined in various pharmaceutical samples. In the last part of the study, electrochemically treated nanofiber structured polypyrrole electrode were used for dopamine determination. The electrochemical performances of electrodes towards dopamine were investigated in the presence of ascorbic acid and uric acid that have interference effect in dopamine determination. In the presence of this molecules, electrodes exhibited high selectivity and sensitivity towards dopamine. Polypyrrole electrodes were applied to determination of dopamine in blood serum and various pharmaceutical samples. The results show that electrochemically treated nanofiber polypyrrole can be used as a sensor in the determination of dopamine.

**Key Words:** Polypyrrole, Potentiometric detector, Sensor, Ascorbic Acid, Paracetamol, Dopamine

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince bilgisiyle beni yönlendiren, değerli vakitlerini benimle paylaşan, hoşgörü ve anlayışını esirgemeyen Danışman Hocam Sayın Prof. Dr. Yücel ŞAHİN'e,

Çalışmalarım boyunca bölümümüz imkanlarından yararlanmamı sağlayan Kimya Bölüm Başkanlığı'na,

Bilgi, deneyim ve emeklerini benden esirgemeyen değerli hocam Sayın Yard. Doç. Dr. Mutlu ŞAHİN'e,

Değerli görüşleri ile Tez İzleme Komitemde yer alan Sayın Prof. Dr. Ender SUVACI'ya,

Desteğini ve değerli önerilerini eksik etmeyen, Tez İzleme Komitemde yer alan Sayın Yard. Doç. Dr. Ayça ATILIR ÖZCAN'a,

Deneysel çalışmalarım süresince yardımlarından ve HPLC analizlerinden dolayı değerli Hocam Yard. Doç. Dr. Levent ÖZCAN ve değerli arkadaşım Araş. Gör. Dr. Ali ÖZCAN'a,

Manevi desteğinden dolayı Araş. Gör. Elif Mine ÖNCÜ KAYA'ya ve hoşgörü ve anlayışlarından dolayı laboratuvar çalışma arkadaşlarıma,

Beni yetiştiren aileme, bu çalışma süresince gösterdiği sabır, anlayış ve yardımları için eşim Araş. Gör. Dr. İlhan USTA'ya ve ailemizin yeni üyesi Defne USTA'ya teşekkür ederim.

Betül USTA

Aralık-2011

# İÇİNDEKİLER

|  | <u>Sayfa</u> |
|--|--------------|
| <b>ÖZET</b> .....                                    | <b>i</b>     |
| <b>ABSTRACT</b> .....                                | <b>ii</b>    |
| <b>TEŞEKKÜR</b> .....                                | <b>iii</b>   |
| <b>İÇİNDEKİLER</b> .....                             | <b>iv</b>    |
| <b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....                         | <b>viii</b>  |
| <b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....                       | <b>xi</b>    |
| <b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....          | <b>xii</b>   |
| <br>   |              |
| <b>1. GİRİŞ</b> .....                                | <b>1</b>     |
| 1.1. Biyosensörler .....                             | 3            |
| 1.2. Biyosensör Bileşenleri .....                    | 4            |
| 1.2.1. Tanıma birimi .....                           | 4            |
| 1.2.2. Dönüştürücüler .....                          | 4            |
| 1.2.2.1. Elektrokimyasal dönüştürücüler .....        | 5            |
| 1.2.2.2. Optik dönüştürücüler .....                  | 5            |
| 1.2.2.3. Piezoelektrik cihazlar .....                | 6            |
| 1.2.2.4. Termal dönüştürücüler .....                 | 6            |
| 1.3. İdeal Bir Biyosensörün Özellikleri .....        | 6            |
| 1.3.1. Seçicilik .....                               | 6            |
| 1.3.2. Hassasiyet .....                              | 6            |
| 1.3.3. Kalibrasyon gereksinimi .....                 | 7            |
| 1.3.4. Doğrusallık .....                             | 8            |
| 1.3.5. Tayin sınırı .....                            | 8            |
| 1.3.6. Tekrarlanabilirlik .....                      | 9            |
| 1.3.7. Cevap verme süresi .....                      | 9            |
| 1.3.8. Kullanım ömrü .....                           | 9            |
| 1.4. Biyosensörlerin Uygulama Alanları .....         | 10           |
| 1.5. İletken polimerler .....                        | 11           |
| 1.5.1. İletken polimerlerde iletkenlik teorisi ..... | 14           |

|  |    |
|--|----|
| 1.5.2. İletken polimerlerin elektrokimyasal sentezi .....            | 16 |
| 1.5.3. İletken polimerlerin katkılama işlemi ve katkı maddeleri....  | 18 |
| 1.5.4. İletken polimerlerin kromatografik uygulamaları .....         | 21 |
| 1.5.5. İletken polimerlerin biyosensör uygulamaları .....            | 23 |
| 1.6. Polipirol .....   | 24 |
| 1.6.1. Polipirolün kimyasal ve elektrokimyasal sentezi .....         | 24 |
| 1.6.2. Aşırı yükseltgenmiş polipirol .....                           | 27 |
| 1.7. Askorbik Asit .....   | 29 |
| 1.7.1. İletken polimer modifiye elektrotlar ile askorbik asit tayini | 30 |
| 1.8. Parasetamol .....   | 31 |
| 1.8.1. Parasetamolün elektroanalitik yöntemlerle tayini .....        | 32 |
| 1.9. Dopamin .....   | 33 |
| 1.9.1. Dopaminin elektrokimyasal tayini .....                        | 33 |
| 1.10. İyon Kromatografisi .....                                      | 34 |
| 1.10.1. İyon değişim mekanizması .....                               | 37 |
| 1.10.2. Sabit faz ve hareketli faz .....                             | 38 |
| 1.10.3. Suppresor .....  | 39 |
| 1.10.4. İyon kromatografisi dedektörleri .....                       | 40 |
| 1.10.4.1. İletkenlik dedektörleri .....                              | 40 |
| 1.10.4.2. UV- görünür bölge dedektörleri .....                       | 41 |
| 1.10.4.3. Optik dedektörler .....                                    | 41 |
| 1.10.4.4. Potansiyometrik dedektörler .....                          | 42 |
| 1.10.4.5. Amperometrik dedektörler .....                             | 42 |
| 1.10.4.6. Kırılma indisi dedektörleri .....                          | 43 |
| 1.10.4.7. Bazı özel dedektörler .....                                | 43 |
| 1.11. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) .....           | 44 |
| 1.12. Taramalı Elektron Mikroskobu .....                             | 45 |
| 1.13. Atomik Kuvvet Mikroskobu .....                                 | 46 |
| 1.14. Voltametrik Yöntemler .....                                    | 47 |
| 1.14.1. Doğrusal-taramalı voltametri ve dönüşümlü voltametri ....    | 48 |
| 1.14.2. Puls voltametri yöntemleri .....                             | 51 |

|  |    |
|--|----|
| 1.14.2.1. Normal puls voltametri .....       | 51 |
| 1.14.2.2. Diferansiyel puls voltametri ..... | 52 |

## **2. MATERYAL VE YÖNTEM 54**

|  |    |
|--|----|
| 2.1. Materyal.....   | 54 |
| 2.1.1. Kullanılan kimyasallar ve elektrotlar .....   | 54 |
| 2.1.2. Kullanılan cihazlar .....   | 54 |
| 2.2. Yöntem .....  | 55 |
| 2.2.1. Polipirol elektrotların hazırlanması.....   | 55 |
| 2.2.1.1. İyon kromatografisi ölçümleri .....   | 56 |
| 2.2.1.2. Askorbik asit içeren ilaç örneklerinin hazırlanması. 56   |    |
| 2.2.2. Aşırı yükseltgenmiş nanofiber polipirol elektrotların hazırlanması .....                            | 56 |
| 2.2.2.1. Elektroanalitik ve kromatografik ölçümler .....   | 57 |
| 2.2.2.2. Parasetamol içeren ilaç örneklerinin hazırlanması... 58   |    |
| 2.2.3. Elektrokimyasal ön işlem uygulanan nanofiber polipirol elektrotların (KUE/EPPyNF) hazırlanması..... | 58 |
| 2.2.3.1. Elektroanalitik ölçümler.....   | 59 |
| 2.2.3.2. Dopamin içeren ilaç örneklerinin hazırlanması .....   | 59 |

## **3. BULGULAR VE TARTIŞMA 60**

|   |    |
|---|----|
| 3.1. Polipirol Potansiyometrik Dedektörü ile Askorbik Asit Tayini.....        | 60 |
| 3.1.1. Pirolün elektrokimyasal polimerizasyonu.....                           | 60 |
| 3.1.2. Polipirol elektrodun yüzey morfolojisi .....                           | 61 |
| 3.1.3. Elektropolimerizasyon koşullarının askorbik asit tayinine etkisi ..... | 62 |
| 3.1.4. Kromatografik koşulların askorbik asit tayinine etkisi .....           | 64 |
| 3.1.5. Askorbik asitin kromatografik davranışı.....                           | 65 |
| 3.1.6. Gerçek örneklerle yapılan tayinler .....                               | 67 |
| 3.2. Aşırı Yükseltgenmiş Nanofiber Polipirol ile Parasetamol Tayini 68        |    |
| 3.2.1. Polipirol elektrotların yüzey morfolojisi.....                         | 68 |
| 3.2.2. Polipirol elektrotların performanslarının karşılaştırılması... 69      |    |

|  |            |
|--|------------|
| 3.2.3. Parasetamol cevabı üzerine pH etkisi .....  | 71         |
| 3.2.4. Aşırı yükseltgenmiş nanofiber polipirol elektrodun<br>parasetamole karşı etkinliğinin incelenmesi ..... | 72         |
| 3.2.5. Girişim yapan türlerin etkisi .....   | 73         |
| 3.2.6. Gerçek örnek analizleri .....   | 76         |
| 3.2.7. KUE/AYPPyNF elektrodun yeniden üretilebilirliği<br>ve kararlılığı .....                                 | 77         |
| 3.3. Elektrokimyasal Ön İşlem Uygulanan Nanofiber Polipirol<br>(KUE/EPPyNF) ile Dopamin Tayini .....           | 78         |
| 3.3.1. KUE/EPPyNF elektrotların dopamine karşı cevabı.....   | 78         |
| 3.3.2. KUE/EPPyNF elektrotların hazırlanmasında<br>uygulanacak gerilim aralığının belirlenmesi .....           | 81         |
| 3.3.3. KUE/EPPyNF elektrotların hazırlanmasında<br>uygulanacak döngü sayısının belirlenmesi .....              | 83         |
| 3.3.4. Dopamin tayininde pH etkisi .....   | 84         |
| 3.3.5. Adsorbsiyon süresinin belirlenmesi .....  | 85         |
| 3.3.6. KUE/EPPyNF elektrotların dopamine karşı etkinliğinin<br>incelenmesi.....                                | 86         |
| 3.3.7. Girişim yapan türlerin etkisi .....   | 88         |
| 3.3.8. Gerçek örneklerde dopamin tayini .....  | 91         |
| 3.3.9. KUE/EPPyNF elektrodun yeniden üretilebilirliği<br>ve kararlılığı .....                                  | 94         |
| <b>4. SONUÇLAR</b>   | <b>95</b>  |
| <b>5. GENEL DEĞERLENDİRME VE ÖNERİLER</b>  | <b>101</b> |
| <b>KAYNAKLAR</b>   | <b>104</b> |



## ŞEKİLLER DİZİNİ

|   |    |
|---|----|
| 1.1. Biyosensörlerin şematik gösterimi .....  | 3  |
| 1.2. Bir biyosensör için kalibrasyon eğrisi, eğride doğrusal bir cevap aralığı (o), tayin sınırının altındaki derişimlerde ve daha yüksek derişimlerde doğrusal olmayan davranış (●) görülmektedir .....                          | 7  |
| 1.3. Bazı iletken polimerlerin kimyasal yapıları .....  | 12 |
| 1.4. İletken polimerlerin iletkenliklerinin metal, yarı iletken ve yalıtkanlarla karşılaştırılması. PA: poliasetilen, PE: polietilen, PS: polistiren, PPP: poliparafenilen, PT: politiyofen, PANI polianilin PPy: polipirol ..... | 14 |
| 1.5. Konjugasyon hatalarının poliasetilen üzerinde gösterimi .....  | 16 |
| 1.6. Pirolün elektrokimyasal polimerizasyonu için önerilen reaksiyon mekanizması .....  | 25 |
| 1.7. Nötral (katkılanmamış) polipirol yapısı .....  | 26 |
| 1.8. Polipirolün yükseltgenmiş yapısı (bipolaron) .....   | 26 |
| 1.9. Polipirolün yükseltgenme- indirgenme mekanizması .....   | 27 |
| 1.10. Polipirolün aşırı yükseltgenme reaksiyonu .....   | 28 |
| 1.11. İyon kromatografisi cihazının ana bileşenleri .....   | 36 |
| 1.12. Suppressor ile elüsyon .....  | 40 |
| 1.13. Doğrusal taramalı voltametrizde (a) gerilim taramasının zamanla değişimi (b) elde edilen voltamogram .....  | 49 |
| 1.14. Dönüşümlü voltametrizde (a) gerilim taramasının zamanla değişimi (b) elde edilen voltamogram .....  | 50 |
| 1.15. Normal puls voltametrisinde (a) uyarma sinyali ve (b) elde edilen voltamogram .....   | 51 |
| 1.16. Diferansiyel puls voltametrisinde (a) uyarma sinyali ve (b) elde edilen voltamogram .....   | 52 |
| 2.1. KUE/AYPPyNF elektrodun hazırlanması .....  | 57 |
| 3.1. Pt elektrot ile 0,025 M pirol içeren çözeltide pirolün elektrokimyasal polimerizasyonu (V=100 mV/s, Ref elektrot Ag/AgCl .....   | 60 |

|   |    |
|---|----|
| 3.2. PPy filminin (a) PPy/çözelti ve (b) PPy/Pt arayüzeylerinin SEM görüntüleri .....   | 61 |
| 3.3. Polipirol filminin AFM görüntüsü .....   | 62 |
| 3.4. Potansiyometrik dedektörlü iyon kromatografisi sisteminin şematik gösterimi .....  | 63 |
| 3.5. PPy potansiyometrik dedektörlü iyon kromatografisinde askorbik asite ait (1mM) kromatogram.....  | 65 |
| 3.6. Askorbik asite ait kalibrasyon grafiği .....   | 66 |
| 3.7. (a) LiClO <sub>4</sub> ve (b) LiClO <sub>4</sub> + Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> destek elektrolitlerinin kullanılmasıyla elde edilen polimerlerin SEM görüntüleri ..... | 69 |
| 3.8. (a) KUE/AYPPyNF ve (b) KUE/PPyNF elektrotların 0,1 M KCl + 0,05 M FT çözeltisindeki DP voltamogramları .....   | 70 |
| 3.9. 0,1 M KCl içeren pH=7 0,05 M fosfat tamponunda 10 mM parasetamol için (a) KUE ve (b) KUE/AYPPyNF ile DP voltamogramları .....  | 71 |
| 3.10. KUE/AYPPyNF elektrotlar ile 0,25 mM parasetamol için farklı pH'lardaki çözeltilerde elde edilen akım ve gerilim değerleri, Elektrolit:0,10 M KCl + 0,05 M FT .....        | 72 |
| 3.11. Aşırı yükseltgenmiş nanofiber polipirol elektrotlar ile parasetamol için elde edilmiş kalibrasyon eğrileri .....  | 73 |
| 3.12. Parasetamol tayininde girişim yapabilecek bileşiklerin yapısı .....   | 74 |
| 3.13. (a) KUE/EPPyNF ve (b) KUE/PPyNF elektrotların 0,05 M FT çözeltisindeki DP voltamogramları .....   | 79 |
| 3.14. (a) KUE/PPyNF ve (b) KUE/EPPyNF elektrotların SEM görüntüleri .....   | 80 |
| 3.15. pH=7 0,1 M fosfat tamponunda (a) KUE/EPPyNF boş çözelti davranışı 5 µM dopamin, 15 µM urik asit ve 100 µM askorbik asit içeren çözeltide (b) KUE (c) KUE/EPPyNF.....      | 81 |
| 3.16. KUE ve KUE/EPPyNF elektrotlara uygulanan elektrokimyasal ön işlem gerilimi ile elde edilen Dopamin/ürük asit pik akımı arasındaki ilişki.....                             | 82 |

|   |    |
|---|----|
| 3.17. E/KUE ve KUE/EPPyNF elektrotlara uygulanan elektrokimyasal ön işlem döngü sayısı ile dopamin/ürük asit pik akımı arasındaki ilişki.....     | 83 |
| 3.18. KUE/EPPyNF elektrotlarla yapılan dopamin tayininde ölçüm ortamının pH'ı ile dopamin/ürük asit pik akımı arasındaki ilişki .....             | 85 |
| 3.19. KUE/EPPyNF elektrotlarla yapılan dopamin tayininde adsorpsiyon süresi ile dopamin pik akımı arasındaki ilişki.....                          | 86 |
| 3.20. KUE/EPPyNF elektrotlar ile pH= 8,5 FT çözeltisinde askorbik asit ve ürik asit varlığında dopamin için elde edilen kalibrasyon grafiği ..... | 87 |
| 3.21. KUE/EPPyNF elektrotlar ile pH= 8,5 FT çözeltisinde askorbik asit ve ürik asit yokluğunda dopamin için elde edilen kalibrasyon grafiği ..... | 88 |
| 3.22. Dopamin tayininde girişim yapabilecek bileşiklerin molekül yapıları.....  | 91 |
| 3.23. Kan serumunda standart ekleme yöntemiyle elde edilen diferansiyel puls voltamogramları.....   | 92 |

## ÇİZELGELER DİZİNİ

|   |    |
|---|----|
| 1.1. Bazı katkılama maddeleri.....  | 19 |
| 1.2. Bazı iletken polimerlerin maksimum katkılama seviyeleri.....   | 20 |
| 3.1. Askorbik asit içeren ilaç örneklerinin potansiyometrik ve iletkenlik dedektörlü iyon kromatografisi ile yapılan analiz sonuçları | 68 |
| 3.2. KUE/AYPPyNF ile 0,25 mM parasetamol analizine girişim yapan türlerin etkisi .....  | 76 |
| 3.3. KUE/AYPPyNF elektrotlar ve HPLC yöntemi kullanılarak yapılan gerçek örnek analizleri .....                                       | 77 |
| 3.4. KUE/EPPyNF elektrotlar kullanılarak elde edilen dopamin pik akımı değerlerine girişim yapan türlerin etkisi.....                 | 89 |
| 3.5. Kan örneğinde KUE/EPPyNF elektrotlar kullanılarak yapılan dopamin analizine ait kalibrasyon verileri .....                       | 92 |
| 3.6. KUE/EPPyNF elektrotlar kullanılarak yapılan ilaç analizleri .....  | 93 |

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

|             |   |
|-------------|---|
| AYPPy       | : Aşırı yükseltgenmiş polipirol   |
| AFM         | : Atomik kuvvet mikroskobu  |
| DV          | : Dönüşümlü voltametri  |
| DTV         | : Doğrusal taramalı voltametri  |
| DPV         | : Diferansiyel puls voltametri  |
| FT          | : Fosfat tamponu  |
| HPLC        | : Yüksek performanslı sıvı kromatografisi   |
| KUE         | : Kalem ucu elektrot  |
| KUE/PPyNF   | : KUE yüzeyinde sentezlenmiş nano fiber yapı polipirol                                    |
| KUE/AYPPyNF | : KUE yüzeyinde sentezlenmiş ve aşırı yükseltgenmiş nano fiber yapı polipirol             |
| KUE/EPPyNF  | : KUE yüzeyinde sentezlenmiş ve elektrokimyasal ön işlem görmüş nano fiber yapı polipirol |
| PPy         | : Polipirol   |
| PS          | : Parasetamol   |
| SEM         | : Taramalı elektron mikroskobu  |

## 1. GİRİŞ

İletken polimerler, metal ve yarı iletkenlerin elektriksel ve bazı optik özellikleri ile polimerlerin kolay sentezlenebilme ve esneklik özelliklerini sergileyen yeni nesil organik malzemelerdir. Yeni ve ilginç özellikler sergileyen bu maddeler akademik ve endüstriyel alanlardaki araştırma ve geliştirme çalışmalarının her geçen gün artmasıyla farklı uygulamalarda kullanım alanı bulmuştur. Güneş enerji sistemleri, elektrokromik cihazlar, şarj edilebilir piller, diyot, kapasitör, transistörler iletken polimerlerin bazı uygulama alanlarıdır (Gerard ve ark., 2002). Bunların yanı sıra son yıllarda iletken polimerlerin kimyasal ve biyokimyasal sensör tasarımlarında kullanımı dikkat çekmektedir.

İletken polimerler arasında elektrokimyasal yöntemle sentezlenen polimerler son yirmibeş yıldır ilgi odağı olmuştur. Yükseltgenmiş formdan (katkılanmış-doped) indirgenmiş forma (katkılanmamış-undoped) kolayca geçiş yapabilme özellikleri iletken polimerlerin birçok uygulama alanı bulmasının temelini oluşturmaktadır. İletken polimerlerin biyosensör uygulamalarında kullanılıyor olmaları bu polimerlerin sahip olduğu özelliklerden kaynaklanmaktadır. Bu özelliklerin başında elektrokimyasal yöntemle sentezlenen iletken polimerlerin uygun monomerlerle doğrudan elektrot yüzeyinde sentezlenebilmeleridir. Ayrıca film kalınlığının ve yük yoğunluğunun kontrol edilebiliyor olması, indirgenme yükseltgenme özelliğine sahip olmaları diğer üstünlükleridir.

Tıbbi laboratuvarlarda yapılan rutin analizlerde hızlı ve kesin sonuçlar verebilen, ucuz cihazlara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu bağlamda biyosensörler modern endüstrinin sorunlarına uygun çözümler getirebilecek özelliktedir. Biyosensörler seçici, hızlı cevap verebilen, ucuz ve portatif cihazlardır. Modern teknolojideki gelişmeler biyosensörler gibi yüksek performansa sahip analitik cihazların tasarımını sağlamıştır. Biyosensörler konusundaki çalışmalar taşınabilir, hızlı cevap verebilen ve düşük örnek hacimleri ile çalışabilme imkanı sağlayan cihazlara ihtiyaç duyulması ile başlamıştır (Singh ve Choi 2009). Biyosensörlerin tıbbi uygulamalarının yanında çevresel analizler, endüstriyel proses kontrolü, madencilik, mikroorganizmaların tayini, sivil ve askeri savunma

alanlarında uygulamaları mevcuttur. Ancak biyosensörlerin uygulama alanlarının büyük bir kısmını tıbbi uygulamalar oluşturmaktadır.

Polipirel biyosensör tasarımında en çok kullanılan iletken polimerlerden biridir. İndirgenme yükseltgenme özelliğine sahip olması, iletkenliğinin geniş bir aralıkta değiştirilebiliyor olması, iyon değişim kapasitesine sahip olması, elektrokromik özellik sergileyebilmesi ve bazı biyomoleküllere karşı yüksek adsorbsiyon kabiliyetine sahip olması polipirelün en önemli özellikleri arasındadır. Polipirelün sahip olduğu bu özelliklerin çoğu polimerizasyon esnasında kullanılan katkı maddesinin yapısından kaynaklanmaktadır. Ayrıca polipirelün biyoyumlu olması, elektrot yüzeyini diğer girişim yapabilen maddelerin etkisini engellemesi ve elektrot yüzeyinde doğrudan sentezlenebilmesi gibi avantajları da vardır. Bütün bu özellikler polipirelün biyosensör tasarımlarında kullanılmasını sağlamıştır.

Altın, platin gibi yaygın elektrotlar inert ve sınırlı yüzeysel özelliklere sahiptirler. Ancak elektrot yüzeyinin uygun modifikasyonları spesifik elektrokimyasal özelliklerin kazandırılmasına izin verir. Modifikasyon elektrotlara seçicilik, hassasiyet, kararlılık kazandırabildiği gibi aynı zamanda geniş bir elektrokimyasal uygulama alanı sağlar. Ayrıca yüzey modifikasyonları arayüzey süreçlerinin temel çalışmalarını da genişletir. Bu nedenle elektrot performansının artırılması bir çok bilimsel ve endüstriyel uygulamalar açısından önemlidir. Kimyasal modifiye elektrotlar elektrot yüzeyine moleküllerin, iyonik türlerin ya da polimerler gibi iletken veya yarı iletken yapıların bağlanması veya kaplanması ile elde edilirler. Bu modifikasyon yapıya farklı kimyasal, fiziksel, elektriksel, optik özellikler kazandırır. Modifikasyon elektron transferi hakkında bilgi sağlama dışında elektrot yüzeyine kimyasal bir seçicilik de sağlar. Dolayısıyla elektrokimyasal çalışmalarda modifikasyon üzerine çalışmalar her geçen gün artmaktadır. İletken polimerlerin modifikasyonda kullanılması indirgenme yükseltgenme sürecinde elektrot yüzeyinde iyon ya da elektron değişimi, metallere kompleks yapabilme, biyokimyasal yapıları tanıma gibi özellikler kazandırmaktadır (Ramanavicius ve ark. 2006).

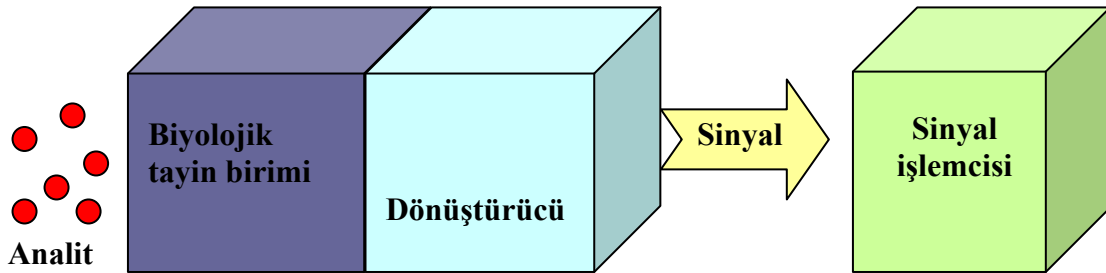
Bu tez çalışmasında ucuz, kolay bulunabilen elektrotlar kullanarak kararlılığı, seçiciliği ve hassasiyeti yüksek, düşük tayin sınırlarına inebilen, üretim

süreci kolay, tek kullanımlık polipirol esaslı sensörler geliştirmek ve bunların askorbik asit, parasetamol ve dopamin gibi önemli bileşiklerin analizlerinde uygulanabilirliğini göstermek amaçlanmaktadır. Çalışmanın ilk aşamasında iyon kromatografisi sistemi için polipirol esaslı potansiyometrik dedektör tasarımının yapılması ve bu dedektörün askorbik asit tayininde kullanılması araştırılmıştır. Çalışmanın ikinci aşamasında ise ucuz, kolay bulunabilen, elektrokimyasal kararlılığı yüksek farklı yüzey özelliklerine sahip nanofiber yapıları polipiroller ile modifiye edilmiş kalem ucu elektrotların parasetamol ve dopamin tayinlerinde kullanılacak tek kullanımlık seçici ve hassas sensörlere dönüştürülmesi incelenmiştir.

### 1.1. Biyosensörler

Sensörler bir tanıma birimi ve sinyal dönüştürücüden oluşan cihazlardır. Sensörler fiziksel, kimyasal ve biyosensörler olmak üzere sınıflandırılırlar. Fiziksel sensörler sıcaklık, basınç, nem, akış hızı gibi parametreleri ölçerler. Kimyasal sensörler bir tayin biriminden ve dönüştürücüden oluşan ve kimyasal bilgiyi ölçülebilir sinyallere çeviren cihazlardır. Biyosensörler ise bir kimyasal sensör çeşididir (Alvarez 2009). Biyosensörler bir algılayıcı ve bir dönüştürücüden oluşur ve biyolojik tanıyıcılar kullanarak kantitatif analitik bilgiler sağlarlar. Biyosensörler biyolojik bir cevabı ölçülebilir ve işlenebilir sinyale dönüştüren analitik cihazlardır (Grieshaber ve ark. 2008).

Bir tayin birimi ve bir dönüştürücüden oluşan biyosensörler Şekil 1.1 'deki gibi şematize edilebilirler. Tayin birimi analizlenecek maddeyle etkileşerek onu tanıır. Bu tanıma olayı biyolojik tayin biriminin biyokimyasal bir sinyal oluşturmasıyla sağlanır (Njagi 2009).



Şekil 1.1. Biyosensörlerin şematik gösterimi



Analit bazen de substrat olarak adlandırılır ve sadece biyolojik bileşenler için değil aynı zamanda özel kimyasalların algılanması ve ölçülmesi ile de ilgilidirler. Burada analit bir hücre kültürü, kan, idrar örneği olabildiği gibi gıda, su, hava ya da toprak örneklerindeki pek çok kimyasallar olabilir.

Biyosensörlerde tayini yapılacak olan analitin konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak değişen bir sinyal elde edilir. Bu sinyaller dönüştürücüler yardımıyla sağlanır. Dönüştürücüler biyolojik tayin birimi analiti tanıdıktan sonra ortamda oluşan fiziksel veya kimyasal değişimi algılayıp bunu ölçülebilir dijital sinyallere dönüştüren cihazlardır (Balasubramanian, 2008). Örneğin kandaki glikoz seviyesini ölçen bir glikoz biyosensöründe analit glikoz iken biyolojik tayin birimi glikoz oksidaz enzimidir. Dönüştürücü ise glikoz oksidaz enzimi varlığında glikoz ile oksijenin reaksiyonu sonucu açığa çıkan  $H_2O_2$  konsantrasyonuna bağlı olarak açığa çıkan sinyali elektrik akımına çeviren kısımdır.

## **1.2. Biyosensör Bileşenleri**

### **1.2.1. Tanıma birimi**

Tanıma biriminin görevi analit ile etkileşerek diğer maddelerin girişim yapma etkilerini ortadan kaldırmaktır. Tanıma birimi sadece belli bir analite karşı seçici davrandığından sensörün seçiciliğini sağlar. Biyosensörlerde yaygın olarak kullanılan tanıma birimi enzimlerdir. Diğer tanıma birimleri antibadiler, reseptörler ve nükleik asitlerdir (Eggins 1996).

### **1.2.2. Dönüştürücüler**

Bir biyosensörün seçiciliğini tanıma birimi sağlarken hassasiyetini ve hızlı cevap verebilme özelliğini de dönüştürücüler sağlarlar. Dönüştürücüler bir biyosensörün analit ile tayin birimi arasındaki etkileşimi sonucu açığa çıkan fiziksel ya da kimyasal değişimi ölçülebilir sinyale çeviren kısımdır (Balasubramanian, 2008).

Dönüştürücüler başlıca dört ana gruba ayrılırlar:

- 1) Elektrokimyasal
- 2) Optik
- 3) Piezoelektrik cihazlar
- 4) Termal

#### 1.2.2.1. Elektrokimyasal dönüştürücüler

Elektrokimyasal dönüştürücüler başlıca üç gruba ayrılırlar.

- a) Potansiyometrik: Çalışma ve referans elektrot içeren bir hücrede akım geçmezken gerilim farkının ölçülmesi ilkesi geçerlidir. Gerilim tayin edilecek maddenin derişiminin logaritması ile doğru orantılıdır.
- b) Voltametrik: Hücreye tayin edilecek maddenin yükseltgenmesi veya indirgenmesi için bir gerilim uygulandığında akımda ani bir değişimle bir pik oluşur. Pik akımının yüksekliği elektroaktif türün derişimiyle doğru orantılıdır. Yükseltgenme veya indirgenme gerilimi biliniyorsa o gerilim değeri uygulanarak da akım değişimi izlenebilir. Bu şekilde yapılan analizler amperometrik analiz olarak bilinir.
- c) Konduktometrik: Bir kimyasal veya biyokimyasal reaksiyon sonucu çözeltilinin iletkenliğinin değişiminin ölçülmesi temeline dayanır. İletkenlik derişim ile orantılı olarak değişmektedir (Eggins 1996; Njagi 2009).

#### 1.2.2.2. Optik dönüştürücüler

Optik dönüştürücüler absorpsiyon, floresans, luminesans, yüzey plazmon spektroskopisi ve ışık saçılması tekniklerinde kullanılırlar. Biyosensör alanında gelişmeler optik dönüştürücüler kullanılmasıyla son otuz yıldır oldukça fazla gelişme göstermiştir. Optik dönüştürücüler diğer dönüştürücülere göre daha fazla hassasiyet sağlarlar (Balasubramanian 2008). Fiber optikteki gelişmeler bu dönüştürücülere daha esnek ve daha küçük boyutlarda üretilebilme imkanı sağlamaktadır (Eggins 1996).

### 1.2.2.3. Piezoelektrik cihazlar

Piezoelektrik ölçümler, kuartz gibi dielektrik materyallerin rezonans frekansındaki değişimlerin ölçülmesi ilkesine dayanır. Rezonans frekansındaki değişim kütle değişimi ile orantılıdır. Sensör yüzeyine adsorblanan maddenin kütlesinin değişimi ile rezonans frekansında farklanma olur (Bunde ve ark. 1998).

### 1.2.2.4. Termal dönüştürücüler

Bütün kimyasal ve biyokimyasal işlemler sonucu ısı açığa çıkar veya absorblanır. Bu ısı hassas bir sensör tarafından ölçülerek tayin edilecek madde miktarı ile ilişkilendirilebilir (Eggins 1996). Termal dönüştürücüler tüm reaksiyonlar için uygundur. Bulanık ve renkli çözeltilerde çalışma imkanı sağlarlar. Ancak çok seçici değildirler.

## 1.3. İdeal Bir Biyosensörün Özellikleri

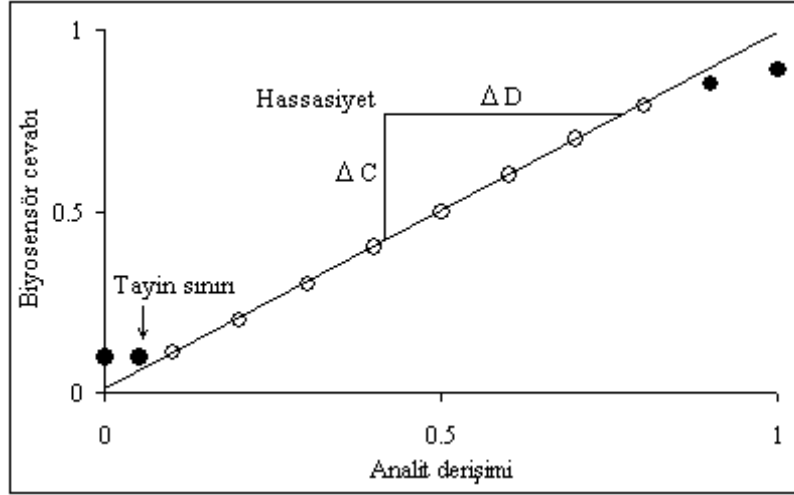
### 1.3.1. Seçicilik

Bir biyosensörde en önemli parametrelerden biri seçiciliktir. İdeal bir biyosensör sadece analit derişimindeki değişime cevap verir. Girişim yapan türlerin varlığı analite ait cevabı etkiler. Biyosensördeki karışık sinyalleri önlemek için girişim yapan türlerin derişimi kontrol edilemediğinden başka bir tür dönüştürücü kullanmak gerekir.

### 1.3.2. Hassasiyet

Hassasiyet, özel bir kimyasalın derişimindeki değişime ( $\Delta D$ ) bağlı olarak biyosensörün cevabındaki değişimin ( $\Delta C$ ) ölçüsü olarak ( $\Delta C/\Delta D$ ) tanımlanır (Şekil 1.2). Analit doğrudan biyosensör tarafından tayin edilmez. Biyosensör ölçüm yaparken çoğu zaman bir kimyasal reaksiyondaki ilgili reaktifin veya ürünün derişimindeki değişimi tespit eder. Bu nedenle bir biyosensörün

hassasiyeti kimyasal reaksiyon stokiyometrisine bağılı olarak tayin edilen türe bağılıdır. Bazı biyosensör türlerinde ölçümler biyosensörün dinamik cevabı üzerinden elde edilmektedir. Bu durumda hassasiyet derişim değiştikçe zamanla sinyalde meydana gelen değişim olarak ( $\Delta C/\Delta D.\Delta t$ ) tanımlanabilir.



**Şekil 1.2.** Bir biyosensör için kalibrasyon eğrisi, eğride doğrusal bir cevap aralığı (o), tayin sınırının altındaki derişimlerde ve daha yüksek derişimlerde doğrusal olmayan davranış (•) görülmektedir.

Belirli bir analite özgü hazırlanan bir biyosensörün etkin hassasiyetini belirlemek için pek çok etken vardır. Bunlar arasında sensörün fiziksel boyutu, zarların kalınlığı, örnekten algılayıcı bölgeye kimyasal türlerin kütle transferi ve biyosensörün aktivitesini düşüren farklı işlemler yer almaktadır. İdeal bir biyosensörün hassasiyeti kullanım ömrü boyunca değişmemeli ve transduserin çıkış sinyalinin elektronik bir cihazla belirlenebilmesine yetecek kadar yüksek olmalıdır (Özcan 2008).

### 1.3.3. Kalibrasyon gereksinimi

İdeal bir biyosensör bilinen derişimdeki bir analiti içeren standart çözeltiler yardımıyla kolayca kalibre edilmelidir. Kalibrasyon eğrileri hassasiyeti belirlemek için çok fazla sayıda veriye ihtiyaç duymamalıdır. Kalibrasyon

eğrisindeki veri aralığı ölçüm yapılacak değerleri içermelidir. İdeal bir biyosensörün kalibrasyona gerek duymadan ölçüm yapması istenir. Fakat pratikte bu mümkün değildir. Biyosensör, hassasiyetindeki meydana gelen değişimleri belirlemek amacıyla düzenli aralıklarla kalibre edilmelidir.

#### **1.3.4. Doğrusallık**

Tamamen doğrusal olarak davranan bir biyosensör, ölçüm ortamında sıfır derişim değerinden analitin fiziksel olarak çözünebildiği en yüksek derişim değerini aşan bir aralıkta değişmeyen bir hassasiyete sahip olmalıdır. Doğrusal bölgenin herhangi bir yerindeki iki noktadan kalibrasyon yapılabilir.

Kalibrasyon grafiği biyosensör cevabını değerlendirebilecek kadar yeterli doğrulukta elde edilebiliyorsa, pratik kullanım açısından bir biyosensörün doğrusal olmasına gerek yoktur. Bir düzeltme yapılarak doğrusal olmayan cevaplar doğrusal bir şekilde dönüştürülebilir. Bazı biyosensörler yarı logaritmik hassasiyete ( $\Delta C/\Delta \ln D$ ) sahiptirler. Bunlar doğrusal olmayan sensörler olarak sınıflandırılmalarına rağmen yarı logaritmik bir ölçek üzerinde yeniden düzenlenerek cevapları doğrusal olarak ifade edilebilir.

