

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İNSAN SAĞLIĞI AÇISINDAN ÖNEM TAŞIYAN FOLİK ASİT,
RİBOFLAVİN VE PİRİDOKSİN VİTAMİNLERİNİN TAYİNLERİ
İÇİN ELEKTROKİMYASAL SENSÖR GELİŞTİRİLMESİ**

Ebrar DOKUR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kimya Anabilim Dalı

Analitik Kimya Programı

Danışman

Prof. Dr. Yücel ŞAHİN

Eş Danışman

Arş. Gör. Dr. Özge Gördük

Şubat, 2021

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İNSAN SAĞLIĞI AÇISINDAN ÖNEM TAŞIYAN FOLİK ASİT,
RİBOFLAVİN VE PİRİDOKSİN VİTAMİNLERİNİN TAYİNLERİ İÇİN
ELEKTROKİMYASAL SENSÖR GELİŞTİRİLMESİ**

Ebrar DOKUR tarafından hazırlanan tez çalışması 01/02/2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Analitik Kimya Programı **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Yücel ŞAHİN
Yıldız Teknik Üniversitesi
Danışman

Arş. Gör. Dr. Özge GÖRDÜK
Yıldız Teknik Üniversitesi
Eş-Danışman

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Yücel ŞAHİN, Danışman
Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Abdürrezzak Emin BOZDOĞAN, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Levent ÖZCAN, Üye
Afyon Kocatepe Üniversitesi

Danışmanım Prof. Dr. Yücel ŞAHİN sorumluluğunda tarafımca hazırlanan İnsan Sağlığı Açısından Önem Taşıyan Folik Asit, Riboflavin ve Piridoksin Vitaminlerinin Tayinleri İçin Elektrokimyasal Sensör Geliştirilmesi başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Ebrar DOKUR

İmza

Biricik Ailem'e...



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi sırasında bana yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen değerli hocam Analitik Kimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Yücel ŞAHİN'e teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın her aşamasında benimle çalışan ve bu tezin ayrılmaz bir parçası olan sevgili hocam Arş. Gör. Dr. Özge GÖRDÜK'e teşekkür ederim.

Çalışmalarım boyunca bana yardım eden sevgili arkadaşım Selen URUÇ'a teşekkürlerimi sunarım

Beni büyüten ve bugünlere getirip desteklerini hep hissettiren biricik aileme teşekkürü bir borç bilirim.

Ebrar DOKUR

İÇİNDEKİLER

SİMGE LİSTESİ	ix
KISALTMA LİSTESİ	xiv
ŞEKİL LİSTESİ	xii
TABLO LİSTESİ	xiv
ÖZET	xv
ABSTRACT	xvii
1 GİRİŞ	1
1.1 Literatür Özeti.....	1
1.2 Tezin Amacı.....	4
1.3 Hipotez.....	4
2 VİTAMİNLER	6
2.1 Vitaminlere giriş.....	6
2.1.1 Vitamin eksikliği.....	6
2.1.2 B grup vitaminleri.....	8
3 ELEKTROKİMYA VE SENSÖRLER	21
3.1 Elektrokimya.....	21
3.1.1 Voltametrik yöntemler.....	22
3.1.2 Voltametrik hücrede kullanılan elektrotlar.....	24
3.2 Sensörler.....	25
3.2.1. Tez çalışmasında kullanılan sensör malzemeleri.....	25
3.2.2. Sensörlerin karakterizasyonunda kullanılan yöntemler.....	29
4 MATARYEL VE METOT	31
4.1 Kullanılan kimyasallar.....	31
4.2 Kullanılan cihazlar.....	32
4.3 Elektrot modifikasyonunda kullanılan modifiye ajanlarının hazırlanması....	32
4.3.1 Fonksiyonellendirilmiş çok duvarlı karbon nanotüp hazırlanması..	32
4.4 Modifiye elektrotların hazırlanması.....	33
4.4.1 Folik asit tayini için modifiye elektrotun hazırlanması.....	33
4.4.2 Riboflavin tayini için modifiye elektrotun hazırlanması.....	34
4.4.3 Piridoksin tayini için modifiye elektrotun hazırlanması.....	35
4.5 Modifiye elektrotlar ile analitlerin elektrokimyasal davranışlarının incelenmesi.....	36

4.5.1 Poli(sistin)/KUE ile folik asidin elektrokimyasal davranışının incelenmesi.....	36
4.5.2 f-MWCNT/AuNP/KUE ile riboflavinin elektrokimyasal davranışının incelenmesi.....	37
4.5.3 AİG/KUE ile piridoksinin elektrokimyasal davranışının incelenmesi	37
4.6 Analiz koşullarının optimizasyonları	37
4.6.1 Folik asit tayini için analiz koşullarının optimizasyonu.....	37
4.6.2 Riboflavin tayini için analiz koşullarının optimizasyonu	38
4.6.3 Piridoksin tayini için analiz koşullarının optimizasyonu	38
4.7 Kalibrasyon grafiklerinin oluşturulması	38
4.8 Girişim yapabilecek türlerin analit sinyali üzerindeki etkisinin incelenmesi	39
4.9 Gerçek örnek çalışması	39
5 SONUÇ VE ÖNERİLER	41
5.1 Folik asit tayini için poli(sistin)/KUE geliştirilmesi.....	41
5.1.1 L-sistin aminoasidinin elektrokimyasal polimerizasyonu	41
5.1.2 Poli(sistin)/KUE'ta folik asidin elektrokimyasal özellikleri.....	43
5.1.3 L-sistin aminoasidinin polimerizasyonunda döngü sayısının optimizasyonu.....	45
5.1.4 Folik asit için pH optimizasyonu çalışması.....	46
5.1.5 Tarama hızının folik asit cevabı üzerindeki etkisi	48
5.1.6 Poli(sistin)/KUE'un karakterizasyon çalışmaları.....	52
5.1.7 Poli(sistin)/KUE'un analitiksel uygulaması	56
5.1.8 Folik asit için girişim çalışması.....	59
5.1.9 Poli(sistin)/KUE'un tekrar üretilebilirlik ve tekrarlanabilirliği.....	60
5.1.10 Gerçek örnek analizi	60
5.2 Riboflavin tayini için f-MWCNT/AuNP/KUE geliştirilmesi	61
5.2.1 AuNP'ün elektrokimyasal modifikasyonunun farklı potansiyellerdeki etkisi.....	61
5.2.2 f-MWCNT/AuNP/KUE'ta riboflavinin elektrokimyasal çalışmaları	64
5.2.3 pH'nın f-MWCNT/AuNP/KUE'ta riboflavinin voltametrik davranışı üzerindeki etkisi.....	66
5.2.4 Tarama hızının riboflavin cevabı üzerindeki etkisi.....	68
5.2.5 f-MWCNT/AuNP/KUE'un karakterizasyon çalışmaları.....	71
5.2.6 f-MWCNT/AuNP/KUE'un analitiksel uygulaması	79
5.2.7 f-MWCNT/AuNP/KUE'un anti-girişim yeteneği.....	82
5.2.8 f-MWCNT/AuNP/KUE'un tekrar üretilebilirlik ve tekrarlanabilirliği.	82

5.2.9 Gerçek örnek analizi	83
5.3 Piridoksin tayini için AİG/KUE geliştirilmesi.....	84
5.3.1 Anodik işlem görmüş kalem ucu elektrotun optimizasyon çalışmaları.....	84
5.3.2 Py'nin AİG/KUE'taki elektrokimyasal çalışmaları.....	88
5.3.3 pH değişiminin Py'nin AİG/KUE'taki elektrokimyasal davranışı üzerindeki etkisi.....	90
5.3.4 Tarama hızının Py cevabı üzerindeki etkisi	92
5.3.5 AİG/KUE'un karakterizasyon çalışmaları.....	97
5.3.6 AİG/KUE'un analitiksel uygulaması.....	103
5.3.7 Girişim çalışmaları.....	107
5.3.8 AİG/KUE'un tekrar üretilebilirlik ve tekrarlanabilirliği.....	108
5.3.9 Gerçek örnek analizi	108
5.9. Genel değerlendirme.....	109
KAYNAKÇA	111
TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR.....	127

SİMGE LİSTESİ

A	Amper
L	Litre
μA	Mikroamper
μL	Mikrolitre
$\mu\text{mol L}^{-1}$	Mikromolar
mL	Mililitre
mmol L^{-1}	Milimolar
mV	Milivolt
E	Potansiyel
s	Saniye
V	Volt



KISALTMA LİSTESİ

5-MTHF	5-Metiltetrahidrofolat
AA	Askorbik asit
AFM	Atomik kuvvet mikroskobu
AuNP	Altın nanopartikül
BiNW	Bizmut nanotel
Cdl	Sabit faz elemanı
CNT	Karbon nanotüp
CoA	Koenzim A
DHF	Dihidroksifolat
DPV	Diferansiyel puls voltametrisi
DV	Dönüşümlü voltametri
EDAX	X-ışınlarının enerji dağılım analizi
EIS	Elektrokimyasal empedans spektroskopisi
FA	Folik Asit
FAD	Flavin adenin dinükleotid
Fc	Ferrosen karboksilik asit
FMN	Flavin mononükleotid
G	Glikoz
GCE	Camsı karbon elektrot
GO	Grafen oksit
Gr	Grafen
HMHP	Hekzaflorofosfat
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
KUE	Kalem ucu elektrot
MWCNT	Çok duvarlı karbon nanotüp
PEDOT	Poli(etilendioksitiyofen)
PLP	Piridoksal-5-fosfat
Py	Piridoksin
Rct	Yük transfer direnci
RF	Riboflavin
Rs	Çözelti direnci
SAM	S-adenosilmetiyonin
SEM	Taramalı elektron mikroskopisi
SWAdSV	Kare dalga adsorptif sıyırma voltametrisi
SWCNT	Tek duvarlı karbon nanotüp
SWV	Kare dalga voltametrisi
THF	Tetrahidrofolat
ÜA	Ürik asit
W	Warburg elemanı
XPS	X-ışınları fotoelektron spektroskopisi

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1	Metiyonin-Homosistein mekanizması.....	17
Şekil 3.1	Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılması.....	22
Şekil 3.2	Dönüşümlü voltametri tekniğinde uygulanan dalga formu ve dönüşümlü voltametri tekniği kullanılarak elde edilen voltamogram	23
Şekil 3.3	Diferansiyel puls voltametrisinde uyarma sinyali ve voltamogramı.....	24
Şekil 3.4	Bir sensör sisteminde bulunan bileşenleri.....	25
Şekil 3.5	L-sistin aminoasidin molekül yapısı.....	26
Şekil 3.6	Altın nanopartiküllerin bazı yapıları.....	27
Şekil 3.7	Çok duvarlı karbon nanotüpün şematik gösterimi.....	28
Şekil 4.1	Poli(sistin)/KUE'un hazırlanma işlemini şematik gösterimi.....	34
Şekil 4.2	f-MWCNT/AuNP/KUE hazırlanmasının şematik gösterimi.....	35
Şekil 4.3	AlG/KUE hazırlanmasının şematik gösterimi.....	36
Şekil 5.1	L-sistin aminoasidinin elektrokimyasal polimerizasyon voltamogramı ..	42
Şekil 5.2	L-sistin polimerizasyonu sırasında gerçekleşen reaksiyonlar	42
Şekil 5.3	Poli(sistin)/KUE ve Boş/KUE'un KCl çözeltisi içerisindeki davranışı.....	43
Şekil 5.4	DV yöntemiyle folik asidin elektrokimyasal davranışının poli(sistin) ve boş elektrotlarda incelenmesi.....	44
Şekil 5.5	Folik asidin reaksiyon mekanizması	44
Şekil 5.6	DPV yöntemiyle folik asidin elektrokimyasal davranışının poli(sistin) ve boş elektrotlarda incelenmesi	45
Şekil 5.7	Döngü sayısının folik asit cevabına olan etkisi.....	46
Şekil 5.8	Çeşitli pH değerlerinde 100 mmol L ⁻¹ folik asit içeren nitrojenle doymuş 0,1 mol L ⁻¹ pH 7,0 fosfat tampon çözeltisi içindeki poli(sistin)/KUE'un diferansiyel puls voltamogramı.....	47
Şekil 5.9	pH değerinin bir fonksiyonu olarak akım ve potansiyel arasındaki ilişki.....	48
Şekil 5.10	Farklı tarama hızlarında tarama hızının bir fonksiyonu olarak 100 µmol L ⁻¹ FA içeren fosfat tamponunda (pH 7,0, 0,1 mol L ⁻¹) poli(sistin)/KUE'un dönüşümlü voltamogramları.	49
Şekil 5.11	Tarama hızının karekökü ile folik asidin akımı arasındaki doğrusal ilişki	50
Şekil 5.12	Tarama hızının logaritması ile akımın logaritması arasındaki doğrusal ilişki	51
Şekil 5.13	Tarama hızının potansiyeli ile doğal logaritması arasındaki doğrusal ilişki	52
Şekil 5.14	Boş/KUE ve poli (sistin)/KUE'un 2,5 mmol L ⁻¹ [Fe(CN) ₆] ^{3-/4-} 0,1 mol L ⁻¹ KCl bir çözelti içerisinde alınan dönüşümlü voltamogramları	53
Şekil 5.15	5,0 mmol L ⁻¹ [Fe(CN) ₆] ^{3-/4-} ve 0,1 mol L ⁻¹ KCl içeren bir elektrolit ortamında poli(sistin)/KUE ve Boş/KUE'un Nyquist eğrileri. İç kısım: Boş/KUE ve poli(sistin)/KUE bağlantısı için kullanılan eşdeğer devre modeli ve Rs: çözelti direnci, Rct: yük aktarım direnci, Zw: Warburg empedansı ve CPE: elektrot/çözelti ara yüzünün sabit faz elemanıdır.....	54
Şekil 5.16 a)	x30000 büyütmede Boş/KUE, b) x30000 büyütmede poli(sistin)/KUE ve c) poli(sistin)/KUE'nin x50000 büyütmede taramalı elektron mikrogramları.....	55

Şekil 5.17 Azot gazıyla doymuş pH 7,0 fosfat tampon çözeltisinde optimum koşullar kullanılarak farklı folik asit konsantrasyonları için diferansiyel puls voltamogramları.....	56
Şekil 5.18 Folik aside ait kalibrasyon grafiği.....	57
Şekil 5.19 Ürik asit ve askorbik asidin folik asidin pik akım cevabı üzerine etkisini gösteren girişim çalışması.....	59
Şekil 5.20 AuNP/KUE (-3,0 V), AuNP/KUE (-2,0 V), AuNP/KUE (-1,0 V), AuNP/KUE (-4,0 V), AuNP/KUE (-1,0 V), AuNP/KUE (-3,0 V) (RF yokluğunda) ve Boş/KUE'nin 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ RF içeren fosfat tamponu (pH 4,0, 0,1 mol L^{-1}) içinde DPV sonuçları	62
Şekil 5.21 AuNP'ün farklı potansiyellerinin RF'nin tepe akımı üzerindeki etkisi ...	63
Şekil 5.22 f-MWCNT/AuNP/KUE ve Boş/KUE'un KCl çözeltisi içerisindeki davranışı	64
Şekil 5.23 Boş/KUE, AuNP/KUE, f-MWCNT/KUE, f-MWCNT/AuNP/KUE'ta 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ RF içeren fosfat tamponunda (pH 4,0, 0,1 mol L^{-1}) RF yanıtının dönüşümlü voltamogramı	65
Şekil 5.24 Boş/KUE, AuNP/KUE, f-MWCNT/KUE, f-MWCNT/AuNP/KUE ve f-MWCNT/AuNP/KUE (RF yokluğunda) fosfat tamponunda (pH 4,0, 0,1 mol L^{-1}) RF yanıtının diferansiyel puls voltamogramı	66
Şekil 5.25 Çeşitli pH değerlerinde (pH 3,0, pH 4,0, pH 5,0, pH 6,0, pH 7,0 ve pH 8,0) 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ RF içeren fosfat tamponu içerisinde f-MWCNT/AuNP/KUE'un diferansiyel puls voltamogramları	67
Şekil 5.26 Riboflavinin reaksiyon mekanizması.....	67
Şekil 5.27 Farklı tarama hızlarında tarama hızının bir fonksiyonu olarak 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ RF içeren fosfat tamponunda (pH 4,0, 0,1 mol L^{-1}) f-MWCNT/AuNP/KUE'un dönüşümlü voltamogramları	68
Şekil 5.28 Tarama hızı ile tepe akımı arasındaki doğrusal ilişki.....	69
Şekil 5.29 Tarama hızının kare kökü ile tepe akımı arasındaki doğrusal ilişki.....	70
Şekil 5.30 Tarama hızının logaritması ile akımın logaritması arasındaki doğrusal ilişki	71
Şekil 5.31 Boş/KUE, AuNP/KUE, f-MWCNT/KUE ve f-MWCNT/AuNP/KUE'un 2.5 mmol L^{-1} 'de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ve 0,1 mol L^{-1} KCl içeren dönüşümlü voltamogramları.....	73
Şekil 5.32 5,0 mmol L^{-1} $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ + 0,1 mol L^{-1} KCl içeren elektrolitlerde Boş/KUE, AuNP/KUE, f-MWCNT/KUE ve f-MWCNT/AuNP/KUE'un Nyquist diyagramları; ek: spektrumların elektrot fitleme için kullanılan eşdeğer devre modeli	74
Şekil 5.33 a) AuNP/KUE (25000x büyütme), b) f-MWCNT/KUE (25000x büyütme) ve c) f-MWCNT/AuNP/KUE (50000x) ve d) f-MWCNT/AuNP/KUE (100000x) büyütme) yüzeyinden FESEM mikrografları.....	75
Şekil 5.34 a) Boş/KUE ve b) f-MWCNT/AuNP/KUE'un atomik yüzde tabloları ile EDX analiz sonuçları.....	76
Şekil 5.35 f-MWCNT/AuNP/KUE'un XPS taraması spektrumu.....	77
Şekil 5.36 f-MWCNT/AuNP/KUE'a karşılık gelen Au4f XPS bantları	78
Şekil 5.37 Farklı RF derişimlerinin DPV sonuçları	79
Şekil 5.38 RF için ortaya çıkan kalibrasyon ilişkisi	80
Şekil 5.39 1,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ RF içeren 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ AA ve 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ G ve 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ AA ve 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ G çözeltileri DPV sonuçları	82

Şekil 5.40 Elektrokimyasal ön işlem süreci için H_3PO_4 destekleyici elektrolit çözeltisinin derişim optimizasyonu.....	85
Şekil 5.41 Elektrokimyasal ön işlem süreci için potansiyel optimizasyonu.....	86
Şekil 5.42 Elektrokimyasal ön işlem süreci için zaman optimizasyonu.....	87
Şekil 5.43 AİG/KUE ve Boş/KUE'un $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ KCl çözeltisindeki davranışı.....	88
Şekil 5.44 Boş/KUE ve AİG/KUE'ta $300 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ Py içeren fosfat tamponunda ($\text{pH } 3,0, 0,1 \text{ mol L}^{-1}$) Py yanıtının dönüşümlü voltamogramı	89
Şekil 5.45 Boş/KUE ve AİG/KUE'ta $300 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ Py içeren fosfat tamponunda ($\text{pH } 3,0, 0,1 \text{ mol L}^{-1}$) Py yanıtının diferansiyel puls voltamogramı.....	90
Şekil 5.46 Çeşitli pH değerlerinde $300 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ Py içeren fosfat tamponu içindeki AİG/KUE'un diferansiyel puls voltamogramları.....	91
Şekil 5.47 AİG/KUE'ta gerçekleşen yükseltgenme reaksiyonu	91
Şekil 5.48 pH değerinin bir fonksiyonu olarak akım ve potansiyel arasındaki ilişki	92
Şekil 5.49 Farklı tarama hızlarında tarama hızının bir fonksiyonu olarak $300 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ Py içeren fosfat tamponu ($\text{pH } 3,0, 0,1 \text{ mol L}^{-1}$) içinde AİG/KUE'un dönüşümlü voltamogramları	93
Şekil 5.50 Tarama hızı ile pik akımı arasındaki doğrusal ilişki	94
Şekil 5.51 Tarama hızının karekökü ile akım arasındaki doğrusal ilişki	95
Şekil 5.52 Tarama hızının logaritması ile pik akımının logaritması arasındaki doğrusal ilişki	96
Şekil 5.53 Boş/KUE ve AİG/KUE'un $2,5 \text{ mmol L}^{-1} [Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ KCl içeren bir çözelti içinde dönüşümlü voltamogramları.....	98
Şekil 5.54 $2,5 \text{ mmol L}^{-1} [Fe(CN)_6]^{3-/4-} + 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ KCl içeren çözeltide Boş/KUE ve AİG/KUE'un Nyquist diyagramları; Ekinde spektrumların elektrot fitlemesi için kullanılan eşdeğer devre modeli.....	99
Şekil 5.55 Farklı büyötmelerde yüzeyden alınan FESEM mikrografları a) AİG/KUE ($5000\times$ büyötm), b) AİG/KUE ($25000\times$ büyötm), c) AİG/KUE ($50000\times$ büyötm) ve d) AİG/KUE ($100000\times$ büyötm).....	100
Şekil 5.56 AİG/KUE'un XPS tarama spektrumu	101
Şekil 5.57 AİG/KUE'a karşılık gelen XPS bantları	102
Şekil 5.58 a) AİG/KUE'un ($1,0 \times 1,0 \text{ } \mu\text{m}$) AFM 2D görüntüsü ve b) AİG/KUE'un ($5,0 \times 5,0 \text{ } \mu\text{m}$) AFM 2D görüntüsü	103
Şekil 5.59 Farklı Py derişimlerinde alınan DPV sonuçları	104
Şekil 5.60 Py için elde edilen kalibrasyon grafiğı.....	105
Şekil 5.61 Girişim çalışmasının analizinin sonuçları	107

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1 Vitaminlerin sınıflandırılması.....	8
Tablo 2.2 Folik asidin bazı kimyasal özellikleri	10
Tablo 2.3 Riboflavinin bazı kimyasal özellikleri.....	13
Tablo 2.4 Piridoksinin bazı kimyasal özellikleri.....	18
Tablo 5.1 Önerilen elektrotun analitik parametrelerinin bildirilen diğer çalışmalarla karşılaştırılması	58
Tablo 5.2 100 µmol L ⁻¹ folik asit için Boş/KUE ve poli(sistin)/KUE üzerindeki potansiyel girişim etkisi	60
Tablo 5.3 Poli(sistin)/KUE ile yapılan gerçek örnek analiz sonuçları	61
Tablo 5.4 Boş/KUE, AuNP/KUE, f-MWCNT/KUE ve f-MWCNT/AuNP/KUE'un 5,0 mmol L ⁻¹ [Fe(CN) ₆] ^{3-/4-} + 0,1 mol L ⁻¹ KCl içeren elektrokimyasal empedans spektroskopi ölçümleri için fitlenmiş sonuçları	74
Tablo 5.5 Önerilen elektrotun analitik parametrelerinin diğer sensörlerle karşılaştırılması.....	81
Tablo 5.6 Fosfat tamponunda (pH 4,0, 0,1 mol L ⁻¹) f-MWCNT/AuNP/KUE ile süt numunesinde RF'in belirlenmesi	83
Tablo 5.7 Fosfat tamponunda (pH 4,0, 0,1 mol L ⁻¹) f-MWCNT/AuNP/KUE ile ilaç numunesinde RF'in belirlenmesi	84
Tablo 5.8 Önerilen sensörün literatürdeki çalışmaların karşılaştırılması.....	106
Tablo 5.9 Piridoksinin belirlenmesi için yapılan gerçek örnek analiz sonuçları ..	108