#### **1.3.5. Tayin sınırı**

İdeal olarak, bir biyosensör tarafından tayin edilebilen en düşük analit derişimi sadece ölçüm için kullanılan elektronik cihazın çözünürlüğü tarafından sınırlanmalıdır. Uygulamada ise, diğer etkenler tayin sınırını etkiler. Örneğin, potansiyometrik ölçümlerde kullanılan elektrokimyasal dönüştürücülere diğer iyonlar ve ölçümü sınırlayan yüzey reaksiyonları girişim yapabilir. Tayin sınırı elektrot yüzeyinin büyüklüğü, biyolojik materyalin tayin edilecek maddeye karşı affinitesi, immobilize edilen madde miktarı gibi faktörlerden etkilenir.

### 1.3.6. Tekrarlanabilirlik

Tekrarlanabilirlik analitik tekniklerde olduğu gibi biyosensörlerde de oldukça önemlidir. İdeal bir biyosensörde elektrodun aynı koşullar altında arka arkaya yapılan ölçümlerde hemen hemen aynı sonuçları okuması istenir. Tekrarlanabilirlik relatif standart sapma ile ifade edilir. İdeal bir biyosensörde aynı koşullarda tekrarlanan ölçümlerde tekrarlanabilirlik en az  $\pm\%5-10$  olmalıdır.

### 1.3.7. Cevap verme süresi

Birçok analitik cihazın kararlı hale gelmesi ve cevap vermesi zaman almaktadır. Bir biyosensörde ölçüm süresinin uzun olması metodun rutin analizler açısından kullanılabilirliğini etkiler. Biyosensörlerde cevap süresi birkaç saniye ile birkaç dakika arasında değişmektedir. 5 dakikalık cevap verme süresi uygundur ancak bu sürenin 10 dakika olması durumunda süre uzun kabul edilir.

### 1.3.8. Kullanım ömrü

Biyosensörün kullanım ömrünü kısıtlayan en önemli faktör biyosensör tasarımında kullanılan biyolojik bileşendir. Biyolojik bileşenin zamanla değişmesi gerekir. Bir biyosensörün önemli bir özelliği normal işlem koşulları altında hassasiyetini koruyabildiği kadar uzun bir kullanım ömrüne sahip olmasıdır. Bu kullanım ömrü yapılan toplam ölçüm sayısına veya ölçülen analitin derişiminin büyüklüğüne bağlı olabilir. Daha yüksek derişimler hassasiyetin daha hızlı bir şekilde düşmesine neden olabilir. Ayrıca analit derişimine bağlı olmaksızın analiz ortamında aktivasyonu engelleyecek diğer kimyasal türler bulunabilir. Bir diğer önemli özellik ise biyosensörün saklanması ve kullanılması arasında geçen zamanın uzunluğudur. Biyosensörün bir buzdolabı ortamında muhafaza edilmesi gerektiği gibi biyolojik bileşenin biyoaktivitesini koruyabilmesi için özel bir kimyasal ortamda saklanması da gerekebilmektedir (Eggins 1996; Buerk 1993; Özkan 2003).

#### 1.4. Biyosensörlerin Uygulama Alanları

Yaşam kalitesini artırmak küresel araştırma çalışmalarının en önemli amaçlarından biridir. Yaşam kalitesi hastalıkların kontrolü, gıda kalitesi ve güvenliği ve yaşanan çevrenin kontrolüne bağlıdır. Bütün bu alanlarda hızlı, sürekli ve duyarlı analizlere ihtiyaç duyulmaktadır. Son yıllarda kimyasal sensörlerin geliştirilmesine yönelik oldukça fazla çalışma yapılmıştır. Bu sensörlerden sadece kimya endüstrisi değil aynı zamanda gıda endüstrisi, biyo-endüstri, tıp ve çevresel analiz endüstrileri de faydalanmaktadır. Bir kimyasal sensör çeşidi olan biyosensörler kendine özgün bir çok özelliği ile klasik analitik yöntemlere alternatif olabilme potansiyeline sahiptirler.

Biyosensörlerin uygulama alanlarının büyük bir kısmını tıbbi amaçlı uygulamalar oluşturmaktadır. Biyosensörlerin tıp alanında kullanımının ilgi odağı olmasının nedeni biyosensörlerin metabolitler, hormonlar ve ilaçlar gibi biyolojik bileşenlerin güvenilir ve kararlı online ve invivo analizlerine imkan tanıyacak yapıda olmalarıdır. Vücut metabolitlerinin, kandaki bileşenlerin, gazların ve iyonların tayini tıbbi teşhis laboratuvarında kan ve idrardan ayrıştırılarak uzun zaman alan klasik yöntemlerle tayin edilmektedir. Biyosensörlerin kullanımı alınan örneklerin doğrudan ve yerinde dakikalar veya saniyelerle süren analizlerine imkan sağlayacaktır (Eggins 1996; Alvarez 2009).

Biyosensörlerin diğer uygulama alanı çevresel analizlerdir. Çevre örneklerinde biyosensörler taşınabilir özelliklerinden dolayı analiz ortamında örnek hazırlama işlemine gerek duyulmaksızın kirleticilerin tayinine olanak sağlamaktadırlar. Çevresel analizlerde klasik yöntemler düşük tayin limitlerine inebilmekte ve kesin sonuçlar verebilmektedirler. Fakat bu yöntemler oldukça pahalıdırlar ve analiz süreleri uzundur. Biyosensörlerin toprak, su ve diğer çevresel örneklerde kirleticilerin ve toksik maddelerin tayinine yönelik oldukça fazla çalışma bulunmaktadır. Çevre örneklerinde pestisit tayini, kağıt, ilaç ve boya endüstrisi atıklarından kaynaklanan fenolik bileşiklerin tayini, deterjan endüstrisi atıklarından olan yüzey aktif madde tayini, bazı poliaromatik hidrokarbonların tayini, sularda bakteri, virüs ve mikroorganizmaların tayini, bazı dioksinlerin,

metallerin, iyonların ve hayvansal ürünlerdeki hormonların tayinine yönelik çalışmalar biyosensörlerin çevresel analizleri alanındaki uygulamalarıdır. Tarım, bahçecilik, veterinerlik ve madencilik alanlarında kirleticilerin tayinine yönelik çalışmalar da biyosensörlerin çevreye yönelik uygulamalarını oluşturmaktadır (Mozaz ve ark. 2004).

Biyosensörlerin bir diğer uygulama alanı endüstriyel işlemlerin kontrolüdür. Biyosensörler özellikle gıda ve içecek endüstrisinde geniş bir uygulama alanı bulmaktadır. Gıda endüstrisinde ürün kalitesi doğrudan periyodik olarak yapılan kimyasal ve mikrobiyolojik analizlere bağlıdır. Gıda endüstrisinde katkı maddelerinin tayini, ürün içeriğinin belirlenmesi ve gıda ürünlerinin tazeliğinin kontrolü biyosensörler için potansiyel uygulama alanlarıdır (Mozaz ve ark. 2004).

Biyosensörlerin askeri ve sivil savunma alanında uygulamalarına yönelik çalışmalar bulunmaktadır. Biyolojik savaş ajanlarının saptanmasında acil ve etkili yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Biyolojik savaş ajanları organofosfat yapısındaki sinir gazları, kükürt içeren hardal gazı ve hidrojen siyanür gibi çeşitli maddelerdir. Bu maddelerin herhangi bir terör saldırısı esnasında saniyeden de daha kısa sürede tayin edilmesine yönelik çalışmalar sürmektedir (Macsini ve Palchetti 2005).

### 1.5. İletken Polimerler

Polimerler Shirakawa ve arkadaşlarının transpoliasetileni  $(CH)_x$  sentezlemelerine kadar yalıtkan olarak düşünülmekteydi. Yalnız inorganik maddelerin sahip olduğu elektriksel ve optik özelliklerin polimerlere de kazandırılabilceği görülen bu çalışma ile Shirakawa ve arkadaşları 2000 yılında kimya alanında Nobel ödülü kazanmışlardır.

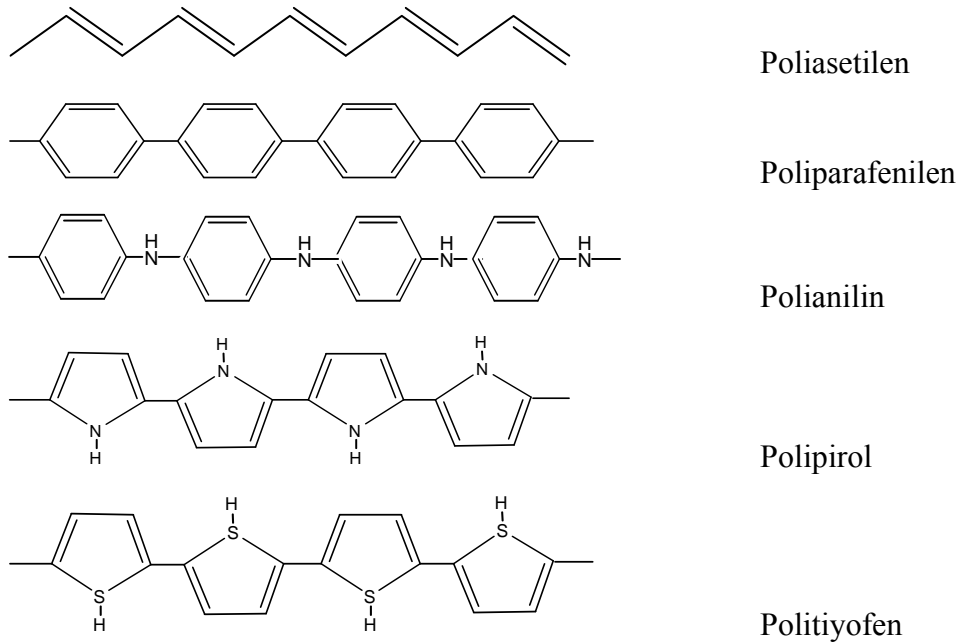
İletken polimerlerle ilgili yapılan ilk çalışma 1975 yılında sentezlenen ve düşük sıcaklıklarda süper iletken özellik gösteren politiazil  $(SN)_x$ 'dir. Fakat polimerleri iletken özelliklerinden dolayı kullanma fikri ve bu konuda yapılan çalışmaların yoğunlaşması Shirakawa ve arkadaşlarının transpoliasetileni  $(CH)_x$  sentezlemeleri ile ortaya çıkmıştır (Saxena ve Malhotra 2003). İletken polimerler alanında yapılan bu ilk çalışmada çok düşük iletkenliğe sahip olan poliasetilenin



kısmi yükseltgenmesi ile (pozitif katkılama) polimer zincirindeki konjuge çift bağların üzerinde hata merkezleri oluşturularak iletkenliği  $10^7$ - $10^8$  kat artırılmıştır.

İletken polimerler konjuge  $\pi$ -elektron iskeletine sahip olmasından dolayı elektriksel iletkenlik, düşük enerjili optik geçiş, düşük iyonlaşma potansiyeli ve yüksek elektron affinitesi gibi elektronik özelliklere sahiptirler. İletken polimerler silikon gibi inorganik kristal yarı iletkenlerden moleküler yapıda bulunmaları açısından farklılık gösterirler (Gerard ve ark. 2002).

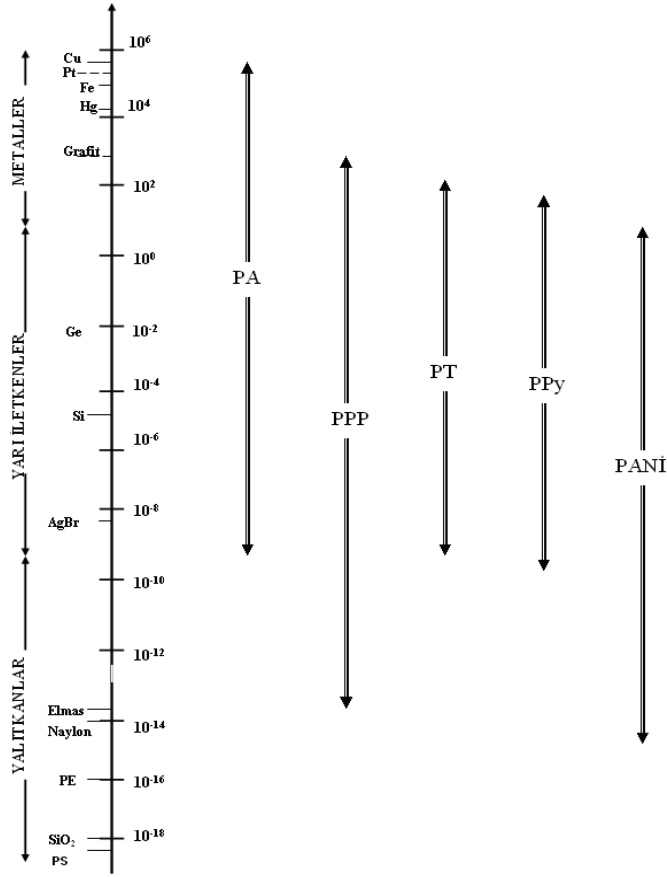
İletken polimerlere konjuge iletken polimer ya da organik polimerik iletkenler de denilebilir (Chandrasekhar 1996). Yüksek iletkenlik özelliğine sahip olan bu malzemeler aynı zamanda sentetik metal olarak da adlandırılırlar (Gerard ve ark. 2002). Metallerin elektriksel iletkenlikleri yüksektir. Ancak metaller polimerlerden ağırdırlar, pahalıdırlar ve kolayca şekillenemezler ve korozyona uğrarlar (Saçak 2002). Metallerin elektriksel iletkenlik ve mekanik özelliklerini polimerlerin özellikleriyle birleştirerek bir tek malzemede toplayabilmek her zaman ilgi odağı olmuştur. Bu nedenle  $\pi$ -elektron konjuge yapısına sahip polianilin (PANI), polipirol (PPy), politiyofen (PT), polifuran (Pfu), poli(fenilen) ve polikarbazol gibi iletken polimerler birçok uygulamada kullanılmak üzere sentezlenmiştir (Saxena ve Malhotra 2003). Şekil 1.3'de bazı iletken polimerlerin kimyasal yapıları gösterilmiştir.



Şekil 1.3. Bazı iletken polimerlerin kimyasal yapıları

İletkenlik elektriksel iletimi belirtir, bu yüzden iletkenlik bir maddenin akımı geçirme kabiliyetinin bir ölçüsüdür. Genellikle iletkenliği  $10^{-8}$  S/cm'den küçük olan maddeler yalıtkan olarak bilinirler. İletkenlikleri  $10^{-8}$  S/cm ve  $10^3$  S/cm arasındaki maddeler yarıiletken, iletkenliği  $10^3$  S/cm'den büyük olan maddeler iletken olarak bilinir. Polimerlerin elektronik iletkenliği polimer örgüsünde elektronların zincir boyunca taşınması ile sağlanır. Ana zincirinde konjüge çift bağlara sahip olan polimerlerde elektronların zincir boyunca taşınması ile polimerler iletken özelliğe sahip olurlar (Guimard ve ark. 2007).

Konjüge polimerlerler yarı iletken olarak bilinirler fakat iletkenlikleri kimyasal veya elektrokimyasal yollarla değiştirilebilmektedir. Yükseltgenme veya indirgenme yoluyla gerçekleştirilen bu işleme katkılama (doping) denir. Katkılama işlemi ile konjüge polimerlerin iletkenlikleri yarı iletkenlik düzeyinden metalik iletkenlerin düzeyine çıkarılabilir. Örneğin nötral poliasetilenin iletkenlik değeri yarı iletken mertebesinde iken,  $AsF_5$  ile katkılandığında  $10^7$ - $10^8$  kat artmakta ve metalik iletkenlerin düzeyine ulaşmaktadır (Chiang ve ark. 1977). Şekil 1.4'te iletken polimerlerin iletkenlikleri metaller, yarı iletkenler, yalıtkanlar ve bazı yalıtkan polimerler ile karşılaştırılarak verilmiştir



**Şekil 1.4.** İletken polimerlerin iletkenliklerinin metal, yarı iletken ve yalıtkanlarla karşılaştırılması PA: poliasetilen, PE: polietilen, PS: polistiren, PPP: poliparafenilen, PT: politiyofen, PANI: polianilin, PPy: polipirol

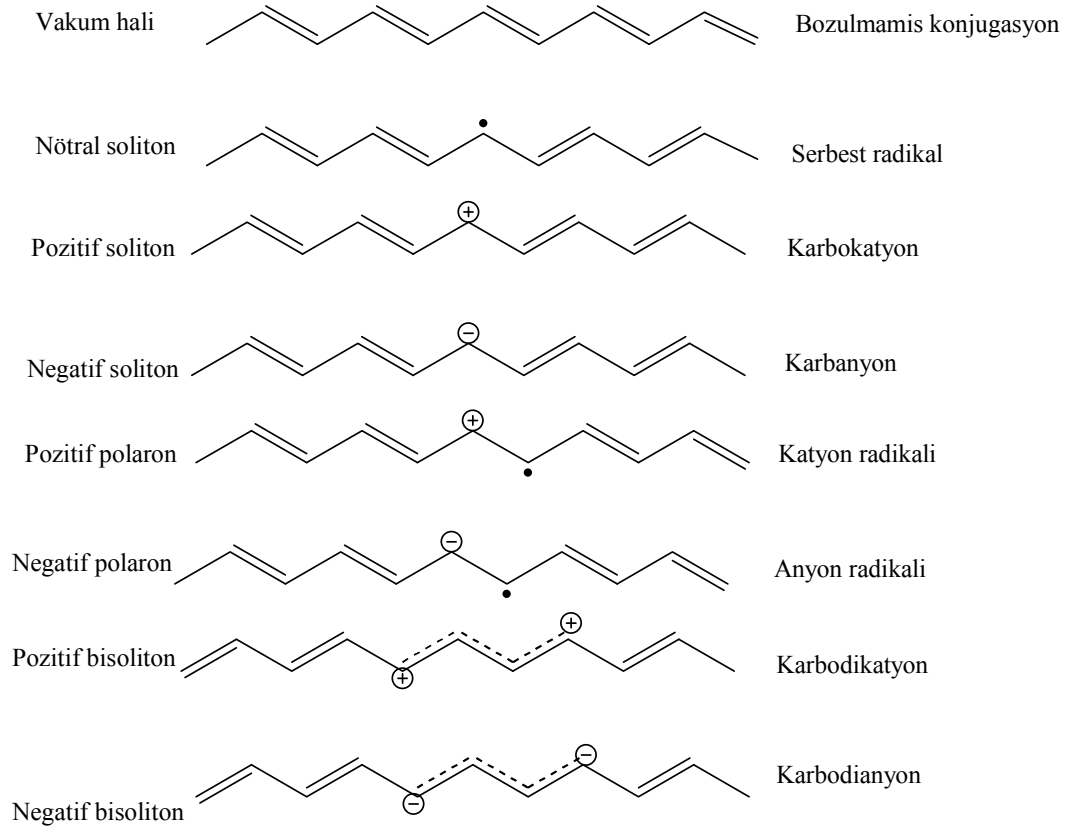
### 1.5.1. İletken polimerlerde iletkenlik teorisi

Maddeler oda sıcaklığındaki iletkenliklerine göre 3 gruba ayrılırlar: Yalıtkan, yarıiletken ve iletken. Bu maddelerin herbirinde, kendi moleküler elektronik seviyeleri kendi elektronik bantlarını oluştururlar (Chandrasekhar 1996). Eğer bir maddede enerji bandlarından biri elektronlarla tamamen dolu iken kendisinden sonra gelen boş enerji bandı ile arasındaki enerji farkı büyük ise dolu banttan boş banda elektron geçişi mümkün olmaz. Bu madde yalıtkanır. Bu boşluk 10 eV'den büyükse elektronlar iletkenlik bandına geçemezler ve oda sıcaklığında yalıtkan olarak davranırlar. Eğer boşluk 1,0 eV'den küçükse elektronlar termal, titreşimle ve fotonla uyarılma sonucu iletkenlik bandına

geçerler ve bu maddeler yarı iletken olarak bilinirler. Katkılanmış polimerler,  $\pi$  konjügasyon yapılarından dolayı yarıiletkenlerdir. Çoğu iletken polimerde boşluk 1 eV'den büyüktür (Guimard ve ark. 2007).

Poliasetilen ve diğer konjüge polimerlerin optik absorpsiyon çalışmaları sonucunda, bu polimerlerin değerlik bandını iletkenlik bandından ayıran yasak enerji aralığının, yarı iletkenlerde olduğu gibi, 1,4-3 eV arasında olduğu anlaşılmıştır. Bir yarı iletkende elektronun, değerlik bandından iletkenlik bandına çıkması ile sistemin yapısı değişmez. Oysa polimerlerde elektronik uyarma, örgünün relaksasyonuna neden olur. Polimerlerde iki tür yapısal relaksasyon olduğu kabul edilir. Birincisi polimer zinciri boyunca oluşan tek düze relaksasyon, ikincisi ise lokal olarak yapısal deformasyona neden olan relaksasyondur. Bunların sonucunda polimer zinciri üzerinde bazı hatalar oluşur. Bu hatalar soliton veya polaron olarak isimlendirilir. Katkılama ile farklı spin-yük konfigürasyonuna sahip hata merkezleri oluşturulabilmektedir. Şekil 1.5'de oluşabilecek hata türleri, poliasetilenin yapısı üzerinde iletkenlik teorilerinde kullanılan katı hal fiziği terimleri ile kimyasal isimlendirmeler birlikte verilerek gösterilmiştir (Roth ve Bleir 1987).

Katkılama sonucu oluşan solitonun enerji düzeyi poliasetilenin yasak enerji aralığının ortasında yer alır. Poliasetilen ve diğer konjüge polimerlerde katkılama ile polaronik hatalar da oluşur ve polaronun elektronik enerji düzeyleri, yasak enerji aralığında simetrik olarak iletkenlik ve değerlik bandına yakın konumlarda yer alır. Katkı maddesinin fazla eklenmesi halinde veya elektrokimyasal olarak katkılama miktarının dolayısıyla polaronların derişimi dahada artırılırsa, polaronlar kendi aralarında etkileşerek bipolaronları oluştururlar. Soliton türü hataların sadece zincir boyunca aktarımını mümkün olmasına karşılık bipolaronik hataların bir zincir üzerinden diğerine atlayabilecekleri de belirtilmiştir. Sonuç olarak soliton, polaron ve bipolaron gibi yapılar iletkenlik kazandırmaktadır (Aydın 2002).



**Şekil. 1.5.** Konjugasyon hatalarının poliasetilen üzerinde gösterimi

### 1.5.2. İletken polimerlerin elektrokimyasal sentezi

İletken polimerler kimyasal, elektrokimyasal, fotokimyasal, emülsiyon, metatez, katılma, katıhal, plazma, çözümlü prekürsör polimerizasyonu gibi yöntemlerle sentezlenebilirler. Bütün bu yöntemler arasında en çok kullanılan yöntemler elektrokimyasal ve kimyasal polimerizasyondur. Elektrokimyasal polimerizasyonun kimyasal polimerizasyona göre bazı üstünlükleri şunlardır.

- a- Tepkime oda sıcaklığında gerçekleşir.
- b- Uygulanan gerilim veya akım değiştirilerek film kalınlığı kontrol edilebilir.
- c- Polimer filmleri doğrudan elektrot yüzeyinde oluşturulur.
- d- Homojen filmler elde edilir.

- e- İstenen iyon ile polimer katkılanması, film oluşumu ile eş zamanlı olarak gerçekleştirilebilir.
- f- Kopolimer ve aşılı kopolimerleri elde edilir.
- g- Saflaştırma işlemlerine gerek yoktur.

Elektrokimyasal polimerizasyon üçlü elektrot kullanılarak uygun monomer, çözücü ve destek elektrolit içeren hücrede gerçekleştirilir. Üçlü elektrot sistemi referans, çalışma ve karşıt elektrottan oluşur. Çalışma elektrodu olarak Pt, Au, ITO, paslanmaz çelik ve karbon elektrotlar kullanılır. Karşıt elektrot olarak Pt, Au, Ni vb. kullanılabilir. Referans elektrot olarak da doygun kalomel elektrot (SCE) ve Ag/AgCl elektrot kullanılır. Destek elektrolit seçimi ise çözünürlük, ayrışma ve nükleofilik özelliklere sahip olma kriterlerine dayanır.  $R_4NX$  tipi (R: Alkil, aril radikali ve  $X= Cl^-, Br^-, I^-, ClO_4^-, BF_4^-, PF_6^-, CF_3SO_3^-, CH_3C_6H_4SO_3^-$ ) kuaterner amonyum tuzları aprotik çözücülerde kolay çözüldüğü için susuz ortamlarda (asetonitril, benzonitril vb.) kullanılırlar.

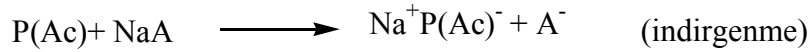
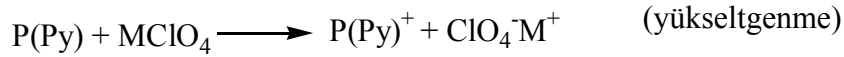
Elektrokimyasal polimerizasyon işlemi dönüşümlü voltametri, potantiostatik (sabit gerilimde) ve galvanostatik (sabit akımda) yöntemler kullanılarak gerçekleştirilebilir. Genellikle potantiostatik yöntemler ince filmler elde etmek için, galvanostatik yöntem ise kalın filmler elde etmek için tercih edilmektedir. Elektrokimyasal yöntem basit olması ve elektrot yüzeyinde hızlı polimerizasyon gerçekleşmesi nedeniyle diğer yöntemlerden daha çok tercih edilir. Bunun yanında katkı iyonu olarak geniş bir anyon ve katyon seçeneği ortaya koymaktadır (Kumar ve Sharma 1998).

Elektrokimyasal polimerizasyonda monomer yükseltgenerek bir katyon radikalini oluşturur. Oluşan radikaller diğer monomer ve radikallerle birleşerek elektrot yüzeyinde polimer zincirini oluştururlar. Elektrokimyasal polimerizasyonda polimerizasyon süresi, sıcaklık, kullanılan çözücüler, destek elektrolitler ve geçen yük sayısı doğrudan film kalınlığını ve morfolojisini etkiler (Guimard ve ark. 2007).

### 1.5.3. İletken polimerlerin katkılama işlemi ve katkı maddeleri

İletken polimerlerin yarı iletken band yapısının elektronik uyarılmalara veya elektron uzaklaştırma ve katılmaya izin vermesi gibi özellikleri iletken polimerlere gösterilen ilginin başlıca nedenlerinden biridir. Elektronların valans banddan iletken banda uyarılmaları fotoluminisans ve doğrusal olmayan optik özellikler gibi uyarılmış hal özelliklerine neden olur. Diğer yandan iletken polimerlerin kimyasal veya diğer yükseltgenmeleri ile polimerde yükler oluşur. Bu yükler polimerdeki birçok monomer birimine delokalize olmuştur ve aynı zamanda geometrinin daha enerjik konformasyonlara dönüşerek rahatlamasını sağlarlar.

Yükseltgenme, iletken polimerin pozitif yükseltgenmesine ve yapıya bir anyonun katılmasına neden olur. İndirgenme ise aynı şekilde iletken polimerin negatif yüklenmesine ve yapıya bir katyon katılmasına neden olur. Bu süreç şematik olarak aşağıdaki gibi gösterilir. Burada M ve A sırasıyla, katyon ve anyondur.



İndirgenme ve yükseltgenme işlemi iletken polimerlere iletkenlik özelliği katmaktadır. İletken polimerlerin anyonlarla kimyasal olarak yükseltgenmesine veya katyonlarla indirgenmesine katkılama işlemi, polimer yapısına katılan anyon veya katyona da katkılama maddesi denir. Çizelge 1.1'de çeşitli katkılama maddeleri görülmektedir.

**Çizelge 1.1.** Bazı katkılama maddeleri

| <b>Anyonik</b>   | <b>Katyonik</b>                         |
|--|---|
| klorür (Cl <sup>-</sup> )  | proton (H <sub>3</sub> O <sup>+</sup> ) |
| perklorat (ClO <sub>4</sub> <sup>-</sup> )   | sodyum (Na <sup>+</sup> )               |
| tetrafloroborat (BF <sub>4</sub> <sup>-</sup> )  |   |
| tos, p-toluen sulfonat (CH <sub>3</sub> <sup>-</sup> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> <sup>-</sup> SO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ) |   |
| triflorometan sulfonat (CF <sub>3</sub> SO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )   |   |
| hexaflorofosfat (PF <sub>6</sub> <sup>-</sup> )  |   |
| polistiren sulfonat (-CH <sub>2</sub> CH(C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> SO <sub>3</sub> ) <sub>n</sub> <sup>n-</sup> )          |   |

Katkılama maddeleri iletken polimere sentez sırasında immobilize olabildikleri gibi aynı zamanda sentezden sonra kimyasal veya elektrokimyasal olarak da yapıya katılabilirler. Katkı maddeleri ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> veya Na<sup>+</sup> gibi küçük anyonlar oldukları gibi polielektrolit olarak adlandırılan poli(stiren sulfonik asit) ve poli(vinil sulfonik asit) gibi büyük polimerik türler de olabilir.

Katkılama işlemi yapılmayan nötr polimerler pristin olarak adlandırılırlar. Yükseltgenme ve indirgenmenin büyüklüğüne katkılama seviyesi denir. Katkılama seviyesi bir birim monomere katılan katkılama iyonu oranının hesaplanmasıyla bulunur ve kesir ile veya mol yüzdesi olarak ifade edilir. Örneğin dört monomer birimine ve bir katkılama iyonuna sahip bir iletken polimerin katkılama seviyesi 0,25 veya %25 dir. Polimer üzerindeki çeşitli baskılardan dolayı polimerin 1:1 katkılama seviyesine sahip olması imkansızdır. katkılama seviyesinin artması iletkenliği artırır ve daha fazla hareketli yükün oluşmasına neden olur. Maksimum katkılama seviyesi iletken polimer ve katkı maddesine göre değişir. Örneğin poliasetilenin katkılama seviyesi % 0,5 ile % 8 arasında değişir (Chandrasekhar 1996). Çizelge 1.2’de bazı iletken polimerlerin maksimum katkılama seviyeleri görülmektedir.

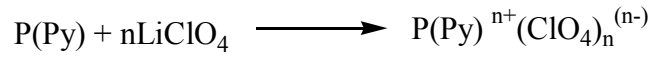


**Çizelge 1.2.** Bazı iletken polimerlerin maksimum katkılama seviyeleri

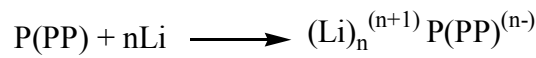
| Polimer         | Maximum katkılama seviyesi  |
|-----------------|---|
| Poli(pirol)     | %33 ClO <sub>4</sub> <sup>-</sup>                                     |
| Poli(tiyofen)   | % 30 ClO <sub>4</sub> <sup>-</sup> ; % 6 PF <sub>6</sub> <sup>-</sup> |
| Polianiline     | %42 Cl <sup>-</sup>   |
| Poli(p-fenilen) | % 44 Li <sup>+</sup>  |

İletken polimerler katkısız sentezlendiğinde katkılama işlemi, kimyasal olarak katkı maddesinin çözeltisine veya buharına maruz bırakılarak ya da elektrokimyasal olarak uygun bir akım-gerilim değerinde gerçekleştirilebilir. İletken polimere pozitif bir gerilim uygulandığında katkı anyonu çözeltide polimerden polimerin delokalize olan yüklü kısımlarına hareket eder ve katkılama işlemi gerçekleşir. Bu katkılama işlemine “p türü katkılama” denir. Benzer şekilde eğer elektrot yüzeyine immobilize olmuş polimere negatif gerilim uygulanırsa katyon çözeltiden polimere doğru hareket eder. Bu katkılama işlemine “n tipi katkılama” denir. Aşağıdaki eşitliklerde polipirol ve poli(p-fenilen)in sırasıyla anyonik ve katyonik katkılamaları verilmektedir.

p tipi katkılama



n tipi katkılama



Kimyasal katkılamada katkı maddesinin indirgenme ve yükseltgenme için uygun bir redoks potansiyeli olmalıdır. Örneğin pristin (nötral) poliasetilenin I<sub>2</sub> ile kimyasal katkılanması sırasında I<sub>2</sub>/I redoks potansiyeli olmalıdır ki poliasetilenin yükseltgenmesi gerçekleşsin. Poliasetilenin I<sub>2</sub> buharına maruz kalması ile I<sub>3</sub><sup>-</sup> polipirolün HCl buharına maruz kalması ile de Cl<sup>-</sup> katkılanmış iletken polimerler oluşur (Chandrasekhar 1996).

Polimerin iletkenliği indirgen-yükseltgen türler ya da donör/akseptör radikallerin polimer yüzeyine katkılanması işlemi ile artar. Shirakawa ve Ikeda

(1971) metalik türlerin poliasetilen polimerine katkılanması ile iletkenliğinin arttığını göstermişlerdir. Polimerin katkılanması polimer zincirinde soliton, polaron ve bipolaron gibi yapıların oluşmasına neden olur. X-ray difraksiyon çalışmaları iyot katkılanmış poliasetilen polimerinde C-C bağlarının donör tür katkılanma ile uzadığı akseptör türü katkılanma ile kısaldığını göstermektedir. Katkı maddesinin yapısı iletken polimerin kararlığında önemli rol oynar. Örneğin perklorik asit katkılanmış poliasetilen suya ve oksijene karşı kararlı değildir. Benzer şekilde sodyumflorür biriktirilen poliasetilen oksijene karşı daha dayanıklıdır.  $SO_3CF_3^-$  molekülü poly(3-metiltiyofen)'e katkıldığında polimerin havaya karşı kararlılığı artar. İletken polimerlerin kararlılıkları iki yol ile denenir. Birincisi benzokinon gibi antioksidantlar veya azobisizobutilnitrit gibi radikal tuzaklarla etkileşmesidir. İkinci yol ise aşılama (Kumar ve Sharma 1998).

#### 1.5.4. İletken polimerlerin kromatografik uygulamaları

İletken polimerlerin kromatografik uygulamaları sıvı kromatografisi ve kapiler elektroforez yöntemlerinde dedektör olarak kullanımları ile gaz ve sıvı kromatografilerinde kolon dolgu maddeleri olarak kullanımlarından oluşmaktadır. İletken polimerlerin kolon kromatografisindeki ilk uygulaması katkılanmış polipirol tozlarının gaz kromatografisinde sabit faz olarak kullanımınıdır. İletken polimerler adsorbsiyon özelliklerinden dolayı katı faz ekstraksiyonunda da kullanılmıştır. Polipirol ve polianilin poliaromatik hidrokarbonların ve bazı ilaçların sıvı kromatografisinde tayininde sabit faz olarak kullanılmıştır. Bu çalışmalarda iletken polimer silika partiküllerinin üzerine kaplanmıştır (Chriswanto ve Wallace, 1996a,b). Sonraki yıllarda silika partikülleri önce aminopropilsilan ile etkileştirilmiş daha sonra polipirol ile kaplanmıştır. Bu sabit fazlar polisiklik aromatik hidrokarbonlar ve bunların fenil türevlerinin sıvı kromatografisinde ayırımında kullanılmıştır (Perruchot ve ark. 2002).

İletken polimerlerin sıvı kromatografide elektrokimyasal dedektör olarak kullanılması bazı avantajlar sunmaktadır. Polimerlerin çeşitli maddeler ile katkılanması ile bileşiklere karşı hassasiyet ve seçicilikleri artırılabilir. En yaygın uygulamalar iletken polimerler ile modifiye edilmiş elektrotlara sahip

amperometrik dedektörlerdir (Trojanowicz,2003). Klorür katkılanmış polipirol filmleri ile elektro-inaktif anorganik anyonların amperometrik tayinleri iyon kromatografi yönteminde kullanılmış ve farklı gerilim dalga formu ve farklı akım örnekleme uygulanarak seçicilikte değişiklikler elde edilmiştir (Barisci ve ark. 1997).

Ayırmanın seçiciliği uygulanan gerilimin dalga formuna, puls üzerinde akım örnekleme noktasına ve polimer bileşimine bağlı olarak değişmektedir (John ve ark. 1996). Altın elektrot üzerinde elektrokimyasal olarak biriktirilen poli(o-fenilendiaminin) kullanıldığı amperometrik tayin tek kolonlu iyon-dışlama kromatografisi yönteminde elektro inaktif anyonların ayrımı için kullanılmıştır Xu ve ark., 2000). Çeşitli polipirol modifiye elektrotlar ise puls amperometri yöntemi ile halo-asetik asitlerin anyon kromatografisindeki tayinlerinde kullanılmıştır (Akhtar ve ark., 1997).

İletken polimerlerin sıvı kromatografisinde potansiyometrik dedektör olarak kullanımına yönelik uygulamaları vardır. Poels ve ark. (1998) yaptıkları çalışmada camı karbon elektrot yüzeyine polikarbonat ve fenilen vinilen trimerini kaplayarak bu elektrodu sıvı kromatografisinde bazı organik asitlerin tayininde kullanmışlardır. Akhtar ve ark. (1997) polipirol kaplanmış Pt elektrodu bazı inorganik asitlerin akış enjeksiyon hücresinde tayininde potansiyometrik dedektör olarak kullanmışlardır. Şahin ve ark. (2008) polipirol ve aşırı yükseltgenmiş polipirolü bazı inorganik anyon ve katyonların tayininde kullanmışlardır. Bu çalışmada polipirol ve aşırıyükseltgenmiş polipirol filmleri ile kaplanan Pt elektrotlar iyon kromatografisinde potansiyometrik dedektör olarak kullanılmıştır.

İletken polimerlerin son yıllarda kapiler elektroforez yönteminde dedektör olarak kullanımına yönelik de çalışmalar bulunmaktadır. Poels ve Naggels (1999) yaptıkları çalışmada polipirol ve iletken oligomerlerle modifiye edilmiş Cu elektrotlar bazı karboksilik asit ve inorganik anyonların kapiler elektroforez yöntemiyle ayırımında potansiyometrik dedektör olarak kullanılmıştır. Castelletti ve ark. (2002) kapileri polianilin ile modifiye ederek kapiler elektroforez yönteminde askorbik asit tayininde kullanmışlardır.