İnsan Sağlığı Açısından Önem Taşıyan Folik Asit, Riboflavin ve Piridoksin Vitaminlerinin Tayinleri İçin Elektrokimyasal Sensör Geliştirilmesi

Ebrar DOKUR

KİMYA Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Yücel ŞAHİN

Eş Danışman: Arş. Gör. Dr. Özge Gördük

Bu tez kapsamında, insan sağlığı açısından büyük önem arz eden vitaminlerden olan folik asit (B9 vitamin), riboflavin (B2 vitamini) ve piridoksinin (B6 Vitamini) elektrokimyasal tayinleri çeşitli modifiye elektrotlar kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Folik asit, riboflavin ve piridoksinin elektrokimyasal tayinleri için kullanılan modifiye elektrotlar; l-sistin, altın nanopartikül, fonksiyonellendirilmiş çok duvarlı karbon nanotüp ve fosforik asit gibi malzemeler kullanılarak hazırlanmıştır. Bu elektrotların karakterizasyon ve optimizasyon işlemleri yapılarak seçilen analitlere karşı duyarlılığı ölçülmüştür. Bu tez çalışması 3 kısımdan oluşur. Birinci kısımda folik asit tayini için l-sistin aminoasidinin kalem ucu elektrot üzerinde elektropolimerizasyonu gerçekleştirilmiştir. Elektropolimerizasyon işlemi sonucu elde edilen poli(sistin) kalem ucu elektrot (poli(sistin)/KUE) ile folik asidin derişim çalışması yapılmış ve elde edilen sonuçlar kullanılarak gözlemlenebilme sınırı (LOD) $0,43 \mu\text{mol L}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Mevcut sistemin güvenilirliğini doğrulamak için poli(sistin)/KUE ile gerçek örnek çalışması yapılmıştır. Gerçek örnek çalışması portakal meyvesi ile yapılmış ve bu

çalışmada poli(sistin)/KUE, folik asidin elektrokimyasal tayini için hassasiyet gösterdiği görülmüştür. Tez çalışmasının ikinci kısmında, altın nanopartikül ve fonksiyonellendirilmiş çok duvarlı karbon nanotüp, kalem ucu elektrot üzerine modifiye edilerek riboflavin elektrokimyasal tayini için bir sensör platformu oluşturulmuştur. Elde edilen fonksiyonellendirilmiş çok duvarlı karbon nanotüp/altın nanopartikül/kalem ucu elektrot (f-MWCNT/AuNP/KUE) ile riboflavin için optimizasyon ve karakterizasyon işlemleri yapılmıştır. Bu işlemlerden sonra f-MWCNT/AuNP/KUE'un riboflavine karşı olan duyarlılığını ölçmek için LOD değeri hesaplanmıştır ve $0,0352 \mu\text{mol L}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Gerçek örnek çalışmasında ilaç ve süt örnekleri kullanılarak güvenilirliği doğrulanmıştır. Tez çalışmasının son kısmında ise piridoksin için anodik olarak işlem görmüş kalem ucu elektrot (AlG/KUE) hazırlanmıştır. Bu elektrot için de hem optimizasyon hem de karakterizasyon işlemleri yapılmıştır. AlG/KUE'un piridoksine olan duyarlılığını incelemek için LOD değeri hesaplanmıştır ve $0,166 \mu\text{mol L}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Gerçek örnek çalışması ise diyet içecekleri üzerine uygulanmış ve güvenilirliği doğrulanmıştır. Tez çalışmasında karakterizasyon işlemleri için kullanılan yöntemler dönüşümlü voltametri (CV), elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS), alan emisyon taramalı elektron mikroskobu (FESEM), X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS), enerji dağılımlı x-ışını spektroskopisi (EDX), atomik kuvvet spektroskopisidir (AFM). Yapılan tez çalışmasında tasarlanan sensörlerin vitamin tayinlerinde yüksek hassasiyet ve duyarlılık gösterdiği görülmüştür. Ayrıca kullanılan kalem ucu elektrot sayesinde diğer elektrotlarda olan her ölçümden önce elektrot yüzeyini temizleme adımı ortadan kaldırarak analiz süresini önemli ölçüde azaltmıştır. Böylece tasarlanan elektrotların folik asit, riboflavin ve piridoksin vitaminleri için sensör olarak kullanılabileceği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Folik asit, riboflavin, piridoksin, kalem ucu elektrot, dönüşümlü voltametri, diferansiyel puls voltametri.

Development of an Electrochemical Sensor for the Determination of Folic Acid, Riboflavin and Pyridoxine Vitamins Important for the Human Health

Ebrar DOKUR

Department of Chemistry

Master of Science Thesis

Advisor: Prof. Dr. Yücel ŞAHİN

Co-advisor: Res. Asist. Dr. Özge Gördük

Within the scope of this thesis, electrochemical determinations of folic acid (B9 vitamin), riboflavin (vitamin B2) and pyridoxine (Vitamin B6) which are of great importance for human health were carried out using various modified electrodes. Modified electrodes used for electrochemical determinations of folic acid, riboflavin and pyridoxine; It was prepared using materials such as l-cystine, gold nanoparticle, functionalized multi-walled carbon nanotube and phosphoric acid. The sensitivity of these electrodes against selected analytes was measured by characterization and optimization processes. This thesis study consists of 3 parts. In the first part, electropolymerization of l-cystine amino acid was performed on the pen tip electrode for the determination of folic acid. The concentration study of folic acid was performed with the poly(cystine) pencil graphite electrode (poly(cystine)/PGE) obtained as a result of the electropolymerization process, and the detection limit (LOD) was found as 0,43 $\mu\text{mol L}^{-1}$ using the results obtained. A real sample study was performed with poly(cystine)/PGE to verify the reliability of

the existing system. The real case study was done with orange fruit and in this study, poly(cystine)/PGE was found to be sensitive for electrochemical determination of folic acid. In the second part of the thesis work, a sensor platform was created for the electrochemical determination of riboflavin by modifying the gold nanoparticle and the functionalized multi-walled carbon nanotube on the pencil graphite electrode. Optimization and characterization processes for riboflavin were performed with the obtained functionalized multi-walled carbon nanotube/gold nanoparticle/pencil graphite electrode (f-MWCNT/AuNP/KUE). After these procedures, the LOD value was calculated to measure the sensitivity of f-MWCNT/AuNP/PGE to riboflavin and was found to be $0.0352 \mu\text{mol L}^{-1}$. Its reliability was verified using drug and milk samples in the real sample study. In the last part of the thesis, an anodically treated pencil graphite electrode (APre/PGE) was prepared for pyridoxine. Both optimization and characterization processes were performed for this electrode. The LOD value was calculated to examine the sensitivity of APre/PGE to pyridoxine and was found to be $0.166 \mu\text{mol L}^{-1}$. The real sample study was applied on diet drinks and its reliability was confirmed. The methods used for characterization processes in the thesis study are cyclic voltammetry (CV), electrochemical impedance spectroscopy (EIS), field emission scanning electron microscopy (FESEM), X-ray photoelectron spectroscopy (XPS), energy dispersive x-ray spectroscopy (EDX), atomic force spectroscopy (AFM). It was observed that the sensors designed in the thesis study showed high sensitivity and sensitivity in vitamin determinations. In addition, thanks to the pencil graphite electrode used, it eliminated the step of cleaning the electrode surface before every measurement on other electrodes, significantly reducing the analysis time. Thus, it was determined that the designed electrodes could be used as sensors for folic acid, riboflavin and pyridoxine vitamins.

Keywords: Folic acid, riboflavin, pyridoxine, pencil graphite electrode, cyclic voltammetry, differential pulse voltammetry.

1.1 Literatür Özeti

Vitaminler, doğal gıda maddelerinde çok düşük miktarlarda bulunan bir grup organik maddelerden biridir. Vitaminler metabolizmanın düzgün işleyişi için gereklidir. Vitaminlerin çoğu vücut tarafından sentezlenemez, bu nedenle diyet yoluyla vücuda alınması gerekir. Herhangi bir vitamin yeterince alınmadığında ise, insan sağlığında ciddi hastalıklar ortaya çıkmasına sebep olabilirler. Vitaminlerin insan sağlığı açısından önemi göz önünde bulundurulduğunda gıda, ilaç, biyolojik sıvılar gibi farklı matrislerde hızlı tespit için hassas ve seçici yöntemler geliştirilmesi önemlidir.

Vitaminlerin spektrometrik, kromatografik, florimetrik, kemilüminesans ve elektroanalitik gibi birçok analiz yöntemleri kullanılarak tayini gerçekleştirilebilir. Bununla birlikte Elektroanalitik yöntemler düşük maliyet, zaman alan ön işlemin olmaması, kısa analiz süresi, yüksek doğruluk ve düşük tespit limitleri gibi avantajları nedeniyle diğer yöntemlere göre daha çok tercih edilir.

Hamilelikte bebek gelişimi için büyük önem arz eden folik asidin tayininde spektrofotometri [1], florometri [2], yüksek performanslı sıvı kromatografi [3], kemilüminesans [4] ve elektroanalitik [5,6,7,8] gibi birçok yöntem kullanılarak gerçekleştirilebilir. Literatüre bakıldığında elektrokimyasal yöntemler kullanılarak folik asit tayininde;

Chenghang Wang ve arkadaşları, tek duvarlı karbon nanotüpler, camısı karbon elektrotun (GC) yüzeyini modifiye etmek için kullanılmış ve voltametri ile folik asit tayininde uygulamışlardır. İndirgenme pik akımının $0,001 \mu\text{mol L}^{-1}$ saptama limiti ile $0,01 \mu\text{mol L}^{-1}$ ile $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ aralığında folik asit konsantrasyonu ile doğrusal olarak ilişkili olduğunu bulmuşlardır [5].

Xiaofeng Wang ve arkadaşları, çalışma elektrotu olarak altın nanopartiküller (AuNP'ler) ve grafen (GR) modifiye edilmiş karbon iyonik sıvı elektrot (CILE)

kullanılarak folik asit (FA) tayini için yeni bir elektrokimyasal sensör önermişlerdir. Yükseltgenme pik akımları $0,01 \mu\text{mol L}^{-1}$ ila $50,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ aralığında FA derişimiyle doğrusaldır ve tayin sınırı $2,7 \text{ nmol L}^{-1}$ 'dir [6].

Vishwanath D. Vaze ve arkadaşları, kaliksarenlerle modifiye edilmiş düz karbon macun elektrot ve elektrot çalışmışlardır. $0,00000879 \mu\text{mol L}^{-1}$ ila $0,00193 \mu\text{mol L}^{-1}$ derişim aralığındaki doğrusallık $0,9920$ korelasyon katsayısı ile adsorptif sıyırma voltametrisi ile elde edilmiştir. Elde edilen tespit sınırı $0,00000124 \text{ mol L}^{-1}$ olarak bulunmuşlardır [7].

Ali Taherkhan ve arkadaşları, bir ZnO/nanopartiküller (NP'ler) modifiye edilmiş karbon iyonik sıvı macun elektrotu (ZnO/NP/CILPE) ürettirler ve folik asidin elektrokimyasal davranışını araştırmak için kullanmışlardır. Optimize edilmiş pH $9,0$ koşulları altında, pik akımı ve folik asit konsantrasyonu grafiğı, sırasıyla $0,05-1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ ve $1,5-550,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ konsantrasyon aralıklarında $1,776$ ve $0,033 \mu\text{A}/\mu\text{M}$ eğimli iki doğrusal segmentten oluşmaktadır. Tayin sınırı $0,01 \mu\text{mol L}^{-1}$ olarak bildirilmiştir [8].

Diğer önemli B grubu vitaminlerinden biri olan riboflavinin tayininde yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) [9], spektroskopi [10], kemilüminesans [11], elektroforez [12], ve elektrokimyasal yöntemler [13,14,15,16] kullanılır. Literatüre bakıldığında elektrokimyasal yöntemler kullanılarak riboflavin tayininde;

Ebrahim Zarei ve arkadaşları, 1-heksil-3-metilimidazolyum hekzaflorofosfatın (HMHP) bir karbon macununa katılmasıyla bir iyonik sıvı modifiye karbon macunu elektrotu hazırlamışlardır. Optimize edilmiş koşullar altında, indirgeme piki, pik yüksekliğinin $0,0000035 \mu\text{mol L}^{-1}$ ve $1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ arasındaki aralıkta riboflavin derişimi ile doğru orantılı olduğunu göstermişlerdir. Bununla $11,0 \text{ nmol L}^{-1}$ ile sonuçlanan tespit sınırını belirlemişlerdir [13].

Éder S. Sá ve arkadaşları, voltametrik tekniklerle başarılı bir şekilde çalışmışlar ve ex-situ kaplamalı bizmut film elektrotu (BiFE) kullanarak oral, şurup ve tablet örneklerinde belirlemişlerdir. Kare dalga adsorptif sıyırma voltametrisi (SWAdSV) tarafından sağlanan kalibrasyon eğrisi iki eğim sergilemiştir: ilki $0,3$ ila $0,8 \mu\text{mol L}^{-1}$

vitamin B2 ve ikincisi 1,0 ila 9,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ aralığındaydı. İlk eğim durumunda, tayin limiti 100 nmol L^{-1} ve kantifikasyon sınırı 300 nmol L^{-1} olarak bulunmuştur [14].

Eda Mehmeti ve arkadaşları, Silindirik karbon fiber mikroelettrotları kullanarak elektrokimyasal bir ön işlemini optimize ederek folik asidi tayin etmişlerdir. Ön işlemin mikroelettrot üzerindeki fonksiyonellerin özellikleri incelenmiştir. Diferansiyel puls yöntemi kullanılarak hazırlanan elettrotta 0.1 mol L^{-1} perklorik asitte alınan folik asidin cevapları 0,002 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ila 1 $\mu\text{mol L}^{-1}$ derişimleri arasında doğrusal bir aralık sergilemiştir. Bunun sonucunda LOD sınırı 0,001 $\mu\text{mol L}^{-1}$ bulunmuştur [15].

Girish Tigari ve arkadaşları, anyonik yüzey aktif madde sodyum lauril sülfat modifiye karbon nanotüp ve kurşun kalem grafit kompozit pasta elettrotu (SLSMCNP GCPE) kullanılarak yeni bir sensör imalatı hazırlamışlardır. Üretilen sensör, diferansiyel puls voltametri (DPV) uygulayarak 0,2–0,8 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ve 1,0–5,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ 'deki çeşitli RF konsantrasyonlarına, 0,0116 $\mu\text{mol L}^{-1}$ 'lik gibi düşük tayin limitine sahip doğrusal bir akım tepkisi göstermiştir [16].

Sinir sistemi için önem teşkil eden B grubu vitaminlerinden biri olan piridoksinin tayininde ise kemilüminesans [17], spektrofotometri [18], yüksek performanslı sıvı kromatografisi [19], elektrokimyasal algılamalı sıvı kromatografisi [20], ve elektrokimyasal yöntemlerle [21,22,23,24] tayin edilebilir. Literatüre bakıldığında elektrokimyasal yöntemler kullanılarak piridoksin tayininde;

Marcos F.S. Teixeira ve arkadaşları, N, N-etilen-bis(salisilideniminato) okzovanadyum (IV) kompleksi [VO (Salen)] ile modifiye edilmiş bir karbon macunu elettrotu ile piridoksinin yükseltgenmesi ile ilgili davranışını açıklamışlardır. Piridoksin için duyarlı doğrusal voltametrik yanıt, doğrusal taramalı voltametrisi kullanarak 42,5 $\mu\text{A mmol L}^{-1}$ eğim ve 450 ila 3300 $\mu\text{mol L}^{-1}$ konsantrasyon aralığında 37 $\mu\text{mol L}^{-1}$ tayin limiti elde etmişlerdir [21].

Mohammed A. Kassem ve arkadaşları, bakır nanopartiküllerde (nano-Cu) modifiye edilmiş poli-kristal altın elettrotta (nano-Cu/Au) kare dalga voltametri (SWV) kullanarak analiz etmişlerdir. SWV kullanılarak, yüksek bir korelasyon katsayısı ile

0,3-2,7 $\mu\text{mol L}^{-1}$ konsantrasyon aralığında piridoksin analizi için kalibrasyon eğrisi elde etmişlerdir. Tayin limitini ise 8,43 nmol L^{-1} olarak bulmuşlardır [22].

Habib Razmi ve arkadaşları, piridoksin (PN) tayini için elektrokimyasal olarak indirgenmiş grafen oksit (ERGO) ile modifiye edilmiş karbon seramik elektroda (CCE) dayalı basit ve pratik bir prosedür geliştirmişlerdir. Hassas ve basit voltametrik yöntem, PN'nin belirlenmesi için geliştirilmiştir ve 0,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$ 'lik bir tayin limiti ile 1,0-70,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ve 25-800 $\mu\text{mol L}^{-1}$ konsantrasyon aralığında geniş bir doğrusal yanıt ile sonuçlanmıştır [23].

H. Beitollahi ve arkadaşları, GO/Fe₃O₄@SiO₂ (GO grafen oksittir) nano kompozit ile modifiye edilmiş grafit ekran baskılı elektrotun (SPE) elektrokimyasal özelliklerinin hazırlanmasını ve araştırılmasını açıklamışlardır. Diferansiyel puls voltametri kullanılarak 0,52 $\mu\text{mol L}^{-1}$ 'lik bir tayin limiti ile 1,0-900 $\mu\text{mol L}^{-1}$ derişim aralığında B6 vitamini için doğrusal bir voltametrik yanıt elde etmişlerdir [24].

1.2 Tezin Amacı

Bu tez çalışmasındaki amaç, insan sağlığı için büyük öneme sahip vitaminlerden olan folik asit, riboflavin ve piridoksinin elektrokimyasal yöntemler kullanılarak bir sensör platformu oluşturmak ve bu sensörlerin karakterizasyon işlemlerini tamamlayarak gerçek örneklerde analizini gerçekleştirmektir. Bu amaç doğrultusunda, folik asit tayini için l-sistin aminoasidinin elektrokimyasal olarak polimerize edilmesi hedeflendi. Diğer önemli bir B grubu vitamini olan riboflavin için altın nanopartikül ve fonksiyonellendirilmiş çok duvarlı karbon nanotüp kullanılarak kalem ucu elektrot üzerine modifiye edilmesi tasarlandı. Son olarak piridoksin için fosforik asit çözeltisi içeren anodik işlem görmüş kalem ucu elektrotu kullanılarak bir sensör oluşturulması amaçlandı.

1.3 Hipotez

Bu tez çalışmasında, folik asit, riboflavin ve piridoksin gibi insan sağlığı açısından önem taşıyan vitaminlerin tayinleri için modifiye elektrot geliştirilmesi düşünülmüş ve bu modifiye elektrotlar ile seçilen vitaminlerin elektrokimyasal tayinini gerçekleştirebileceği ön görülmüştür. İlk olarak folik asit için l-sistin aminoasidinin elektrokimyasal polimerizasyonu sayesinde tayininin mümkün olabileceği ön

görülmüştür. İkinci olarak riboflavin için altın nanopartikül ve fonksiyonellendirilmiş çok duvarlı karbon nanotüp ile elektrokimyasal tayininin gerçekleştirilebileceği düşünülmüştür. Son olarak piridoksin için anodik olarak işlem görmüş kalem ucu elektrot sayesinde elektrokimyasal tayininin gerçekleştirilebileceği ön görülmüştür. Bununla birlikte geliştirilmesi tasarlanan bu sensörlerin gerçek örnek analizinde uygulanabilir olacağı düşünülmüştür.



2.1 Vitaminlere giriş

Vitaminler, vücudun fizyolojik işleyişi için gerekli olan ancak vücut tarafından endojen olarak sentezlenmeyen ve bu nedenle diyet yoluyla küçük miktarlarda alınması gereken bir grup organik bileşiklerdir. Toplamda, insanlar 13 vitamine ihtiyaç duyar. Bunların dört tanesi yağda çözünen vitaminlerdir (A, D, E, K). Diğer dokuz tanesi ise sekizi B grubu vitamini olmak üzere suda çözünen vitaminlerdir. Bunlar, tiamin (B1), riboflavin (B2), niasin (B3), pantotenik asit (B5), piridoksin (B6), biotin (B7), folat (B9), kobalamin (B12) ve askorbik asittir (C vitamini). B vitaminleri suda çözünürlüklerine ve birbiriyle oynadıkları ilişkili hücrel koenzimin işlevlerine göre gruplanırlar. Gruplandırmalarında herhangi bir kimyasal yapısal benzerlik temelinde olmaz [25]. Vitaminler, çoğu durumda, niteliksel biyolojik özellikler birbirine benzerdir, ancak kimyasal yapılarındaki ince farklılıklar nedeniyle, farklı şekillerde ve derecelerde etki gösterirler. Genellikle vitaminlerin vücutta sentezlenememesinden dolayı diyetle sağlanması gerektiği ifade edilir. Bu ifade, vitaminlerin çoğu için geçerlidir, ancak tüm vitaminler için bu durum söz konusu değildir. Örneğin, ultraviyole radyasyona yeterince maruz kaldığında ciltte D vitamini sentezlenebilir; K vitamini normalde bağırsak bakterileri tarafından yeterli miktarlarda üretilir ve niasin, bir amino asit olan L-triptofandan in vivo olarak sentezlenebilir. D ve K vitaminleri haricinde, vitaminler insan vücudu tarafından yeterli miktarda üretilmediği için diyetle temin edilmelidir. Bitkiler, vitaminlerin çoğunu sentezleme yeteneğine sahip olmasından ötürü diyet temellerinde birincil kaynak olarak tercih edilmektedir [26].

2.1.1 Vitamin Eksikliği

Pietrzik (1985), vitamin eksikliğinin oluşabilecek durumları aşağıdaki gibi altı aşamayla anlatmıştır.

- Aşama 1: Vücuttaki vitamin depoları giderek tükenmeye başlar. İlk belirtiler arasında idrarda azalmış vitamin atılımı gelir. Normal kan seviyeleri, eksikliğin çok erken aşamalarında homeostatik mekanizmalarla korunur.
- Aşama 2: Vitaminin idrarla atılımında giderek daha da fazla azalma görülür ve kandaki ve diğer dokulardaki vitamin derişimleri düşer. Azalmış vitamin metabolit derişimi de gözlemlenebilir.
- Aşama 3: İdrardaki, kandaki ve dokulardaki düşük vitamin derişimleri ve vitamin bağımlı enzimlerin veya hormonların düşük aktivitesi gibi biyokimyasal parametrelerde değişiklikler gözlemlenir. Bağışıklık cevabında da azalma görülür. Bu olaylar neticesinde insanlarda genel halsizlik, iştahsızlık ve diğer zihinsel değişiklikler gibi spesifik olmayan subklinik semptomlar ortaya çıkar.
- Aşama 4: Biyokimyasal değişiklikler daha şiddetli hale gelir ve fonksiyonel veya morfolojik bozukluklar gözlemlenir. Bu bozukluklar, nispeten kısa bir süre içinde terapötik miktarlarda vitamin alınması veya daha uzun bir süre boyunca önerilen diyet takviyeleri ile vitamin seviyeleri düzeltilebilir. Hücrelerin malformasyonu bu aşamada tersine çevrilebilir.
- Aşama 5: Vitamin eksikliğinin klasik klinik semptomları ortaya çıkacaktır. Genel olarak hastanın hastaneye yatırılmasıyla dokularda meydana gelen geri dönüşümlü hasarla karakterize anatomik değişiklikler tedavi edilebilir. Çoğu durumda, karmaşık bir diyetetik ve terapötik rejim izlenmelidir.
- Aşama 6: Morfolojik ve işlevsel bozukluklar geri döndürülemez hale gelecek ve sonunda aşırı durumlarda hastanın ölüme yol açacaktır [27].