### 1.5.5. İletken polimerlerin biyosensör uygulamaları

Metal ve anorganik yarı iletkenlerin elektriksel ve bazı optik özelliklerine benzer özellikler sergileyen iletken polimerler aynı zamanda klasik polimerlerin kolay sentezlenebilme ve işlenebilme özelliklerini de sergilerler. Bu benzersiz özellikler iletken polimerlere mikroelektronik endüstrisinde, pillerde, fotovoltaiik cihazlarda, elektrokromik sistemlerde ışık yayan diyotlarda ve son dönemlerde biyomedikal alanda kullanılma imkanı sağlamıştır. İletken polimerlerin biyomedikal uygulamaları 1980li yıllarda bu maddelerin biyosensör tasarımıında kullanılan birçok biyolojik moleküle uyumlu olduğunun görülmesiyle yoğunlaşmıştır. 1900'lü yıllarda iletken polimerlerin elektrik uyarımı ile hücrel aktivitelelerin ayarlanmasını kapsayan hücre adhezyonu, migrasyon, DNA sentezi ve protein salgılanmasında görev alabildikleri görülmüştür. Bu çalışmaların çoğu elektrik impulslarının olduğu hücre, kemik, kas ve kalp hücrelerini kapsamaktadır. İletken polimerlerin biyouyumluluk, biyolojik moleküllerin kontrollü hapsedilmesi ve salınması, biyokimyasal bir reaksiyonda yük transferini sağlamaları, fiziksel, kimyasal ve diğer özelliklerinin kolayca değiştirilebilmesi gibi özellikleri biyomedikal uygulamalarda kullanım avantajı sağlamıştır. Bu üstün özellikler iletken polimerlere biyosensörler, yapay doku mühendisliği, ilaç salınım sistemleri, sinir problemleri ve biyoaktüatörleri kapsayan biyomedikal uygulamalarda kullanılma imkanı tanımaktadır. İletken polimerlere ek olarak diğer elektroaktif maddeler de biyolojik uygulamalarda kullanılmıştır. Örneğin piezoelektrik malzemeler doku mühendisliğinde, altın, iridyum ve silikon sinir problemlerinde ve sensörlerde kullanılmıştır. Ancak iletken polimerlerin bu malzemelere göre kullanım avantajları vardır. İletken polimerler ucuz, kolay sentezlenebilir ve katkılama ve hapsetme ile yapısı değiştirilebilir malzemelerdir. İletken polimerler ayrıca biyosensör uygulamaları için elektrot yüzeyine kaplanabilir ve etkili bir dönüştürücü mekanizmasının gerçekleşebilmesi için biyolojik maddelerle etkileşime geçebilirler (Guimard ve ark. 2007).

Enzimin elektrot ile birleştirilmesiyle başlayan ilk biyosensör çalışmalarından bu zamana kadar klinik amaçlı pek çok metabolitin (glikoz, hormonlar, nörotransmitterler, antibodiler, antijenler gibi) teşhisine yönelik

çalışma yapılmıştır. Biyosensör uygulamalarının en can alıcı noktası biyolojik tayin birimi ile dönüştürücüyü birleştirebilmektir. İletken polimerler genellikle enzim gibi bir biyolojik tayin biriminden gelen sinyalleri işleme alan bir dönüştürücü olarak davranırlar. Biyosensör çalışmalarında iletken polimerler elektrot ile enzim gibi biyolojik tayin birimi arasındaki elektron transferini sağlarlar. İletken polimerler biyolojik türler için uygun bir immobilizasyon ortamı olarak davranırlar. Biyolojik türler farklı teknikleri ile iletken polimere immobilize edilirler. Ayrıca ferrosen, violojen, Prusya mavisi ve türevleri gibi redoks medyatörleri iletken polimerlerle birlikte kullanılarak iletken polimerin elektron aktarımını hızlandırarak sensörün hassasiyetini ve seçiciliğini artırırılar (Guimard ve ark. 2007).

## 1.6. Polipirol

### 1.6.1. Polipirolün kimyasal ve elektrokimyasal sentezi

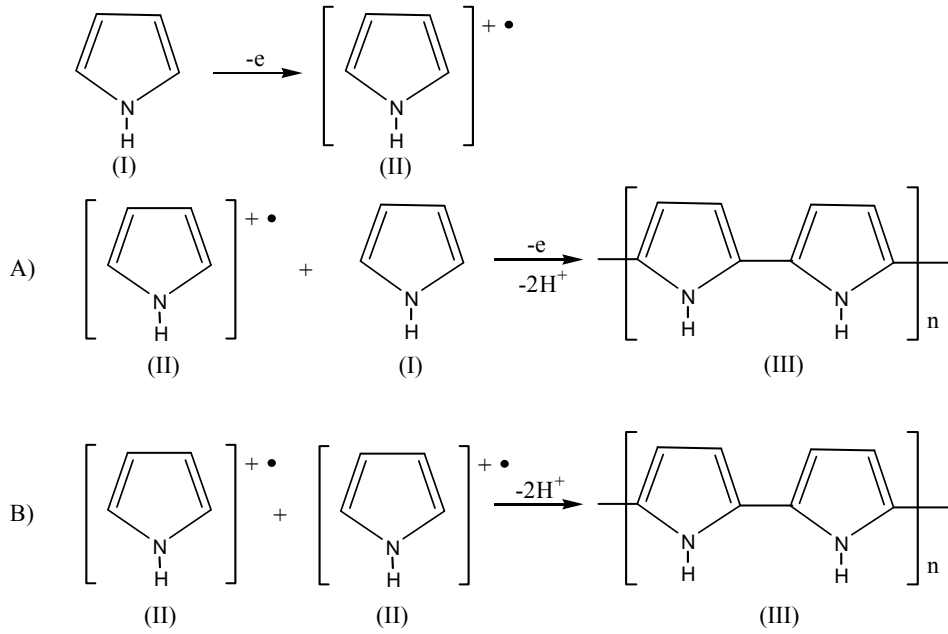
Polipirol ve türevleri yüksek iletkenliği, kolay sentezlenmeleri ve yükseltgenmiş formunun kararlılığı gibi özelliklere sahip oldukları için iletken polimerler arasında en çok çalışılan grup olmuştur. Polimer, kimyasal veya elektrokimyasal yolla kolaylıkla sentezlenebilir.

Polipirol ilk kez 1916 'da Angeli tarafından hidrojen peroksit kullanılarak kimyasal yolla sentezlenmiştir. Polipirol aynı zamanda pirol siyahı olarak da bilinmektedir (Zarras ve ark. 2003).

Kimyasal polimerizasyonda  $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  ve  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{6+}$ ,  $\text{Ce}^{4+}$ ,  $\text{Ru}^{3+}$ ,  $\text{Mn}^{7+}$  gibi geçiş metalleri içeren tuzlar kullanılır. Sadece  $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$  yükseltgeyici kullanılması durumunda polimerizasyon hızı artar ancak iletkenlikte azalma görülür.

1979'da Diaz ve çalışma grubu asetonitril çözeltisinde pirolün elektrokimyasal polimerizasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Elektrokimyasal yolla elde edilen filmlerin oda koşullarında  $10-100 \text{ Scm}^{-1}$  iletkenlik gösterdiğini, iletkenliğin soğuma ile azaldığını ve  $-193 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de  $30 \text{ Scm}^{-1}$  olduğunu bildirmişlerdir.

Genies ve arkadaşlarının (Genies ve Bidan 1983; Imanishi ve ark. 1988) önerdiği polimerizasyon mekanizmasına göre, pirol monomeri, (I), bir elektron vererek katyon radikaline, (II)'ye, yükseltgenmektedir. Daha sonra, elektrofilik aromatik substitüsyon reaksiyonu ile (A), veya radikal birleşme (coupling) reaksiyonu ile (B), meydana gelen yapıdan iki protonun eliminasyonu sonucu bir dimer, (III), oluşmaktadır. Aromatik dimer ve daha büyük molekül ağırlığına sahip oligomerler, aynı reaksiyon mekanizması gereğince polimeri oluşturmaktadır. Her iki polimerizasyon mekanizması da radikal katyon ara ürünü üzerinden gerçekleşmektedir. Genies ve arkadaşları tarafından pirol'ün elektrokimyasal polimerizasyonu ile polipirol (PPy) oluşumu için önerilen bu mekanizma Şekil 1.6' da gösterilmiştir.

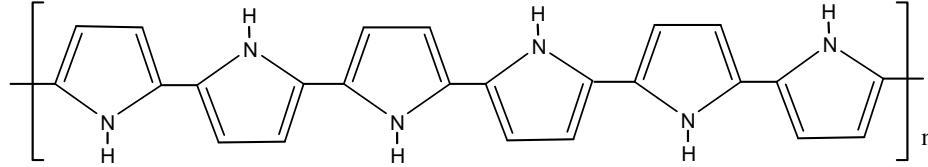


Şekil 1.6. Pirolün elektrokimyasal polimerizasyonu için önerilen reaksiyon mekanizması

Polipirol farklı formlarda bulunabilir. Kimyasal katılma yoluyla sentezlenen polipirol yalıtkandır. Elektrokimyasal yöntemle sentezlenen iletken polimerler iki formda bulunabilirler. Bunlar kısmen yükseltgenmiş form ve tamamen yükseltgenmiş formdur. Düşük potansiyel uygulamaları kısmen yükseltgenmiş ve iletkenliği düşük, yeniden sentezlenmesi güç polipirol filmlerinin oluşmasına neden olur. Yüksek gerilim uygulamaları ise tamamen

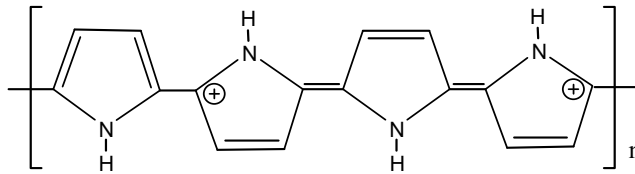
yükseltgenmiş ve elektrokimyasal özellikleri değiştirilebilir, karakterize edilebilir polipirol filmlerinin oluşmasını sağlar (Hussain 2005).

Pirolün elektrokimyasal polimerizasyonu sonucu meydana gelen nötral polimerin yapısı Şekil 1.7’de gösterilmiştir (Mizoguchi ve ark. 1997).



Şekil 1.7. Nötral (katılanmamış) polipirol yapısı

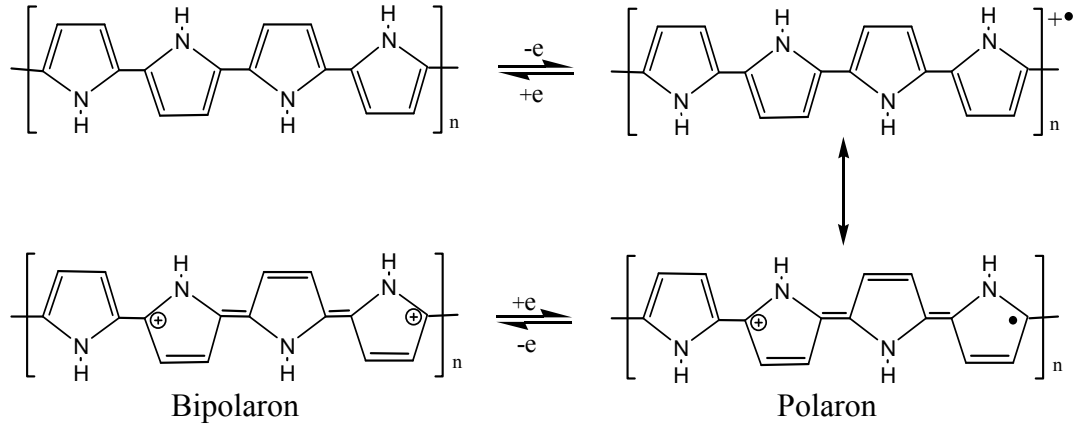
Polipirol filmi nötral halde yalıtkandır. Ancak film yükseltgendikten sonra ortaya çıkan yapı yüksek iletkenlik gösterir (Czerwinski ve ark. 1987). Polipirol’ün elektronik olarak iletken hali Şekil 1.8’de verilmiştir (Samuelson ve Druy 1986).



Şekil 1.8. Polipirolün yükseltgenmiş yapısı (bipolaron)

Asavapiryanont ve çalışma grubu 1984 yılında yaptığı bir çalışmada kulometri ve dönüşümlü voltametri yöntemlerini kullanarak polimerin hazırlanış koşullarının polimerin yapısını etkilediğini göstermişlerdir. Nötr ya da hafif asidik ortamda filmin sırasıyla, sarı, mavi ve son olarak siyah rengi alarak oluştuğunu bildirmişlerdir. 0,65-0,85 V potansiyel aralığında filmlerin iletken ve parlak yüzeylere sahip olduğunu göstermişlerdir.

Polipirolün yükseltgenme-indirgenme reaksiyonu (Şekil 1.9) esnasında filmde renk değişimi (elektrokromik özellik) gözlenmektedir. Polimer indirgenmiş durumda açık kahverengi/sarı renkte iken, yükseltgenmiş konumda siyah kadifemsi bir görünüme sahip olmaktadır (Diaz ve ark. 1981).



Şekil 1.9. Polipirolün yükseltgenme- indirgenme mekanizması

### 1.6.2. Aşırı yükseltgenmiş polipirol

İletken polimerler arasında polipirolün nötral pH aralığında kullanılabilme ve çeşitli substrat maddelerle kararlı filmlerinin oluşturulabilmesi gibi özellikleri vardır. Polipirol alkali ortamda pozitif gerilim uygulandığında iletkenliğini ve katkılama özelliğini kaybetmesine neden olan aşırı yükseltgenmeye uğrar.

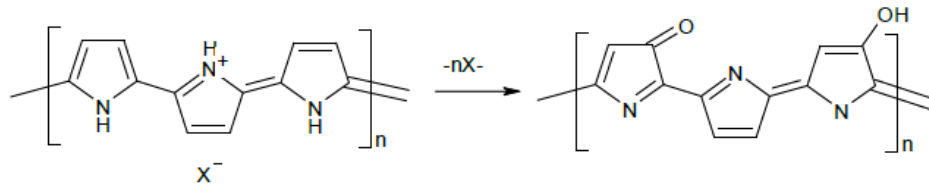
Polipirol teknolojik uygulamalarına olumlu katkısı olan yüksek iletkenliği ve çevresel kararlılığı gibi özellikleri açısından büyük ilgi görmektedir. Bu polimer monomerin elektrokimyasal yükseltgenmesi ile katkılanmış iletken filmin oluşmasıyla sentezlenebilir. Polimer özelliğinin uygulanan gerilim, akım yoğunluğu, reaktantların derişimleri, çözücü türü, elektrot substratları gibi faktörlerden etkilendiği bilinmektedir. Yapısal değişikliklerin istenilen polimer özelliklerini azaltacağıının bilinmesi polipirol uygulamaları için önemlidir. Bu değişikliklerden biride tersinmez bir işlem olan aşırı yükseltgenmedir (Fernandez ve ark. 2005).

Polipirolün davranışı yükseltgenme basamağına bağlıdır. İndirgenmiş polipirol yalıtkan özelliğe sahiptir. Polimer iskeletinin yükseltgenmesi polimere elektronik iletkenlik sağlar ve moleküler yapıyı değiştirir. Nükleofiller varlığında polipirol sübstitue ürünler oluşturur. Hidroksil iyonu gibi kuvvetli nükleofil



gruplar konjuge çift bağı yapısını bozan kinon boşluklarının oluşmasına neden olur. Polimerin bu şekilde tersinmez modifikasyonları aşırı yükseltgenme olarak tanımlanır. Aşırı yükseltgenme polimerin iletkenliğinin ve optik özelliklerinin azalmasına neden olduğu gibi polimere iyon değişim özelliği de sağlayabilir (Mostany ve Scharifker 1997).

Aşırı yükseltgenme mekanizması hala tam olarak aydınlatılmamış olsada pirol halkasında  $\beta$  karbonu üzerinde karbonil gruplarının oluşmasının polimer zincirinde konjugasyonu engellediği X-ray fotoelektron spektroskopisi çalışmalarıyla gösterilmiştir. Son zamanlarda aşırı yükseltgenme suyun elektrolizi ile bağlantılı olarak düşünülmüş ve tersinmez yakın infrared absorptans spektrumundaki azalma karşıt anyonların katılanmadığını göstermiştir. Redoks mekanizmasının ve polipiroldeki yapısal değişimin incelenmesi için spektroeletrokimyasal çalışmalarda yapılmıştır. Farklı pozitif gerilimlerde absorpsiyon spektrumunda potansiyel değeri arttıkça absorptansın azaldığı aşırı yükseltgenmenin gerçekleştiğini kanıtlamaktadır (Fernandez ve ark. 2005).



Şekil 1.10. Polipirolün aşırı yükseltgenme reaksiyonu

Polimer zincirine karbonil, karboksilat gibi oksijen içeren grupların katılması sonucu katyonik yüklerin azalmasından dolayı aşırı yükseltgenmiş polipirol filmleri, metal iyonları ve ilaçlar gibi katyonik türlere karşı seçicilik gösterir. Büyük çapta anyonların bulunduğu çözeltilerde hazırlanan aşırı yükseltgenmiş polipirol (AYPPy), anyonların varlığında katyonik türlerin voltametrik tayini için kullanılabilir (Şahin 2005).

Aşırı yükseltgenmiş polipirolün biyosensör uygulamalarında kullanımına yönelik çalışmalar bulunmaktadır. Guerrieri ve ark. (1998) yaptıkları çalışmada aşırı yükseltgenmiş polipirol ile modifiye edilmiş Pt elektrotta glikoz tayininde kullanmışlardır. Ozkorucuklu ve ark., (2008) yaptıkları bir çalışmada molekül

baskılanmış aşırı yükseltgenmiş polipirol filmini bazı ilaç örneklerinde sulfametaksazol tayininde kullanmışlardır. Özcan ve ark, (2008) yaptıkları bir çalışmada aşırı yükseltgenmiş polipirolü enzimsiz glikoz biyosensörü tasarımında kullanmışlardır.

Aşırı yükseltgenmiş polipirolün sıvı kromatografisinde dedektör olarak kullanımına yönelik çalışmalar da bulunmaktadır. Şahin ve ark. (2008) aşırı yükseltgenmiş polipirolü potansiyometrik dedektör olarak kullanmışlardır. Aşırı yükseltgenmiş polipirol elektrokimyasal polimerizasyonla platin elektrot yüzeyine kaplanmış ve iyon kromatografisinde bazı katyonların tayininde kullanılmıştır. Aşırı yükseltgenmiş PPy filmlerinin katyonlara karşı seçiciliği vardır. Aşırı yükseltgenmiş film gözenekli bir elektrot kaplama olarak davranır ve katyon değişimi ve moleküler elek özelliğine sahiptir. Tamer ve ark. (2005) yaptıkları çalışmada aşırı yükseltgenmiş polipirolü Ni ve Cd iyonlarının elektrokimyasal katı faz ekstraksiyonunda kullanmışlardır. Grubumuz tarafından yapılan bir çalışmada ise aşırı yükseltgenmiş ve sülfolanmış polipirol eşzamanlı anyon ve katyonların elektrokimyasal katı faz ekstraksiyonunda kullanılmıştır (Şahin ve ark. 2008).

### 1.7. Askorbik Asit

Vitamin C veya L-Askorbik asit olarak da bilinen askorbik asit bazı meyve ve sebzelerde doğal olarak bulunan bir antioksidandır. Askorbik asit serbest radikallerin vücuttan uzaklaştırılmasında görev alır (Gioia ve ark. 2008). İnsan sağlığı açısından büyük öneme sahip askorbik asit vücutta kemik, kırık, lif ve eklemleri oluşturan bir tür protein olan kolajenlerin oluşumunda ve demir emiliminde görev alır. Eksikliği bazı enfeksiyonlara karşı hassasiyete neden olduğu gibi kırık ve yaraların iyileşmesini yavaşlatır (Florou ve ark. 2000).

Askorbik asit bazı ilaçlara ve stabilazör olarak B vitamin komplekslerine eklenmektedir. İskorbit hastalığı, soğuk algınlığı, kansızlık gibi hastalıkların tedavisinde kırık ve yaraların iyileşmesinde askorbik asit kullanılır. Askorbik asit titrimetrik, spektroskopik, kromatografik ve voltametrik yöntemlerle tayin edilir.

### 1.7.1 İletken polimer modifiye elektrotlar ile askorbik asit tayini

Nötral bir çözeltide askorbik asit tek protonlu askorbat anyonu halinde bulunur. Askorbat nötral bir çözeltide platin veya camı karbon gibi elektrotlar kullanıldığında +0,3 V civarında yükseltgenir. Askorbik asit dışında yükseltgenebilir türler içeren gerçek örneklerde daha yüksek gerilim değerlerinde yükseltgenebilir. Askorbik asitin yükseltgenme gerilimini düşürecek ve girişim yapan türlerin etkisini engelleyecek modifiye elektrotlar geliştirmek oldukça önemlidir (Malinauskas ve ark. 2004).

Askorbik asitin elektroanalitik yöntemlerle tayinindeki en büyük problem askorbik asitin çıplak elektrot yüzeyinde aşırı gerilimi ve yükseltgenme sonucu oluşan ara ürünlerin elektrot yüzeyini kirletmesidir. Bu nedenle farklı modifiye elektrotlar geliştirilerek askorbik asit tayininde kullanılmıştır. İletken polimerle modifiye edilmiş elektrotlar farklı nitelikler kazanmaktadır. Elektrotların modifiye edilmesinde amaç seçicilik ve hassasiyeti artırmaktır. Askorbik asitin elektroanalitik yöntemlerle tayininde farklı iletken polimer modifiye elektrotlar kullanılarak çalışmalar yapılmıştır.

İletken polimerlerin dedektör olarak kullanımı optik ve elektriksel metotları içerir. Elektriksel metotlardan bazıları amperometri ve potansiyometridir. Bu yöntemler arasında potansiyometri yönteminin kullanıldığı potansiyometrik sensörler tıpkı amperometrik sensörler gibi hızlı cevap verebilme ve geniş bir doğrusal aralıkta çalışabilme özelliklerine sahiptir. Potansiyometrik dedektörler ucuz ve yapımı basit olmasına rağmen sıvı kromatografisinde dedektör olarak kullanımına yönelik çalışmalar sadece akademik laboratuvarlarda sürmektedir. Askorbik asitin potansiyometrik tayinine yönelik çalışmalar incelendiğinde dodesilbenzen sulfonik asit katkılanmış polianilin (Ambrosi, 2008), polyanilin ve poliortooksoanilin (Ivanov ve ark. 2006), nanofiber polipirol (Wang ve ark. 2006), molekül baskılanmış polipirol (Özcan ve ark. 2008) gibi iletken polimerler askorbik asit tayininde kullanılan modifiye elektrot türlerine örnek olarak verilebilir.

Literatürde askorbik asitin potansiyometrik tayinine ilişkin yapılan çalışmalar bulunmaktadır. Wang ve ark. (2005) yaptıkları çalışmada kobalt ftalosiyanın ile modifiye edilmiş camı karbon elektrodu askorbik asit tayini potansiyometrik tayininde kullanmışlardır. Kocherginsky ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada sulfonik asit katkılanmış polianilini askorbik asitin potansiyometrik tayininde kullanmışlardır.

### 1.8. Parasetamol

Parasetamol (PS) ağrıkesici/analjezik olarak kullanılan bir ilaçtır. Parasetamol merkezi sinir sisteminde prostagladin sentezini önler ve hipotalamic ateş düzenleme merkezini yatıştırarak ateş düşürür. Parasetamolün bilinen diğer bir ismi asetaminofen dışında 4-asetamidofenol, N-asetil-p-aminofenol ve tylenol olarak da adlandırılmaktadır (Goyal ve Singh 2006).

Ağrı kesici özelliğinin yanı sıra viral ya da bakteriyel nedenli ateşin düşürülmesinde de kullanılmaktadır. Aspirin ile aynı özelliklere sahip olan parasetamol genellikle asetilsalisilik asite karşı duyarlılığı olan hastalarda kullanılır (Kachosangi ve ark. 2008).

Zayıf bir asit olan parasetamol ( $pK_a=9.5$ ) vücut tarafından çabuk metabolize olur ve idrar yoluyla atılır. Genel olarak parasetamolün zararlı yan etkileri yoktur fakat parasetamole karşı aşırı duyarlılık söz konusu olduğunda ve doz aşımında karaciğer ve böbreklerde zararlı metabolitlerin birikmesine neden olur (Goyal ve Singh 2006).

Karaciğer zehirlenmesi, mideye alınmasından sonraki 4 saat içinde plazma seviyesinin  $120 \mu\text{g/mL}$  seviyesine ulaşmasıyla başlar ve akut zarar plazma seviyesinin  $200 \mu\text{g/mL}$ 'ye ulaşmasıyla olur (Bosch, 2006). Aşırı doz alımında parasetamol toksik maddelerin birikmesi sonucu karaciğer bozukluğu, pankreas iltihaplanmaları ve deri döküntülerine neden olur. Parasetamolün indirgenme ürünü olan 4-aminofenol böbrek yetmezliğine neden olur. İlaç örneklerinde parasetamol miktarlarının kontrolü, ilaç endüstrisinde dolayısıyla halk sağlığı açısından oldukça önemlidir. Bu nedenle basit, ucuz, kesin ve hassas analitik metotların geliştirilmesi önemlidir.

### 1.8.1. Parasetamolün elektroanalitik yöntemlerle tayini

Literatürde PS tayinine yönelik titrimetri, spektrofotometri ve kromatografiye yönelik oldukça fazla çalışma vardır. Klinik laboratuvarlarda parasetamol bu yöntemlerle tayin edilmektedir. Titrimetrik ve spektrofotometrik yöntemler analiz öncesi ekstraksiyon basamaklarına ihtiyaç duyması, sıvı kromatografisi ise analiz süresinin uzun olması gibi dezavantajlara sahiptir. Bu metotların yanında elektrokimyasal metotlar hızlı, kesin, hassas ve düşük maliyetli olmaları nedeniyle dikkat çekmektedir (Kachosangi ve ark. 2008).

Literatürde parasetamolün elektroanalitik ölçümüne dayalı oldukça fazla çalışma bulunmaktadır. Parasetamol elektroaktif bir maddedir. Karbon pasta veya camsı karbon elektrotlar ile kolayca yükseltgenebilir. Fakat yükseltgenmenin gerçekleştiği 0.6 V ile 0.8V arasında girişim yapabilecek diğer elektroaktif türlerden dolayı bu işlem seçici değildir (Bosch,2006). Parasetamol tayini genellikle p-aminofenol, askorbik asit, glikoz, kafein ve ürenin girişim yapmasından dolayı zordur (Goyal ve Singh 2006).

Parasetamolün elektrokimyasal tayinine yönelik çalışmalar incelendiğinde bu çalışmaların çoğu karbon temelli elektrotlar kullanımı üzerine odaklanmıştır. Karbon temelli elektrotlar metal elektrotlara göre ucuz olmaları, kimyasal olarak inert olmaları, sulu elektrolitlerde kullanılabilmesi açısından sensör uygulamalarında kullanılmaktadır. Amorf karbon, camsı karbon, karbon siyahı, karbonfiber, toz grafit, pirolitik karbon, boron katkılanmış elmas ve karbon nanotüpler bazı karbon temelli elektrotlardır (Griese ve ark. 2008). Bu elektrotlar arasında camsı karbon elektrot ile parasetamol tayinine yönelik oldukça fazla çalışma bulunmaktadır. Karbon nanotüp (Sun ve Zhang 2007), polianilin (Li ve Jing 2007), nikel nanoparçacıklar, C60 (Goyal ve Singh 2006), nafyon (Silva ve ark., 2006), BiO<sub>2</sub> (Zidan ve ark. 2011), gibi malzemelerle modifiye edilmiş camsı karbon elektrotlar parasetamol tayininde kullanılmıştır. Ancak camsı karbon elektrot ile çalışmanın en büyük dezavantajı elektrot yüzeyinde yükseltgenen türlerin polimerleşerek elektrot yüzeyini kirletmesidir. Elektrot yüzeyinin her analizden önce temizlenmesi gerekir. Bu ara basamağa tek kullanımlık kalem ucu elektrot kullanılarak çözüm bulunabilir.

## 1.9. Dopamin

Dopamin sinir iletimini sağlayan bir katekolamin türüdür. Katekolaminler böbreküstü bezlerde üretilen hormanlardır. Başlıca katekolaminler dopamin, efinefrin ve norefinefrindir. Dopaminin biyosentezi oldukça basittir. Proteinlerde bulunan tirozin tirozin hidroksilaz enzimi yardımıyla L-Dopaya çevrilir. L-Dopa daha sonra enzimler yardımıyla sırasıyla norefinefrin ve efinefrine çevrilir.

Dopamin merkezi sinir sisteminde sinir iletimini sağlar ve hareketlerin, motivasyonun ve bilişsel gelişimin düzenlenmesi ve kontrolünde önemli rol oynar. Beyinde dopamin seviyesindeki anormallikler Parkinson ve şizofreni gibi psikiyatrik sorunlara, uyku, yemek düzensizliği ve ilaç bağımlılığı gibi nörolojik rahatsızlıklara neden olur (Castro ve ark. 2008).

Dopamin nöronlarının zarar görmesi sonucu dopamin miktarının azalması Parkinson hastalığına neden olur. Dopamin miktarının fazla olması şizofreni hastalığına neden olur. Şizofreni tedavisinde salgılanan dopamin hormonun dopamin reseptörlerine bağlanması engellenir. Dopamin sentezindeki dengesizlik aynı zamanda Huntington hastalığına neden olur. Dopamin salınımı tetrabenazin ile azaltılarak bu hastalığa çözüm bulunmaktadır. Dopamin bu rahatsızlıkların yanında ilaç bağımlılığına, dikkat bozukluğuna ve HIV enfeksiyonuna neden olmaktadır.

### 1.9.1. Dopaminin elektrokimyasal tayini

Dopamin tayininde birçok analitik yöntem kullanılmaktadır. Dopaminin bir çok bileşik varlığında eşzamanlı olarak tayininde akış enjeksiyon, kapiler elektroforez, yüksek performanslı sıvı kromatografisi, floresans spektroskopisi gibi yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin bir kısmının analiz süresi uzun, çözücü sarfiyatının fazla olması ve düşük seçiciliğe sahip olması gibi dezavantajlara sahipken bir kısmı da örnek önderiştirme basamağına ihtiyaç duyması ve analizlerin oldukça maliyetli olması gibi dezavantajları vardır.

Dopaminin elektroaktif bir molekül olması nedeniyle dopamin tayininde elektrokimyasal yöntemler tercih edilir. Dopamin elektrokimyasal yükseltgenmesi

sırasında iki elektron kaybederek dopamin-o-kinona dönüşür. Dopamin-o-kinon sırasıyla lökodopaminkroma ve dopaminkroma dönüşür. Dopaminin elektrokimyasal tayinini zorlaştıran üç önemli problem vardır. Bunlardan birincisi dopaminin yükseltgenmesi sonucu oluşan dopaminokromun daha sonra melanin polimerine dönüşmesi ve bu polimerin elektrot yüzeyini kirletmesidir (Harley 2009). Dopaminin elektrokimyasal tayininde karşılaşılan bir diğer güçlü dopaminin kanda ( $0.01-1\mu\text{ML}^{-1}$ ) ve idrarda ( $65-400\text{ mcg}/24\text{ saat}$ ) miktarının çok düşük olmasıdır (Kim ve ark. 2008).

Dopaminin elektrokimyasal tayinindeki en önemli problemlerden üçüncüsü de, dopamin içeren biyolojik sıvılarda ürik asit ve askorbik asit gibi elektroaktif maddelerin varlığıdır. Çıplak elektrotlar ile yapılan çalışmalarda askorbik asit, ürik asit ve dopamine ait yükseltgenme pikleri hemen hemen üst üste çakışır. Bu yüzden askorbik asit ve ürik asit varlığında dopamine karşı seçici, hızlı ve basit tayin metotlarının geliştirilmesi oldukça önemlidir (Alwarappan ve ark. 2010).

Dopamin tayininde girişim etkilerini azaltmak ve seçiciliği artırmak amacıyla kullanılan çalışma elektrodun modifikasyonuna yönelik birçok çalışma yapılmıştır. Dopamin tayininde Au, elmas gibi pahalı elektrotların yanısıra karbon temelli (pirolitik karbon, camı karbon, karbon pasta) elektrotlar da kullanılmaktadır. Bu elektrotlar arasında karbon temelli elektrotlar geniş çalışma aralığına sahip olmaları, düşük zemin akımına sahip olmaları ve düşük maliyetli olmaları gibi avantajlara sahiptirler (Gray 2009). Bu avantajların yanı sıra karbon temelli elektrotların yüzeyinin dopaminin yükseltgenmesi sonucu oluşan polimerik yapı ile kirlenmesi ise bir dezavantajdır. Bu problem tek kullanımlık kalem ucu elektrot kullanımı ile ortadan kaldırılabilir.

### 1.10. İyon Kromatografisi

Kromatografi birbirine yakın özellikteki kimyasal türlerin ayrılmasında, ayrılan türlerin kalitatif olarak tanımlanmasında ve kantitatif olarak tayin edilmesinde kullanılan bir analitik yöntemdir. Kromatografide numune gaz, sıvı veya bir süperkritik akışkan olan hareketli faz ile taşınır. Bu hareketli faz bir

kolonda veya bir katı yüzeyde sabitleştirilmiş kendisi ile karışmayan bir durgun faz içinden geçmeye zorlanır. Bu iki faz numune bileşenlerinin hareketli ve durgun fazlarda farklı oranlarda dağılacağı şekilde seçilir. Durgun faz tarafından kuvvetli tutulan numune bileşenleri, hareketli fazın akışıyla çok yavaş hareket ederler. Buna karşılık, durgun faz tarafından zayıf tutulan bileşenler hızlı hareket ederler. Bu hareket hızlarının farklılığı sonucu, numune bileşenleri birbirlerinden kalitatif ve/veya kantitatif olarak analizlenebilen farklı bantlar ve bölgeler şeklinde ayrılırlar.

Kromatografik yöntemler hareketli faz ile sabit fazın fiziksel olarak etkileşimlerine bağlı olarak kolon ve düzlemsel kromatografi olarak sınıflandırılırlar. Kromatografinin daha temel bir sınıflandırması ise hareketli fazın türü temel alınarak yapılır. Hareketli fazın türüne göre kromatografik yöntemler sıvı, gaz ve süper kritik akışkanlı kromatografi olmak üzere üçe ayrılırlar. İyon kromatografisi sıvı kromatografisinin bir alt sınıfı olarak tanımlanmıştır. İyon değişim kromatografisi ile bozucu iyon etkilerinin azaltılması, anyon ve katyonların ayrılması analitik laboratuvarlarında yaygın bir uygulama alanı bulmuştur. 1935’ te Adams ve Holms büyük molekül ağırlıklı organik reçinelerin sentezi ile modern iyon değişim reçineleri çağını başlatmışlardır (Wegrzyn 1990).

İyonik türlerin ayrılması iyon değişim reçinelerinde sağlanır. Bu reçineler iyonik safsızlıkları uzaklaştırmak, bir ya da birkaç türün derişimi, kimyasal reaksiyonların katalizlenmesi ve kolon kromatografisi ile iyonların ayrılmasında kullanılmaktadır. Birçok iyon ayırma sistemi şematik olarak geliştirilmiş ancak ticari olarak geliştirilememiştir.

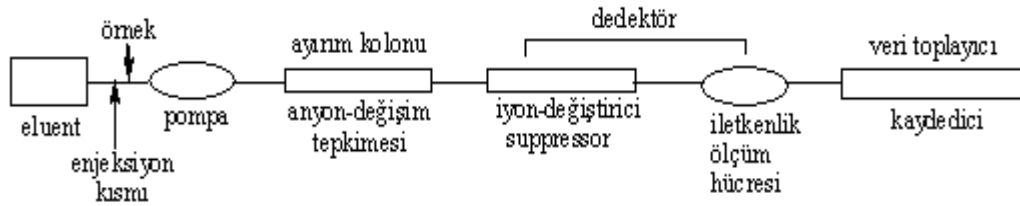
İyon kromatografisi genel olarak su içerisinde çözünebilen veya sulu çözeltiye ekstrakte edilebilen katı örneklerle uygulanmaktadır. Örneği iyon kromatografisi sistemine vermeden önce seyreltme veya süzme işlemleri gerekebilir. Toprak veya hava filtreleri gibi çözünmeyen katı örneklerin analizi için genellikle bunların önce sulu çözelti içerisine ekstrakte edilmesi gerekmektedir. İyon kromatografisi; içme suyu ve atıksulardaki kirliliklerin, hava kirliliğinin, biyolojik çözeltilerdeki iyonik türlerin belirlenmesinde, endüstriyel proseslerde kalite kontrolünde, gıda ve içecek analizlerinde kullanılır. Ayrıca



kütle spektrometresinde ve diğer spektroskopik yöntemlerden önce karışımdaki bileşenlerin saflaştırılmasında kullanılır. İnorganik anyon ve katyonların, organik asitlerin, aminlerin, aminoasitlerin, karbonhidratların ve nükleik asitlerin belirlenmesinde iyon kromatografisi kullanılır (Statler 1997).

Bir iyon kromatografisi cihazının ana bileşenleri beş bölümde incelenebilir (Şekil 1.11). Bunlar;

- Eluent pompası ve sıvı kapları,
- Enjeksiyon kısmı,
- İyon değiştirici ayırma kolonu,
- Suppressor (baskılayıcı) kolonu ile beraber iletkenlik dedektörü ve veri toplayıcı,
- Rejenerasyon pompasıdır.



Şekil 1.11. İyon kromatografisi cihazının ana bileşenleri (Şahin, M. 2005)

Tüm iyon kromatografisi sistemlerinde, bir eluent ve pompası, enjeksiyon kısmı, iyon ayırımlarının gerçekleştiği bir ayırma kolonu ve dedektör bulunmaktadır. Bazı iyon kromatografi sistemlerinde ayırma kolonu ile dedektör arasında, eluent iyonlarının background iletkenliğini azaltıp, örnek iyonlarının tek ve daha iletken forma dönüşmesini sağlamak amacıyla bir suppressor kolon kullanılmaktadır. Bu tür sistemlere suppressed iyon kromatografisi, buna karşın suppressorün kullanılmadığı, dolayısıyla ayırma kolonundan çıkan örnek iyonlarının doğrudan dedektöre ulaştığı sistemlere ise non-suppressed iyon kromatografisi adı verilmektedir. Non-suppressed sistemlerde background iletkenliği elektronik devreler yardımıyla düşürülse bile, eser miktardaki madde analizlerini yapmak hemen hemen olanaksızdır. Bu tek kolonlu sistemler, yüksek

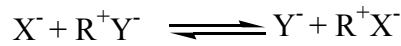
duyarlılık gerekmeyen veya örneklerin çok kompleks olmadığı durumlarda kullanılmaktadır (Smith ve Chang 1991).

İyon kromatografisi diğer kromatografik yöntemlere göre aşağıdaki üstünlüklere sahiptir:

- İyon kromatografisi, yüksek duyarlılığa sahiptir. Bilinen birçok inorganik iyon için tayin sınırı yaklaşık  $1-5 \mu\text{g L}^{-1}$  (ppb) arasındadır. Buna karşın bu sonuç, dedektörün analite karşı verdiği cevaba, ayırma yönteminin doğasına ve büyük ölçüde örnekte girişim yapan türlere bağlıdır.
- Rutin analizler için kesinlik yaklaşık % 3, fakat bir iç (internal) standart kullanılarak analizin dikkatli ve denetim altında yapılmasıyla bağlı standart sapmayı % 1'den daha düşük elde etmek olasıdır.
- Bir örnekteki çok farklı iyonlar tek basamakta kolayca belirlenebilmektedir.
- Diğer analitik yöntemlerde karışıklığa yol açan matriks sorunları ile iyon kromatografisinde karşılaşılmamaktadır (Statler 1997).

### 1.10.1. İyon değişim mekanizması

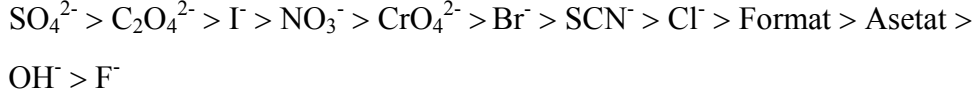
İyon değişimi ile ayırma, çözeltildeki iyonların çözünmeyen destek yüzeyindeki benzer yüklü iyonlarla yer değiştirmesine dayanır. İyon değişimi aşağıdaki gibi gösterilebilir.



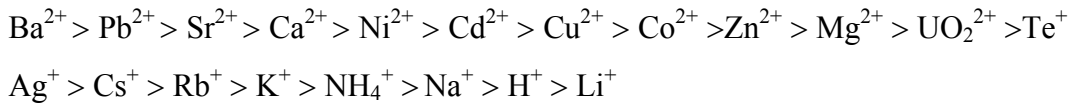
Burada  $X^-$  çözünen,  $R^+$  reçine ve  $Y^-$  eluente ait karşıt iyonudur. Yüklü tür olan  $X^-$  iyon değişim kolonunda bulunan yüklü bölgeler için eluente ait  $Y^-$  karşıt iyonu ile yarış halindedir.

İyonik türlerin alıkonmaları eluent pH'nın değiştirilmesi, eluent türlerin yükünün ve eluent konsantrasyonunun artırılması ile kontrol edilebilir. pH eluent iyon formunu kontrol eder ve çok yüklü türlerde iyonik şiddeti etkiler (Palmer 1993).

İyonik seçicilik kolondan kolona değişir. Ancak anyon ve katyonlar için alıkonma zamanı sırası ile anyonlar için



katyonlar için



şeklindedir.

### 1.10.2. Sabit faz ve hareketli faz

İyon kromatografisinde sabit faz iyon değiştirici reçinelerdir. İyon değiştiriciler organik ya da inorganik çözünmeyen matriks, matriks yüzeyinde çözünmeyen bölgeler ve bu iyonik bölgelere bağlanmış zıt yüklü iyonlardan oluşur. Matriks yüzeyine bağlanmış grupların fonksiyonel gruplara sahip olmaları tercih edilir. Matriks yüzeyindeki karşıt yüklü iyonlar ise hareketlidir ve hareketli fazın içerdiği benzer yüklü iyonlarla yerdeğiştirme yeteneğine sahiptir.

Birçok madde iyon değiştirici gibi davranma yeteneğine sahiptir. Bu maddeler killer, doğal ve sentetik zeolitler, bazı inorganik oksitler, inorganik tuzlar ve organik polimelerdir.

İyon kromatografisinde yaygın olarak kullanılan fonksiyonel gruplar; sülfonik, karboksilik, fosfonik, fosfinik, arsenik, selenoik asitler, fenoller gibi katyon değiştiriciler ve kuaterner amonyum, tersiyer, sekonder ve primer aminler gibi anyon değiştiricilerdir.

Katyon değiştiricilerin fonksiyonel grupları, sanki iyonlaşıyorlarmış gibi davranabilirler. Bu nedenle kuvvetli asit ve zayıf asit tipine göre sınıflandırılırlar. Kuvvetli asidik fonksiyonel gruplar, geniş pH aralığında, bunun tersine zayıf asidik fonksiyonel gruplar, sınırlı pH aralıklarında iyonlaşırlar. Sülfonik asit gibi

katyon değiştiriciler kuvvetli asit türü iyon değiştiricilerdir. Diğer katyon değiştiricilerin çoğunun fonksiyonel grupları zayıftır. Zayıf asidik fonksiyonel gruplar pKa değerlerinden daha yüksek pH değerlerinin kullanılmasını gerektirmektedir. Benzer şekilde, anyon değiştiriciler de kuvvetli baz ve zayıf baz değiştiriciler olarak sınıflandırılabilirler. Kuaterner amonyum fonksiyonel grupları, kuvvetli anyon değiştirici gruplar olarak bilinmektedirler. Kuvvetli baz, geniş bir pH aralığında pozitif yüklü olacak ve bu nedenle zayıf anyon değiştiricilerin aksine bir anyon değiştirici olarak davranacaktır.

İyon kromatografisinde en çok kullanılan iyon değiştiriciler stiren-divinil benzen kopolimeri gibi polimerlerden yapılan ya da iyon değiştiricinin kimyasal olarak bağlandığı silikadır. İyon değiştiriciler polimer bazlı reçineler, silika bazlı reçineler ve şelatlayıcı iyon değiştiricilerdir.

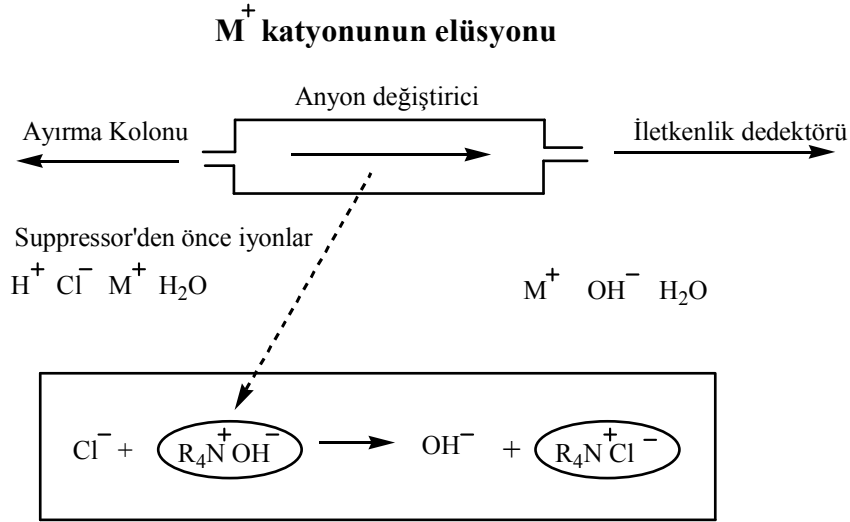
Non-suppressed ve suppressed iyon değişim kromatografisi için birbirinden farklı hareketli fazlar kullanılmaktadır. Non-suppressed iyon değişim kromatografisinde anyonlar için en çok kullanılan hareketli fazlar (eluentler); aromatik karboksilik asitler ve tuzlar, alifatik karboksilik asitler, aromatik ve alifatik sülfonik asitler, KOH, borat kompleksleri, EDTA ve inorganik tuzlardır.

Non-suppressed iyon değişim kromatografisinde katyonlar için en çok kullanılan hareketli fazlar (eluentler), inorganik asitler ve organik bazlardır. Nitrik asit gibi inorganik asitlerin seyreltik çözeltileri, non-suppressed iyon kromatografisiyle aminlerin ve alkali metal katyonların ayrılmasında çok kullanılan eluentlerdir. Organik bazların protonlanması pH'ın azalmasıyla arttığı için düşük pH'larda katyon değişim eluentleri olarak kullanılmaktadırlar (Levin 1998).

### 1.10.3. Suppressor

Suppressor'ler, hareketli fazın oldukça iyonik olması durumunda kullanılmakta ve iletkenliği azaltmaktadırlar. Suppressor olmadığında çok yüksek iletkenliğe sahip belirlenemeyen türler, suppressor kullanımıyla belirlenebilmektedir. Ayırma kolonlarında karşıt yüklü fonksiyonel gruplar içeren iyon değişim tipi kolonlar suppressor olarak kullanılmaktadır. Örneğin; Na<sup>+</sup> ve K<sup>+</sup>

kasyonlarını içeren bir karışımın ayırımında, kation değiştirici reçine ve HCl'den oluşmuş bir hareketli faz kullanıldığında, kolonun sonundaki asidik ortam içinde,  $\text{Na}^+$  ve  $\text{K}^+$  kasyonları,  $\text{Cl}^-$  anyonlarına eşlik edecekler ve böylece elektronötrallik korunacaktır.



**şekil 1.12.** Suppressor ile elüsyon

Özet olarak; bir suppressor içeren anyonik reçine  $[\text{ArCH}_2(\text{NR})_3\text{OH}]$  hareketli fazı nötralleştirmek amacıyla bir kationik ayırım kolonuyla ( $\text{ArSO}_3\text{H}$ ) etkileşecektir.

Son zamanlarda, elektrolitik reaksiyonlar için otorejenerasyon (autoregenerating) suppressor'ler kullanılmaktadır. Bunlar hem elektroliz ile rejenere edilebilen reğinenin yer aldığı özel bir kolon hem de suyun elektrolizi ile rejenere iyonların üretildiği bir membran suppressordan oluşmaktadır.

#### 1.10.4. İyon kromatografisi dedektörleri

##### 1.10.4.1. İletkenlik dedektörleri

İletkenlik dedektörleri iyon kromatografisinde en yaygın kullanılan dedektör türüdür. Kolon sonunda yer alan dedektör hücresi küçük bir hacme

sahiptir. İyonlar için en uygun dedeksiyon yöntemi iletkenlik dedektörüdür. Ancak eluentin background iletkenliği yöntemin duyarlılığını azaltmaktadır. Bu nedenle kolon ile dedektör arasına suppressor kolon yerleştirilir. Suppressor eluentten gelen iletkenlik sinyalini azaltır. Anyonların belirlenmesinde suppressor,  $H_3O^+$  formunda bir katyon değiştirici ve katyonların belirlenmesinde ise,  $OH^-$  formunda bir anyon değiştiricidir.

#### 1.10.4.2. UV-görünür bölge dedektörleri

İyon değişim ayırmalarında, seçiciliği oldukça yüksek olan spektrofotometrik dedektörler sıklıkla kullanılmaktadır. İyon kromatografisinde  $NO_2^-$  ve  $NO_3^-$  gibi kromofor özelliğe sahip iyonlar UV dedektörleri ile kolaylıkla tayin edilirken kromofor içermeyen anyonlar aynı yüklü ve kromoforik özelliğe sahip bir eluent kullanılarak tayin edilirler.. UV-görünür bölge dedektörü ile  $N_3^-$ ,  $Cl^-$ ,  $Br^-$ ,  $BrO_3^-$ ,  $I^-$ ,  $IO_3^-$ ,  $NO_2^-$ ,  $NO_3^-$ ,  $SO_3^{2-}$ ,  $S^{2-}$ ,  $SeO_3^{2-}$  ve  $S_2O_3^{2-}$  vb. anyonlar, tritiyonat, tetratiyonat ve pentatiyonat, bazı aril aminler ve organik aistlerin tayini mümkündür.

#### 1.10.4.3. Optik dedektörler

En yaygın olarak kullanılan optik dedektörler, absorbans ve floresans dedektörleridir. Floresans dedektörleri iyon kromatografisinde nadir olarak kullanılırken, absorbans dedektörlerinin kullanımı oldukça yaygındır. Absorbans dedeksiyonunda, post-kolon türevlendirmesinden sonra fotometrik dedeksiyon ve dolaylı fotometrik dedeksiyon kullanılabilir.

İyon değişim işlemi sırasında, sabit fazdaki fonksiyonel grupların iyonik derişimi sabit kalmaktadır. Analit iyonlarının dedektörde belirlenebilmesi için eluent iyonlarının kromofor grup içermemesi gerekmektedir (Statler 1997).

#### 1.10.4.4. Potansiyometrik dedektörler

İyon kromatografisinde en yaygın kullanılan dedektör türü iletkenlik dedektörü olmasına rağmen alternatif dedektör tiplerinin geliştirilmesine yönelik çalışmalar sürmektedir. Bu dedektör türlerinden biri de potansiyometrik dedektörlerdir. Potansiyometrik dedektörler iyon kromatografisine bağlandığında bir akış (flow) sistemine benzerler. Potansiyometrik dedektörlerin yapımı basit ve ucuz olmasına rağmen henüz bir sıvı kromatografisinde veya kapiler elektroforez yönteminde rutin analizlerde kullanılmamakta sadece akademik araştırma laboratuvarlarında kullanılmaktadır (Szigeti, 2006).

Potansiyometrik yöntemler, analit iyonlarının iç elektrot çözeltisine difüzenerek oluşturduğu potansiyel (mV) değişikliklerinin ölçümünü içermektedir. Referans elektrodu ile çalışma elektrodu arasında ölçülen bu potansiyel farkı analit iyon derişimi ile orantılı olmaktadır. Referans elektrodun bulunduğu hücrenin derişimi ve potansiyel bilindiği için ölçülen potansiyel farkından analitin derişim hesaplanmaktadır. Bu yöntemde analit iyonu hiçbir değişikliğe (bozunmaya, kompleksleşme vb.) uğramadan dedektörün içerisine difüzlenmekte ve aynı şekilde tekrar dışarı çıkmaktadır. Genel olarak referans elektrodun yanında iyon seçici elektrotlar (ISE) kullanılmaktadır. Dedektör bir akış sistemine bağlandığında elde edilen kromatogramda pikin yüksekliği ve alanı kullanılarak derişimi bilinmeyen iyonun derişimi bulunmaktadır. Burada y ekseninde potansiyel (mV) bulunmaktadır. Bu değer, referans elektrodu ile indik特or elektrot arasındaki potansiyel farkıdır. Bu potansiyel farkı iyon derişimiyle ilgili olduğu için nicel analizde kullanılabilir (Ngila 1998).

#### 1.10.4.5. Amperometrik dedektörler

Amperometrik dedektörlerle indirgenebilen ya da yükseltgenebilen türler tayin edilirler. Yöntemin temeli gerilim uygulanıp akım ölçülmesine dayanır. Üçlü elektrot sisteminde iki elektroda gerilim uygulanarak elektroaktif türün yükseltgenmesi ya da indirgenmesi sonucu ortaya çıkan akım derişimi ölçülür. Doğru akım amperometrisi olarak da adlandırılan bu yöntemde  $CN^-$ ,  $S^{2-}$  gibi

iletkenlik dedektörü ile tayini zor olan anyonlar tayin edilir. Uygulanacak olan gerilim sadece analite ait olan indirgenme veya yükseltgenme gerilimi olduğundan girişim yapan türlerin etkisi azaltılmış olur. Uygulanan gerilim puls şeklinde olduğunda puls amperometrik dedektör olarak adlandırılır. Puls amperometrik dedektör anyonların dışında bazı karbonhidratların tayininde de kullanılır. Son yıllarda diğer elektroaktif türlerin tayininde de amperometrik dedektörler kullanılmaktadır (Statler 1997).

#### 1.10.4.6. Kırılma indisi dedektörleri

İyon kromatografisiyle, çözünenlerin çoğu kırılma indisi dedektörüyle doğrudan belirlenemezler, fakat polikarboksilik asitler, polifosfonatlar veya sülfonyum iyonları gibi büyük moleküller ve bazı inorganik iyonlar bu tip dedektörlerle belirlenebilirler. Kırılma indisi dedektörüyle doğrudan dedeksiyonu yapılamayan iyonlar için dolaylı dedeksiyon modu kullanılmaktadır. Kırılma indisi dedektörü ile yapılan çalışmalarda bu dedektörün duyarlı olduğu fakat biraz karışıklığa neden olduğu bulunmuştur.  $Cl^-$ ,  $NO_3^-$  ve  $SO_4^{2-}$  gibi bazı anyonların minimum belirlenebilen miktarları bu tip dedektörler kullanıldığında 20 ng ile 50 ng arasında değişmektedir. İletkenlik dedektörü kullanıldığında bu değerler 1-5 ng arasındadır (Gjerde ve Fritz 1986).

#### 1.10.4.7. Bazı özel dedektör türleri

İyon değişimine dayanan ayırmaların özel tekniklerle birleştirilmesi üzerine çalışmalar sürmektedir. Bu çalışmalardan en yaygın olanları metallerin tayininde kullanılan indüklenmiş eşleşmiş plazma (ICP) dedektörü ve kütle spektroskopisi (MS) dedektörüdür.

ICP'nin bağlandığı iyon kromatografisi sistemleri genellikle kromatografik ayırmalar için kullanılır. Şelatlayıcı sabit faz içeren kolon metallerin örnek matriksinden önderiştirilmesi amacıyla kullanılır. Gerektiğinde sisteme ara bir kolon bağlanarak girişim etkisi olan metaller uzaklaştırılabilir. Daha sonra kolon kuvvetli bir hareketli faz ile yıkanarak ICP dedektörü ile analiz yapılır.



MS dedektörü genellikle iyon kromatografisinde kullanılan yüksek iyonik şiddete sahip hareketli faz ile uyumlu değildir. İletkenlik dedektöründe olduğu gibi hareketli fazın dedektöre ulaşmadan suppresorden geçmesi gerekir. Bu yüzden IC-MS sistemleri analitlerin kantitatif tayini için değil daha çok kütle spektrumlarının belirlenerek karakterizasyonlarında kullanılır (Statler 1997) .

### 1.11. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)

Sıvı kromatografisinde hareketli faz sıvı, sabit faz ise bir dolgu maddesi üzerine yayılmış bir sıvı film veya sıvı kaplanmamış katı bir dolgu maddesidir. Sabit fazın bulunduğu kolona yüksek basıncın uygulandığı sıvı kromatografisi türüne yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) denir. Bu yöntemde hareketli faz kolondan bir pompa ile geçirilir. Örnek, pompa ile kolon girişi arasında bir enjektör yardımıyla devreye sokulur. Kolon dolgu maddesi olarak silika esaslı bağlı fazlar kullanılır. Sabit faz genellikle C8, C18 düz zincirli alkil gruplu silika yapısındadır.

HPLC’de sabit bileşimdeki tek bir çözücü kullanılarak yapılan bir ayırma izokratik elüsyon olarak adlandırılır. Ayırma etkililiği gradient elüsyon ile artırılır. Burada polariteleri önemli derecede birbirinden farklı, iki veya üç çözücü sistemi kullanılır. Elüsyon başladıktan sonra, belli bir programa göre, bazen sürekli olarak ve bazen de bir seri basamaklar halinde, çözücülerin oranları değiştirilir. Sıvı kromatografi sistemlerinde genel olarak kullanılan ve tanecik boyutu 2-10 µm arasında olan dolgu maddeleri ile uygun sıvı akış hızları elde edebilmek için, yüzlerce atm’lik pompa basınçlarına gerek vardır. Bu nedenle HPLC’de 400 atm’e kadar basınç üreten pompalar kullanılır.

Kolondan çıkan maddenin derişimi kolon çıkışına yerleştirilen uygun bir dedektör ile ölçülür. HPLC’de yığın özelliği dedektörleri ve analit özelliği dedektörleri olmak üzere iki tip dedektör kullanılır. Yığın özelliği dedektörleri, hareketli fazın kırma indisi, dielektrik sabiti, veya yoğunluğu gibi analit tarafından değiştirilen yığın özelliklerine cevap veren dedektörlerdir. Bunun tersine, analit özelliği dedektörleri, analitin UV absorbansı, floresans şiddeti veya difüzyon akımı gibi hareketli fazın sahip olmadığı, bazı özelliklerine cevap veren dedektörlerdir. Bunların dışında elektrokimyasal dedektörler de duyarlılık,

basitlik, kullanılabilirlik ve yaygın kullanım alanı avantajlarından dolayı HPLC sistemlerinde kullanılmaktadır.

HPLC’de elde edilen piklere ait alıkonma zamanları maddelerin nitel analizinde kullanılır. Piklerin yüksekliği veya altındaki alan değerleri ise nicel analiz amacıyla kullanılır. HPLC ile amino asitler, proteinler, nükleik asitler, hidrokarbonlar, karbonhidratlar, ilaçlar, terpenoidler, pestisitler, antibiyotikler, steroidler, metal-organik türler ve çeşitli inorganik bileşiklerin tayini yapılabilir (Yıldız ve ark. 1997; Skoog ve ark.1998).

### 1.12. Taramalı Elektron Mikroskobu

Katı yüzeyler hakkında morfolojik ve topografik bilgiler sağlayan taramalı elektron mikroskobunda katı numune yüzeyi hassas bir şekilde odaklanan elektron demetiyle veya uygun bir prop ile Raster düzeninde taranır. Raster bir katot ışınları tüpü veya bir televizyondaki tarama düzeni ilkesine benzer bir tarama şekli olup bu sistemde bir elektron demetiyle (1) yüzey boyunca düz bir doğru üzerinde (x) yönünde tarama yapılır, (2) demet başlangıç pozisyonuna döner ve (3) aşağı doğru (y) yönünde standart belirlenmiş bir miktar kaydırılır. Bu işlem sözkonusu yüzey alanı tamamen taranana kadar tekrarlanır. Bu tarama işlemi sırasında yüzey üstünde (z) yönü bir sinyal alınır ve görüntüye dönüştürüleceği bir bilgisayar sisteminde toplanır.

Taramalı elektron mikroskoplarında iletken örneklerin doğrudan analizi yapılırken iletken olmayan örneklerin SEM görüntülerini alabilmek için çeşitli teknikler geliştirilmiştir. En çok uygulanan teknik örnek yüzeyinin tozlaşma ve vakum buharlaştırma uygulanarak ince metalik bir film ile kaplanmasıdır. Kalın kaplamalar yüzey ayrıntılarını örteceğinden optimum bir kalınlığın seçilmesi gerekmektedir.

Örnek yüzeyinin görüntüsünün yüzeyden geri saçılan elektronların şiddeti şeklinde ölçüldüğü taramalı elektron mikroskobu tekniğinde, sabit enerjili elektron demeti ile örnek yüzeyinin tümü taranabilir. Bu yöntemde kullanılan elektron demetinin çapı 2 nm kadardır. Yüzey görüntüsünün elde edilmesine ek olarak, taramalı elektron mikroskobunun x ışınları spektrometresi ile

birleştirilerek kullanılması ile örnek maddesinin element bileşimi de belirlenebilir. Bu amaçla taramalı elektron mikroskop, genellikle enerji ayırmalı bir spektrometre ile birlikte kullanılır.

SEM optik kolon, örnek hücresi ve görüntüleme sistemi olarak üç temel kısımdan oluşmaktadır. Optik kolon kısmında elektron demetinin kaynağı olan elektron tabancası, elektronları örneğe doğru hızlandırmak için yüksek gerilimin uygulandığı anot plakası, ince elektron demeti elde etmek için yoğunlaştırıcı mercekler, demeti örnek üzerinde odaklamak için objektif merceği, bu merceğe bağlı çeşitli çapta aparatürler ve elektron demetinin örnek yüzeyini taraması için tarama bobinleri yer almaktadır. Mercek sistemleri elektromanyetik alan ile elektron demetini toplamakta ve örnek üzerine odaklamaktadır. Tüm optik kolon ve numune  $10^{-4}$  Pa gibi bir vakumda tutulmaktadır.

Görüntü sisteminde elektron demeti ile örnek girişimi sonucunda oluşan çeşitli elektron ve ışınları toplayan dedektörler, bunların sinyal çoğaltıcıları ve örnek yüzeyinde elektron demetini görüntü ekranıyla senkronize tarayan manyetik bobinler bulunmaktadır.

SEM’de katı numune yüzeyi yüksek enerjili bir elektron demetiyle taranır. Bu teknikte yüzeyden çeşitli tür sinyaller oluşturulur. Bunlar geri saçılmış elektronlar, ikincil elektronlar, Auger elektronları, X-ışını floresans fotonları ve değişik enerjili diğer fotonlardır. Bütün bu sinyaller yüzey çalışmalarında kullanılmış olmakla beraber, bunların içinde en yaygın olan iki tanesi taramalı elektron mikroskopisinin temelini oluşturan geri saçılmış ve ikincil elektronlardır.

Gerek ayırma gücü gerek odak derinliği gerekse görüntü ve analizi birleştirebilme özelliği, SEM’in kullanım alanını genişletmektedir. Günümüzde modern SEM’lerinin ayırma gücü 0,05 nm’ye kadar inmiştir. Büyütme miktarı ise 5X-300000X arasında değişmektedir (Yıldız ve ark. 1997; Skoog ve ark.1998).

### **1.13. Atomik Kuvvet Mikroskobu**

1986 yılında bulunan atomik kuvvet mikroskobu (AFM) hem iletken hem yalıtkan yüzeylerdeki atomların tek tek ayrılmasını sağlar. Bu sistemde kuvvete karşı duyarlı bir ucu iğneli bir pikap koluna benzer denge çubuğu tüm numune yüzeyi üzerinde raster düzeninde taranır. Denge çubuğu ile numune arasında

oluşan kuvvet, denge çubuğunda küçük oynamalara neden olur ve bu küçük oynamalar optik araçlarla tayin edilir. Bir AFM'nin performansı denge çubuğunun ve ucun fiziksel niteliklerine çok bağlıdır. Günümüzde denge çubuğu/uç sistemi silisyum, silisyum oksit veya silisyum nitrür tek çiplerinin aşındırılmasıyla bir bütün olarak elde edilmektedir. Denge çubukları ortalama olarak on,yirmi mikrometre uzunluğunda, on mikrometreden daha az genişlikte ve yaklaşık bir mikrometre kalınlığındadır. Piramit veya konik şekilli uçların yüksekliği ve taban genişliği birkaç mikrometredir.

AFM'de ucun veya bazen numunenin hareketi bir piezoelektrik tüpte sağlanır. Hareket ettirici tüplü piezoelektrik sistem, ucun altındaki numunenin x,y ve z yönünde hareket etmesini sağlar. Tarama sırasında uçta oluşan kuvvet, ucun aşağı ve yukarı hareketiyle sabit tutulur ve topografik bilgi sağlar. Atomik kuvvet mikroskobu ile iletken olmayan malzemelerin de görüntüsü alınabilir. AFM malzemelerin karakterizasyonu, yüzey hatalarının tespiti, manyetik merkezlerinin görüntülenmesi amacıyla kullanılır. Ayrıca biyoteknoloji alanında DNA, kromatin, protein/enzim etkileşiminde, membran virüslerin vb. görüntülenmesinde yararlanır (Yıldız ve ark.1997; Skoog ve ark.1998).

#### 1.14. Voltametrik Yöntemler

Elektroanalitik kimya analit çözeltisi içeren bir elektrokimyasal hücrede çözeltinin elektrokimyasal özelliklerinin incelenmesine dayanan bir grup nicel analitik yöntemi kapsar. Elektroanalitik yöntemler uygulandığı sistemler hakkında arayüzlerdeki yük aktarımının stokiometrisi ve hızı, kütle aktarım hızı, adsorbsiyon, kemisorbsiyon derecesi, kimyasal reaksiyon hızı ve denge sabitleri gibi karakterize edici bilgiler verirler. Elektroanalitik yöntemler genel olarak statik ve dinamik yöntemler olmak üzere ikiye ayrılır. Statik yöntem net akımın sıfır olduğu denge durumunu, dinamik yöntem ise denge durumundan uzakta net akımın gözlemlendiğini ifade eder.

Voltametrik yöntemler gerilim kontrollü dinamik yöntemler arasında yer alır. Dengedeki bir elektrokimyasal hücreye dışarıdan denge geriliminden farklı bir gerilim uygulanırsa, sistem yeniden dengeye gelmeye çalışır ve bu sırada bir

elektrot tepkimesi olur. Voltametri yönteminde bir çalışma elektrodu ile bir referans ( karşılaştırma) elektrodu arasında uygulanan ve değeri zamanla değişen gerilime karşı, hücrede çalışma elektrodu ile karşıt elektrot arasındaki akım ölçülür. Voltametriye uygulanan gerilime karşı ölçülen akım değerlerinin yer aldığı cevap eğrisine voltamogram denir.

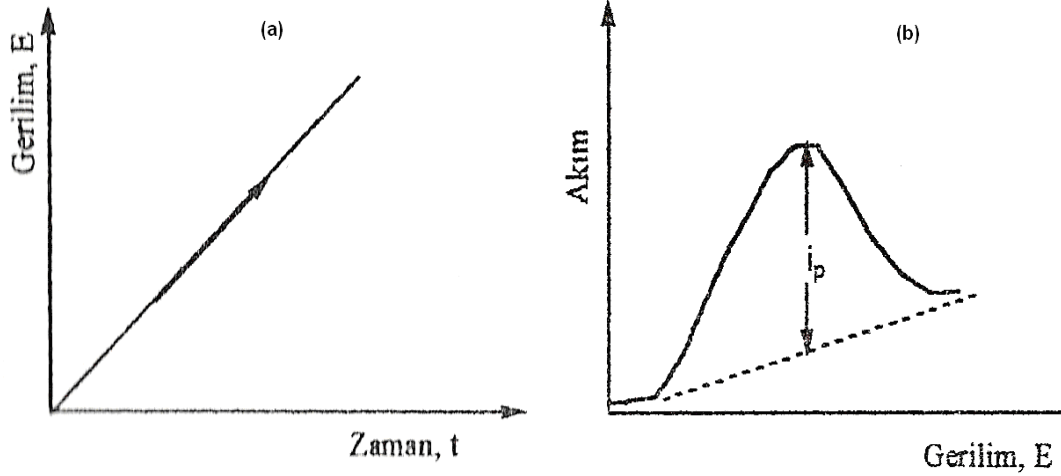
Voltametrik ölçümler elektrokimyasal hücrelerde gerçekleştirilir. Elektrokimyasal hücrelerde destek elektrolit ve üçlü elektrot sistemi bulunur. Destek elektrolit çözelti içinde elektriksel iletkenliği artırmak için kullanılır. Destek elektrolit çözeltisinin hazırlanmasında kullanılacak olan çözücünün analit ile tepkimeye girmemesi, saf olması ve geniş bir aralıkta elektrokimyasal olarak inert olması istenir. Üçlü elektrot sistemi çalışma (indikatör) elektrodu, referans (karşılaştırma) elektrot ve karşıt (yardımcı) elektrottan oluşur. Çalışma elektrodu yüzeyinde elektroaktif maddelerin yükseltgendiği ya da indirgendiği elektrottur. Maddelerin çalışma elektrodunda yükseltgenmelerinden dolayı oluşan akıma anodik akım, indirgenmelerinden dolayı oluşan akıma katodik akım denir. Civa, platin, altın, paladyum, karbon (grafit, karbon pasta, camsı karbon) elektrotlar çalışma elektrodu olarak kullanılırlar. Referans elektrotların yarı hücre gerilimleri çözeltiden bağımsız ve sabittir. Genellikle Ag/AgCl ve doymuş kalomel elektrot (SCE) referans elektrot olarak kullanılır. Karşıt elektrot elektriğin çözelti içerisinden çalışma elektroduna aktarılmasını sağlar ve yaygın olarak platin kullanılır.

#### 1.14.1. Doğrusal-taramalı voltametri ve dönüşümlü voltametri

Doğrusal-taramalı voltametriye (DTV) elektroaktif bir madde içeren durgun bir çözeltide bir çalışma elektroduna zamanla doğrusal olarak değişen bir gerilim programı uygulanır (Şekil 1.13a) ve çalışma elektrodu ile karşıt elektrot arasında oluşan akım ölçülür. Elde edilen gerilim-akım cevap eğrisine doğrusal voltamogram denir (Şekil 1.13b). Doğrusal-taramalı voltametri yönteminde gerilim tarama hızı, 0,01-1,00 V/s arasında değiştirilebilmektedir.

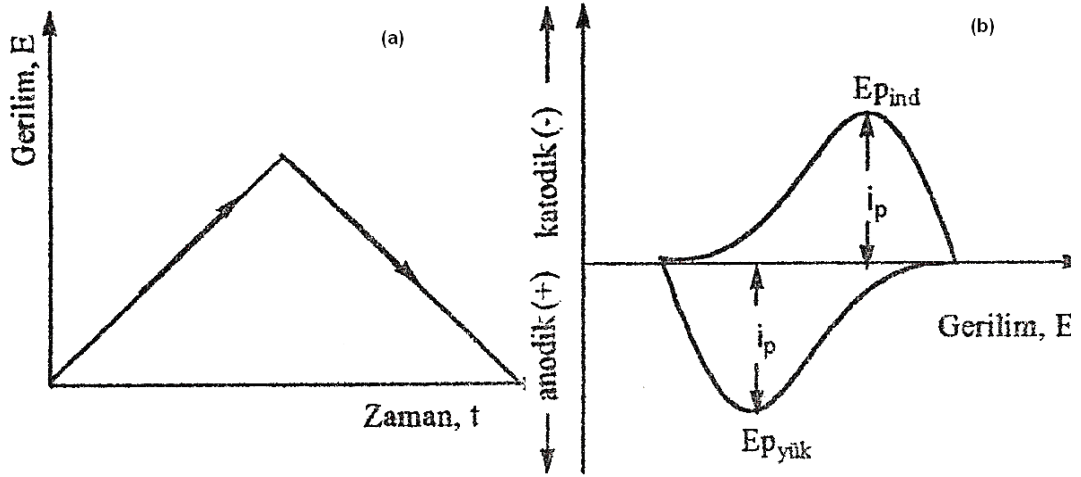
Çalışma elektroduna uygulanan gerilim elektroaktif maddenin indirgenme veya yükseltgenme gerilimine ulaştıkça elektrot yüzeyindeki maddenin çok hızlı

tüketilmesi akımda artışa neden olur. Bu işlem elektrot yüzeyi ile çözelti arasında bir derişim farkı doğurur. Bunun sonucu olarak çözülden elektrot yüzeyine difüzyonla kütle aktarımı başlar. Difüzyonla kütle aktarımı, elektron aktarım işleminin hızı ile yarışmadığından akımda üstel bir düşüş gözlenir ve bir pik elde edilir (Şekil 1.13b).



Şekil 1.13. Doğrusal taramalı voltametri (a) gerilim taramasının zamanla değişimi ve (b) elde edilen voltamogram

Dönüşümlü voltametri (DV) çalışma elektroduna uygulanan gerilim taraması belli bir gerilim değerine ulaştıktan sonra yine doğrusal olarak azalacak şekilde ters çevrilir. Elde edilen gerilim-akım cevap eğrisine dönüşümlü voltamogram denir (Şekil 1.14b). Bu yöntemde ileri ve geri yöndeki tarama hızları aynı tutulabildiği farklı tarama hızları da kullanılabilir. İleri ve geri yöndeki tarama bir kez yapılabildiği gibi birçok kez de yapılarak çok döngülü voltamogramlar elde edilebilir.



Şekil 1.14. Dönüşümlü voltametri (a) gerilim taramasının zamanla değişimi ve (b) elde edilen voltamogram

Dönüşümlü voltamogramlar incelenerek bir sistemin hangi gerilimlerde ve kaç adımda indirgenip yükseltgendiğini, elektrokimyasal açıdan tersinir olup olmadığını, elektrot tepkimesini izleyen bir çözelti tepkimesinin olup olmadığını, elektrot tepkimesinde yer alan maddelerin elektrot yüzeyinde tutunup tutunmadıklarını anlamak mümkündür. Bir dönüşümlü voltamogramda en önemli parametreler indirgenme ve yükseltgenme  $E_p$ , pik gerilimleri ve  $i_p$ , pik akımlarıdır. Voltametri  $i_p$ , pik akımı ile analit derişimi (c) ile doğru orantılı olarak değişir. Pik akımları ile analit derişimi arasındaki ilişkiyi veren Randles-Sevcik bağıntısı ile nicel analiz yapılabildiği gibi elektrot tepkimesinin tersinir olup olmadığı belirlenebilir.

$$J_p = k \cdot n^{3/2} \cdot A \cdot D^{1/2} \cdot C \cdot v^{3/2} \quad (1.1)$$

Burada,

$J_p$  : pik akımı (A, mA,  $\mu$ A)

k: Randles-Sevcik sabiti

n: aktarılan elektron sayısı

A: Elektrot alanı ( $\text{cm}^2$ )

D: Döfüzyon katsayısı ( $\text{cm}^2/\text{s}$ )

C: çözelti derişimi (mol/L)

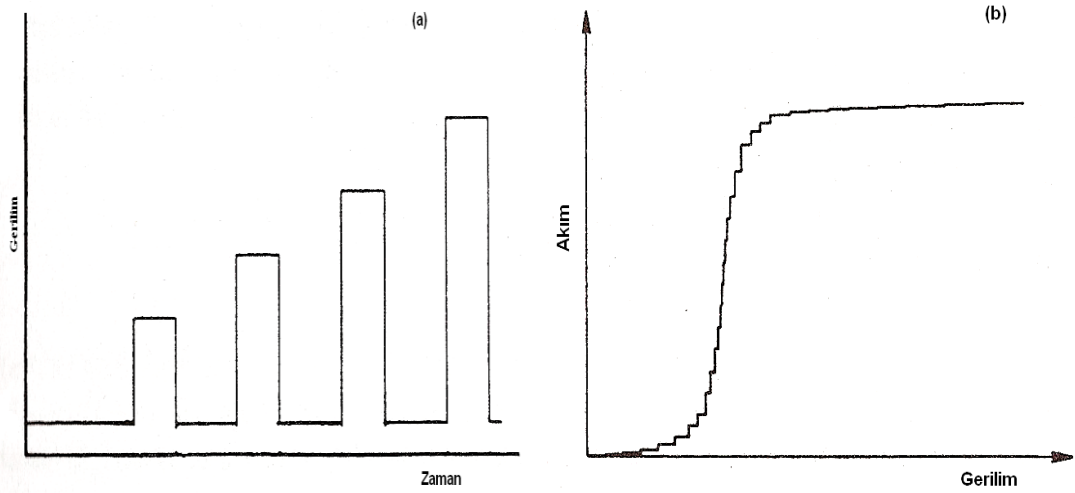
v: gerilim tarama hızı (mV/s) dır.

### 1.14.2. Puls voltametri yöntemleri

Puls voltametri yöntemleri, ilk kez Barker ve Jenkin tarafından voltametrik ölçümlerde tayin sınırını daha düşük değerlere düşürmek için tanıtılmıştır. Faradayik ve faradayik olmayan akımlar arasındaki oranın büyük ölçüde arttığı bu yöntemde  $10^{-8}$  M derişim seviyelerinde kantitatif tayin yapılmaktadır. Bu yöntemde çalışma elektroduna yaklaşık 50 ms zaman aralıklarıyla gerilim uygulanır. Gerilim uygulamasından sonra oluşan yüzey akımı ihmal edilebilir seviyelerde düşer fakat faradayik akımlardaki azalış daha yavaş olduğundan kolayca ölçülebilmektedir. Puls voltametri yöntemleri arasındaki fark akım örnekleme bölgesinden ve uygulanan pulsun dalga formundan kaynaklanmaktadır.

#### 1.14.2.1. Normal puls voltametri

Bu yöntemde çalışma elektroduna istenilen zaman aralıklarında şiddeti her defasında artan pulslar uygulanır. Pulslar arasında elektrot, analit reaksiyonuna neden olmayacak sabit bir gerilim değerinde tutulur. Puls şiddetleri herseferinde doğrusal olarak artırılır. Akım puls uygulamasının sonuna doğru, yükleme akımının sıfır olduğu durumda ölçülmektedir. Burada elde edilen voltamogram sigmoidal şeklindedir (Şekil 1.15b).