Tablo 2.1 Vitaminlerin sınıflandırılması [28].

Vitaminler	Diğer isimleri
A vitamini	Retinol, retinoik asit, karotenoid
B1 vitamini	Tiamin
B2 vitamini	Riboflavin
B3 vitamini	Nikotinamid, niasinamid, nikotinik asit, niasin
B5 vitamini	Pantotenik asit
B6 vitamini	Piridoksin, Piridoksal
B7 vitamini	Biotin
B9 vitamini	Folik asit, Folat
B12 vitamini	Kobalamin
C vitamini	Askorbik asit
D vitamini	Vitamin D3, kolekalsiferol, kalsitriol
E vitamini	Tokoferol, Tokopharm, tokotrienoller
K vitamini	Protrombin faktörü, menakinonlar

2.1.2 B Grup Vitaminleri

B vitaminleri, hücrel fizyolojik işleyişin her yönünü destekleyen enzimatik işlemlerin önemli bir kısmında koenzim olarak görev yapmaktadır. Vitaminin biyolojik olarak aktif formu bir protein "apoenzim" içinde bağlanarak "holoenzim" oluşturur ve böylece ortaya çıkan enzimin katalize edebileceği reaksiyon çeşitliliği açısından yeterliliğini artırır [26]. Bu rolde ile B vitaminleri hücrel fonksiyonların çoğunda anahtar kilit rolleri oynamaktadır. Her yerde bulunmalarına örnek olarak, B6 vitamininin birincil biyoaktif formu olan piridoksal 5'-fosfat, amino asitlerin

sentezi, parçalanması ve birbirine dönüşümü için gerekli olan 140'tan fazla ayrı her yerde bulunan enzimin işleyişinde önemli bir kofaktör görevi görmektedir [29]. Pantotenik asidin aktif koenzim formu olan koenzim A (CoA) ise bilinen tüm enzimlerin %4'ünün CoA'yı zorunlu olarak kullandığı düşünülen bir kofaktör görevi görmektedir [30].

Daha az sıklıkla B vitaminleri, metabolik substratlar için doğrudan öncüler olarak işlev görür. Örneğin, CoA hem hücrel enerjinin üretilmesinde hem de çoklu biyoaktif bileşiklerin sentezinde bir ara bileşik olan asetil-CoA oluşturmak için asetillenir. Benzer şekilde, niasin, enzimatik olmayan çoklu hücrel rollerde işlev gören ADP-riboz için bir öncü bir vitamindir. Genel olarak, B vitaminleri tarafından üstlenilen çok sayıda işlev, genel olarak katabolik metabolizmadaki rollerine ayrılabilir. Bu da enerji üretimine ve anabolik metabolizmaya yol açar. Bunun sonucu olarak, biyoaktif moleküllerin yapımı ve dönüşümü ile sonuçlanır [26].

2.1.2.1 Folik Asit (B9 Vitamini)

Folik asidin yapısı

B9 vitamini veya folakin olarak da bilinen folik asit (FA), suda çözünür, sarımsı-turuncu bir B grubu vitaminidir (Tablo 2) [31]. Bu madde bir pteridin bisiklik halka sistemi, p-aminobenzoik asit ve glutamik asit içerir [32]. Folik asidin IUPAC adı (2S)-2-[[4-[(2-amino-4-okso-1 H-pteridin-6-il) metilamino] benzoil] amino] pentanoik asittir. Folik asidin doğal olarak oluşan formuna folat ismi verilmiştir. Folat türleri bazı formlarda bulunabilir. Bu formlar aşağıdaki gibi adlandırılabilir [33].

1. Folik asit
2. Dihidrofolat (DHF)
3. Tetrahidrofolat (THF)
4. 5,10-metilenetrahidrofolat (5,10-Metilen-THF)
5. 5-metiltetrahidrofolat (5-Metil-THF veya 5-MTHF).

Biyolojik olarak aktif folat, folik asidin kendisi değil, indirgenmiş metabolit hali olan tetrahidrofolattır (THF). THF, DNA'nın temel bileşenleri olan pürinlerin (adenin ve guanin) ve pirimidinlerden birinin (timin) sentezine yol açan biyokimyasal reaksiyonlarda tek karbonlu birimlerin taşıyıcısı olarak görev yapan bileşiktir. Bir

başka önemli reaksiyonda, 5-metil-THF, metiyonin oluşturmak için metil grubunu homosisteine vererek görev yapar [26].

Tablo 1.2 Folik asidin bazı kimyasal özellikleri

Kimyasal adı	Folik asit
Molekül yapısı	
pKa değeri	3,46, 4,83
Molekül kütlesi	441,4 g/mol
Renk	Sarı

Folik asidin vücuttaki görevleri ve eksikliği

FA, birçok insanın metabolik yolu için önemli bir vitamindir. Nükleik asit sentezinde anahtar görevi görür. FA, hücre büyümesini ve sağlıklı kırmızı kan hücrelerinin oluşumunu destekler. Hücre bölünmesini hızlandırdığı da bildirilmektedir. Fetüsün sağlıklı büyümesi ve gelişmesi içinde gerekli bir vitamin olarak bilinir [31]. DNA'nın sentezi, onarımı ve metilasyonu (bir metil grubunun eklenmesi) dahil olmak üzere çok çeşitli kritik işlevlerde görev alır. Ayrıca, homosisteinin, protein sentezi için kullanılan veya insan vücudunda birincil metil donörü olarak görev yapan ve çok sayıda hücresel reaksiyon için gerekli olan bir bileşik olan S-adenosilmetiyonine (SAM) dönüştürülen bir amino asit olan metiyonine dönüştürülmesinde görevi olan çok önemli bir vitamindir.

Folik asit insan vücudunda sentezlenmediğinden, diyet yoluyla alınmalıdır [33]. Bu diyet takviyeleri portakal suyu, kuşkonmaz, yeşil yapraklı sebzeler ve bazı baklagillerdir [32].

Folik asit eksikliğinin Alzheimer, kardiyovasküler, anemi ve kanser gibi birçok ciddi hastalığa neden olduğu literatürde bildirilmiştir [34,35]. Aynı zamanda, bazı çalışmalar hamilelik sırasında kadınlar için folik asit takviyelerinin nöral tüp doğum kusurlarını önleyebileceğini göstermiştir [36]. Bu nedenlerle folik asidin doğru ve güvenilir bir şekilde belirlenmesi klinik olarak önemli bir konudur [37].

Folik asit tayini ve elektroanalitik yöntemler

Folik asit tayininde spektrofotometri [38], florimetri [39], yüksek performanslı sıvı kromatografisi [40] ve kemilüminesans [41] kullanılmıştır. Bu yöntemlerin yüksek doğruluğuna ve hassasiyetine rağmen, zaman alıcı prosedürler, ön işlemler, yüksek maliyetli enstrümantasyon ve karmaşıklığı içeren bazı dezavantajları vardır [42]. Diğer yöntemlere kıyasla elektroanalitik yöntemler, çalışma basitliği, yeterli hassasiyet, geniş lineer derişim aralığı, enstrümanın düşük masrafı, minyatürleşme olasılığı, ayırma ve spektral yöntemlerle karşılaştırıldığında matris etkilerine karşı daha az duyarlılık gibi pratik avantajlar sağlamaktadır [43].

Elektroanalitik yöntemlerde cıva damla elektrot [44], camsı karbon elektrot [45] ve gümüş katı amalgam elektrot [46] gibi birçok elektrot folik asit tayini için [47] kullanılmıştır.

Elektroanalitik yöntemlerde kullanılan diğer elektrotlardan biri de kurşun kalem ucu elektrottur. Kalem ucu elektrotlar, tek kullanımlık, bulması kolay, düşük maliyetli, geniş potansiyel penceresi ve düşük arka plan akımı nedeniyle çalışma elektrotu olarak yaygın olarak kullanılmaktadır [48,49,50,51].

Folik asit tayini için bugüne kadar karbon nanotüpler [52] ve metal oksit nanopartiküller [53] dahil olmak üzere birçok farklı malzeme ile elektrot modifikasyonları gerçekleştirilmiştir. Bu malzemeler arasında elektrokimyasal olarak hazırlanmış polimer film, duyarlılık, elektronik iletkenlik ve elektrokatalitik aktivite gibi bu özelliklerden dolayı elektrot değıştiriciler olarak dikkat çekicidir [54].

Literatür incelendiğinde folik asidin elektrokimyasal tayininde yapılan çalışmalar şunlardır.

Sohrab Ershad ve arkadaşları, çok duvarlı karbon nanotüpleri (PANi/MWCNT'ler) içeren bir polianilin kompoziti, in-situ kimyasal oksidatif polimerizasyon yöntemi ile sentezlemişlerdir. PANi/MWCNT modifiye elektrot, $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ ile $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ arasında geniş bir doğrusal aralıkta iyi dönüşümlü voltametrik (CV) yanıt göstermiştir [55].

Arjunan Ananthi ve arkadaşları, basit bir potansiyostatik yöntem kullanarak camı karbon (GC) substratlar üzerinde stabilizatör içermeyen bizmut nanotellerin (BiNW'ler) elektrokimyasal biriktirmesi için kolay tek adımlı bir yol geliştirmişlerdir. Ek olarak, kare dalga voltametri (SWV) kullanılarak $0,01 - 0,15 \mu\text{mol L}^{-1}$ konsantrasyon aralığında doğrusal bir yanıt bulmuşlardır. Tespit limitini (LOD) $0,00953 \mu\text{mol L}^{-1}$ olarak belirlemişlerdir [56].

Sajjad Hussain ve arkadaşları, molibden karbür (Mo_2C) nanopartiküllerini sentezlemek için basit bir kimyasal indirgeme yöntemi ve bunların baskı tekniği aracılığıyla folik asidin (FA) elektrokimyasal tespiti için uygulanmasını önermişlerdir. Önerilen sensör, $4,0 \text{ nmol L}^{-1}$ 'lik bir LOD değeri ile $0,01 \mu\text{mol L}^{-1}$ ile $120 \mu\text{mol L}^{-1}$ arasında FA konsantrasyonları için algılama davranışını göstermiştir [57].

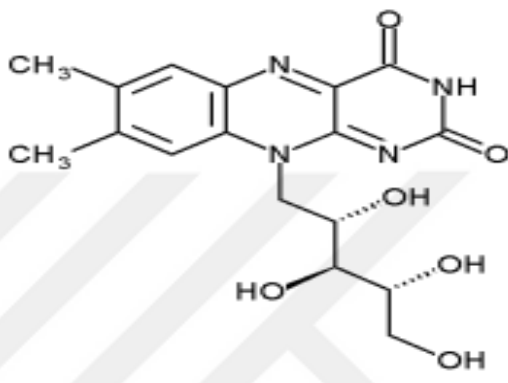
2.1.2.2 Riboflavin

Riboflavinin yapısı

Vitamin B2 olarak bilinen riboflavin (RF) (6,7-dimetil-9-(D-1-ribitil)-izoalloksazin), sarı-yeşil renktedir ve UV ışığı ile uyarıldığında yüksek derecede doğal floresana sahip suda çözünür bir vitamindir [58]. Doğal olarak oluşan flavinlerin yapısında bir dizi varyasyon vardır. Riboflavin ve koenzimleri, özellikle UV ışığı varlığında alkalilere ve asitlere karşı duyarlıdır. Alkali koşullar altında Riboflavin, biyolojik olarak inaktif olan lumiflavin (7,8,10-trimetil izoalloksazin) verecek şekilde foto bozunmaya uğrar. Riboflavin, asidik koşullar altında, biyolojik olarak inaktif olan bir ürün olan lumikroma (7,8-dimetilaloksazin) ışıkla bozunur. Dolayısıyla, Riboflavin ve türevlerinin önemli bir fiziksel özelliği, hızlı inaktivasyona neden olan UV ışığına

olan duyarlılıkları olduğu bildirilir. Bu nedenle, yeni doğan sarılığının ve belirli cilt bozukluklarının fototerapisi, sistemik Riboflavin eksikliğini artırma potansiyeline sahiptir. Termal işlemeye karşı stabildir ancak ışığa maruz kaldıktan sonra bozunmaya başlar [59].