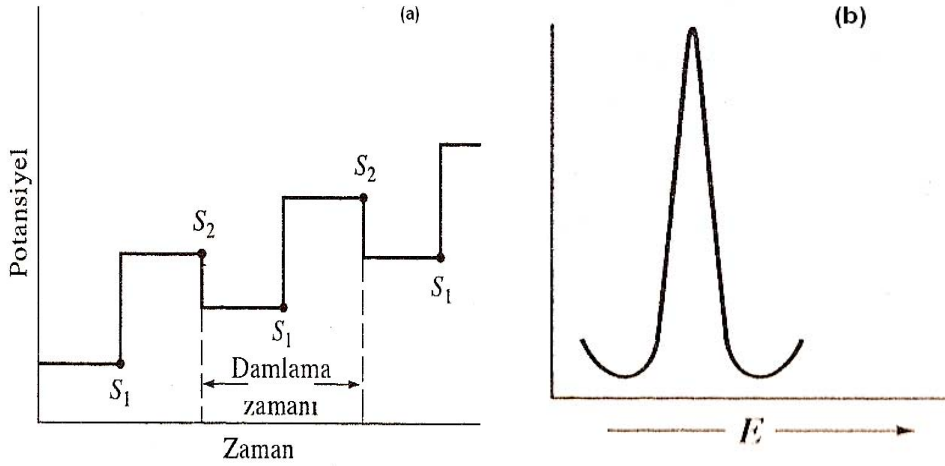


Şekil 1.15. Normal puls voltametrisinde (a) uyarma sinyali ve (b) elde edilen voltamogram



### 1.14.2.2. Diferansiyel puls voltametri

Diferansiyel puls voltametri eser miktardaki organik ve inorganik türlerin tayininde kullanılır. Bu yöntemde çalışma elektroduna uygulanan doğrusal olarak artan gerilimlere, istenen zaman aralıklarında sabit şiddette pulslar uygulanır. Akım, puls uygulamasından hemen önce ve puls uygulamasının sonuna doğru yükleme akımının yaklaşık sıfır olduğu durumda olmak üzere iki kez ölçülür. Bu iki akım değerleri arasındaki fark, doğrusal olarak artan gerilimin fonksiyonu olarak grafiğe geçirildiğinde elde edilen voltamogram pik şeklindedir (Şekil 1.16b). Elde edilen pikin yüksekliği analit derişimiyle doğru orantılıdır. Voltamogramdaki pik gerilimi türlerin tanınmasında kullanılabilir.



Şekil 1.16. Diferansiyel puls voltametrisinde (a) uyarma sinyali ve (b) elde edilen voltamogram

Diferansiyel puls ölçümlerinde cevabın pik şeklinde olması yükseltgenme gerilimleri yakın olan türlerin birbirinden ayrılmasına imkan tanır. Bazı durumlarda arasında 50 mV fark bulunan pikler elde edilebilir. Bu yöntemle  $10^{-8}$  M'dan daha düşük derişim değerlerinde ölçümler yapılabilir. Bu yöntemde kantitatif tayin sadece pik gerilimlerine değil aynı zamanda pik yarı yüksekliğindeki pik genişliğine de bağlıdır ve pik genişliği elektron stokiyometrisi ile ilişkilidir. Pik şeklinde cevap alınması ve background düzeltmesi yapılabilmesi, yöntemin karışımların analizinde kullanışlı hale getirmektedir.

Puls şiddeti ve gerilim taram hızının seçimi hassasiyet, hız ve kararlılığı etkilemektedir. Örneğin, geniş puls şiddetleri geniş piklere neden olmaktadır. Diferansiyel puls ölçümlerinde genellikle 25-50 mV arasında puls şiddetleri ve 5 mV/s tarama hızı kullanılmaktadır. Tersinmez redoks sistemlerinde tersinmez sistemlere göre daha düşük değere sahip ve geniş akımlar elde edilir. Hassasiyet ve pik ayırım duyarlılığı artırılarak analitin kimyasal formu (yükseltgenmiş, kompleksleşmiş yapı vb) hakkında bilgi edinilebilir (Wang 2000).

## 2. MATERYAL VE YÖNTEM

### 2.1. Materyal

#### 2.1.1. Kullanılan kimyasallar ve elektrotlar

Pirol (%98, Aldrich), azot gazı (N<sub>2</sub>) atmosferinde distillenerek kullanılmış ve kullanılmadığı zaman -18 °C' de saklanmıştır. Parasetamol, dopamin, D-glikoz, fenol, potasyum klorür, perklorik asit (Fluka, Steinheim, Almanya), L-askorbik asit, potasyum dihidrojen fosfat, sodyumhidroksit (Merck, Darmstat, Almanya), potasyum hidrojen fosfat (Sigma-Aldrich, Steinheim, Almanya), lityum perklorat ve sodyum karbonat (Lancaster, Morecambe, İngiltere) analitik saflıkta olup doğrudan kullanılmıştır.

Elektrokimyasal ve kromatografik çalışmalarda, tampon ve stok çözeltilerin hazırlanmasında kullanılan su, Sartorius marka (Arium®611UV model) ultra saf su cihazından elde edildikten sonra Labconco marka deiyonize su sisteminden geçirilerek (direnç: 18,2 MΩ) kullanıma hazır hale getirilmiştir.

Askorbik asit içeren Bevitin C (Abfar İlaç San.), Aspirin + Vitamin C (Upsa Conseil), Supravit (Roche) ve C-PLAN (Polifarma); parasetamol içeren Minoset ve MinosetPlus (Roche), Vermidon (İlsan İlaç), TyloHot (Nobel) tabletleri ve Calpol şurup (GlaxoSmithKline) ile dopamin içeren Dopmin (Hospira) ve Dopamin (Orion) ampulleri eczanelerden temin edilmiştir.

Elektrokimyasal ölçümlerde çalışma elektrodu olarak Pt disk (1mm çaplı) ve kurşun kalem uçları (0,7 mm ve 0,5 mm çaplı, HB, Tombo), referans elektrot olarak Ag/AgCl (doy. KCl) ve karşıt elektrot olarak 1 mm çapında Pt tel (%99,9, Aldrich) kullanılmıştır.

#### 2.1.2. Kullanılan cihazlar

Elektrokimyasal çalışmalar Autolab PGSTAT 100 model potansiyostat-galvanostat (Hollanda) sistemi ile GPES 4.9 yazılımı kullanılarak yapılmıştır. Elektrot hazırlama işlemlerinde Voltalab 80 model potansiyostat-galvanostat

(Radiometer) cihazı kullanılmıştır. Bütün elektroanalitik ölçümler oda sıcaklığında yapılmıştır.

Kromatografik çalışmalar Dionex marka DX-100 model iyon kromatografisi cihazıyla gerçekleştirilmiştir. İletkenlik dedektörü, cihazın sabit dedektörü olup, tüm çalışmalar oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir.

pH ölçümleri IONcheck45 model pH-İyon-metre (Radiometer) ile gerçekleştirilmiştir.

HPLC analizleri Agilent 1100 model yüksek performanslı sıvı kromatografisi cihazıyla gerçekleştirilmiştir.

Bazı çözelti hazırlama işlemlerinde ultrasonik banyo (LC30, Elma) ve düzenli bir karıştırma sağlanması amacıyla ısıtıcılı manyetik karıştırıcı (MR3001, Heidolph) kullanılmıştır.

Taramalı elektron mikroskopisi (SEM) görüntüleri için Oxford Instruments 7430 Field Emission Electron Microscope cihazı kullanılmıştır.

Polipirol temelli potansiyometrik dedektör el yapımı olup polietilenden yapılmıştır.

## 2.2 Yöntem

### 2.2.1. Polipirol elektrotların hazırlanması

Bu çalışmada, askorbik asit tayini potansiyometrik dedektörlü iyon kromatografisi cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Potansiyometrik dedektör olarak polipirol kaplı Pt disk çalışma elektrodu kullanılmıştır. Pt elektrotlar her kullanımdan önce 0,05 µm Gamma Alumina (CH Instruments, Inc.) süspansiyonu ile temizlenmiş, etanol-su karışımında yıkanmış ve 0,5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözeltisinde 0,2 ile 1,2 V arasında dönüşümlü voltamogram alınmıştır. Polipirol elektrotlar 0,10 M LiClO<sub>4</sub> ve 25 mM pirol içeren sulu çözeltide -0,50 V ile 0,90 V arasında 100 mV/s tarama hızında 7 döngülü elektropolimerleşme ile hazırlanmıştır. Hazırlanan elektrotlar deiyonize su ile yıkanmıştır. Elektrotlar kullanılmadığı zamanlarda 1,0 mM LiClO<sub>4</sub> çözeltisinde bekletilmiştir.

### 2.2.1.1. İyon kromatografisi ölçümleri

İyon kromatografisi ölçümlerinde Dionex marka IonPac AS11-HC analitik kolon ve ASRS suppresor sistemi kullanılmıştır. 1,25 mM NaOH eluent olarak ve 50 mM H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> rejenerant olarak kullanılmıştır. Çalışmalarda optimum eluent akış hızınının 1,5 mLdk<sup>-1</sup> olduğu saptanmıştır. İyon kromatografisi cihazının enjeksiyon loop hacmi 25 µL'dir.

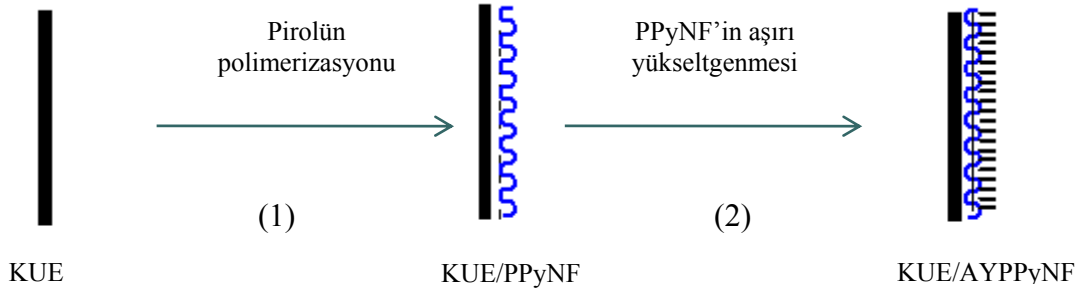
### 2.2.1.2. Askorbik asit içeren ilaç örneklerinin hazırlanması

Askorbik asit içeren farklı ticari tabletler havanda toz haline getirilerek ısıtıcılı manyetik karıştırıcı yardımıyla suda çözülmüştür. Çözünmeden kalan ilaçtaki katkı maddeleri mavi bant süzgeç kâğıdından süzülerek ortamdan uzaklaştırılmıştır. Daha sonra çözünen kısım 250 mL'lik balon jøjeye aktararak seyreltilmiştir. Bu şekilde stok çözelti hazırlanarak askorbik asit tayini için kullanılmıştır.

### 2.2.2. Aşırı yükseltgenmiş nanofiber polipirol elektrotların hazırlanması

Aşırı yükseltgenmiş nanofiber polipirol elektrotlar parasetamol tayininde kullanılmıştır. Modifiye elektrotların hazırlanması iki basamakta gerçekleştirilmiştir. Bu işlemler Şekil 2.1'de şematik olarak gösterilmektedir.

- 1) Kalem ucu elektrot KUE (HB, Tombo) yüzeyinde nanofiber yapılı polipirolün (KUE/PPyNF) elektrokimyasal sentezi.
- 2) Nanofiber yapılı polipirolün aşırı yükseltgenmesi (KUE/AYPPyNF).



**Şekil 2.1.** KUE/AYPPyNF elektrodun hazırlanması

KUE/PPyNF elektrotlar 0,10 M LiClO<sub>4</sub>, 0,10 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ve 0,10 M pirol içeren sulu çözeltide 0,0 V ile 0,80 V arasında 100 mV/s tarama hızında 10 döngülü elektropolimerleşme ile hazırlanmıştır. Elde edilen KUE/PPyNF elektrotlar deiyonize su ile yıkanmış ve karbonat iyonlarının karbondioksit şeklinde uzaklaşabilmesi için % 10'luk HClO<sub>4</sub> çözeltisinde 24 saat bekletilmiştir (Tian ve ark. 2004). Hazırlanan KUE/PPyNF elektrotlar 0,15 M NaOH çözeltisinde 0,00 ile 0,90 V arası 15 döngülü gerilim taraması ile aşırı yükseltgenerek polimerin elektroaktivitesi minimuma indirilmiştir. Bu işlemde sonra elektrotların aynı ortamda 0,00 ile +1,00V arası diferansiyel puls voltametri (DPV) yöntemi ile 2 kez ölçümleri alınarak aşırı yükseltgenme işlemi tamamlanmıştır. Bu aşırı yükseltgeme işleminin ardından elde edilen elektrotlar en az 10 dakika deiyonize suda bekletilerek yıkanmıştır.

### 2.2.2.1. Elektroanalitik ve kromatografik ölçümler

Diferansiyel puls voltametri ölçümleri üç elektrotlu hücrede 0,10 M KCl içeren 0,05 M fosfat tamponu (FT) (pH= 7) çözeltisinde 0,00 ile +0,80 V gerilim aralığında gerçekleştirilmiştir. Elektrokimyasal ölçümlerden önce analiz çözeltisinden 5 dakika azot gazı geçirilmiştir. DPV parametreleri: yükselme (step) gerilimi 8 mV, modülasyon genliği (amplitüdü) 50 mV ve tarama hızı 15 mV/s' dir.

Kromatografik ölçümler gradiyent pompalı, UV-Vis dedektörlü yüksek basınç sıvı kromatografi (HPLC) sistemiyle (1100 serisi, Agilent) C<sub>18</sub> ayırıcı

kolon (ACE®, 5 µM, 150x4.6 mm) kullanılarak yapılmıştır. Eluent olarak metanol:su (80:20) karışımı 0,8 mL/dakika akış hızında kullanılmıştır. Parasetamol tayini için bütün ayırmalar oda sıcaklığında ve 254 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir.

#### **2.2.2.2. Parasetamol içeren ilaç örneklerinin hazırlanması**

Aşırı yükseltgenmiş nanofiber yapılı polipirol elektrotlar ile bazı tablet ve şuruplardaki parasetamol içerikleri tespit edilmiştir. Bu ilaçlardan tablet halinde olanlar havanda toz haline getirildikten sonra ısıtıcılı manyetik karıştırıcı kullanılarak çözülmüştür. Daha sonra çözelti 10 dakika ultrasonik su banyosunda tutulmuş ve çözünmeden kalan ilaç katkı maddeleri mavi bant süzgeç kağıdından süzülerek ayrılmıştır. Çözelti 100 mL'lik balon jøjeye aktarılarak FT (pH= 7) çözeltisiyle gerekli hacme seyreltilmiştir. Şurup örnekleri homojen bir şekilde karıştırıldıktan sonra 100 mL'lik balon jøjeye aktarılmış ve FT (pH= 7) ile gerekli hacme seyreltilmiştir. Bu şekilde stok çözeltileri hazırlanan ilaç örneklerinden uygun miktar alınarak parasetamol tayini yapılacak çözeltilere ilave edilmiştir.

#### **2.2.3. Elektrokimyasal ön işlem uygulanan nanofiber polipirol elektrotların (KUE/EPPyNF) hazırlanması**

Nanofiber yapılı polipirol elektrotlar ile elektrokimyasal olarak modifiye edilmiş ve ön işlem uygulanan elektrotlar dopamin tayininde kullanılmıştır. KUE/PPyNF elektrotların hazırlanması Bölüm 2.2.2'de belirtildiği gibi gerçekleştirilmiştir (Şekil 1.2 1.aşama).

Hazırlanan KUE/PPyNF elektrotlara 0,10 M H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> çözeltisinde -0,3 V ile +1,8 V gerilim aralığında 50 mV/s tarama hızıyla 5 döngülü elektrokimyasal ön işlem uygulanmıştır. Elde edilen KUE/EPPyNF elektrotlar deiyonize su ile yıkanmıştır.

### 2.2.3.1. Elektroanalitik ölçümler

Diferansiyel puls voltametri ölçümleri üç elektrotlu hücrede 0,10 M FT (pH= 8,5) çözeltisinde 0,0 V ile +1,00 V gerilim aralığında gerçekleştirilmiştir. DPV parametreleri: yükselme (step) gerilimi 8 mV, modülasyon genliği (amplitüdü) 50 mV, tarama hızı 15 mV/s.

### 2.2.3.2. Dopamin içeren ilaç örneklerinin hazırlanması

Elektrokimyasal ön işlem uygulanan nanofiber polipirol elektrotlar ile bazı ilaç örneklerinin dopamin içeriği belirlenmiştir. Dopamin içeren ampul formundaki ilaç örnekleri 100 mL'lik balon jöjeye aktarılmış ve FT (pH= 8,5) ile gerekli hacme seyreltilmiştir. Bu şekilde stok çözeltileri hazırlanan ilaç örneklerinden uygun miktarlar alınarak dopamin tayini yapılan çözeltiliye ilave edilmiştir.

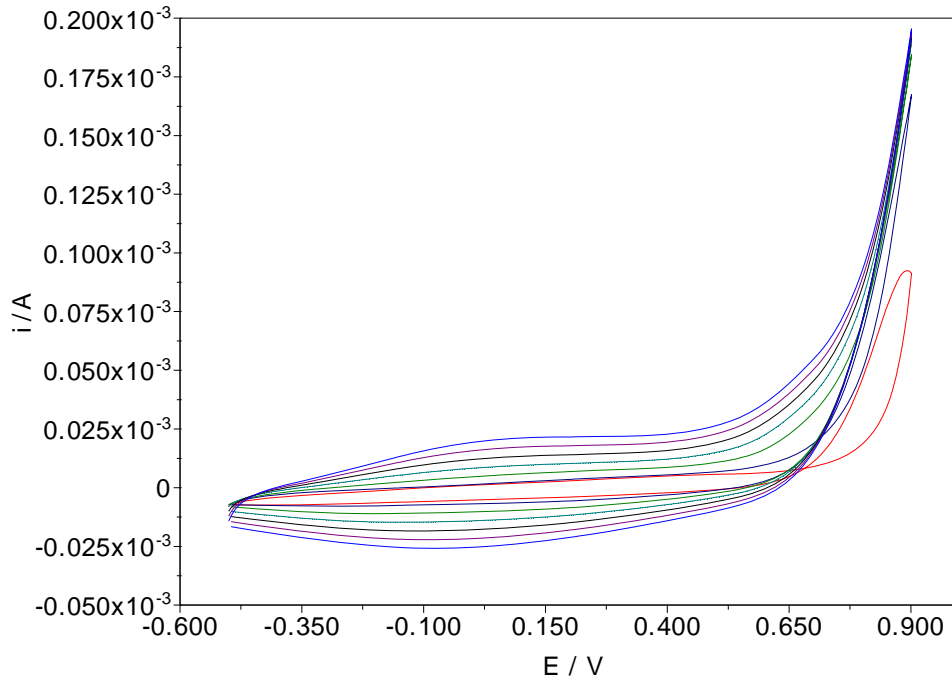


### 3. BULGULAR VE TARTIŞMA

#### 3.1. Polipirol Potansiyometrik Dedektörü ile Askorbik Asit Tayini

##### 3.1.1. Pirolün elektrokimyasal polimerizasyonu

Pirol monomerinin elektrokimyasal sentezi dönüşümlü voltametri yöntemiyle Pt elektrot yüzeyinde gerçekleştirilmiştir. Şekil 3.1’de pirolün elektropolimerizasyonuna ilişkin  $-0,50$  V ile  $+0,90$  V arasında alınan dönüşümlü voltamogramlar verilmiştir. Şekil 3.1. içindeki küçük resim polimer filminin oluşumunu ve büyümesini daha net göstermektedir. Polimer filmi büyüdükçe, filmin yükseltgenme ve indirgenmesi nedeniyle pik şiddetlerinde artış meydana gelmektedir. Polipirole ait  $+0,15$  V’ta geniş bir yükseltgenme piki ve  $+0,10$  V’ta geniş bir indirgenme piki gözlenmektedir.



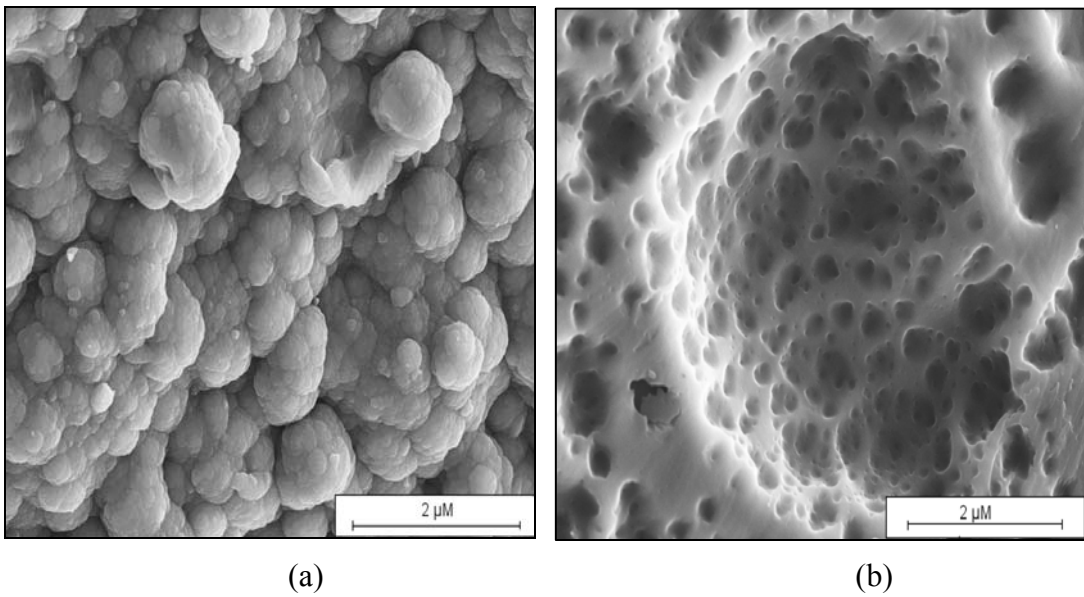
Şekil 3.1. Pt elektrot ile 0,025 M pirol içeren çözeltide pirolün elektrokimyasal polimerizasyonu ( $V=100$  mV/s, Ref elektrot Ag/AgCl)

Elektropolimerizasyon işlemi pirol monomerinin bir elektron vererek kation radikaline yükseltgenmesi ile başlar. Kation radikallerinin birleşmesi ile dimer yapılar oluşur. Oluşan dimerik yapılar diğer dimer ve oligomer yapılarla birleşerek polimerleşir ve elektrot yüzeyinde film şeklinde polipirol oluşur. Polipirolün oluşum mekanizması Bölüm 1.6.1’de verilmiştir.

### 3.1.2. Polipirol elektrodun yüzey morfolojisi

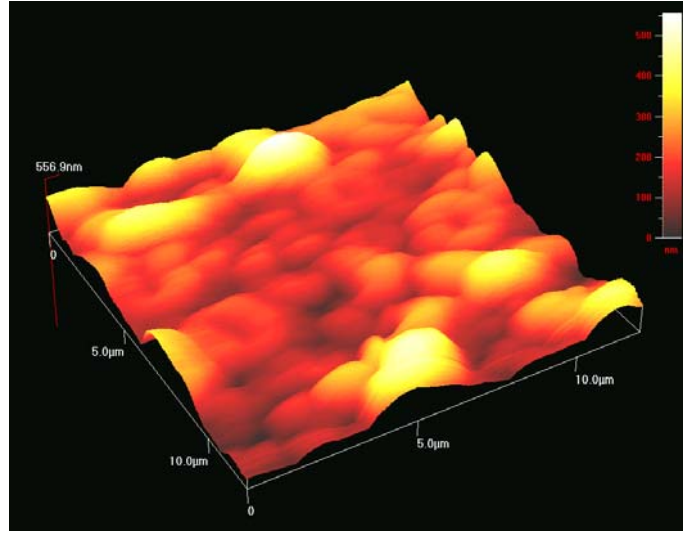
Askorbik asit tayininde potansiyometrik dedektör olarak kullanılan polipirol filmi Pt disk elektrot yüzeyinde 0,10 M LiClO<sub>4</sub> ve 25 mM pirol içeren sulu çözeltide -0,50 V ile 0,90 V arasında 100 mV/s tarama hızında 7 döngülü elektropolimerleşme ile hazırlanmıştır.

Polipirol filmlerinin yüzey morfolojisi taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile incelenmiştir. Elektrokimyasal yöntemler ile elde edilen polipirol filmlerinin morfolojisi kullanılan karşı iyon, çözücüye, polimerizasyon ortamı vb. hazırlanma parametrelerine bağlıdır. Sulu ortamda destek elektrolit olarak sadece LiClO<sub>4</sub> kullanılarak elde edilen polipirolün çözelti ile temas eden dış yüzeyi küresel morfolojiye sahip ‘karnabahar’ yapısına benzemektedir (Şekil 3.2a). Polipirol filmi ile Pt elektrot arayüzeyinin ise çukurlardan oluşan bir yapıya sahip olduğu görülmüştür (Şekil 3.2b).



Şekil 3.2. PPy filminin (a) PPy/çözelti ve (b) PPy/Pt arayüzeylerinin SEM görüntüleri

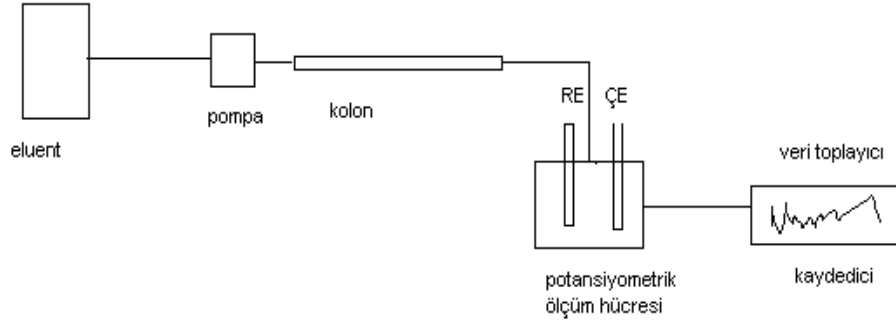
Polipirol filminin atomik kuvvet mikroskobu (AFM) kullanılarak yüzey analizi yapılmıştır. SEM fotoğraflarında (Şekil 3.2 a ve b) gözlenen tepecikler ve çukurlar üç boyutlu AFM fotoğraflarında (Şekil 3.3) daha net görülmektedir. Film kalınlığı elektrodun orta kısmında daha homojen iken dış kısımlarında artmıştır. Tepeciklerin olduğu bölgede maksimum film kalınlığı yaklaşık olarak 557 nm iç kısımlarda ortalama 100 nm civarındadır.



Şekil 3.3. Polipirol filminin AFM görüntüsü

### 3.1.3. Elektropolimerizasyon koşullarının askorbik asit tayinine etkisi

Polipirol temelli potansiyometrik dedektör ile askorbik asit tayininde iyon kromatografisi sisteminde ayırma kolonunun sonuna bir potansiyometrik ölçüm hücresi yerleştirilmiştir. Potansiyometrik ölçüm hücresi bir referans elektrot ile polipirol kaplanmış Pt çalışma elektrodundan oluşmaktadır. Potansiyometrik dedektörlü iyon kromatografisinin şematik hali şekil 3.4’de görülmektedir.



**Şekil 3.4.** Potansiyometrik dedektörlü iyon kromatografisi sisteminin şematik gösterimi

Askorbik asit tayininde kullanılan polipirol filminin performansına polimerizasyon koşullarının etkisi incelenmiştir. Monomer (pirol) derişimi PPy elektrodun özelliklerini (iletkenlik, morfoloji vb.) değiştirerek askorbik asite karşı verdiği cevabı doğrudan etkilemektedir. Monomer derişiminin etkisini incelemek için 10-500 mM aralığında farklı derişimlerde pirol ile elektropolimerizasyon işlemleri yapılarak hazırlanan filmlerin askorbik asite karşı cevapları incelenmiştir. Farklı pirol derişimleri kullanılarak elektropolimerizasyon ile hazırlanan polipirol elektrotlar iyon kromatografisi sistemine potansiyometrik dedektör olarak bağlanmışır. 1,0 mM askorbik asitin her bir dedektör ile ayrı ayrı analizleri yapılmış ve en yüksek pik potansiyeli 25 mM pirol ile elde edilen polipirol tarafından elde edilmiştir. Böylece optimum monomer derişiminin 25 mM olduğu saptanmıştır.

PPy potansiyometrik dedektörün askorbik asite karşı performansı 2 ile 10 döngü arasında hazırlanan PPy filmleri kullanılarak incelenmiştir. Döngü sayısı arttıkça PPy elektrodun askorbik asite karşı daha iyi cevap verdiği görülmüştür. Döngü sayısının artışı ile daha gözenekli yapıya sahip filmler elde edilmiştir. Fakat film yapısındaki gözenekli yapının artışı analiz ortamındaki anyonların da difüzyonuna neden olarak elektrodun hassasiyetini azaltmakta ve doğrusal çalışma aralığını daraltmaktadır. Farklı döngü sayılarında hazırlanan filmlerin performansı incelendiğinde 7 döngü sayısına kadar PPy elektrodun askorbik asite karşı verdiği

cevabın arttığı, daha büyük döngü sayılarında ise elektrot performansının azaldığı gözlemlenmiştir. Bu sonuca göre optimum döngü sayısının 7 olduğu saptanmıştır.

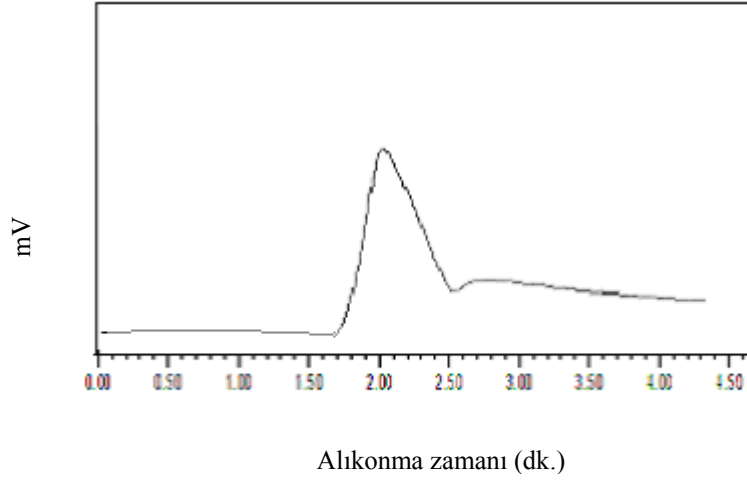
#### 3.1.4. Kromatografik koşulların askorbik asit tayinine etkisi

İyon kromatografik çalışmalarda, uygun eluent derişiminin belirlenmesi oldukça önemlidir. İyi bir eluent, ayrılması istenen iyonların analitik kolon boyunca ilerlemesini sağlamalı ve bu iyonların dedektör tarafından, girişim olmaksızın tanınmasına imkan vermelidir. İyon kromatografisinde dedektörün analite cevap vermesi istenirken eluentten gelen iyonlara cevap vermemesi istenir. İyon kromatografisi sisteminde eluent olarak NaOH çözeltisi kullanılmıştır. PPy elektrot kullanılarak yapılan iyon kromatografisi analizinde PPy elektrodun eluent iyonlarına cevap vermediği gözlemlenmiştir. Eluent derişiminin ayırmaya etkisi incelendiğinde ise eluent derişimi arttıkça askorbik asitin alıkonma zamanının azaldığı görülmüştür. Eluent derişimi azaldıkça alıkonma zamanının arttığı diğer yandan asimetrik ve geniş pikler elde edildiği ve iyi bir ayırmanın gerçekleşmediği görülmüştür. Bu çalışmada 0,5-2,5 mM derişim aralığında NaOH çözeltileri kullanılarak yapılan askorbik asit tayinlerinde optimum eluent derişiminin 1,25 mM olduğu saptanmıştır.

İyon kromatografisinde iyi bir ayırmanın gerçekleşebilmesi için eluent akış hızının saptanması gerekir. Eluent akış hızı belirlenirken anyonların birbirleriyle girişim yapmadan, yüksek ayırıcılığın sağlanması ve aynı zamanda da analiz süresinin mümkün olduğunca kısaltılması hedeflenir. Eluent akış hızı arttıkça analitin alıkonma zamanı kısalacak ve sistemin ayırma etkinliği azalacaktır. Eluent akış hızı azaldıkça analit kolonda daha uzun süre kalacak ve analiz süresi uzayacaktır. 0,25-2 mLdk<sup>-1</sup> aralığında değişen farklı eluent akış hızlarıyla yapılan iyon kromatografisi analizlerinde optimum akış hızının 1,5 mLdk<sup>-1</sup> olduğu bulunmuştur.

### 3.1.5. Askorbik asitin kromatografik davranışı

Bu çalışmada PPy potansiyometrik dedektörü kullanılarak askorbik asit tayini yapılmıştır. 1,25 mM NaOH çözeltisinin eluent olarak kullanıldığı PPy potansiyometrik dedektörlü iyon kromatografisinde askorbik asit için elde edilen kromatogram Şekil 3.5'te görülmektedir. Askorbik asite ait alıkonma zamanı 2,1 dk'dır.

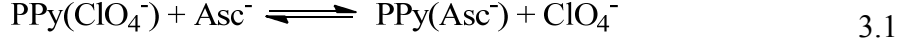


Şekil 3.5. PPy potansiyometrik dedektörlü iyon kromatografisinde askorbik asite ait (1mM) kromatogram

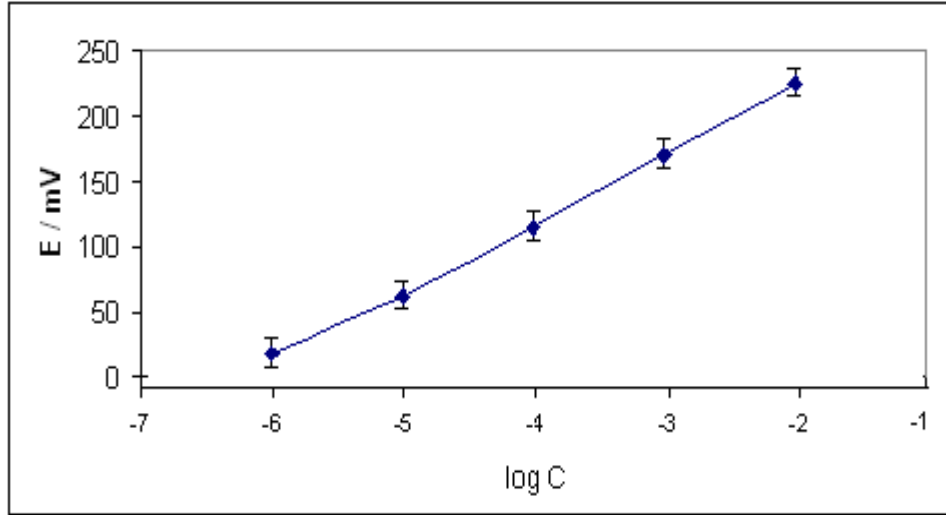
İletken polimerler katkı iyonunun yüküne ve hareketliliğine bağlı olarak anyon veya katyon değiştirici özellik gösterirler. Bunun sonucunda da anyonik ya da katyonik türlere seçici davranırlar. İyon değişimi mekanizmasının geçerli olduğu sistemlerde iletken polimerlerin kullanılmasının en büyük avantajı polimer filmin yükseltgenmesi veya indirgenmesi esnasında yükün kontrollü bir şekilde değiştirilebiliyor olmasıdır.

Bu çalışmada potansiyometrik dedektör olarak kullanılan polipirol yükseltgenme sonucu Pt elektrot yüzeyinde sentezlenmiştir. Elde edilen polipirol pozitif yüklüdür ve karşısında elektronötralliği sağlamak için çözülden gelen negatif yüklü  $\text{ClO}_4^-$  iyonları bulunmaktadır. Yükseltgenmiş formda bulunan polipirol anyonlara karşı duyarlılık göstermektedir. Polimer filmi gözenekli bir yapıya sahiptir. Analit iyonları olan askorbat iyonları PPy dedektörde bulunan

$\text{ClO}_4^-$  iyonları ile yerdeğiştirerek anyon değişim mekanizması gerçekleşir. Bu mekanizma Eşitlik 3.1. deki gibi ifade edilebilir.



Kromatografide elde edilen piklere ait alıkonma zamanları maddelerin nitel analizinde, piklerin yüksekliği veya piklerin altında kalan alan değerleri ise nicel analiz amacıyla kullanılmaktadır. Yukarıda belirtilen kromatografik koşullar kullanılarak askorbik asite ait kalibrasyon grafiği çizilmiştir. Bu amaçla askorbik asitin belirli derişimlerde standartları hazırlanarak polipirolün dedektör olarak kullanıldığı sistemde analizleri gerçekleştirilmiştir. Her bir standarta ait derişim değerlerinin logaritması ( $\log C$ ) ve kromatogramdan elde edilen pik yükseklikleri (mV) kullanılarak kalibrasyon grafiği çizilmiştir. Şekil 3.6'da askorbik asite ait kalibrasyon grafiği görülmektedir. Polipirol potansiyometrik dedektörün askorbik asite  $1 \times 10^{-6}$ - $1 \times 10^{-2}$  M derişim aralığında 0,9982 korelasyon katsayısı ile doğrusal olarak cevap verdiği gözlemlenmiştir. Askorbik asit için tayin sınırı  $7,3 \times 10^{-5}$  M'dir.



Şekil 3.6. Askorbik asite ait kalibrasyon grafiği

Polipirol potansiyometrik dedektör kullanılarak yapılan bu analizin tekrarlanabilirliğini gösterebilmek için aynı çözeltiden ard arda 5 kez enjeksiyon yapılarak elde edilen pikler istatistiksel olarak incelenmiştir. Askorbik asite ait piklerin % bağıl standart sapma değeri 2,45'dir. Ayrıca polimer dedektörün askorbik asite verdiği cevabı 30 gün boyunca kararlılığını kaybetmeden koruduğu gözlemlenmiştir.

### 3.1.6. Gerçek örneklerle yapılan tayinler

Askorbik asit standartları kullanılarak kalibrasyon grafiği oluşturulduktan sonra polipirol potansiyometrik dedektör ile askorbik asit içeren bazı ilaç tabletleri ve şurupların tayinleri yapılmıştır. Askorbik asit içeren tablettten ve şuruptan derişimi bilinen miktarlarda stok çözeltiler hazırlanmıştır. Bilinen miktarlara seyreltilen askorbik asit içeren örneklerin tayini standart ekleme yöntemiyle yapılmıştır. Analizlerde kullanılan yöntemin geçerliliği için potansiyometrik dedektörle elde edilen sonuçlar iyon kromatografisi cihazının standart dedektörü olan iletkenlik dedektörü sonuçları ile karşılaştırılmıştır. Çizelge 3.1'de polipirol potansiyometrik dedektörü ve iletkenlik dedektörü ile elde edilen değerler üretici firmaların bildirdiği değerler ile birlikte verilmiştir. Potansiyometrik ve iletkenlik dedektörü ile yapılan analiz sonuçlarının ticari firmaların bildirdiği sonuçlar ile uyumlu olduğu görülmüştür. Elde edilen sonuçlar polipirol potansiyometrik dedektörünün duyarlılığının yüksek olduğu ve analitik amaçlı askorbik asit tayininde kullanılabileceğini göstermiştir. Polipirol potansiyometrik dedektörünün askorbik asite karşı yüksek duyarlılığının yanı sıra polipirolün kolay sentezlenmesi, kararlılığı ve ucuz olması gibi özellikleri bu elektrotları alternatif bir dedektör malzemesi haline getirmektedir.



**Çizelge 3.1.** Askorbik asit içeren ilaç örneklerinin potansiyometrik ve iletkenlik dedektörlü iyon kromatografisi ile yapılan analiz sonuçları

| Tablet/şurup adı  | Bildirilen içerik  | PPy potansiyometrik dedektörle belirlenen içerik | B.S.S. (%) (n=3) | İletkenlik dedektörü ile belirlenen içerik | B.S.S. (%) (n=3) |
|-------------------|--------------------|--|------------------|--|------------------|
| Bevitin C         | 0.500 <sup>a</sup> | 0.478 <sup>a</sup>                               | 1.47             | 0.498 <sup>a</sup>                         | 1.10             |
| Aspirin+Vitamin C | 0.500 <sup>a</sup> | 0.481 <sup>a</sup>                               | 1.26             | 0.493 <sup>a</sup>                         | 1.05             |
| Supravit          | 45.1 <sup>b</sup>  | 44.0 <sup>b</sup>                                | 1.33             | 44.97 <sup>b</sup>                         | 1.20             |
| C-Plan            | 0.500 <sup>a</sup> | 0.480 <sup>a</sup>                               | 1.62             | 0.498 <sup>a</sup>                         | 0.90             |

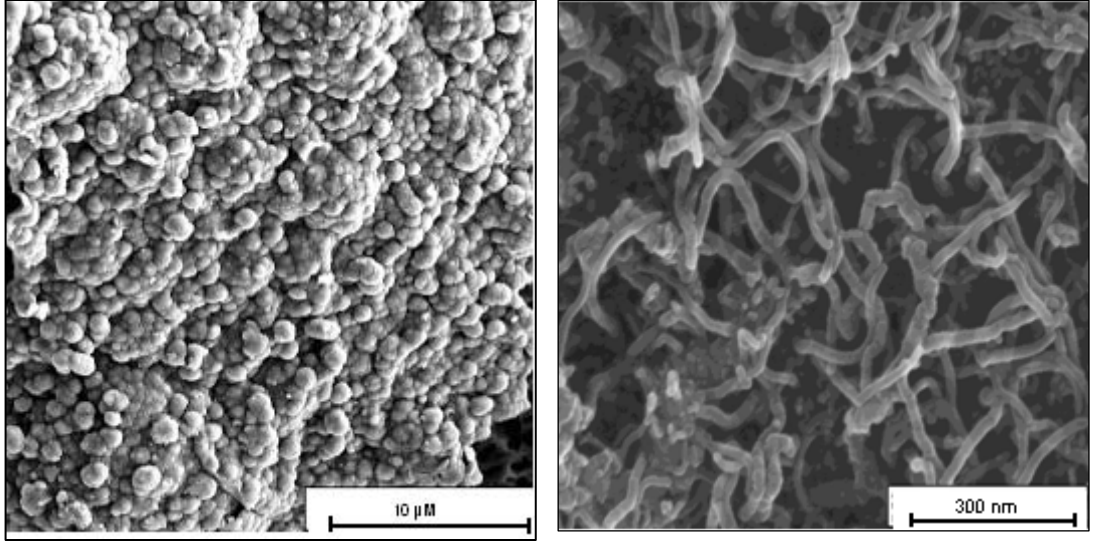
<sup>a</sup> g/tablet

<sup>b</sup> mg/ 100 mL

## 3.2. Aşırı Yükseltgenmiş Nanofiber Polipirol ile Parasetamol Tayini

### 3.2.1. Polipirol elektrotların yüzey morfolojisi

Bölüm 2.2’de açıklandığı şekilde hazırlanan polipirol filmlerinin yüzey morfolojisi SEM ile incelenmiştir. Elektrokimyasal yöntemler ile elde edilen polipirol filmlerinin morfolojisi sentez parametrelerinden (karşıt iyon, çözücü, polimerizasyon ortamı vb.) önemli ölçüde etkilenmektedir. Sulu ortamda destek elektrolit olarak sadece LiClO<sub>4</sub> kullanıldığında elektrot yüzeyinde elde edilen polipirol filmi küresel morfolojiye sahip iken (Şekil 3.7a) LiClO<sub>4</sub> ile karbonat iyonu beraber bulunduğu elde edilen polipirolün morfolojisi incelendiğinde (Şekil 3.7b) 50 ile 80 nm arasında değişen çaplarda nanofiber yapıda olduğu görülmektedir. Bu fiberler arasında bağlantılar mevcut olup bu sayede ağ yapılı polimerik bir şebeke oluşturularak yüzey alanının oldukça artmasına neden olmuştur.



(a)

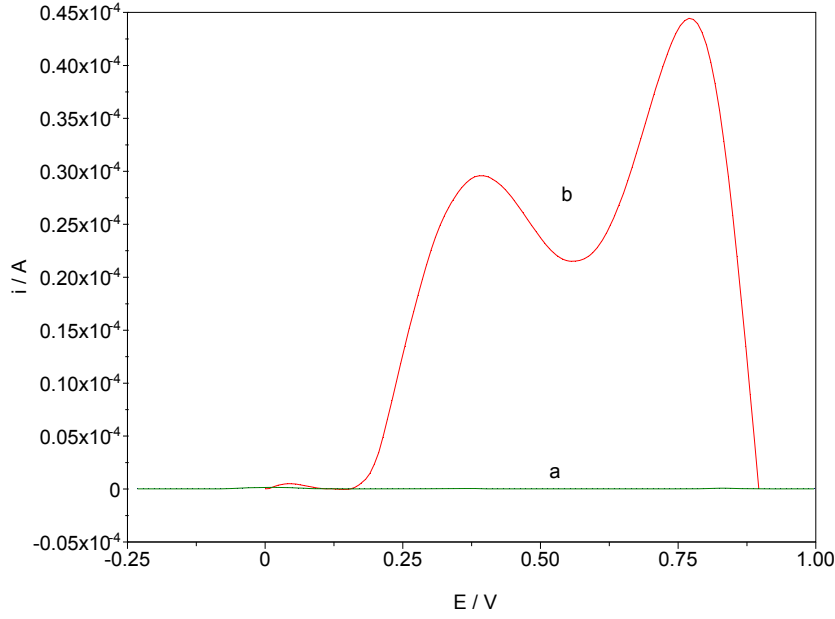
(b)

Şekil 3.7. (a)  $\text{LiClO}_4$  ve (b)  $\text{LiClO}_4 + \text{Na}_2\text{CO}_3$  destek elektrolitlerinin kullanılmasıyla elde edilen polimerlerin SEM görüntüleri

### 3.2.2. Polipirol elektrotların performanslarının karşılaştırılması

Bu çalışmada, KUE yüzeyine elektrokimyasal olarak sentezlenen polipirol filminin parasetamol tayininde kullanılması amaçlanmıştır.

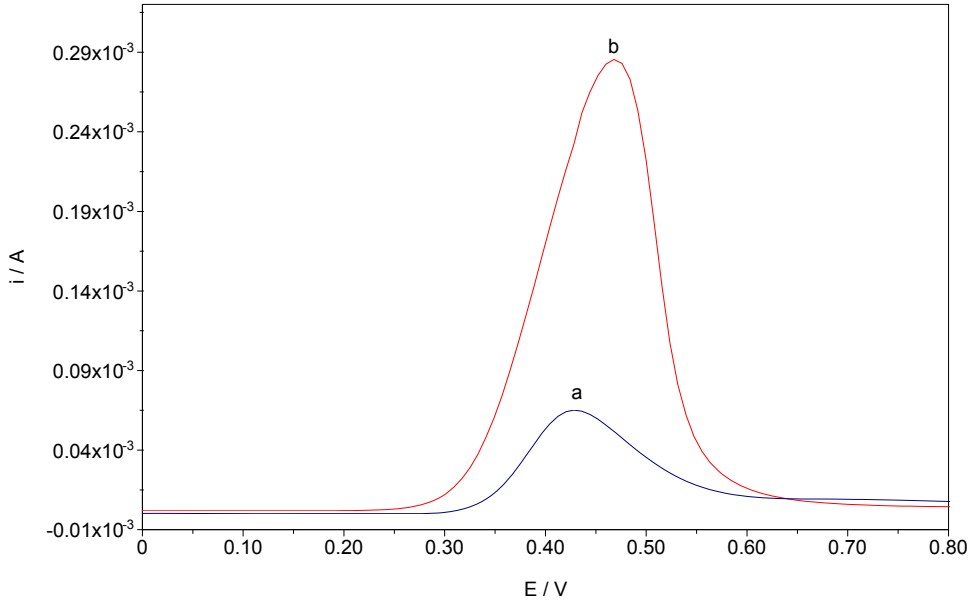
Aşırı yükseltgenmiş nanofiber polipirol elektrotların hazırlanması iki aşamada gerçekleştirilmiştir: (1) KUE yüzeyinde pirolün elektrokimyasal olarak polimerleştirilmesi (2) Polipirolün aşırı yükseltgenmesi. Bu işlemin şematik gösterimi Şekil 2.1’de verilmiştir. Polipirol filmi elektroaktif özellikte olduğundan dolayı geniş indirgenme ve yükseltgenme pikine sahiptir. Dolayısıyla analit molekülü ile girişim yapma veya analit sinyalini tamamen kapatma gibi durumlar sözkonusu olabilmektedir. Bu da sensör verimini önemli derecede düşürmektedir. Polipirolün bu etkisini azaltmak ve hazırlanan sensörün performansını artırmak için aşırı yükseltgeme (AY) işlemi uygulanmıştır. Aşırı yükseltgenmiş polipirol (AYPPy) sensör uygulamalarında analit ile girişim yapmadan kullanılabilir. Şekil 3.8’de KUE yüzeyinde sentezlenen nanofiber yapılı polipirolün aşırı yükseltgenmiş (KUE/AYPPyNF) ve yükseltgenmemiş (KUE/PPyNF) hallerinin 0,10 M KCl içeren 0,05 M fosfat tamponu (pH=7) çözeltisinde DPV yöntemiyle belirlenen elektrokimyasal davranışları görülmektedir.



**Şekil 3.8.** (a) KUE/AYPPyNF ve (b) KUE/PPyNF elektrotların 0,1 M KCl + 0,05 M FT çözeltilisindeki DP voltamogramları

KUE/PPyNF ile sadece destek elektrolit ortamında alınan voltamogramlarda +0,40 ve +0,75 V’da nanofiber yapılı polipirole ait iki kuvvetli yükseltgenme piki gözlenirken KUE/AYPPyNF ile herhangi bir yükseltgenme piki gözlenmemiştir. Bundan dolayı çalışma elektrodu olarak aşırı yükseltgenmiş nanofiber yapılı polipirol kullanılması üstünlük sağlamaktadır ve polimerin kendi cevabından kaynaklanabilecek hatalardan kaçınılmış olmaktadır.

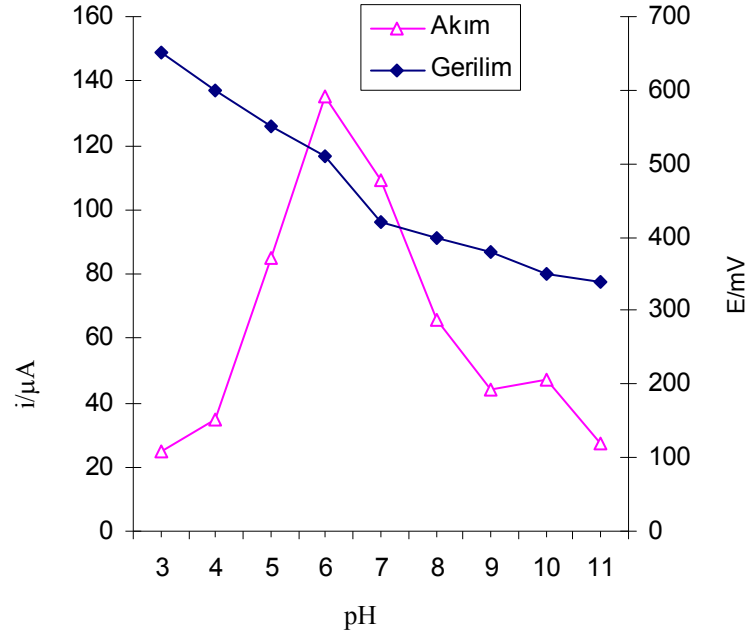
KUE/AYPPyNF’in parasetamole karşı davranışı çıplak (kaplanmamış) KUE ile karşılaştırıldığında KUE/AYPPyNF’in parasetamolün yükseltgenme pik akımında yaklaşık 5 katlık bir artışa neden olduğu görülmüştür. Nanofiber yapılı polipirol elektrot yüzey alanının genişlemesini ve elektron aktarımının hızlanmasını sağlayarak parasetamolün yükseltgenmesinde elektrokatalitik etkinlik göstermiştir. Şekil 3.9’da KUE/AYPPyNF elektrot ile çıplak kalem ucunun (KUE) parasetamol için 0,10 M KCl içeren 0,05 M fosfat tamponu (pH=7) çözeltilisinde DPV yöntemiyle belirlenen elektrokimyasal davranışları görülmektedir.



Şekil 3.9. 0,1 M KCl içeren pH=7 0,05 M fosfat tamponunda 10 mM parasetamol için (a) KUE ve (b) KUE/AYPPyNF ile DP voltamogramları

### 3.2.3. Parasetamol cevabı üzerine pH etkisi

Elektrokimyasal yükseltgenme mekanizması ortam pH'sına bağlı olarak değişmekte ve elde edilen akım cevapları da bundan etkilenmektedir. Bu etkiyi belirlemek amacıyla KUE/AYPPyNF'nin parasetamol varlığındaki elektrokimyasal davranışı pH 3-11 arasında DPV yöntemiyle incelenmiş ve sonuçlar Şekil 3.10'da verilmiştir.



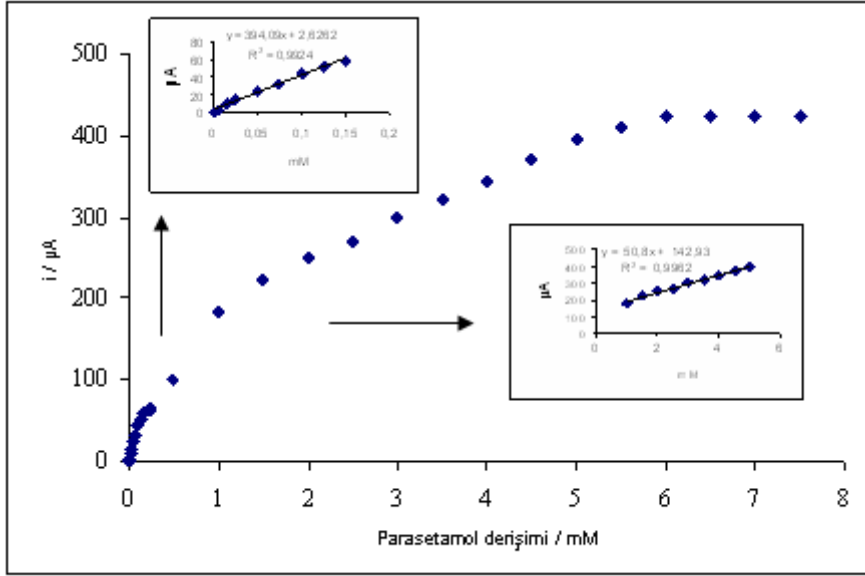
**Şekil 3.10.** KUE/AYPPyNF elektrotlar ile 0,25 mM parasetamol için farklı pH'lardaki çözeltilerde elde edilen akım ve gerilim değerleri, Elektrolit:0,10 M KCl + 0,05 M FT

KUE/AYPPyNF elektrodun parasetamole karşı olan en yüksek cevabı pH=6'da elde edilmiştir. pH=6'dan daha düşük ve yüksek değerler uygulandıkça parasetamolün yükseltgenmesine ait akım şiddeti hızla azalmaktadır. KUE/AYPPyNF'in parasetamole karşı olan cevabı pH yükseldikçe daha katodik bölgelere kaymakta ve akım değeri düşmektedir. Düşük akım değerleri elektrodun duyarlılığında bir azalmaya neden olacağından yüksek pH değerleri parasetamol tayini için uygun olmayacaktır

#### 3.2.4. Aşırı yükseltgenmiş nanofiber polipirol elektrodun parasetamole karşı etkinliğinin incelenmesi

KUE/AYPPyNF elektrotlar ile pH 6'da elde edilmiş kalibrasyon eğrileri Şekil 3.11'de gösterilmektedir. Kalibrasyon eğrisinde tayin edilen parasetamol derişimine karşı KUE/AYPPyNF elektrot ile ölçülen parasetamolün yükseltgenme pik akım değerleri grafiğe geçirilmiştir. Bu grafiklerden KUE/AYPPyNF elektrodun doğrusal olarak çalıştığı iki bölge tespit edilmiştir. Birinci bölge 1

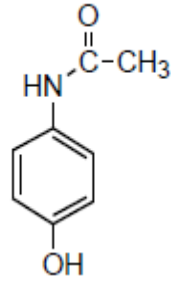
$\mu\text{M}$ 'dan 0,15 mM'a kadar 0,992 korelasyon katsayısı ile doğrusallık göstermektedir. İkinci bölge 1-5 mM aralığında 0,996 korelasyon katsayısı ile doğrusallık göstermektedir. KUE/AYPPyNF elektrotlar ile parasetamol için tayin sınırı ( $3\sigma$ )  $3,9 \times 10^{-7}$  M olarak belirlenmiştir.



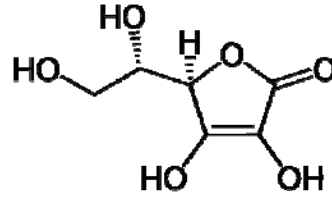
**Şekil 3.11.** Aşırı yükseltgenmiş nanofiber polipirol elektrotlar ile parasetamol için elde edilmiş kalibrasyon eğrileri

### 3.2.5. Girişim yapan türlerin etkisi

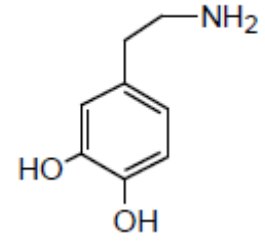
KUE/AYPPyNF elektrodun parasetamol için seçiciliği girişim yapan farklı türlerin varlığında tespit edilmiştir. Elektrotların dopamin, askorbik asit, p-aminofenol, D-glikoz ve kafein gibi bazı girişim yapan türler varlığında parasetamole karşı cevapları incelenmiştir. 0,25 mM parasetamol derişimindeki çözeltiye bu türlerden 0,25 mM ile 2,0 mM arasında ilaveler yapılmış ve her ilaveden sonra KUE/AYPPyNF elektrodun parasetamole karşı cevabı DPV yöntemiyle incelenmiştir. Girişim yapan herhangi bir tür olmadığında KUE/AYPPyNF elektrot ile parasetamol için ölçülen akım değeri  $63 \mu\text{A}$ 'dır. Şekil 3.12' de parasetamol ve parasetamol tayinine girişim yapabilecek bileşiklerin moleköl yapıları görölmektedir.



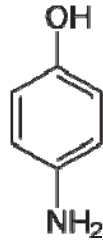
Parasetamol



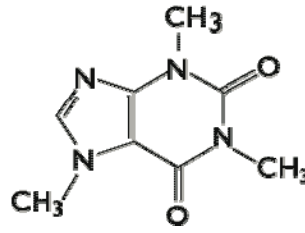
Askorbik asit



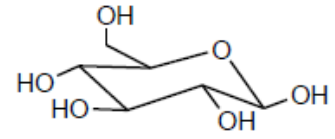
Dopamin



p-amino fenol



Kafein



D-Glikoz

Şekil 3.12. Parasetamol tayininde girişim yapabilecek bileşiklerin yapısı

Dopamin, askorbik asit ve p-aminofenol elektroaktif moleküller oldukları için öncelikle bu moleküllerin etkileri incelenmiştir. Girişim etkileri incelenirken kabul edilen tolerans seviyesi  $\pm\%5$ 'dir. Burada analizi yapılan maddeye ait pik akımlarında, girişim etkisi incelenen maddenin neden olduğu  $\pm\%5$ 'lik bir değişim kabul edilebilir seviyedir. Çizelge 3.2'den görüldüğü gibi askorbik asit derişimi 2 mM olduğunda bile parasetamol pik akımında önemli bir değişiklik görülmemektedir. KUE/AYPPyNF elektrot kullanıldığında askorbik asit 0,21 V'da yükseltgenirken parasetamol 0,49 V'da yükseltgenmektedir. Dolayısıyla bu iki maddenin pikleri arasında bir girişim bulunmamaktadır. Askorbik asit derişimi 2 mM olana kadar parasetamol pik akımında az da olsa gözlenen bir artış vardır. Bu artışın elektrot yüzeyine göç eden anyonik formda bulunan askorbik asit moleküllerinin hidrojen bağları ile parasetamol moleküllerini sürükleyerek elektrot yüzeyine daha fazla parasetamol difüzyonuna neden olmasından

kaynaklandığı düşünülmektedir. Aynı şekilde elektroaktif moleküller olan dopamin ve p-aminofenolün parasetamolün pik akımlarına etkisi incelendiğinde KUE/AYPPyNF elektrot yüzeyinde dopaminin 0,32 V'da, p-aminofenolün ise 0,24 V'da yükseltgendiği gözlenmiştir. Bu moleküllere ait yükseltgenme pikleri parasetamole ait yükseltgenme piki ile çakışmamaktadır. Bu moleküllerin derişimleri 2 mM değerine ulaşana kadar parasetamol pik akım değerlerinde kabul edilebilir sınırlar içinde bir azalmaya neden oldukları görülmüştür. Bunun nedeninin parasetamolden daha küçük moleküler yapıya sahip bu elektroaktif moleküllerin elektrot yüzeyine parasetamolden daha hızlı ulaşmaları ve parasetamolün elektrot yüzeyine göçünü engellemelerinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Kafein elektroaktif bir moleküldür. Fakat çalışma aralığımızda kafeine ait herhangi bir yükseltgenme piki gözlenmemiştir. Glikoz ise elektroaktif bir moleküldür. Bu iki molekülün parasetamolün pik akımına etkisi incelendiğinde bu iki molekülün derişimleri parasetamol derişiminin 8 katı olduğunda bile önemli bir değişikliğe neden olmadığı gözlenmiştir. Kafein ve glikozun parasetamolün pik akımlarındaki az da olsa azalmaya neden oldukları görülmüştür. Bunun nedeninin parasetamolden oldukça büyük olan bu moleküllerin elektrot yüzeyini kapatarak parasetamol moleküllerini engellemelerinden kaynaklandığı düşünülmektedir.



**Çizelge 3.2.** KUE/AYPPyNF ile 0,25 mM parasetamol analizine girişim yapan türlerin etkisi

| Girişim yapan türler | Girişim yapan türlerin derişimi (mM) | KUE/AYPPyNF ile 0,25 mM parasetamol için elde edilen akım değeri değışimi ( $\mu\text{A}$ ) | KUE/AYPPyNF ile 0,25 mM parasetamol için elde edilen akım değeriindeki % değışim |
|----------------------|--------------------------------------|---|--|
| Askorbik Asit        | 0,25                                 | 1,92  | 3,0476   |
|                      | 1,00                                 | 2,31  | 3,6666   |
|                      | 2,00                                 | 2,73  | 4,3333   |
| Dopamin              | 0,25                                 | -3,11   | 4,9365   |
|                      | 1,00                                 | -1,39   | 2,2063   |
|                      | 2,00                                 | -2,11   | 3,3492   |
| <i>p</i> -Aminofenol | 0,25                                 | -0,30   | 0,4761   |
|                      | 1,00                                 | -2,13   | 3,3809   |
|                      | 2,00                                 | -2,53   | 4,0158   |
| Kafein               | 0,25                                 | -2,81   | 4,4603   |
|                      | 1,00                                 | -2,91   | 4,6190   |
|                      | 2,00                                 | -2,94   | 4,6666   |
| Glikoz               | 0,25                                 | -1,02   | 1,6190   |
|                      | 1,00                                 | -1,32   | 2,0952   |
|                      | 2,00                                 | -1,70   | 2,6984   |

\*Girişim yapan tür olmadığında akım cevabı 63  $\mu\text{A}$ 'dir

### 3.2.6. Gerçek örnek analizleri

KUE/AYPPyNF elektrot kullanılarak bazı ilaç tabletlerinde ve şurup örneğinde parasetamol tayini yapılmıştır. Parasetamol içeren tabletlerden ve şuruptan stok çözeltiler hazırlanmıştır. Stok çözeltilerden alınan uygun miktarlar parasetamol tayini yapılan pH=6 FT çözeltisine ilave edilmiş ve DPV ölçümleri alınmıştır. Analizlerde kullanılan elektrotlar ile elde edilen sonuçların geçerliliği için HPLC analizleri yapılmış ve sonuçlar karşılaştırılmıştır. Çizelge 3.3'de HPLC ve KUE/AYPPyNF sensörü ile elde edilen değerler üretici firmaların bildirdiği

değerler ile birlikte verilmiştir. KUE/ AYPPyNF elektrot ile yapılan analiz sonuçlarının HPLC sistemi ve firmaların bildirdiği sonuçlarla uyumlu olduğu görülmüştür. Bu veriler ışığında KUE/AYPPyNF elektrotların analitik amaçlı sensör olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

**Çizelge 3.3.** KUE/AYPPyNF elektrotlar ve HPLC yöntemi kullanılarak yapılan gerçek örnek analizleri

| Tablet/şurup adı | Bildirilen içerik | KUE/AYPPyNF ile belirlenen içerik | B.S.S.(% (n=3)) | HPLC ile belirlenen içerik | B.S.S. (%) (n=3) |
|------------------|-------------------|-----------------------------------|-----------------|----------------------------|------------------|
| Minoset          | 0.500             | 0.479 <sup>a</sup>                | 1.13            | 0.496                      | 0.42             |
| Minoset Plus     | 0.250             | 0.243 <sup>a</sup>                | 0.78            | 0.245                      | 0.49             |
| Vermidon         | 0.500             | 0.497 <sup>a</sup>                | 0.65            | 0.495                      | 0.55             |
| TyloHot          | 0.500             | 0.495 <sup>b</sup>                | 1.73            | 0.494                      | 0.48             |
| Calpol şurup     | 120               | 111                               | 1.25            | 118                        | 0.31             |

<sup>a</sup> g/tablet

<sup>b</sup> g/20 g

<sup>c</sup> mg/5 mL

### 3.2.7. KUE/AYPPyNF elektrodun yeniden üretilebilirliği ve kararlılığı

KUE/AYPPyNF elektrodun yeniden üretilebilirliğini incelemek için aynı koşullarda üretilen 6 farklı elektrodun 0,25 mM parasetamol için verdiği pik akımı cevapları karşılaştırılarak yeniden üretilebilirliği incelenmiştir. Pik akımı şiddetlerinin bağıl standart sapması % 2,89'dur.

Elektrotların kararlılığı ile ilgili çalışmada ise aynı koşullarda üretilen elektrotlarla belirli zaman aralıklarında ölçümler alınmış ve elektrotların 25-30 gün boyunca oda sıcaklığında kararlılıklarını yitirmedikleri görülmüştür.

### 3.3. Elektrokimyasal Ön İşlem Uygulanan Nanofiber Polipirol (KUE/EPPyNF) ile Dopamin Tayini

#### 3.3.1. KUE/EPPyNF elektrotların dopamine karşı cevabı

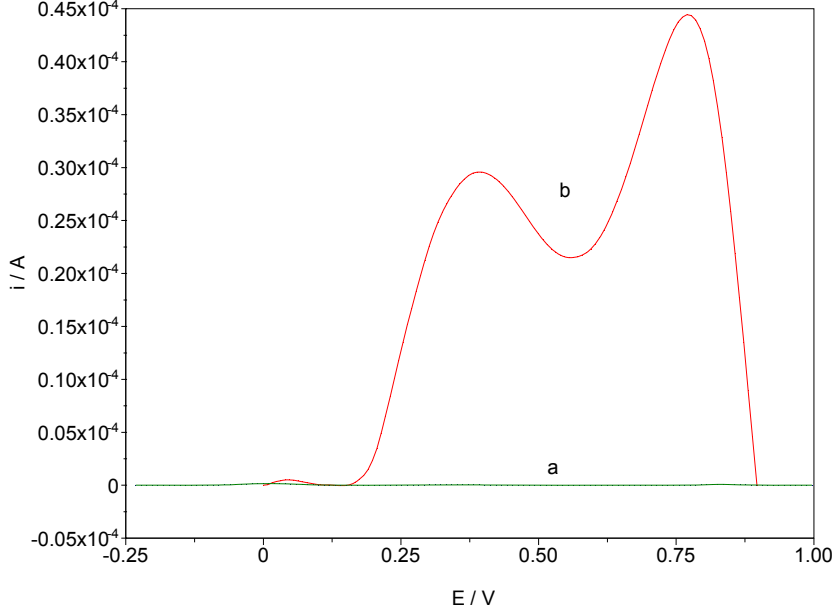
Bu çalışmada, KUE yüzeyine elektrokimyasal olarak sentezlenen ve elektrokimyasal ön işlem uygulanan polipirol filminin dopamin tayininde kullanılması amaçlanmıştır.

Nanofiber yapılı polipirol ile elektrokimyasal olarak modifiye edilmiş ve ön işlem uygulanan elektrotların hazırlanması iki basamakta gerçekleştirilmiştir

1) KUE (HB, Tombo) yüzeyinde nanofiber yapılı polipirolün (KUE/PPyNF) elektrokimyasal sentezi.

2) Nanofiber yapılı polipirol elektroda elektrokimyasal ön işlem uygulanması (KUE/EPPyNF).

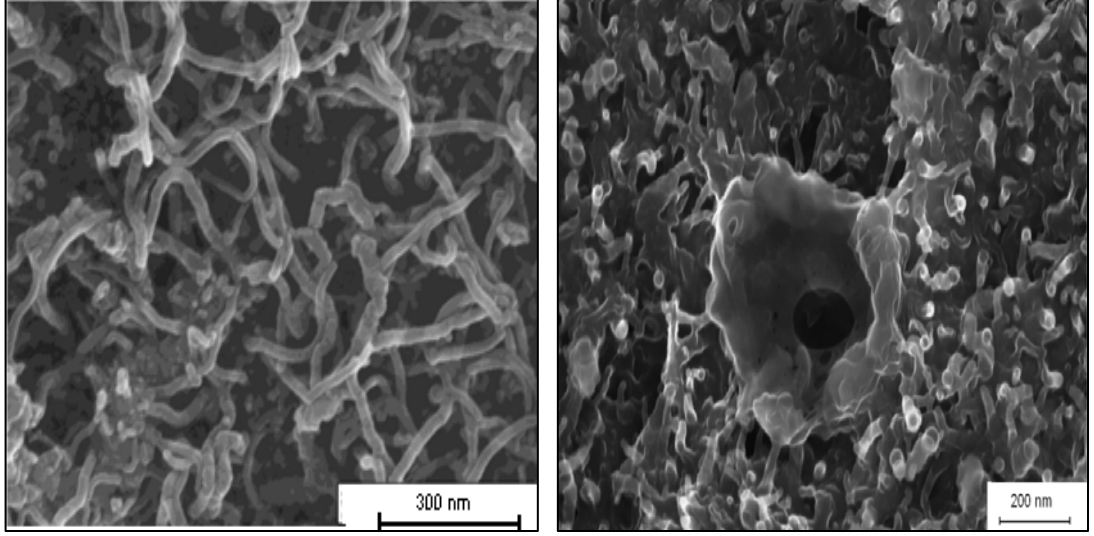
Elektroaktif olan polipirol filminin geniş indirgenme ve yükseltgenme pikinin analit ile girişim yaparak analite ait sinyali kapatmasını engellemek amacıyla elektrokimyasal ön işlem uygulanmıştır. Elektrokimyasal ön işlem uygulanmış polipirolün elektroaktivitesini kaybettiği gözlemlenmiştir. Şekil 3.13'de nanofiber yapılı polipirol ve elektrokimyasal ön işlem uygulanmış nanofiber yapılı polipirol elektrodun DP voltamogramları görülmektedir. Voltamogramlardan görüldüğü gibi elektrokimyasal ön işlem görmüş polipirolün herhangi bir yükseltgenme ve indirgenme piki gözlenmezken (Şekil 3.13a) elektrokimyasal ön işlem uygulanmamış elektrodun iki geniş yükseltgenme piki gözlenmiştir (Şekil 3.13b). Böylece polimerin kendi cevabından kaynaklanabilecek hatalardan kaçınılmış olmaktadır.



**Şekil 3.13.** (a) KUE/EPPyNF ve (b) KUE/PPyNF elektrotların 0,05 M (pH=7) FT çözeltisindeki DP voltamogramları

Elektrokimyasal ön işlemin karbon temelli elektrotların yüzey ve elektron transfer özelliklerini değiştirdiği bilinmektedir. Elektrot yüzeyinde oluşan karbonil, karboksil, hidroksil ve kinon grupları elektrodun aşırı gerilimini düşürmektedir (Engstorm 1982). Elektrot yüzeyinde oluşan bu oksijen grupları organik ve inorganik birçok madde ile elektron alış verişi, hidrojen bağı ve elektrostatik çekim gibi etkileşimlerde bulunurlar (Li ve ark. 2009).

Şekil 3.14’de polipirol nanofiberin ve elektrokimyasal ön işlem görmüş polipirol nanofiberin SEM görüntüleri görülmektedir. Elektrokimyasal ön işlem uygulanan nanofiber polipirol elektrotların (KUE/EPPyNF) yüzey morfolojisi incelendiğinde 50 ile 80 nm arasında değişen çaplarda fiber yapıların yanısıra elektrokimyasal işlemde kaynaklanan elektrot yüzeyinde fiberlerin ve kalem ucu elektrodun bozunduğu görülmektedir. Oluşan bu yapılar elektrodun yüzey alanını genişletmekte ve oluşan negatif yüklü gruplar dopaminin adsorpsiyonu kolaylaştırmaktadır.



(a)

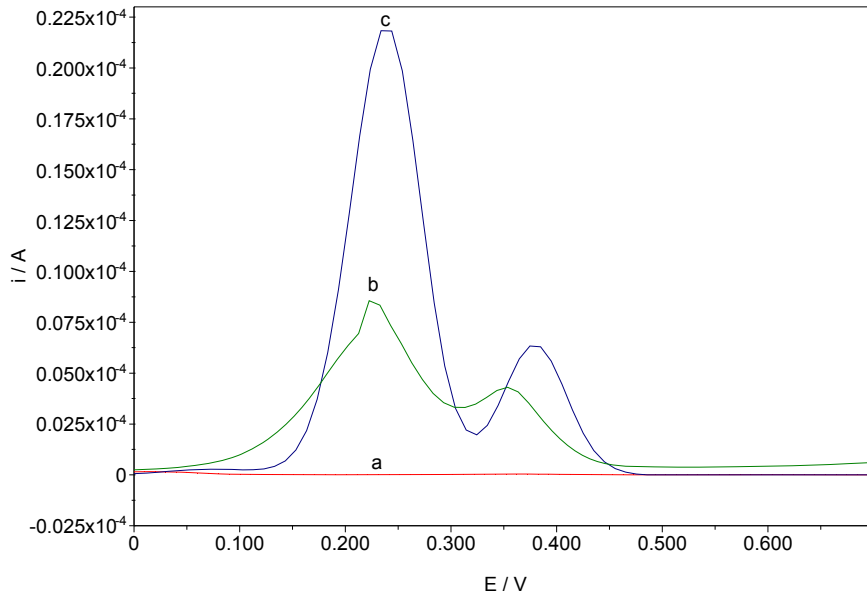
(b)

Şekil 3.14. (a) KUE/PPyNF ve (b) KUE/EPPyNF elektrotların SEM görüntüleri

KUE/EPPyNF elektrot kullanarak yapılan bu çalışmada, askorbik asit ve ürik asit varlığında dopaminin voltametrik davranışı incelenmiştir. Çıplak elektrotlar ile yapılan çalışmalarda askorbik asit, ürik asit ve dopamine ait yükseltgenme pikleri hemen hemen üst üste çakışmaktadır. Kanda dopamin miktarı 0,01-1 $\mu$ M aralığında iken ürik asit miktarı 120-450  $\mu$ M (Silva ve ark. 2008), askorbik asit miktarı 200-400  $\mu$ M'dır (Liu ve ark. 2007). Kanda askorbik asit ve ürik asit miktarlarının yüksek olması düşük derişimlerdeki dopamin tayinini zorlaştırmaktadır.

KUE/EPPyNF elektrotların dopamine karşı performansı incelendiğinde; elektrodun dopamine cevabının askorbik asit ve ürik asite göre daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. Şekil 3.15'de bu elektrotlar ile elde edilen diferansiyel puls voltamogramları görülmektedir. KUE/EPPyNF elektrodun pH=7.0 fosfat tamponunda yükseltgenme ve indirgenme pikinin olmadığı görülmüştür (Şekil 13.15a). Voltamogramlar incelendiğinde çıplak kalem ucu elektrotta Şekil (3.15.b) dopamin, askorbik asit ve ürik asit piklerinin ayrılmadığı görülmektedir. Kalem ucu elektrot fiber yapıllı polipirol ile modifiye edilip elektrokimyasal önışlem uygulandığında dopamin ve ürik asit piklerinin (Şekil 3.15.c) ayrıldığı görülmüş ve belirtilen derişim değerinde askorbik asite ait herhangi bir pik

gözlenmemiştir. Burada 0,234 V'da dopamine ve 0,385 V'da ürik asite ait yükseltgenme pikleri görülmektedir. KUE/EPPyNF elektrodun dopamine karşı daha seçici görülmüştür. KUE/EPPyNF elektrotların askorbik asite ve ürik asite karşı seçici olmaması ve dopamine karşı seçici olması önemli bir avantajdır. Özellikle kanda askorbik asit ve ürik asit derişiminin yüksek olması düşük derişimli dopaminin tayini zorlaştırmaktadır. Hazırlanan bu elektrotlar ile bu sorunun çözülebileceği düşünölmektedir.