Tablo 2.2. Riboflavinin bazı kimyasal özellikleri

Kimyasal adı	Riboflavin
Molekül yapısı	
pKa değeri	6,0, 10,2
Molekül kütlesi	376,4 g/mol
Renk	Sarı

Riboflavinin vücuttaki görevleri ve eksikliği

Riboflavin, flavin adenin dinükleotid (FAD) ve flavin mononükleotid (FMN) olan iki koenzimin merkezi bileşeni olduğu bilinmektedir ve bu koenzimler çeşitli biyokimyasalları katalize eder insan vücudundaki karbonhidrat, protein ve yağı reaksiyona sokar [59].

Riboflavin eksikliğinin başlamasıyla birlikte, meydana gelen adaptasyonlardan biri, kritik metabolik fonksiyonları yerine getirmek için gerekli olan FMN ve FAD havuzlarının göreceli olarak korunmasıyla, hepatik serbest Riboflavin havuzunda neredeyse saptanamayan seviyelere düşmez. Riboflavin eksikliğinin tek nedeni

diyet yetersizliği değildir. Adrenal ve tiroit hormon yetersizliği, spesifik ilaçlar ve hastalıklar gibi belirli endokrin anormallikler, vitamin kullanımını önemli ölçüde engelleyebilir veya düşürebilir [60]. Alkolün hem diyet kaynaklarından sindirimini hem de bağırsaktan emilimini engelleyerek Riboflavin eksikliğine neden olduğuna dair bazı kanıtlar mevcuttur [61].

RF vücutta sentezlenemediği için yumurta, yeşil sebzeler, süt, diğer süt ürünleri, et, mantar, badem gibi besin takviyeleri ile birlikte alınmalıdır [62]. Bu vitaminin uzun süre yetersiz tüketilmesi zararlı olabilir [63]. Bu zararlı etkiler literatürde, ariboflavinoz olarak da bilinen B2 vitamini eksikliklerinin ağırlı kırmızı dil, boğaz ağrısı, çatlamış dudaklar (cheilosis) ve ağız köşelerinde iltihaplanma olduğü bildirilmiştir [59]. Bu nedenlerden dolayı, RF'nin doğru ve güvenilir tespiti önemlidir [64].

Riboflavin tayini ve elektroanalitik yöntemler

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) [65], spektroskopi [66], kemilüminesans [67], ve elektroforez [68] dahil olmak üzere, RF'nin belirlenmesi için birçok analitik yöntem kullanılmıştır. Bu yöntemlerin yüksek doğruluk ve kesinliğine rağmen, bunların zaman alıcı ön işlemler, karmaşıklık ve maliyetli ekipman gibi bazı dezavantajları vardır [69]. Örneğin, diğer tekniklerin yanı sıra elektroanalitik yöntemler, düşük maliyetleri, kısa analiz süreleri, zaman alan ön işlemiden yoksun olmaları, seçicilikleri ve yüksek hassasiyetleri nedeniyle büyük ilgi görmüştür [70].

RF'nin elektrokimyasal davranışı, karbon pasta elektrot [71], camsı karbon elektrot [72], damla cıva elektrot [73], ve bor katkılı elektrot [74] gibi birçok elektrot türü kullanılarak incelenmiştir. Öte yandan, elektroanalitik yöntemlerde kullanılan diğer elektrotlardan biri kurşun kalem grafit elektrottur [75,76]. Kalem ucu elektrotlarının çalışma elektrotu olarak yaygın olarak tercih edilmesinin birçok nedeni vardır. Bunlar bulunması kolay, tek kullanımlık, düşük maliyetli, düşük arkaplan akımı ve geniş potansiyel penceresine sahip olması gibi sebeplerdir [77,78,79].

Nanomateriyaller, ilginç fizikokimyasal özelliklerinden dolayı son birkaç yılda çalışma elektrotlarının yüzeyini değiştirmek için modifiye edici materyaller olarak büyük ilgi görmüştür [80]. Örneğin, altın nanopartiküller (AuNP'ler), yüksek yüzey/hacim oranı, proteinler ve metal parçacıklar arasındaki mesafeyi azaltma yeteneği, redoks proteinleri ile elektrot yüzeyi arasındaki elektron transferini kolaylaştırma yeteneği gibi özellikleri sayesinde büyük değiştiriciler haline gelirler [81]. Altın nanopartiküllerin, hidrojen peroksit, oksijen veya nikotinamid adenin dinükleotid gibi analitik biyokimyasal reaksiyonlarda yer alan moleküllerin redoks işlemlerinin elektrokatalize edilebildiği faydalı ara yüzler sağladığı da gösterilmiştir [81].

Öte yandan, karbon nanotüpler (CNT'ler), yüksek elektriksel iletkenlik, iyi kimyasal kararlılık ve aşırı mekanik mukavemet gibi mükemmel özelliklerinden dolayı büyük ilgi görmüştür [82]. CNT'lerin uygulanmasının, geleneksel elektrotlara göre yüksek etkili yüzey alanı, iyileştirilmiş toplu taşıma, yüksek gözeneklilik, reaktif bölgeler ve daha fazla adsorpsiyon gibi olağanüstü avantajlar sağladığı gösterilmiştir [83].

Kwok-Keung Shiu ve Kang Shi, multivitamin hazırlanmasında Vitamin B2'nin (VB2) ön konsantrasyonu ve elektroanalize elektrokimyasal olarak aktive edilmiş camı karbon elektrotları uygulamışlardır. Aktive edilmiş elektrotlar üzerinde adsorbe edilen VB2 türlerinden kaynaklanan voltametrik pik akımları 0,1 ile 3,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ arasındaki VB2 konsantrasyonları için doğrusal yanıt göstermiştir [84].

De-Qian Huang ve arkadaşları, bir mangan dioksit ile modifiye edilmiş camı karbon elektrot (MnO_2/GCE), bir kaplama yöntemi ile hazırlamış ve diferansiyel puls voltametri (DPV) ile riboflavin (VB2) tayini için kullanmışlardır. Aktivasyonun, MnO_2 miktarının, tampon tipinin, tampon pH' sının ve konsantrasyonun VB2'nin tepe akımı üzerindeki etkisi araştırıldı ve deneysel sonuçlar, VB2'nin DPV tepe akımının, 2,0-110 $\mu\text{mol L}^{-1}$ aralığında konsantrasyonu ile doğrusal bir ilişki gösterdiğini ortaya koymuşlardır [85].

Zhouxiang Zhang ve arkadaşları, tek duvarlı karbon nanotüpler (SWCNT'ler) nanokompozit elektro-katalizör destekli, moleküler baskılı poli(3,4-etilen dioksitiyofen) (PEDOT) film için iki boyutlu katmanlı tungsten sülfür (WS_2) nanosheet ile modifiye edilmiş son derece hassas bir elektrokimyasal sensör B2

vitamini (VB2) tespiti başarıyla geliştirmişlerdir. Optimize edilmiş koşullar altında, hazırlanan baskılı sensör 0,002 ila 0,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$ arasındaki geniş konsantrasyon aralıklarında ve 0,7 nmol L^{-1} 'lik düşük saptama sınırında VB2'ye iyi bir doğrusal yanıt göstermiş ve ilaç numunelerinde VB2'yi elektrokimyasal olarak saptamak için başarıyla uygulanmıştır [86].

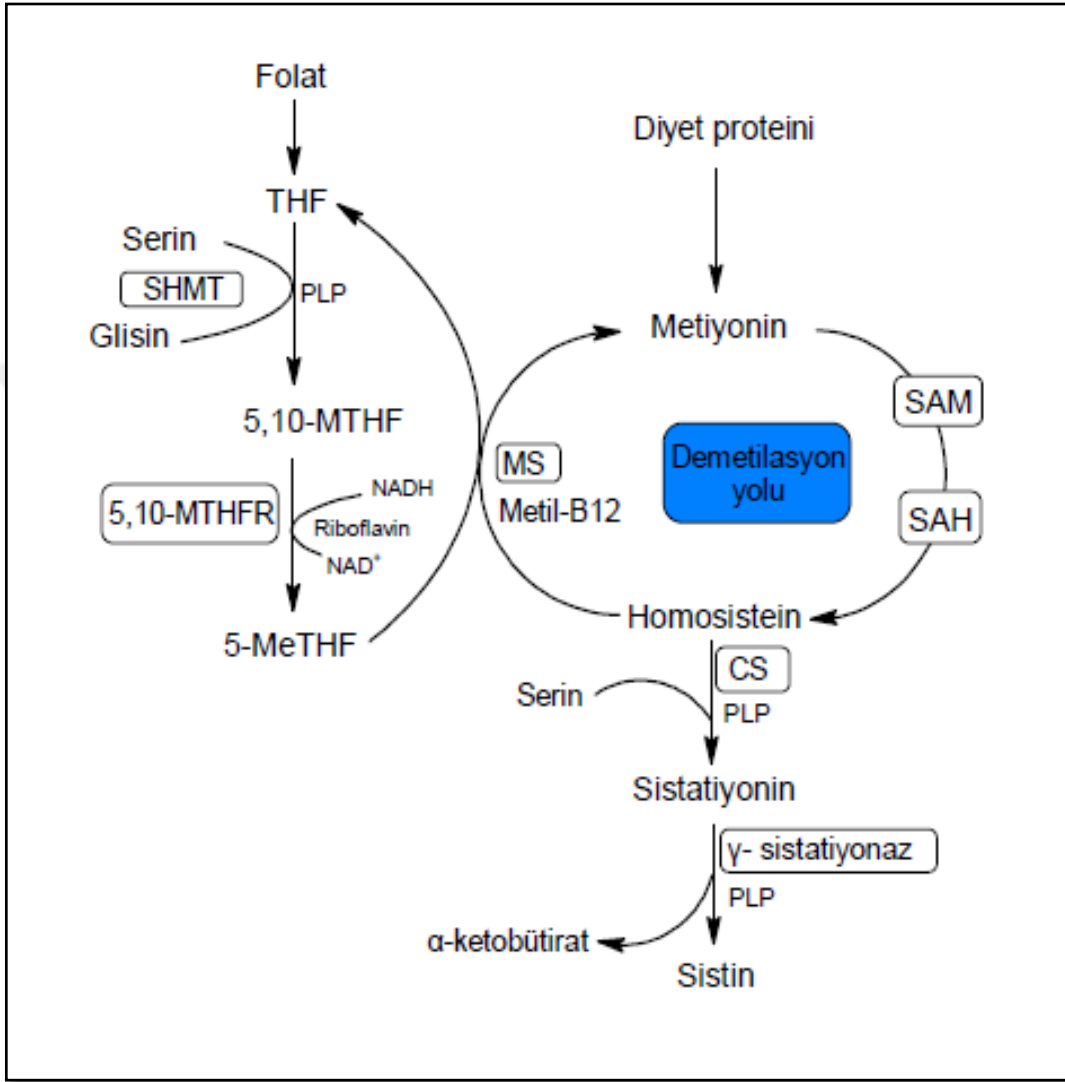
2.1.2.3 Piridoksin

Piridoksinin yapısı

Piridoksin (Py), proteinlerin, lipidlerin ve karbonhidratların metabolizmasıyla ilgili bir B grubu vitaminidir (Şekil 1) [87]. Bir piridoksin türü olan piridoksal fosfat, amino asitlerin metabolizması için enzimlerde kofaktör veya prostetik grubu olarak kullanılır [87]. Monoamin nörotransmitterlerinin oluşumuna yol açan amino asit dekarboksilaz reaksiyonunda, B6 vitamini sinir sisteminin işlevi ile yakından ilişkilidir [88]. Ayrıca bağışıklık ve endokrin sistemlerinde önemli bir role sahip olduğu bildirilmektedir ve HIV-1 ve kanser tedavisinde faydalı etkilere sahiptir [61].

Bununla birlikte, homosistein, homosisteinin bir piridoksal-5-fosfat (PLP) enzimi olan sistatyonin sentetaz (CS) tarafından sistatyonine dönüştürüldüğü transsülfürasyon yolu tarafından katabolize edilir. Sistatyonin ayrıca başka bir PLP enzimi olan g-sistatyonaz tarafından sisteine indirgenir. Sistein, taurin sentezine ve daha da önemlisi glutatyona katkıda bulunur. Sülfür, nihai olarak inorganik sülfata indirgenir. Bu metabolik yolların düzgün çalışması, normal doku ve plazma metiyonin ve homosistein konsantrasyonlarını sağlar. Metiyonin-homosistein metabolik yollarının iki özelliği not edilmesi gerekir. İlki, metiyonin-homosistein metabolizmasının kontrolü ile ilgilidir. Demetilasyon yolağının ürünü olan SAM, hücrel metiyonin fazlalığı koşulları altında 5,10-MTHFR'yi inhibe eder ve CS'yi etkinleştirir. Metabolik yolların ikinci özelliği, dahil olan vitaminlerin sayısıdır. Yeniden metilasyon yolunda diyet folatı, metiltransferaz reaksiyonunun 5-MeTHF kaynağıdır ve bu da metilkobalamin (metil-B12) gerektirir. THF'den 5,10-MTHF oluşumu PLP (vitamin B6) gerektirir. 5,10-MTHF'nin 5-MeTHF'ye indirgenmesi riboflavin ve niasinamid gerektirir. "Transsülfürasyon" yolunun temel adımları sırasıyla CS ve g-sistatyonaz tarafından katalize edilir. Her ikisi de PLP'a (B6 vitamini) ihtiyacı duyulur. Dolayısıyla suda çözünen vitaminler olan özellikle folat,

B12 vitamini ve B6 vitamini ile homosistein metabolizması arasında karşılıklı ilişkiler söz konusudur. Yüksek homosistein konsantrasyonları sonuçları (hiperhomosisteinemi, homosistinüri), genetik kusurların, folat eksikliklerinin, vitamin B12 ve B6'nın veya böbrek yetmezliğidir (Şekil 2.1) [61].

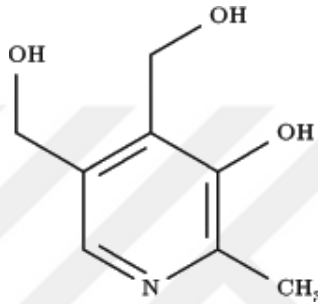


Şekil 2.1 Metiyonin-Homosistein mekanizması.

B6 vitamini, aşırı dozlarda toksisiteye sahip olabilen suda çözünen Niasin (Vitamin B3) ve Askorbik asit (Vitamin C) gibi üç vitaminden biridir. B6 vitamini toksisitesi gelişmesi, takviye olmaksızın sıradan gıdalarda nadir olarak görülür. Aşırı takviye, duysal nöropatilere ve hareket bozukluklarına sebep olmuştur. Yetişkinler için 100 mg/dl'den fazla B6 Vitamini tüketiminin kişide toksisiteye neden olması beklenir. Semptomların şiddeti ise dozlarına bağlıdır. Ek klinik toksisite bulguları arasında

fotoduyarlılık, mide bulantısı ve mide ekşimesi gibi gastrointestinal semptomları görülebilir. Bu semptomlar, B6 vitamini takviyesinin ortadan kaldırılmasıyla zaman içinde büyük ölçüde ortadan kalkar. B6 toksisitesine bağlı dokunma, sıcaklık, duyuşal polinöropati, zayıf koordinasyona ve titreşim hissinin azalmasına neden olur [89].

Tablo 2.3 Piridoksinin bazı kimyasal özellikleri

Kimyasal adı	Piridoksin
Molekül yapısı	
pKa değeri	5, 8.96
Molekül kütlesi	169.18 g/mol

Piridoksinin vücuttaki görevleri ve eksikliği

Piridoksin eksikliğinin neden olduğu en belirgin semptomlar sinir sistemi ile ilgilidir. Eksikliğinde hiperakuzi, aşırı sinirlilik, bozulmuş uyanıklık, anormal sağlık hareketleri hayvanlarda ve insanlarda görülür. Koenzim olarak piridoksal-5-fosfat (PLP) içeren biyokimyasal reaksiyonlar, 140'tan fazla enzim PLP'ye bağımlı olduğundan çeşitlidir. Piridoksin, nörotransmitterler olarak sinir sisteminde çok önemli bir role sahiptir ve B6 vitamininin biyolojik olarak aktif formu olan PLP'nin eksikliği, konvülsiyonlar ve epileptik ensefalopati gibi ciddi nörolojik komplikasyonlara neden olur. Hatta, Parkinson ve Alzheimer gibi çok faktörlü nörolojik hastalıklar, bu enzimin yetersizliğiyle ilişkilendirilmiştir [90]. Ayrıca, vücutta uzun süre saklanmazlar ve idrarla çok yüksek atılım oranlarına sahiptirler.

Bu nedenle vücutta belli bir seviyede tutulması için bol miktarda diyet alımı gerekmektedir [91]. Et, balık, baklagiller, fındık, muz, patates gibi bazı yiyecekler tüketerek B6 vitamini alımı sağlanması mümkündür [88].

Piridoksin tayini ve elektroanalitik yöntemler

Py'nin tayini için literatürde kemilüminesans [92], spektrofotometri [93], yüksek performanslı sıvı kromatografisi [94] dahil olmak üzere birçok analitik yöntem bildirilmiştir. Bu yöntemler yüksek doğruluk ve hassasiyete sahip olsa da zaman alıcı prosedürler, ön işleme, maliyetli enstrümantasyon gibi bazı dezavantajları vardır [48,49]. Aksi takdirde, düşük maliyet, zaman alıcı ön işlemin olmaması, kısa analiz süresi, yüksek doğruluk ve düşük algılama sınırları olması gibi avantajları nedeniyle elektroanalitik yöntemler oldukça tercih edilmektedir [50].

Py'nin elektrokimyasal tayini, nanomalzemeler ile kimyasal olarak modifiye edilmiş elektrotlar üzerinde gerçekleştirilmiştir [95,96]. Öte yandan, bu yöntemler hala zahmetli hazırlık (modifikasyon) süreçlerinden mustarıptır. Piridoksinin belirlenmesi için hızlı, basit ve seçici bir elektrokimyasal yöntemin oluşturulması önemlidir. Pek çok yüzey ön işlem tekniğinin karbon elektrot yüzeylerinin performansını geliştirdiği bildirilmiştir. Bu prosedürler arasındaki elektrokimyasal ön işlem, basitliği nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır [97,98]. Birkaç grup, karbon elektrotların elektrokimyasal performansının elektrokimyasal anodizasyon veya potansiyel döngü kullanılarak geliştirilebileceğini bildirmiştir [99,100]. Literatür raporları, karbon yüzeyinin yeniden yönlendiğini öne sürmektedir. Literatür raporları, karbon yüzeyinin yeniden yönlendirilmesinin daha fazla kenar düzlemi bölgesi oluşturduğunu ve elektrokimyasal ön işlemde sonra karbon yüzeyinde oksijen içeren işlevler sunduğunu, kenar düzlem grafitleri veya karbon nanotüpler gibi davrandığını göstermektedir [101,97].

Devaraj Manoj ve arkadaşları, SnO₂ nanopartiküllerini destekleyen mezogözenekli TiO₂ içeren hibrit bir heteroyapı sentezini rapor etmişlerdir ve elde edilen nanokompozit, farmasötik tabletlerde B6 vitamininin elektrokimyasal oksidasyonu için camı karbon elektrot (GCE) üzerinde üretilmiştir. Diferansiyel puls voltametri (DPV) ölçümleri, artan B6 vitamini derişiminin eklenmesiyle anodik pik akımında keskin bir artış olduğunu ortaya koymuştur. Modifiye edilmiş elektrotun analitik

performansı, geniş bir doğrusal aralık ($0,1-31,4 \text{ mmol L}^{-1}$), yüksek seçicilik ve düşük saptama limiti (35 nmol L^{-1}) ile mükemmel hassasiyet ($759,73 \text{ mA mmol L}^{-1} \text{ cm}^{-2}$) göstermiştir [102].

Dos Santos, T. A. D. Ve arkadaşları, biyoanaliz için elektrokimyasal ve elektroanalitik prosedürlerde kullanımlarını optimize etmek için grafit parçacıklarının ısıtılmış parafine (kütle olarak %65 ila %80 grafit) mekanik dispersiyonları ile yapılan farklı katı kompozitler hazırlanmış ve değerlendirilmiştir. Derişimin bir fonksiyonu olarak pik cevapları arasında iyi doğrusallığa riboflavin için $5,0$ ila $43 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ 'den ($-0,257 \text{ Volt'ta (V)}$ pik noktası) ve piridoksin için 850 mol L^{-1} 'e ($+1,04 \text{ V'de}$ pik noktası) ulaşılmıştır ve her iki analit için tespit sınırları yaklaşık $1,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ olduğunu göstermiştir [103].

Tao Nie ve arkadaşları, fonksiyonellendirilmiş PEDOT filmleri, sulu çözeltiden camsı karbon elektrotlarında (GCE'ler) PEDOT'un elektropolimerizasyonu sırasında doping anyonları olarak iki elektroaktif türün, ferrosen karboksilik asit (Fc) ve ferrisiyanidin (Fe(CN)_6^{4-}) katılmasıyla hazırlamışlardır. PEDOT/ ClO_4^- /GCE' de, VB2, VB6 ve VC'nin belirlenmesi için doğrusal aralıklar $0,15-300 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, $1,0-1500 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ ve $2,0-2000 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ olarak bulunmuş ve tespit limitleri sırasıyla $0,08 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, $0,5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ ve $0,9 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır [104].