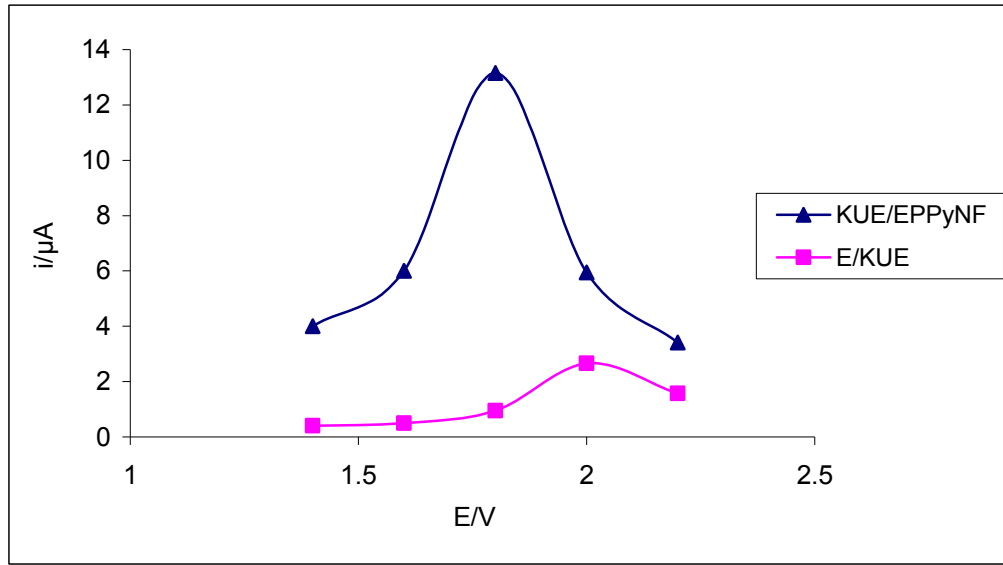


Şekil 3.15. pH=7 0,1 M fosfat tamponunda (a) KUE/EPPyNF boş çözeltili davranışı 5 µM dopamin, 15 µM ürik asit ve 100 µM askorbik asit içeren çözeltilide (b) KUE (c) KUE/EPPyNF

### 3.3.2. KUE/EPPyNF elektrotların hazırlanmasında uygulanacak gerilim aralığının belirlenmesi

KUE/EPPyNF elektrotların elektrokimyasal ön işlemlerinde uygulanacak olan optimum gerilim aralığının tayin edilmesi amacıyla sırasıyla 0,10 M H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> çözeltilisinde -0,3 V' dan başlayarak +1,4 V, +1,6 V, +1,8 V, 2,0 V ve 2,2 V aralığında anodik gerilim değerleri değiştirilmiştir. Yapılan tüm çalışmalar 50

mV/s tarama hızında gerçekleştirilmiş ve bu aralıklarda 5 döngü alınmıştır. Hazırlanan bu elektrotların dopamin ve ürik asite karşı verdikleri cevaplar benzer şekilde hazırlanan elektrokimyasal ön işlem uygulanmış kalem ucu elektrotlar (E/KUE) ile karşılaştırılmış ve elde edilen sonuçlar Şekil 3.16’da verilmiştir. Optimum gerilim aralığının seçiminde KUE/EPPyNF elektrodun maksimum akım cevabı E/KUE elektrodun ise minimum akım cevabı verdiği nokta değerlendirilmeye alınır. Akım değerleri arasındaki farkın en büyük olduğu gerilim değeri seçilir.

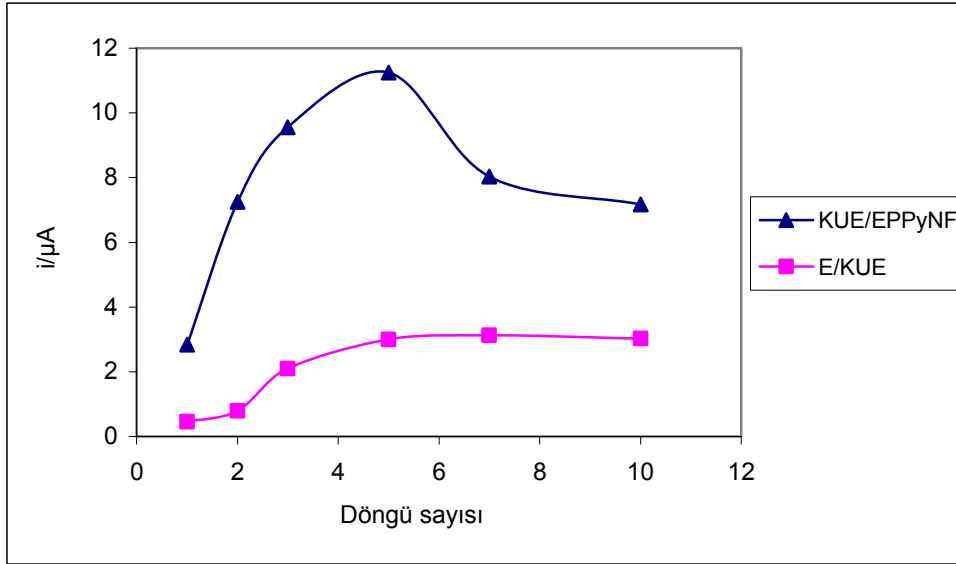


**Şekil 3.16.** KUE ve KUE/EPPyNF elektrotlara uygulanan elektrokimyasal ön işlem gerilimi ile Dopamin/ürik asit pik akımı oranındaki ilişki (5 µM dopamin, 15 µM ürik asit ve 100 µM askorbik asit içeren pH=7 0,1 M fosfat tamponunda)

Şekil 3.16’ da görüldüğü gibi -0,3 V ile + 1,8 V gerilim aralığında KUE/EPPyNF elektrotların dopamin/ürik asite karşı verdiği pik akımı değerleri E/KUE elektrotlara göre yaklaşık 13 kat daha fazladır. Bu sonuçlara göre KUE/EPPyNF elektrotlar için optimum elektrokimyasal işlem gerilim aralığının -0,3 V ile +1,8 V olduğu belirlenmiştir. Bu değerler kullanılarak optimum döngü sayısının bulunması için çalışma yapılmıştır.

### 3.3.3 KUE/EPPyNF elektrotların hazırlanmasında uygulanacak döngü sayısının belirlenmesi

Optimum döngü sayısının bulunması için E/KUE ve KUE/EPPyNF elektrotlara -0,3 V ile +1,8 V aralığında farklı döngü sayılarında (1-10) elektrokimyasal ön işlemler yapılmıştır. Elde edilen veriler döngü sayısına karşı dopamin/ürük asit pik akımı değerlerine karşı grafiğe geçirilmiştir. Şekil 3.17’de bu değerlere ait grafikler görülmektedir. Şekil 3.17’den de görüldüğü gibi E/KUE elektrotlara göre KUE/EPPyNF elektrotların dopamin/ürük asit pik akım oranı daha fazladır. Grafikten elde edilen sonuca göre KUE/PPyNF elektrotlara uygulanacak olan elektrokimyasal ön işlem için en uygun döngü sayısı 5 döngüdür. Çünkü bu noktada elektrotların verdiği akım cevapları arasındaki fark maksimumdur. Optimizasyon işlemlerinde çalışma elektrodunun analite karşı verdiği cevabın maksimum olması yetmeyebilir. Ortamda bulunabilecek ve girişim yapabilecek türlere karşı cevabının da mümkün olduğu kadar az olması gerekmektedir. Bu nedenle daha sonraki çalışmalarda optimum döngü sayısı olan 5 kullanılmıştır.

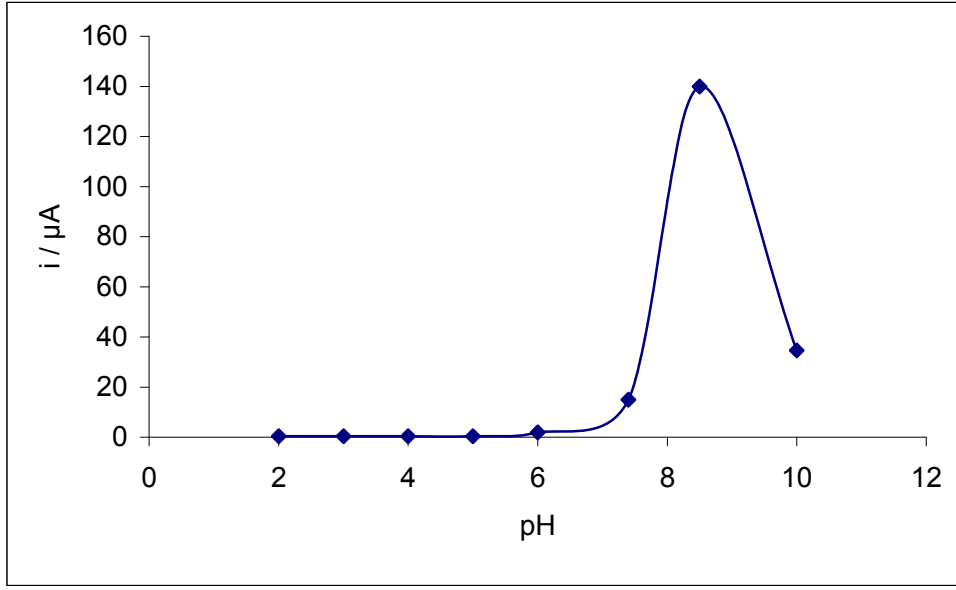


Şekil 3.17. E/KUE ve KUE/EPPyNF elektrotlara uygulanan elektrokimyasal ön işlem döngü sayısı ile dopamin/ürük asit pik akımı arasındaki ilişki (5 µM dopamin, 15 µM ürik asit ve 100 µM askorbik asit içeren pH=7,0, 0,10 M fosfat tamponunda)



### 3.3.4. Dopamin tayininde pH etkisi

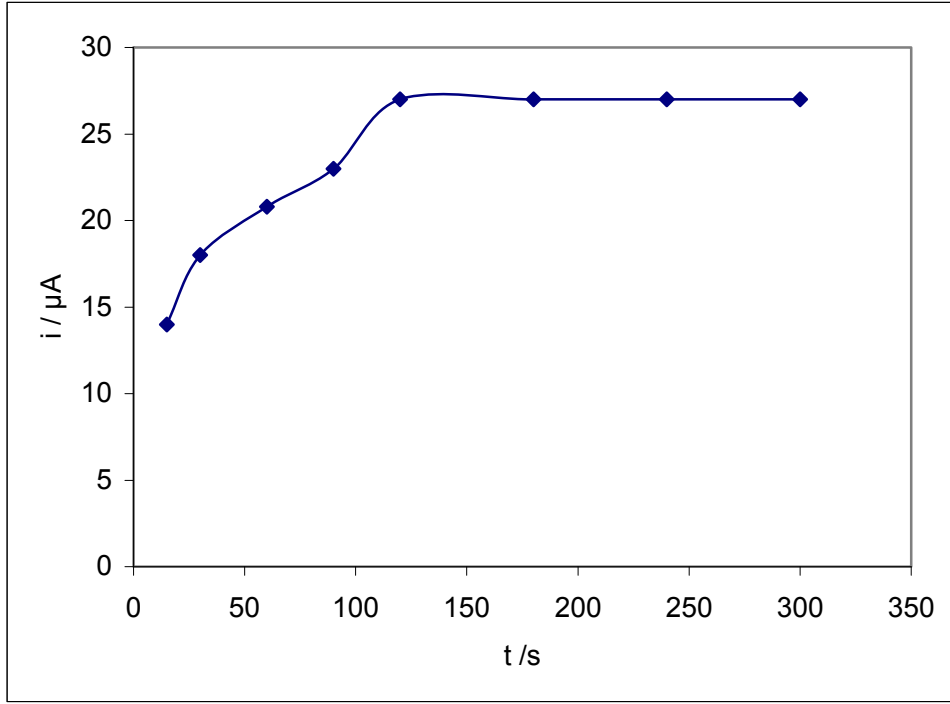
Elektrokimyasal ön işlem için uygun gerilim aralığı ve döngü sayısı bulunduktan sonra ölçüm yapılan çözelti ortamı için en uygun pH değeri belirleme çalışmaları yapılmıştır. Bu amaçla pH 2-10 aralığındaki farklı pH değerine sahip çözeltilerde KUE/EPPyNF elektrotların askorbik asit ve ürik asit varlığında dopamine karşı verdiği cevaplar incelenmiştir. Çözelti pH değerlerine karşı dopamin/ürik asit pik akımı değerleri grafiğe geçirilmiştir. Şekil 3.18’de pH değerleri ile dopamin/ürik pik akımı arasındaki ilişkiyi gösteren grafik görülmektedir. pH=8,5 değerine kadar elektrotların dopamine karşı verdikleri pik akımı değerleri artarken ürik asite ait pik akımı değerleri azalmaktadır. Bu durum şu şekilde açıklanabilir. Dopamin, askorbik asit ve ürik asitin  $pK_a$  değerleri sırasıyla 8,87, 4,17 ve 3,10’dur. Çözelti pH’sı 8,5’e çıktığında askorbik asit ve ürik asit anyonik formda bulunurlar. Aynı zamanda elektrot yüzeyinde oluşan oksijen içeren gruplar (hidroksil, karbonil, karboksilik asitler vb.) pH değeri arttıkça anyonik forma geçerler. Elektrot yüzeyindeki elektrostatik itme ürik asit ve askorbik asitin elektrot yüzeyine adsorbsiyonunu engeller. Bunun yanında pozitif yüklü olan dopamin elektrotlara daha kolay adsorplanır ve buna ait yükseltgenme pik akım değerleri daha fazla olur. Bu yüzden askorbik asit ve ürik asit varlığında dopamin analizi için en uygun çözelti değerinin 8,5 olduğu saptanmıştır.



**Şekil 3.18.** KUE/EPPyNF elektrotlarla yapılan dopamin tayininde ölçüm ortamının pH'ı ile dopamin/ürük asit pik akımı arasındaki ilişki

### 3.3.5. Adsorbsiyon süresinin belirlenmesi

Dopaminin karbon temelli elektrotlarda yükseltgenmesi adsorpsiyon kontrollüdür. Elektrodun voltametrik cevabı bekleme süresiyle değişmektedir. Bu amaçla optimum adsorpsiyon süresinin tayin edilebilmesi için farklı sürelerde askorbik asit, ürik asit ve dopamin içeren pH=8,5 fosfat tampon çözeltisinde ölçümler alınmış ve zamana karşı dopamin pik akımı grafiğe geçirilmiştir (Şekil 3.19). Şekil 3.19'dan görüldüğü gibi 120 saniyeye kadar KUE/EPPyNF elektrodun dopamine karşı cevabı artarken 120 saniyeden sonra hemen hemen sabit kalmıştır. Bu sonuç doğrultusunda optimum adsorpsiyon süresi 120 saniye olarak belirlenmiştir.

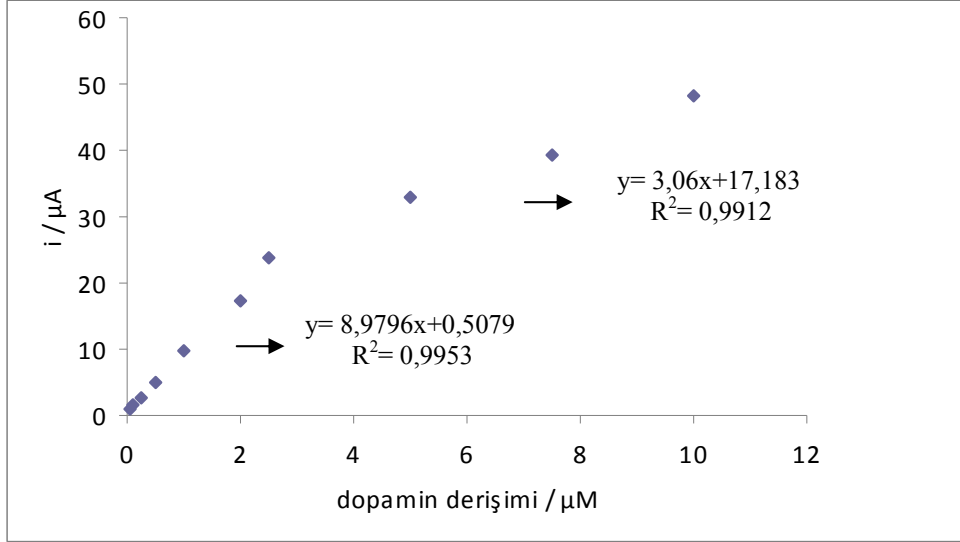


**Şekil 3.19.** KUE/EPPyNF elektrotlarla yapılan dopamin tayininde adsorpsiyon süresi ile dopamin pik akımı arasındaki ilişki (5 µM dopamin, 15 µM ürik asit ve 100 µM askorbik asit içeren pH=8,5 0,10 M fosfat tamponunda)

### 3.3.6. KUE/EPPyNF elektrotların dopamine karşı etkinliğinin incelenmesi

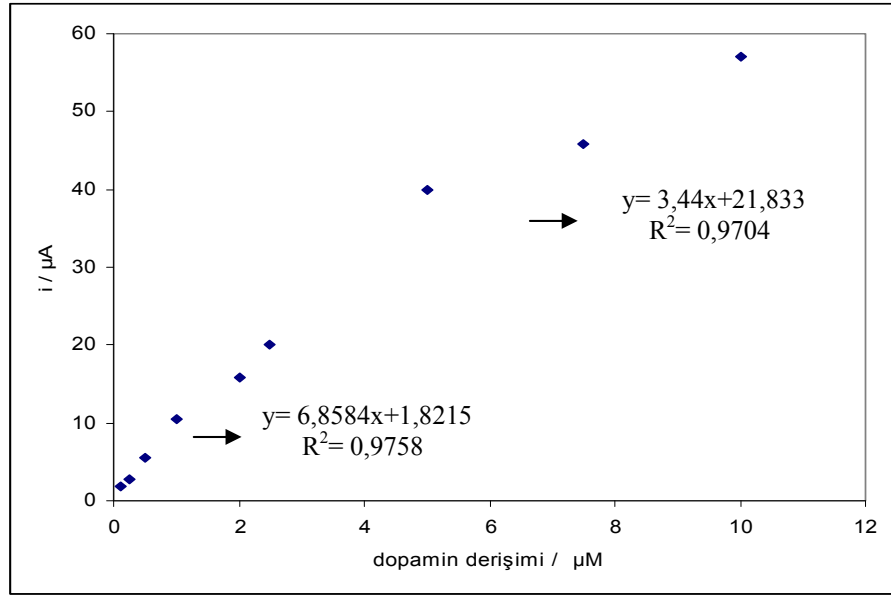
KUE/EPPyNF elektrotlar kullanılarak askorbik asit ve ürik asit varlığında ve yokluğunda farklı derişimlerdeki dopamine ait pik akımları kullanılarak kalibrasyon grafikleri çizilmiştir. Şekil 3.20’de KUE/EPPyNF elektrotların askorbik asit ve ürik asit varlığında farklı dopamin derişimlerine karşı elde edilen pik akım değerlerinin verildiği kalibrasyon grafiği görülmektedir. Bu grafikte, elektrotların dopamine karşı doğrusal olarak çalıştığı iki bölge gözlenmiştir. Birinci bölgede 0,05 µM’den 2,5 µM’a kadar 0,9953 korelasyon katsayısı ile doğrusallık gösterirken ikinci bölgede 5 µM’den 10 µM’a kadar

0,9912 korelasyon katsayısı ile doğrusallık gözlenmiştir. Hazırlanan bu elektrotlar ile dopamin tayin sınırının 0,01  $\mu\text{M}$  olduğu belirlenmiştir.



**Şekil 3.20.** KUE/EPPyNF elektrotlar ile pH= 8,5 FT çözeltisinde askorbik asit ve ürik asit varlığında dopamin için elde edilen kalibrasyon grafiği

Şekil 3.21’de KUE/EPPyNF elektrotların askorbik asit ve ürik asit yokluğunda dopamin derişimine karşı pik akımlarının verildiği kalibrasyon grafiği görülmektedir. Elektrotların dopamin derişimine karşı doğrusal olarak çalıştığı iki bölge gözlenmiştir. Birinci bölgede 0,1  $\mu\text{M}$ ’dan 2,5  $\mu\text{M}$ ’a kadar 0,9758 korelasyon katsayısı ile doğrusallık göstermektedir. İkinci bölgede 5  $\mu\text{M}$ ’dan 10  $\mu\text{M}$ ’a kadar 0,9704 korelasyon katsayısı ile doğrusallık gözlenirken dopamin tayin sınırı 0,02  $\mu\text{M}$ ’dır.



**Şekil 3.21.** KUE/EPPyNF elektrotlar ile pH= 8,5 FT çözeltisinde askorbik asit ve ürik asit yokluğunda dopamin için elde edilen kalibrasyon grafiğı

Burada kullanılan elektrodun hassasiyeti kalibrasyon eğrisinin eğimi ile tayin sınırının mümkün olduğunca düşük olması ile belirlenir. Şekil 3.20 ve Şekil 3.21'den görüldüğü gibi askorbik asit ve ürik asit varlığında kalibrasyon doğrusunun eğimi daha yüksek ve tayin sınırı daha düşüktür. Bu durum askorbik asit varlığının dopaminin yükseltgenme pik akım değerlerine olumlu bir etkisi olduğunu göstermektedir.

### 3.3.7. Girişim yapan türlerin etkisi

Dopaminin elektrokimyasal tayinindeki en önemli problem, dopamin içeren biyolojik sıvılarda ürik asit ve askorbik asit gibi elektroaktif maddelerin varlığıdır. Çıplak elektrotlar ile yapılan çalışmalarda askorbik asit, ürik asit ve dopamine ait yükseltgenme pikleri hemen hemen üst üste çakışmaktadır. Kanda askorbik asit ve ürik asit miktarlarının yüksek olması düşük derişimlerdeki dopamin tayinini zorlaştırmaktadır. Bu nedenle öncelikle bu maddelerin dopaminin yükseltgenme pik akımına etkileri incelenmiştir. Dopamin derişimi 2 µM'da sabit tutularak artan derişimlerde girişim etkisi incelenecek olan

maddelerden eklenerek dopamin pik akımındaki değişim kaydedilir. 2  $\mu\text{M}$  dopamin için girişim yapan türlerin varlığında pik akımlarındaki değişmeler Çizelge 3.4’de verilmiştir.

**Çizelge 3.4.** KUE/EPPyNF elektrotlar kullanılarak elde edilen dopamin pik akımı değerlerine girişim yapan türlerin etkisi

| Girişim yapan türler | Girişim yapan türlerin derişimi ( $\mu\text{M}$ ) | 2 $\mu\text{M}$ dopamin için elde edilen akım değeri değişimi ( $\mu\text{A}$ ) | 2 $\mu\text{M}$ dopamin için elde edilen akım değeri % değişimi ( $\mu\text{A}$ ) |
|----------------------|---|---|---|
| Askorbik Asit        | 100   | -0,06   | 0,3773  |
|                      | 500   | -0,10   | 0,6289  |
|                      | 1000  | -0,10   | 0,6285  |
|                      | 2000  | -0,20   | 1,2578  |
| Ürik asit            | 15  | -0,16   | 1,0062  |
|                      | 30  | -0,31   | 1,9496  |
|                      | 100   | -0,69   | 4,4230  |
| Tartarik asit        | 100   | +0,20   | 1,2578  |
|                      | 200   | +0,60   | 3,7735  |
|                      | 400   | +0,95   | 5,9748  |
| Sitrik asit          | 100   | +0,60   | 3,7735  |
|                      | 500   | +0,75   | 4,7169  |
|                      | 1000  | +1,01   | 6,3522  |
| Glikoz               | 100   | +0,30   | 1,8867  |
|                      | 200   | +0,40   | 2,5157  |
|                      | 500   | +0,80   | 5,0314  |

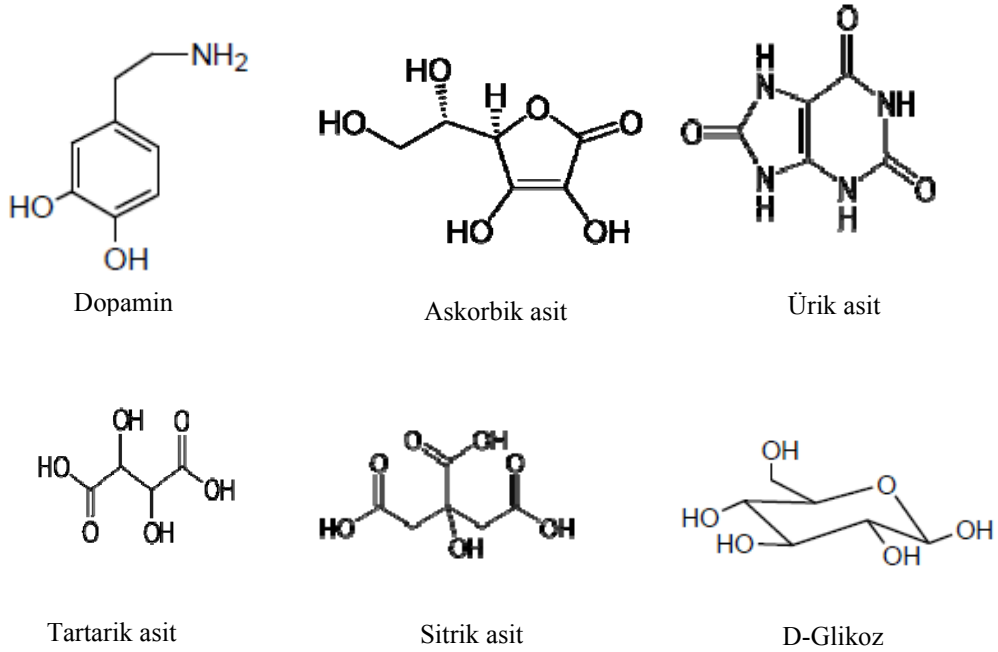
Girişim yapan herhangi bir tür yokken KUE/EPPyNF elektrot ile elde edilen akım 15,9  $\mu\text{A}$

Askorbik asit elektroaktif bir maddedir. Modifiye edilmemiş çıplak elektrot yüzeyinde askorbik asit ile dopamine ait yükseltgenme pikleri üst üste çakışır. Ancak bu çalışmada modifiye elektrotlar kullanılarak askorbik asit ve dopamin pikleri birbirlerinden ayrılmıştır. Askorbik asit 0,21 V’da yükseltgenirken dopamin 0,122 V ‘da yükseltgenmektedir. 2  $\mu\text{M}$  dopamin için girişim yapan herhangi bir tür olmadığında KUE/EPPyNF ile elde edilen akım değeri 15,9  $\mu\text{A}$ ’dır. Askorbik asit derişiminin dopamin derişiminin 1000 katı kadar olduğunda bile dopamine ait pik akımında önemli bir değişiklik olmadığı görülmüştür. Girişim etkileri incelenirken kabul edilen tolerans seviyesi  $\pm\%5$ ’dir.

Burada analizi yapılan maddeye ait pik akımlarında, girişim etkisi incelenen maddenin neden olduğu  $\pm\%5$ 'lik bir değişim kabul edilebilir seviyedir. Çizelge 3.4.'den görüldüğü gibi askorbik asit derişiminin 2000  $\mu\text{M}$ 'a kadar artmasıyla dopamin pik akımlarındaki kabul edilebilir seviyedeki azalmaların nedeninin dopamin ile askorbik arasındaki hidrojen bağlarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Şekil 3.22' de dopamin tayinine girişim yapan türlerin molekül yapıları görülmektedir. Burada dopamin molekülündeki hidroksil ve amin gruplarındaki hidrojenler ile askorbik asit molekülündeki karbonil ve hidroksil gruplarındaki oksijen atomlarıyla hidrojen bağı oluşturmaktadır. Dopamin ile askorbik asit arasındaki bu etkileşim dopaminin elektrot yüzeyine adsorpsiyonunu engellemekte dolayısıyla elektrot yüzeyine ulaşan dopamin molekül sayısı azalmakta ve dopamin pik akımında azalma gerçekleşmektedir. Aynı şekilde ürik asitin girişim etkisi incelendiğinde 0,197 V'da ürik asite ait yükseltgenme piki gözlenmiştir. Ürik asit derişiminin dopamin derişiminin 50 katı olduğu durumda bile dopamine ait pik akımında önemli bir değişiklik olmadığı görülmüştür. Ürik asit derişiminin 100  $\mu\text{M}$ 'a kadar artmasıyla dopamin pik akımındaki kabul edilebilir seviyedeki azalmaların hidrojen bağlarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Ayrıca biyolojik sıvılarda bulunan glikoz, tartarik asit, sitrik asit gibi maddelerin de dopamin pik akımını nasıl etkilediği incelenmiştir. Dopamin derişimi 2  $\mu\text{M}$ 'da sabit tutulurken artan derişimlerde girişim etkisi incelenecek olan bu maddelerden çözelti ortamına eklenerek KUE/EPPyNF elektrodun dopamine karşı cevabı incelenmiştir. Tartarik asit elektroaktif bir moleküldür. Tartarik asit derişiminin dopamin derişiminin 100 katı olduğu durumda bile dopamin pik akımında belirgin bir değişiklik olmadığı görülmüştür. Tartarik asit derişimi 400  $\mu\text{M}$ 'a ulaştığında dopamin pik akımında % 5'den fazla artışa neden olmuştur. Bu artışın pH=8.5 fosfat tamponu olan ölçüm çözeltisinde anyonik formda bulunan tartarik asit ( $\text{pK}_a= 2,96$  ve  $4,16$ ) moleküllerinin destek elektrolit görevi yaparak elektron aktarımını kolaylaştırmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Aynı şekilde sitrik asit derişiminin dopamin derişiminin 250 katı kadar olduğu durumda dopamin pik akımında belirgin bir değişiklik olmadığı ve sitrik asit derişiminin 1000  $\mu\text{M}$ 'a ulaştığında pik akımında kabul edilebilir bir

değişim olduğu gözlenmiştir. Burada sitrik asit ( $pK_a = 3,14; 4,76$  ve  $5,40$ )  $pH=8,5$  fosfat tampon çözeltisinde anyonik formdadır. Sitrik asit derişiminin artışı ile dopamin pik akımındaki artışın sitrik asitin elektrolit görevi yaparak elektron aktarımını kolaylaştırmasından ve elektrot yüzeyinde daha fazla dopamin molekülünün yükseltgenmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Glikoz moleküllerinin dopamin pik akımına etkisi incelendiğinde ise glikoz derişimi  $500$  mM'a ulaştığında bile dopamin derişiminde belirli bir değişikliğe neden olmadığı görülmüştür. Bu kabul edilebilir artışın dopamin moleküllerinin adsorpsiyon özelliğinin glikoz moleküllerinin varlığında artmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.



Şekil 3.22. Dopamin tayininde girişim yapabilecek bileşiklerin molekül yapıları

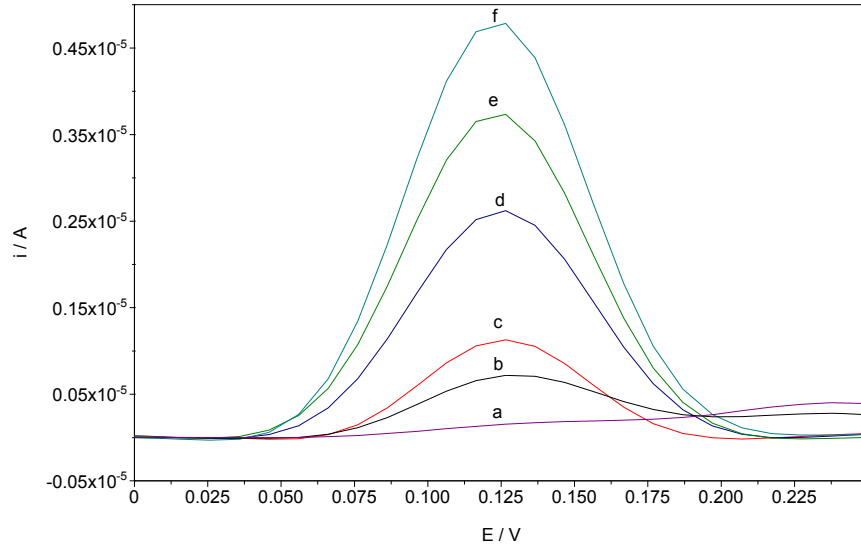
### 3.3.8. Gerçek örneklerde dopamin tayini

Bu çalışmada, dopamine karşı seçici davranan KUE/EPPyNF elektrotların gerçek örneklere karşı uygulanabilirliği de araştırılmıştır. Bu amaçla kan serumunda ve bazı ilaç örneklerinde dopamin tayini yapılmıştır.

Kan serumu örnekleri Anadolu Üniversitesi Hastanesinden alınmıştır. Kan serumu örnekleri girişim yapması muhtemel maddelerin etkisini azaltmak



için pH=8,5 fosfat tamponu çözeltisiyle seyreltilerek kullanılmıştır. Örneklerdeki dopamin tayini matriks etkisini azaltmak amacıyla standart ekleme yöntemiyle yapılmıştır. Bu amaçla kan örneği içeren pH= 8,5 FT analiz çözeltisine artan derişimlerde dopamin standartları eklenmiştir. Dopamin ısı, ışık gibi faktörlerden etkilenen ve bozunan kararsız bir maddedir. Hazırlanan standart çözeltilerin birkaç saat içinde bozunduğu görülmüştür. Bu nedenle dopamin standartları günlük hazırlanıp kullanılmıştır. Şekil 3.23’de kan örneğinde standart ekleme yöntemi yapılarak elde edilen diferansiyel puls voltamogramları (DPV) görülmektedir.



**Şekil 3.23.** Kan serumunda standart ekleme yöntemiyle elde edilen diferansiyel puls voltamogramları a) Dopamin eklenmemiş kan örneği, b) 0,1 µM, c) 0,5 µM, d) 1µM, e) 1,5 µM ve f) 2 µM dopamin eklenmiş

Kan örneği analizlerine ait kalibrasyon grafiği oluşturulmuş, tayin sınırları ve korelasyon katsayıları hesaplanmıştır. Elde edilen veriler Çizelge 3.5’de görülmektedir.

**Çizelge 3.5.** Kan örneğinde KUE/EPPyNF elektrotlar kullanılarak yapılan dopamin analizine ait kalibrasyon verileri

| DA ( $\mu\text{M}$ ) | Kalibrasyon denklemi | $R^2$  | Tayin sınırı ( $\mu\text{M}$ ) | Kan örneği (mL) | FT (pH8.5) (mL) | Toplam hacim (mL) |
|----------------------|----------------------|--------|--------------------------------|-----------------|-----------------|-------------------|
| 0,5-2                | $I=2,13C+0,1389$     | 0,9964 | 0,015                          | 0,2             | 18              | 20                |

KUE/EPPyNF elektrotlar kullanılarak yapılan kan örneği analizinde tayin sınırı  $0,015 \mu\text{M}$ 'dır. Elde edilen verilerden KUE/EPPyNF elektrotun kanda dopamin tayini için uygun bir sensör olduğu görülmektedir.

İlaçlar ile yapılan analizlerde ampul formunda olan örneklerden derişimi bilinen miktarlarda stok çözeltiler hazırlanmıştır. Stok çözeltilerden uygun miktarlar alınarak dopamin tayini yapılan pH 8,5 FT çözeltilisine ilave edilmiş ve ölçümler alınmıştır. Seyrelme faktörü göz önüne alınarak belirlenen dopamin miktarlarının üretici firmaların bildirdiği değerlerle karşılaştırıldığı sonuçlar Çizelge 3.6'de verilmiştir. Elde edilen sonuçların üretici firmaların bildirdiği sonuçlarla uyumlu olduğu görülmüştür. Ucuz, tek kullanımlık, istenilen boyutlarda hazırlanabilen ve kolay temin edilebilebilen kalem ucu elektrotların nanofiber yapılı polipirol ile modifiye edilmesi ile hazırlanan bu sensörlerin klinik amaçlı dopamin tayininde kullanılabileceği bu çalışma ile gösterilmiştir.

**Çizelge 3.6.** KUE/EPPyNF elektrotlar kullanılarak yapılan ilaç analizleri

| İlaç ismi/Firma ismi | Bildirilen miktar (mg/mL) | Tayin edilen miktar (mg/mL) | % BSS (n=3) |
|----------------------|---------------------------|-----------------------------|-------------|
| Dopmin/ORION         | 40                        | 39,13                       | 0,94        |
| Dopamine/HOSPIRA     | 40                        | 39,53                       | 0,37        |

### 3.3.9 KUE/EPPyNF elektrodun yeniden üretilebilirliği ve kararlılığı

KUE/EPPyNF elektrodun yeniden üretilebilirliğini incelemek için aynı koşullarda üretilen 6 farklı elektrodun 2  $\mu\text{M}$  dopamin için verdiği pik akımı değerleri karşılaştırılarak yeniden üretilebilirliği incelenmiştir. Pik akımı şiddetlerinin bağıl standart sapması % 2,32'dir.

Elektrotların kararlılığı ile ilgili çalışmada ise aynı koşullarda üretilen elektrotlarla belirli zaman aralıklarında ölçümler alınmış ve elektrotların yaklaşık 30 gün boyunca kararlılıklarını yitirmedikleri görülmüştür.

#### 4. SONUÇLAR

Tez çalışmasının ilk aşamasında polipirolün askorbik asit tayininde potansiyometrik dedektör olarak kullanımı araştırılmıştır. Polipirol filmi elektrokimyasal olarak Pt elektrot yüzeyinde sentezlenmiştir. Hazırlanan polimer filmi literatürde ilk defa iyon kromatografisi sistemi için potansiyometrik dedektör olarak kullanılmıştır. Polipirol filminin sentezinde ve iyon kromatografisi uygulamasında askorbik asite karşı performansının artırılması için etkin olan parametreler belirlenmiştir.

Askorbik asit tayininde kullanılan polipirol filminin elektrokimyasal sentezi için en uygun koşulların; 0,10 M LiClO<sub>4</sub> ve 25 mM pirol içeren sulu çözeltide -0,50 V ile 0,90 V gerilim aralığında 100 mV/s tarama hızında 7 döngü olduğu belirlenmiştir (Bölüm 3.1.2).

İyon kromatografisi sisteminde askorbik asit için iyi bir ayırma Dionex marka IonPac AS11-HC analitik kolon ve ASRS supresör varlığında, 1,25 mM NaOH çözeltisinin eluent olarak kullanıldığı ve eluent akış hızının 1,5 mLdk<sup>-1</sup> olduğu koşullarda sağlanmıştır. Polipirolün potansiyometrik dedektör olarak kullanıldığı bu sistemde askorbik asite ait alıkonma zamanının 2,1 dk. olduğu gözlenmiştir (Bölüm 3.1.5).

Elektrokimyasal polimerizasyon ve kromatografik koşullar belirlendikten sonra farklı derişimlerdeki askorbik asit standartları ile bir kalibrasyon grafiği çizilmiştir. Polipirol potansiyometrik dedektörün askorbik asite 1,10<sup>-6</sup>-1,10<sup>-2</sup> M derişim aralığında 0.9982 korelasyon katsayısı ile doğrusal olarak cevap verdiği gözlemlenmiştir. Ayrıca polimerin 30 gün boyunca kararlı olduğu ve askorbik asite karşı performansının değişmediği belirlenmiştir. Bu dedektörle askorbik asit için tayin sınırı 7,3 10<sup>-5</sup> M'dır (Bölüm 3.1.5).

Polipirolün askorbik asite karşı seçiciliği ortamda bulunabilecek farklı iyonlar varlığında incelenmiştir. Askorbik asit tayininde anyon değiştirici özelliğe sahip kolon kullanıldığından katyonlara ait pikler gözlenmemiştir. Katyonların dışında askorbik asit tayininde polipirol potansiyometrik dedektör ile F<sup>-</sup>, Cl<sup>-</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup> ve Br<sup>-</sup> iyonları da incelenmiş ve bunlara ait pikler de gözlenmiştir. Bu iyonlara ait

alıkonma zamanlarının askorbik asitin alıkonma zamanından farklı olması girişim etkisinin olmadığını göstermiştir. Hazırlanan polipirol potansiyometrik dedektörün analitik amaçlı uygulanabilirliği göstermek için bazı ticari ilaç örneklerinde askorbik asit tayini yapılmıştır (Bölüm 3.1.6). Elde edilen sonuçların; iletkenlik dedektörlü iyon kromatografisi ve üretici firmaların verdiği sonuçlar ile uyumlu olduğu görülmüştür. Polimer filmin askorbat iyonuna karşı duyarlılığı polimerin elektrokimyasal sentezi sırasında pozitif katkılarından kaynaklanmaktadır. Perklorat iyonlarının karşı iyon olarak kullanıldığı bu çalışmada sentezlenen polipirol anyon değişim özelliğine sahiptir. Katkı maddesinin özelliklerine göre elde edilen polimer anyon veya katyon değiştirici özellik göstermektedir. Bu çalışmada, pirolün elektropolimerizasyonu esnasında polimerin yapısında karşı iyon olarak bulunan perklorat anyonları ile analiz ortamındaki askorbat iyonlarının yer değiştirmesi ile kromatogramda askorbik asite ait pik görülmektedir. Benzer şekilde anyon değiştirici özelliğe sahip olan polipirol filminin bazı inorganik anyonlara ( $F^-$ ,  $Cl^-$ ,  $NO_2^-$  ve  $Br^-$ ) da aynı yer değiştirme mekanizması ile cevap verdiği ancak bu iyonlara ait piklerin askorbik asit piklerinden farklı alıkonma zamanlarına sahip oldukları gözlemlenmiştir. Diğer ilaç örnekleri ile yapılan analizlerde polipirol potansiyometrik dedektörün diğer inorganik ve organik anyonlara cevap vermemesi bu dedektörün rutin analizlerde girişim etkileri olmaksızın başarıyla kullanılabilceğini göstermektedir.

**Polipirolün iyon kromatografisi için potansiyometrik dedektör olarak kullanımı ve dedektörün askorbik asit tayininde uygulaması literatürde ilk defa bu çalışma ile gerçekleştirilmiştir.** Sentez kolaylığı, kararlılığı, ucuz olması, elektrot yüzeyinin kolaylıkla temizlenebilme özelliği ile polipirol elektrot askorbik asit için oldukça duyarlı alternatif bir dedektör malzemesidir. Bu çalışma sonucu elde edilen veriler SCI kapsamında saygınlığı yüksek olan “Biosensors and Bioelectronics” dergisinde yayınlanmıştır (Şahin ve ark. 2009).

Tez çalışmasının ikinci aşamasında nanofiber yapıları polipirolün parasetamol tayininde kullanımı araştırılmıştır. Parasetamol tayini diferansiyel puls voltametri (DPV) yöntemi ile yapılmıştır. Çalışma elektrodu olarak kalem ucu elektrotlar kullanılmıştır. Nanofiber yapıları polipirol elektrotlar 0,10 M

LiClO<sub>4</sub>, 0,10 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ve 0,10 M pirol içeren sulu çözeltide 0,0 V ile 0,80 V gerilim aralığında 100 mV/s tarama hızında 10 döngülü elektropolimerleşme ile hazırlanmıştır. Polipirole ait olan ve analit sinyalinin gözlenmesini engelleyebilecek yükseltgenme pik akım değerlerini minimuma indirmek için polipirol filmine aşırı yükseltgenme işlemi uygulanmıştır. Aşırı yükseltgenmiş nanofiber yapılı polipirol ile modifiye edilmiş kalem ucu elektrotların parasetamole karşı davranışı DPV yöntemiyle incelendiğinde, bu elektrotların parasetamole karşı performanslarının polipirol modifiye edilmemiş çıplak kalem ucu elektrotlara göre 5 kat daha fazla olduğu belirlenmiştir (Bölüm 3.2.2). Nanofiber yapılı polipirol parasetamolün yükseltgenmesinde elektrokatalitik etki göstermiştir. Nanofiberler elektrot yüzey alanının genişlemesine ve elektron aktarımının hızlanmasına neden olmuştur. Modifiye elektrotların parasetamole karşı cevabına çözeltinin pH etkisi farklı fosfat tamponlarında incelendiğinde; pH=6'dan daha yüksek ve daha düşük pH değerlerine gidildikçe parasetamole ait pik akımın şiddetinde azalma gözlenmiştir. Dolayısıyla en uygun pH değerinin pH=6 olduğuna karar verilmiştir (Bölüm 3.2.3). pH=6 fosfat tamponunda aşırı yükseltgenmiş nanofiber yapılı polipirol elektrotlar kullanılarak oluşturulan parasetamole ait kalibrasyon grafiğinde bu elektrotların parasetamole karşı doğrusal olarak çalıştığı iki aralık belirlenmiştir. Birinci bölge daha seyreltik çözeltiler için 1 µM'dan 0,15 mM'a kadar 0,992 korelasyon katsayısı, ikinci bölge ise daha derişik çözeltiler için, 1-5 mM aralığında 0,996 korelasyon katsayısı ile doğrusallık göstermektedir. Analit derişimi arttıkça modifiye elektrodun hassasiyeti azalmaktadır. Bu elektrotlar ile parasetamol için yapılan analizler sonucu tayin sınırı (3σ) 3,9x10<sup>-7</sup> M olarak belirlenmiştir (Bölüm 3.2.4). Parasetamolün elektrokimyasal davranışı bazı girişim yapabilecek türlerin varlığında, bu elektrotların parasetamole karşı verdiği cevabın girişim yapan türlerden çok fazla etkilenmediği gözlenmiştir (Çizelge 3.2). Nanofiber yapılı polipirol elektrotların analitik uygulaması parasetamol içeren ilaç örnekleri ile yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar HPLC yönteminden elde edilen veriler ve ticari firmaların bildirdiği sonuçlar ile uyumlu olduğu görülmüştür (Çizelge 3.3). Bu sonuçlar doğrultusunda elektrotların ilaç örneklerinin analizlerinde başarıyla kullanılabileceği gösterilmiştir. Elektrokimyasal parasetamol tayinine yönelik

yapılan bu çalışmada kalem ucu elektrotlar kullanılmıştır. Kalem ucu elektrodun tek kullanımlık, düşük maliyetli, modifikasyon, minyatürleştirme ve yenilenmesinin kolay olması gibi özellikleri nedeniyle diğer elektrot malzemelerine göre son derece avantajlıdır. Ayrıca kalem ucu elektrotun aktif yüzey alanının daha fazla olması daha düşük derişimlerde ve/veya hacimdeki analitlerin tayinini kolaylaştırmaktadır. Kalem ucu elektrodun ucuz ve tek kullanımlık olması aynı anda pek çok modifiye elektrodun hazırlanmasını sağlamıştır. Elektroanalitiksel yöntemlerde çalışma elektrodunun temizliği oldukça önemlidir. Platin, altın, camısı karbon gibi elektrot malzemelerinin fiyatı ve temizlik süresi göz önüne alındığında kalem ucu elektrotların tek kullanımlık olması ve çalışma süresinin kısa olması açısından da büyük avantaj sağlamıştır.

Tez çalışmasının son aşamasında nanofiber yapıli polipirol ile modifiye edilmiş kalem ucu elektrotlar dopamin tayininde kullanılmıştır (Bölüm 3.3) Nanofiber yapıli polipirol elektrotlar 0,10 M LiClO<sub>4</sub>, 0,10 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ve 0,10 M pirol içeren sulu çözeltilerde 0,0 V ile 0,80 V arasında 100 mV/s tarama hızında 10 döngülü elektropolimerleşme ile hazırlanmıştır. Hazırlanan polipirol elektrotlara 0,1 M H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> çözeltilinde -0,3 V ile +1,8 V gerilim aralığında 50 mV/s tarama hızıyla 5 döngülü elektrokimyasal ön işlem uygulanmıştır. Elektrokimyasal ön işlem; elektroaktif olan polipirol filminin geniş indirgenme ve yükseltgenme pikinin analite molekülüne ait sinyali kapatmasını engellemek amacıyla uygulanmıştır (Şekil 3.13). Elektrokimyasal ön işlem yapılmış polipirol elektrotların dopamine karşı cevabı askorbik asit ve ürik asit varlığında incelenmiştir. Dopamin davranışının bu moleküller varlığında incelenmesinin nedeni modifiye edilmemiş çıplak elektrotlar ile yapılan çalışmalarda askorbik asit, ürik asit ve dopamine ait yükseltgenme piklerinin üst üste çakışmasıdır. Ancak yapılan bu çalışmada bu üç moleküle ait piklerin birbirinden ayrıldığı görülmüştür (Şekil 3.15). Ayrıca elektrokimyasal ön işlem görmüş polipirol elektrotların dopamine askorbik asit ve ürik asite göre daha iyi cevap verdiği gözlemlenmiştir. Burada elektrodun askorbik asit ve ürik asite daha az cevap vermesinin nedeninin elektrokimyasal ön işlem sırasında elektrot yüzeyinde oluşan negatif yüklü oksijen içeren gruplar ile askorbik asit ve ürik asit molekülleri arasındaki elektrostatik itmelerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Bu sonuçlar düşük derişimli dopaminin yüksek derişimli ürik asit ve askorbik asit varlığında bile analizinin yapılabileceğini göstermiştir.

Askorbik asit ve ürik asit varlığında dopamine cevap verdiği ve pik ayrımlarının gerçekleştiği gözlenen elektrotlara uygulanacak elektrokimyasal ön işlem basamağında optimum gerilim aralığının (Bölüm 3.3.2) ve döngü sayısının (Bölüm 3.3.3) belirlenmesi için çalışmalar yapılmıştır. Yapılan deneyler sonucunda elektrokimyasal ön işlem basamağı için optimum gerilim aralığının -0,3 V ile +1,8 V aralığında ve optimum döngü sayısının ise 5 olduğu saptanmıştır. Daha sonra ise ölçüm çözeltisinin pH'nın etkisi incelenerek optimum pH değeri belirlenmiştir. Ürik asit ve askorbik asit varlığında dopamin için elde edilen en yüksek pik akımı değeri pH=8,5 fosfat tamponunda elde edilmiştir (Şekil 3.18). Yapılan deneylerde elektrodun voltametrik cevabının elektrodun ölçüm çözeltisinde bekletilmesiyle arttığı gözlemlenmiştir. Optimum adsorpsiyon süresinin belirlenmesi için yapılan çalışmalarda 120 saniyeye kadar elektrodun verdiği cevabın arttığı ve 120 saniyeden sonra sabit kaldığı gözlenmiştir. Bu nedenle en uygun adsorpsiyon süresinin 120 saniye olduğuna karar verilmiştir (Şekil 3.19). Elektrokimyasal ön işlem görmüş nanofiber yapıli polipirol elektrotlarla pH=8.5 fosfat tamponunda askorbik asit ve ürik asit varlığında (Şekil 3.20) ve yokluğunda (Şekil 3.21) dopamine ait kalibrasyon grafikleri oluşturulmuştur. Burada askorbik asit ve ürik asit varlığında kalibrasyon doğrusunun eğiminin daha yüksek ve tayin sınırının daha düşük olduğu gözlenmiştir. Bu grafikte elektrotların dopamin derişimine karşı doğrusal olarak çalıştığı iki bölge gözlenmiştir. Birinci bölge 0,05  $\mu\text{M}$ 'dan 2,5  $\mu\text{M}$ 'a kadar 0,9953 korelasyon katsayısı ile doğrusallık gösterirken ikinci bölgede 5  $\mu\text{M}$ 'dan 10  $\mu\text{M}$ 'a kadar 0,9912 korelasyon katsayısı ile doğrusallık gözlenmiştir. Hazırlanan bu elektrotlar ile dopamin tayin sınırının 0,01  $\mu\text{M}$  olduğu belirlenmiştir. Nanofiber yapıli polipirol elektrot ile girişim yapan türlerin varlığında dopamin tayini yapılmış ve bu elektrotların girişim yapan türlerin varlığından çok fazla etkilenmediği gözlenmiştir (Çizelge 3.4). Kalem ucu elektrodun modifiye edilmesiyle hazırlanan bu elektrotların analitik uygulaması kan serumunda ve bazı ilaç örneklerinde dopamin tayinin yapılması ile gerçekleştirilmiştir. Kan serumunda dopamin tayinine yönelik çalışmada standart ekleme yöntemi



kullanılmıştır (Şekil 3.23). Bu yöntemde, kan örneğine artan derişimlerde dopamin standartları eklenerek bir kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur. Kan örneğinde elektrodun 0,5-2  $\mu\text{M}$  derişim aralığında 0,9964 korelasyon katsayısı ile doğrusal olarak çalıştığı gözlemlenmiştir. Yapılan analizlerde dopamin tayin sınırının 0,015  $\mu\text{M}$  olduğu belirlenmiştir (Çizelge 3.5). Elde edilen sonuçlar nanofiber yapılı polipirolün kan örneklerinde dopamin tayininde iyi bir sensör olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Nanofiber yapılı polipirol elektrotlar ile yapılan bir diğer analitik uygulama ise bazı ilaç örneklerindeki dopamin tayini olmuştur. Dopamin içeren ilaç örneklerinin analizlerinden elde edilen sonuçların üretici firmalarının bildirdiği değerlerle uyumlu olduğu gözlenmiştir. Gerçek örneklerle yapılan bu analizler polipirol nanofiber modifiye kalem ucu elektrodun dopamin tayininde biyosensör olarak kullanılabileceğini göstermiştir. Parasetamol tayinine yönelik çalışmada olduğu gibi bu çalışmada da kalem ucu elektrotlar kullanılmış ve kalem ucu elektrotların kullanım avantajlarından yararlanılmıştır. Ucuz, her yerde bulunabilen, istenilen boyutta hazırlanabilen, kararlı ve tekrarlanabilir sonuçlar verebilen kalem ucu elektrotlar sensör uygulamaları için uygun malzemelerdir. Özellikle klinik amaçlı analizlerde yöntemin karmaşık olmaması, girişim etkisinin gözlenmemesi ve analiz maliyetinin düşük olması istenir. Nanofiber yapılı polipirol ile modifiye edilmiş kalem ucu elektrot kullanılarak yapılan bu çalışma ile dopaminin klinik amaçlı teşhisine hızlı, kesin ve ucuz bir yaklaşım getirilmiştir.

## 5. GENEL DEĞERLENDİRME VE ÖNERİLER

Tez çalışmasının ilk aşamasında, polipirol esaslı el yapımı potansiyometrik dedektörün iyon kromatografisi sisteminde askorbik asit tayininde kullanımı araştırılmıştır. Monomer derişimi, elektropolimerizasyon döngü sayısı, eluent derişimi, eluent akış hızı gibi parametrelerin askorbik asit tayini üzerine yapmış oldukları etkiler incelenmiş ve uygun koşullar belirlenmiştir. Bu dedektör ile bazı ilaç örneklerinde yapılan askorbik asit tayinleri, polipirol potansiyometrik dedektörün askorbik asitin hızlı ve kesin tayinine imkan veren alternatif bir dedektör malzemesi olduğunu göstermiştir. El yapımı olan bu dedektörde kullanılan elektrodun kolay hazırlanması, temizlenmesi ve kararlı olması gibi özellikleri ilaç kalite kontrol laboratuvarlarında kullanımı açısından umut vadetmektedir. Çalışmanın bundan sonraki aşamasında polipirol esaslı potansiyometrik dedektörün idrar ve kan örneklerinde askorbik asit tayinine yönelik uygulamaları araştırılabilir.

Nanofiber yapılı polipirolün parasetamol tayininde kullanımının araştırılması tez çalışmasının ikinci aşamasını oluşturmaktadır. Parasetamol. kromatografi, spektroskopi, kapiler elektroforez gibi enstrümental analiz yöntemleri ile tayin edilmektedir. Parasetamolün elektroaktif bir madde olması bu maddenin elektroanalitiksel tayinine de imkan vermektedir. Elektroanalitiksel yöntemler diğer yöntemlerle karşılaştırıldığında analiz süresinin kısa olması, ucuz olması ve örneğin doğrudan analizine imkan vermesi gibi avantajlara sahiptir. Ancak parasetamolün elektroanalitiksel tayininde karşılaşılan en büyük problem parasetamolün yükseltgenmesi sonucu oluşan ürünlerin polimerleşerek elektrot yüzeyini kirletmesidir. Bu da analiz sırasında elektrot yüzeyinin her defasında temizlenmesini gerektirmekte ve analiz süresini uzatmaktadır. Bu sorun tek kullanımlık kalem ucu elektrot kullanımı ile aşılmıştır. Kalem ucu elektrotların ucuz ve kolay bulunabilir malzemeler olmaları aynı anda birden fazla modifiye elektrot hazırlanmasını sağlamıştır. Ayrıca bu elektrotlar kolay modifiye edilebilme ve istenilen boyutlarda minyatürize edilebilme gibi üstün özelliklere sahiptir. Nanofiber yapılı polipirol ile modifiye edilmiş kalem ucu elektrotlar kullanılarak parasetamol tayini yapılan bu çalışmada, polimerin parasetamole ait

pik akımında 5 katlık bir artışa neden olduğunu dolayısıyla modifikasyon işleminin başarılı olduğunu göstermiştir. Bazı ticari ilaç örneklerinde yapılan parasetamol tayinlerinden elde edilen sonuçların bu elektrotların sensör uygulamaları için uygun malzemeler olduğunu göstermiştir. Grubumuzca yapılan çalışmalarda da molekül baskılanmış kalem ucu elektrot (Özcan, 2007) ve elektrokimyasal ön işlem uygulanan kalem ucu elektrodun (Özcan, 2011) parasetamol tayininde sensör olarak kullanılabilceği ispatlanmıştır. Çalışmanın bundan sonraki aşamasında nanofiber yapıllı polipirol ile modifiye edilmiş kalem ucu elektrotların kan ve idrar örneklerinde parasetamol tayinine yönelik kullanımı araştırılabilir.

Çalışmanın üçüncü aşamasında ise nanofiber yapıllı polipirol filminin dopamin tayininde sensör olarak kullanımı araştırılmıştır. Dopaminin elektrotaktif bir madde olması elektroanalitiksel yöntemlerle tayinine imkan vermektedir. Ancak elektroanalitiksel tayinde karşılaşılan bazı problemler dopaminin bu yöntemle tayinini güçleştirmektedir. Dopaminin yükseltgenmesi sonucu oluşan polimerik yapının elektrot yüzeyini kirletmesi, dopamin derişiminin kan ve idrarda çok düşük olması ve biyolojik sıvılarda yer alan ürik asit ve askorbik asit gibi elektroaktif maddelerin yükseltgenme piklerinin dopamin yükseltgenme piki ile çakışması dopaminin elektroanalitiksel yöntemle tayininde karşılaşılan güçlüklerdir. Yapılan bu çalışmada, askorbik asit ve ürik asit varlığında dopamin tayinine yönelik sensör geliştirilmiştir. Nanofiber yapıllı polipirol elektrotların dopamine askorbik asit ve ürik asite göre daha seçici davrandığı gözlemlenmiştir. Ayrıca tek kullanımlık kalem ucu elektrotlar kullanılarak yapılan bu çalışmada, dopaminin ve diğer maddelerin yükseltgenmesinden kaynaklanan elektrot kirliliğinin temizlenmesi basmağı da ortadan kaldırılmıştır. Bu çalışma ile dopaminin elektrokimyasal tayininde karşılaşılan problemlere nanofiber yapıllı polipirol ile modifiye edilmiş kalem ucu elektrotlar kullanılarak çözüm getirilmiştir. Hazırlanan bu elektrotlar ile kan serumunda ve bazı ilaç örneklerinde yapılan dopamin tayinleri bu elektrotların dopaminin klinik amaçlı tayininde kullanılabilcek uygun bir sensör olduğunu göstermiştir. Grubumuzca yapılan çalışmalar da elektrokimyasal ön işlem uygulanmış kalem ucu elektrodun dopamin tayininde kullanılacak uygun bir sensör olduğunu göstermiştir (Özcan,

2009). Çalışmanın bundan sonraki aşamasında vücut sıvılarında bulunan ve dopamin ile benzer özelliklere sahip ancak dopamin tayinini güçleştiren efinefrin, norefinefrin ve serotonin gibi maddelerin dopamin tayinine etkisi incelenebilir.

## KAYNAKLAR

- Akhtar, P., Too, C.O. ve Wallace, G.G. (1997), "Detection of amino acids at conducting electroactive polymer modified electrodes using flow injection analysis. Part I. Use of macroelectrodes," *Anal. Chim. Acta*, **339**, 201-209.
- Alvarez, T.V. (2009), *Highly sensitive nanomaterial based electrochemical biosensor*, Doktora Tezi, Arizona Devlet Üniversitesi, A.B.D.
- Alwarappan, S., Liu, G. ve Li, C. (2010), "Simultaneous detection of dopamine, ascorbic acid, and uric acid at electrochemically pretreated carbon nanotube biosensors," *Nanomedicine*, **6**, 52-57.
- Ambrosi, A. Morrin, A., Smyth M.R. ve Killard, A.J. (2008), "The application of conducting polymer nanoparticle electrodes to the sensing of ascorbic acid," *Anal. Chim. Acta*, **609**, 37-43.
- Asavapiriyant, S., Chandler, G.K., Gunawardena G.A. ve Pletcher, D. (1984), "The electrodeposition of polypyrrole films from aqueous solutions," *J. Electroanal. Chem*, **177**, 229-244.
- Aydın, A. (2002), *Pirolün elektrokimyasal polimerizasyonuna organik asit etkilerinin incelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
- Balasubramanian, S.G.S. (2008), *Development of smart functional surfaces for biosensor applications*, Doktora Tezi, Auburn Üniversitesi, Elektrokimyasal Araştırma Enstitüsü, A.B.D.
- Barisci, J.N., Wallace, G.G. ve Clarkefi, A. (1997), "Amperometric detection of electroinactive anions using conducting polymer electrodes subsequent to chromatographic separation," *Electroanalysis*, **9**, 461-467.
- Bosch, M.E., Sanchez, A.J.R., Rojas, F. ve Ojeda, C.B. (2006), "Determination of paracetamol: Historical evolution" *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **42**, 291-321.
- Buerk, D.G. (1993), *Biosensors: Theory and Applications*, CRC Press, A.B.D.
- Bunde, R.L., Jarvi, E.J. ve Rosentreter, J.J. (1998), "Piezoelectric quartz crystal biosensors," *Talanta*, **46**, 1223-1236.
- Castelletti, L., Piletsky, S.A., Turner, A.P.F., Righetti, P.G. ve Bossi, A. (2002), "Development of an integrated capillary electrophoresis sensor for L-ascorbic detection," *Electrophoresis*, **23**, 209-214.

- Castro, S.L, Mortimer, R.J., Oliveira, M. ve Stradiotto, N.R. (2008), “Electrooxidation and determination of dopamine using a nafion-cobalt hexacyanoferrate film modified electrode,” *Sensors*, **8**, 1950-1958.
- Chandrasekhar, P. (1996), *Conducting Polymers Fundamentals and Applications*, Kluwer Academic Publishers, Boston, A.B.D.
- Chiang, C.K, Fincher, C.R., Park, Y.W., Heeger, A.J., Shirakawa, H., Louis, E.J., Gau, S.C. ve Macdiarmid, A.G. (1977), “Electrical conductivity in doped polyacetylene,” *Phys. Rev. Lett.*, **39**, 1098-1101.
- Chriswanto, H. ve Wallace, G.G. (1996a), “Characterization of polyaniline using chromatographic studies,” *Chromatographia*, **42**, 191-198.
- Chriswanto, H. ve Wallace, G.G. (1996b), “Redox chromatography using polypyrroles a stationary phase,” *J. Liq. Chromatogr.*, **19**, 2457-2479.
- Czerwinski, A., Cuningham, D.D., Amer, A., Schrader, J.R., Pham, C.V., Zimmer, H., Mark Jr, H.B. ve Pons, S. (1987), “The Electrochemical behaviour in aqueous media of conducting polymers,” *J. Electrochem. Soc.*, **134**, 1158-1164.
- Diaz, A.F., Castillo, J.I., Logan, J.A. ve Lee, Y. (1981), “Electrochemistry of conducting polymers,” *J. Electroanal. Chem.*, **129**, 115-132 .
- Fernandez, I., Trueba, M., Nu’ Ez, C.A. ve Rieumont, J. (2005), “Some features of the overoxidation of polypyrrole synthesized on austenitic stainless steel electrodes in aqueous nitrate solutions,” *Surf. Coat. Tech.*, **191**, 134-135.
- Florou, A.B., A.B., Prodromidis, M.I., Karayannis, M.I. ve Tzouwara-Karayanni, S.M. (2000), “Flow electrochemical determination of ascorbic acid in real samples using a glassy carbon electrode modified with a cellulose acetate film bearing 2,6-dichlorophenolindophenol,” *Anal. Chim. Acta*, **409**, 113–121.
- Eggs, B.R. (1996), *Biosensors: An Introduction*, John Wiley & Sons, West Sussex, İngiltere.
- Engstrom, R.C. (1982), “Electrochemical pretreatment of glassy carbon electrodes,” *Anal. Chem.*, **54**, 2310-2314.
- Genies, E.M. ve Bidan, G. (1983), “Spectroelectrochemical study of polypyrrole films,” *J. Electroanal. Chem.*, **149**, 101-113.

- Gerard, M., Chaubeyi A. ve Malhotra, B.D. (2002), “Application of conducting polymers to biosensors,” *Biosens. Bioelectron.*, **17**, 345-359.
- Gioia, M.G., Andreatta, P., Boschetti, S. ve Gatti, R. (2008), “Development and validation of a liquid chromatographic method for the determination of ascorbic acid, dehydroascorbic acid and acetaminophen in pharmaceuticals,” *J. Pharma Biomed. Anal.*, **48**, 331-339.
- Gjerde, D.T. ve Fritz, J.S. (1986), “Ion chromatography,” *Chromatographic Methods* (Ed.: Bertsch, W., Jennings, W.G. ve Kaiser, R.E.), Dr. Alfred Hüthling Verlag, Heidelberg, Almanya.
- Goyal, R. ve Singh, S. (2006), “Voltametric determination of paracetamol at C<sub>60</sub>-modified glassy carbon electrode,” *Electrochim. Acta*, **51**, 3008-3012.
- Gray, N. (2009), *Electrochemistry of dopamine*, Seminer, Alabama Üniversitesi, Kimya Bölümü, A.B.D.
- Grieshaber, D., Mackenzeil, R., Vörös, J. ve Reimhult, E. (2008), “Electrochemical Biosensors - Sensor Principles and Architectures,” *Sensors*, **8**, 1400-1458.
- Griese, S., Kampouris, D., Kadara, R. ve Banks, C. (2008), “The underlying electrode causes the reported electr-catalysis observed at C<sub>60</sub>-modified glassy carbon electrode in the case of N-(4-hydroxyphenyl) ethanamide and salbutamol,” *Electrochim. Acta*, **53**, 5885-5890.
- Guerrieri, A., De Benedetto, G.E., Palmisano, F. ve Zambonin, P.G. (1998), “Electrosynthesized non-conducting polymers as permselective membranes in amperometric enzyme electrodes a glucose biosensor based on a cocrosslinked glucose oxidize/overoxidized polypyrrole bilayer,” *Biosens. Bioelectron.*, **13**, 103-112.
- Guimard, N.K., Gomez, N. ve Schmidt, C.E. (2007), “Conducting polymers in biomedical engineering,” *Prog. Polym. Sci.*, **32**, 876–921.
- Harley, C. (2009), *The Formation of an Electrochemical Sensor for the Selective Detection of Dopamine*, Doktora Tezi, Ulusal Ireland Maynooth Üniversitesi, Kimya Bölümü, İrlanda.

- Hussain, N.F. (2005), *Electrochemical remedy and analysis for the environmental based on the new polymer-DNA composite materials*, Yüksek Lisans Tezi, East Tennessee Devlet Üniversitesi, , Kimya Bölümü, A.B.D.
- Imanishi, K., Satoh, M., Yasuda, Y., Tsushima, R. ve Aoki, S. (1988), “Solvent effect on electrochemical polymerization of aromatic compounds,” *J. Electroanal. Chem.*, **242**, 203-208.
- Ivanov, S., Tsakova, V. ve Mirsky, V.M. (2006), “Conductometric transducing in electrocatalytical sensors: Detection of ascorbic acid” *Electrochem. Commun.*, **8**, 643-646 .
- John, R., Ongarato, D.M. ve Wallace, G.G. (1996), “Development of a conducting polymer-based microelectrode array detection system,” *Electroanalysis*, **8**, 623-629.
- Kachosangi, R., Wildgoose G. ve Compton R.G. (2008), “Sensitive adsorbitive stripping voltametric determination of paracetamol at multiwalled carbon nanotube modified basal plane pyrolytic graphite electrode,” *Anal. Chim. Acta*, **618**, 54-60.
- Kim, J., Jeon, M., Paeng, K.J. ve Paeng, I.R. (2008), “Competitive enzyme-linked immunosorbent assay for the determination of catecholamine, dopamine in serum” *Anal. Chim. Acta*, **619**, 87-93.
- Kocherginsky, N.M. ve Wang, Z., (2007), “Polyaniline membrane based potentiometric sensor for ascorbic acid, other redox active species and chloride,” *J. Electroanal. Chem.*, **611**, 162-168.
- Kumar, D. ve Sharma, R.C. (1998), “Advances in conductive polymers,” *Eur. Poly. J.*, **34**, 1053-1060.
- Levin, S. (1998), “Analysis of ions using high performance liquid chromatography,” *Instrumental Multi-Element Chemical Analysis* (Ed.: Alfassi, Z.B), Kluwer Academic Publisher, A.B.D.,346-379.
- Li, M. ve Jing L. (2007), “Electrochemical behavior of acetaminophen and its detection on the PANI-MWCNTs composite modified electrode,” *Electrochim. Acta*, **52**, 3250-3257.



- Li, F., Song, J., Gao, D., Zhang, Q., Han, D. ve Niu, L. (2009), "Simple and rapid voltammetric determination of morphine at electrochemically pretreated glassy carbon electrodes," *Talanta*, **79**, 845-850.
- Liu, A., Honma, I. ve Zhou, H. (2007), "Simultaneous voltammetric detection of dopamine and uric acid at their physiological level in the presence of ascorbic acid using poly(acrylic acid)-multiwalled carbon-nanotube composite-covered glassy-carbon electrode," *Biosens. Bioelectron.*, **23**, 74-80.
- Macsini, M. ve Palchetti, I. (2005), "Biosensor for defence against terrorism," *NATO Security through Science Series*, **1**, 245-259.
- Malhotra, B.D., Chaubey, A. ve S.P. Singh, S.P. (2006), "Prospects of conducting polymers in biosensors," *Anal. Chim. Acta*, **578**, 59-74.
- Malinauskas, A., Garjonyte, R., Mažeikiene, R. ve Jureviciute, I. (2004), "Electrochemical response of ascorbic acid at conducting and electrogenerated polymer modified electrodes for electroanalytical applications: a review," *Talanta*, **64**, 121-129.
- Mizoguchi, K., Kachi, N., Sakamoto, H., Kume, K., Yoshioka, K., Masabuchi, S. ve Kazama, S. (1997), "Magnetic properties in polypyrrole doped by series of dopants," *Synth. Met.*, **84**, 695-698.
- Mostany, J. ve Scharifker, B.R. (1997), "Impedance spectroscopy of undoped, doped and overoxidized polypyrrole films," *Synth. Met.*, **87**, 179-185.
- Mozaz, S.R. Marco, M.P., Lopez de Alda, M.J. ve Barceló, D. (2004), "Biosensors for environmental applications:Future development trends," *Pure Appl. Chem.*, **76**, 723-752.
- Ngila, J.C. (1998), "Flow injection potentiometric analysis with PowerLab," *Phys. Sci.*, **AN101A**, 1-4.
- Njagi, J. (2009), *Implantable (bio)sensors for in vivo monitoring of neurotransmitters: design, characterization and applications*, Doktora Tezi, Clarkson Üniversitesi, Kimya ve Bimoleküler Bilimleri Bölümü, A.B.D.
- Özkorucuklu S.P., Şahin, Y. ve Alsancak, G. (2008), "Voltammetric behaviour of sulfamethoxazole on electropolymerized-molecularly imprinted overoxidized polypyrrole," *Sensors*, **8**, 8463-8478.

- Özcan, L. (2008), *Polipirol iletken polimerinin biyosensör olarak kullanımı*, Doktora Tezi, Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
- Özcan, L., Şahin, Y. ve Türk, H. (2008), “Nonenzymatic glucose biosensor based on overoxidized polypyrrole nanofiber electrode modified with cobalt(II) phthalocyanine tetrasulfonate,” *Biosens. Bioelectron.*, **24**, 512-517.
- Özcan, L., Şahin, M. ve Şahin, Y. (2008), “Electrochemical preparation of molecularly imprinted polypyrrole modified pencil graphite electrode for determination of ascorbic acid,” *Sensors*, **8**, 5792-5805.
- Özcan, A. ve Şahin, Y. (2009) “Selective and Sensitive Voltammetric Determination of Dopamine in Blood by Electrochemically Treated Pencil Graphite Electrodes”, *Electroanalysis*, **21**, 2363-2370.
- Özcan, A. ve Şahin, Y. (2011) “A novel approach for the determination of paracetamol based on the reduction of N-acetyl-p-benzoquinoneimine formed on the electrochemically treated pencil graphite electrode” *Anal. Chim. Acta*, **685**, 9-14.
- Özkan, D. (2003), *Elektrokimyasal hibridizasyon indikatörleri ve DNA biyosensörlerinde kullanılmasının incelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Perruchot, C., Cheimi, M.M., Delamar, M. ve Dardoize, F. (2002), “Characterization of the chromatographic properties of a silica-polypyrrole composite stationary phase by inverse liquid chromatography,” *J. Chromatogr. A*, **969**, 167-180.
- Poels, I., Nagels, L.J., Verreyt, G. ve Geise, H.J. (1998), “Potentiometric detection of organic acids in liquid chromatography using conducting oligomer electrodes,” *Anal. Chim. Acta*, **370**, 105-113.
- Poels, I. ve Nagels, L.J. (1999), “Potentiometric detection in capillary electrophoresis with a conducting oligomer electrode,” *Anal. Chim. Acta*, **385**, 417-422.
- Ramanavičius, A., Ramanavičiene, A. ve Malinauskas, A. (2006), ”Electrochemical sensors based on conducting polymer-polypyrrole,” *Electrochim. Acta*, **51**, 6025-6037.

- Roth, S. ve Bleier, H. (1987), "Solitons in polyacetylene," *Adv. Phys.*, **36**, 385-462.
- Saçak, M. (2002), *Polimer Kimyası*, Gazi Kitabevi, Ankara, Türkiye.
- Samuelson, L.A. ve Druy, M.A. (1986), "Kinetics of degradation of electrical conductivity in polypyrrole," *Macromolecules*, **19**, 824-828.
- Saxena, V. ve Malhotra, B.D. (2003), "Prospects of conducting polymers in molecular electronics," *Curr. Appl. Phys.*, **3**, 293-305.
- Singh, R.P. ve Choi, J.W. (2009), "Biosensors development based on potential target of conducting polymers," *Sensors Transd. J.*, **104**, 1-18.
- Silva, R. P., Lima, A., W. ve Serrano, S. (2008), "Simultaneous voltammetric detection of ascorbic acid, dopamine and uric acid using a pyrolytic graphite electrode modified into dopamine solution," *Anal. Chim. Acta*, **612**, 89-98.
- Silva, M.L.S., Garcia, M.B.Q., Lima, J.L.F.C. ve Barrado, E. (2006), "Modified tubular electrode in a multi-commutated flow system. Determination of acetaminophen in blood serum and pharmaceutical formulations," *Anal. Chim. Acta*, **573-574**, 383-390.
- Smith, F.C. ve Chang, R.C. (1991), *The Practice Ion Chromatography*, Krieger Publishing Company, Florida, A.B.D.
- Skoog, D.A., Holler, F.J. ve Nieman, T.A. (1998), *Enstrümental Analiz İlkeleri*, Bilim Yayıncılık, Ankara.
- Sun, D. ve Zhang, H.J. (2007), "Electrochemical determination of acetaminophen using a glassy carbon electrode coated with a single-wall carbon nanotube-dicetyl phosphate film," *Microchim. Acta*, **158**, 131-136.
- Statler, J. (1997), "Ion chromatography," *Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry* (Ed.: Settle, F.A.), Prentice Hall, A.B.D., 199-210 .
- Szigeti, Z., Malon, A., Vigassy, T., Csokai, V., Wygladacz, K., Xu, C., Chebny, VJ, Bitter, I., Rathore, R., Bakker E., Pretsch, E. (2006), "Novel potentiometric and optical silver ion-selective sensors with sunnanomolar detection limits" *Anal. Chim. Acta*, **572**, 1-10
- Şahin, M. (2005), *Çevresel ve biyolojik numunelerde anyon ve katyonların iletkenlik-iyon, spektrofotometrik-iyon, potansiyometrik-iyon kromatografik*

*hibrit sistemleriyle tayinlerinin araştırılması*, Doktora Tezi, Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.

- Şahin, M. Şahin, Y. ve Özcan A. (2008), “Ion chromatography-potentiometric detection of inorganic anions and cations using polypyrrole and overoxidized polypyrrole electrode,” ,” *Sensors Actuat. B Chem.*, **133**, 5-14.
- Şahin, M., Özcan, L., Usta, B. ve Şahin, Y.(2009), “Determination of ascorbic acid by polypyrrole potentiometric detector in ion chromatography”, *Biosens. Bioelectron.*, **24**, 3492-3497.
- Şahin Y., Ercan, B. ve Şahin, M. (2008), “In situ electrochemical solid-phase extraction of anions and cations using polypyrrole and overoxidized sulfonated polypyrrole,” *Talanta*, **75**, 369-375.
- Tamer, U., Ertas, N., Udum, Y.A., Sahin, Y., Pekmez, K. ve Yıldız, A. (2005), “Electrochemically controlled solid-phase microextraction (EC-SPME) based on overoxidized sulfonated polypyrrole,” *Talanta*, **64**, 245-251.
- Trojanowicz M., (2003), “Application of conducting polymers in chemical analysis,” *Microchim. Acta* **143**, 75–91
- Wang, J. (2000), *Analytical Electrochemistry*, Second Edition. John Wiley & Sons., New York, A.B.D
- Wang, K., Xu, J.J., Tang, K.S. ve Chen, H.Y. (2005), “Solid-contact potentiometric sensor for ascorbic acid based on cobalt phthalocyanine nanoparticles as ionophore,” *Talanta*, **67**, 798-805.
- Wang, J., Wang, J., Wang, Z. ve Wang, S. (2006), “Electrocatalytic oxidation of ascorbic acid at polypyrrole nanowire modified electrode,” *Synth. Met.*, **156**, 610–613.
- Wegrzyn, J. G. (1990), *Analytical studies in chromatography*, Doktora Tezi, Emory Üniversitesi, Kimya Bölümü, A.B.D.
- Xu, Q., Wang, Y.P., Zhang, W., Jing, L., Tanaka, K., Haraguchi, H. ve Itoh, A. (2000), “Amperometric detection studies of poly-o-phenylenediamine film for the determination of electroinactive anions in ion-exclusion chromatography,” **125**, 1453-1457.
- Yıldız, A., Genç, Ö. ve Bektaş, S. (1997), *Enstrümental Analiz Yöntemleri*, 2. Baskı, Hacettepe Üniversitesi Yayınları A-64, Ankara.

Zarras, P., Anderson, N., Webber, C., Irvin, D.J., Guetherner A. ve Stenger- Smith J.D. (2003), "Progress in using conductive polymers as corrosion- inhibiting coatings," *Radiat. Phys. Chem.*, **68**, 387-394.

Zidan, M., Tee, T.W., Abdullah, A.H., Zainal, Z. ve Kheng, G.J. (2011), "Electrochemical oxidation of paracetamol mediated by nanoparticles bismuth oxide modified glassy carbon electrode," *Int. J. Electrochem. Sci.*, **6**, 279-288.