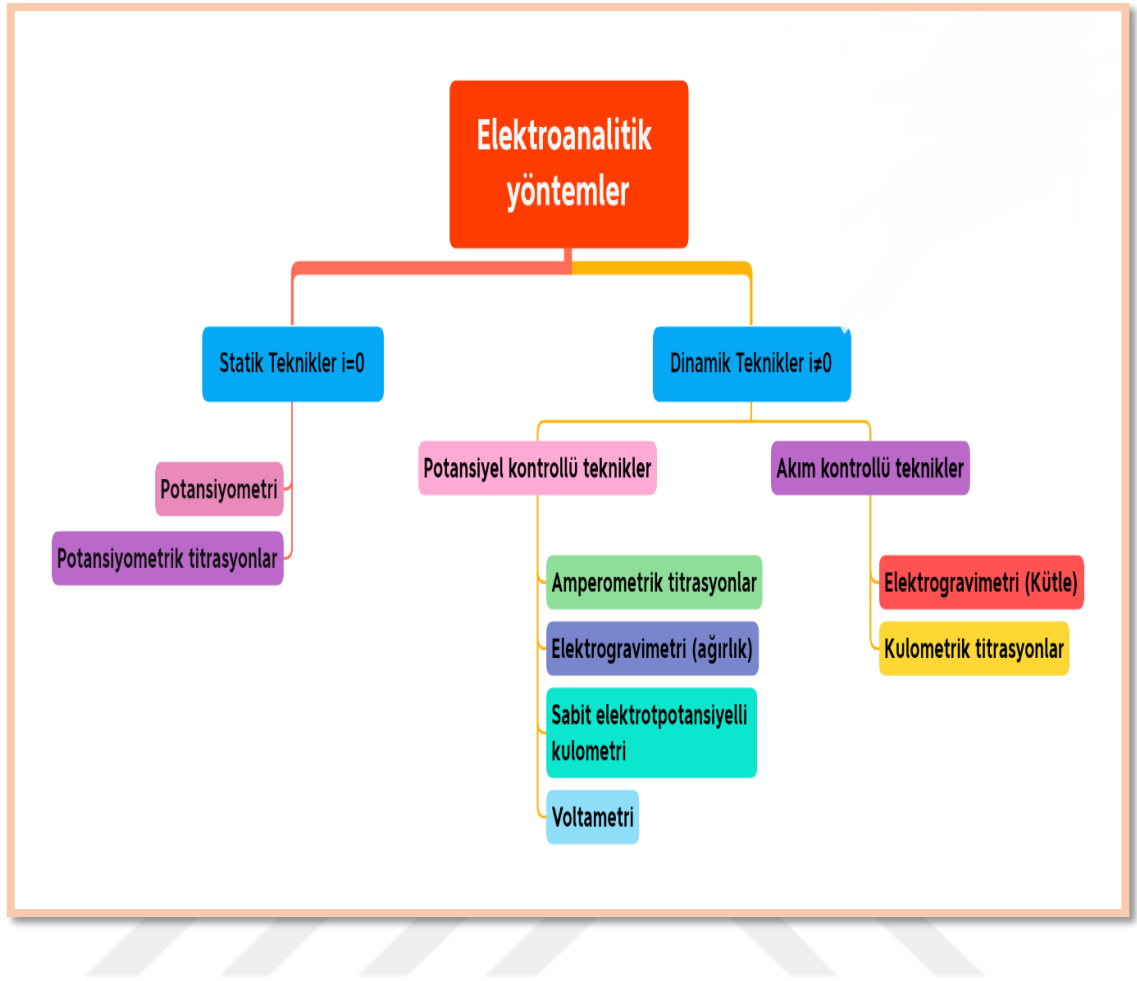
3.1 Elektrokimya

Elektrokimyasal teknikler, elektrik ve kimya arasındaki etkileşimle, yani akım, potansiyel veya yük gibi elektriksel büyüklüklerin ölçümleri ve bunların kimyasal parametreleriyle olan ilişkisiyle ilgilenir. Analitik amaçlar için elektriksel ölçümlerin bu tür kullanımı, biyomedikal analiz, çevresel izleme ve endüstriyel kalite kontrol dahil olmak üzere birçok uygulamaları mevcuttur [105].

Yükseltgenme ve indirgenme reaksiyonları elektrokimyasal tepkimeler olarak bildirilir. Genel olarak elektrokimya, elektrot ve elektrolit arasında gerçekleşen reaksiyonları inceler. Bu reaksiyonlar elektrokimyasal hücre adı verilen sistemlerde gerçekleştirilir. Bu elektrokimyasal hücreler, incelenecek olan maddeyi içeren çözelti, elektrotlar ve bu elektrotları birbirine bağlayan bir dış devreden meydana gelir [106].

Elektrokimyasal yöntemlerin birçok avantajları vardır. Bu avantajlardan birkaçı ise orta maliyetli olması, kolay taşınabilmesi, enstrümantal basitliğe sahip olması ve herhangi bir ön işlem gerektirmemesidir. Diğer yöntemlere göre daha düşük tayin limitlerine inmesi, kısa analiz süresine sahip olması, geniş bir doğrusal aralığa sahip olması da bir diğer avantajları olarak sayılmaktadır [106]. Ayrıca, elektrokimyasal ve biyolojik reaksiyonlardaki benzerlik göz önüne alındığında vücutta ve elektrotta gerçekleşen yükseltgenme ve indirgenme reaksiyonları benzer bir prensibi paylaştığı söylenebilir [107, skoog 1996].

Elektroanalitik yöntemler Şekil 3.1'deki gibi sınıflandırılmıştır.



Şekil 3.1 Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılması [107].

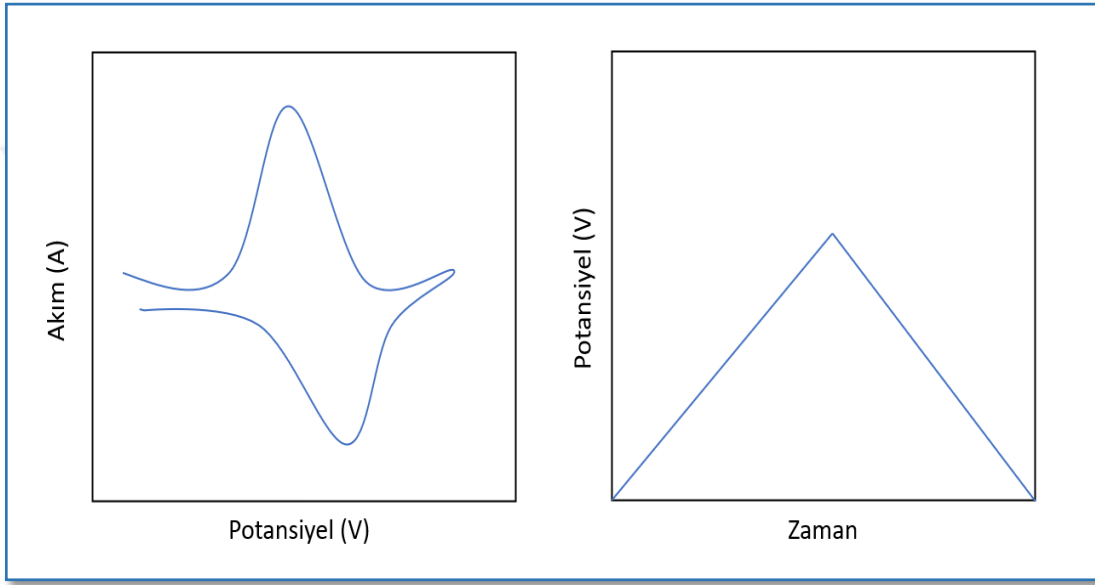
3.1.1 Voltametrik Yöntemler

Voltametrik yöntemlerde bir çalışma elektrotunun polarize olduğu şartlar altında elektrokimyasal bir hücreye zamana bağlı bir potansiyel uygulanır ve hücre içinden geçen akım bu potansiyelin bir fonksiyonu olarak ölçülür. Uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak bir akım grafiği, yükseltgenme veya indirgenme reaksiyonunda yer alan türler hakkında nicel ve nitel bilgi sağlayan yöntemlerdir [107].

3.1.1.1 Dönüşümlü Voltametri

Dönüşümlü voltametri (CV), elektroaktif türlerin incelenmesi için kullanılan çok yönlü bir elektroanalitik yöntemdir. Çok yönlü olması ölçüm kolaylığı ile birleştiğinde elektrokimya, organik kimya, anorganik kimya ve biyokimya alanlarında yaygın olarak kullanılmasına yol açar. Dönüşümlü voltametri genellikle

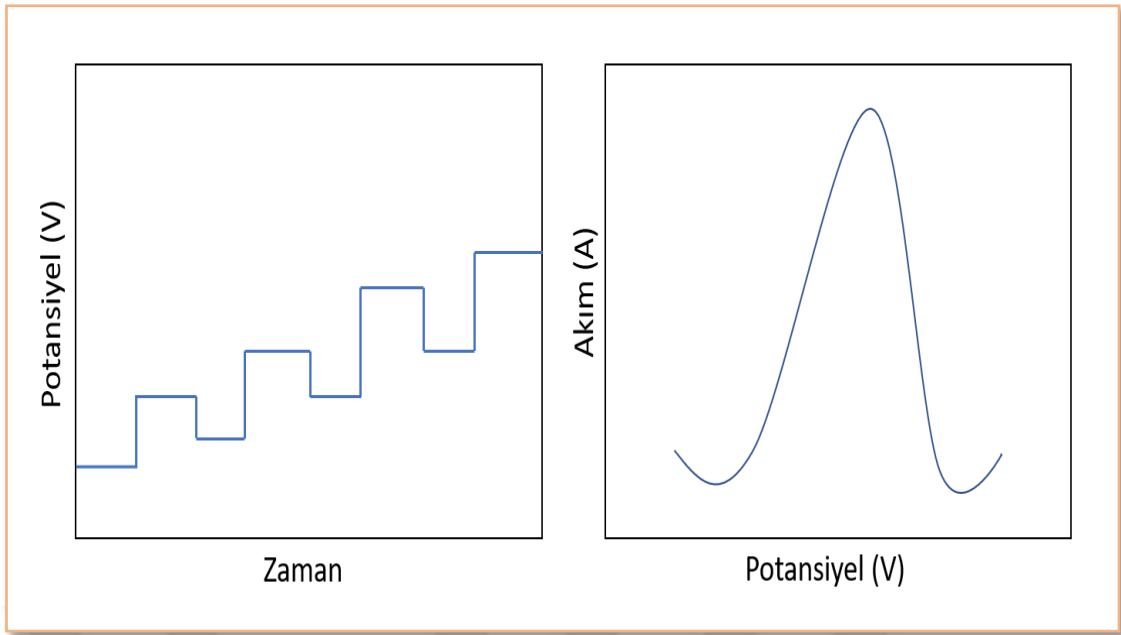
bir bileşiğin veya biyolojik bir malzemenin hangi davranışı sergilediğini incelemek için kullanılan ilk tekniktir. Dönüşümlü voltametrinin etkinliği, redoks davranışını geniş bir potansiyel aralıkta hızlı bir şekilde gözlemlemesinden kaynaklanmaktadır. Elde edilen voltamogram, bilgiyi bir enerji taramasının bir fonksiyonu olarak iletmesi açısından geleneksel bir spektruma benzerdir [108]. Bu yöntemde, uygulanan potansiyel önce bir yönde sonrada o yönün tersi yönde taranarak akımı ölçülür (Şekil 3.2). Bir dönüşümlü voltametri yönteminde tek bir tam döngü veya birçok döngü sisteme uygulanabilir [107].



Şekil 3.2 Dönüşümlü voltametri tekniğinde uygulanan dalga formu ve dönüşümlü voltametri tekniği kullanılarak elde edilen voltamogram.

3.1.1.2 Diferansiyel Puls Voltametri

Diferansiyel puls voltametrisi (DPV), doğrusal bir rampa potansiyeli üzerine genlik potansiyel pulsların uygulanmasıyla çalışan bir yöntemdir. DPV'de, faradaik reaksiyonun olmadığı bir potansiyel seçilir ve elektrota uygulanır. Potansiyel, eşit artışlarla pulslar arasında artırılır. Puls uygulamasından hemen önce ve pulsun hemen sonunda akım ölçülür ve aralarındaki fark alınır (Şekil 3.3) [109].



Şekil 3.3 Diferansiyel puls voltametrisinde uyarma sinyali ve voltamogramı.

3.1.2 Voltametrik Hücrede Kullanılan Elektrotlar

Voltametrik ölçümlerde genellikle ikili veya üçlü elektrot sistemi kullanılmaktadır. Üç elektrottan birisi zamanla potansiyeli değişen çalışma (indikatör) elektrotudur. Elektrot sistemindeki ikinci elektrot belli bir sıcaklıkta potansiyeli sabit kalan referans elektrotudur. Referans elektrot olarak genel olarak Ag/AgCl ya da doymuş kalomel elektrot tercih edilir. Üçüncü elektrot ise karşıt (yardımcı) elektrotudur. Çalışma elektrotunda meydana gelen reaksiyonun tam tersi karşıt elektrotta gözlemlenir ve genellikle platin tel kullanılır.

3.1.2.1 Çalışma Elektrotu

Diğer ismiyle indikatör elektrot olarak da bilinir. Analit çözeltisindeki iyon veya iyon gruplarının derişiminden etkilenmez. Hızlı ve tekrarlanabilir cevaplar veren elektrotudur [107].

3.1.2.2 Referans Elektrot

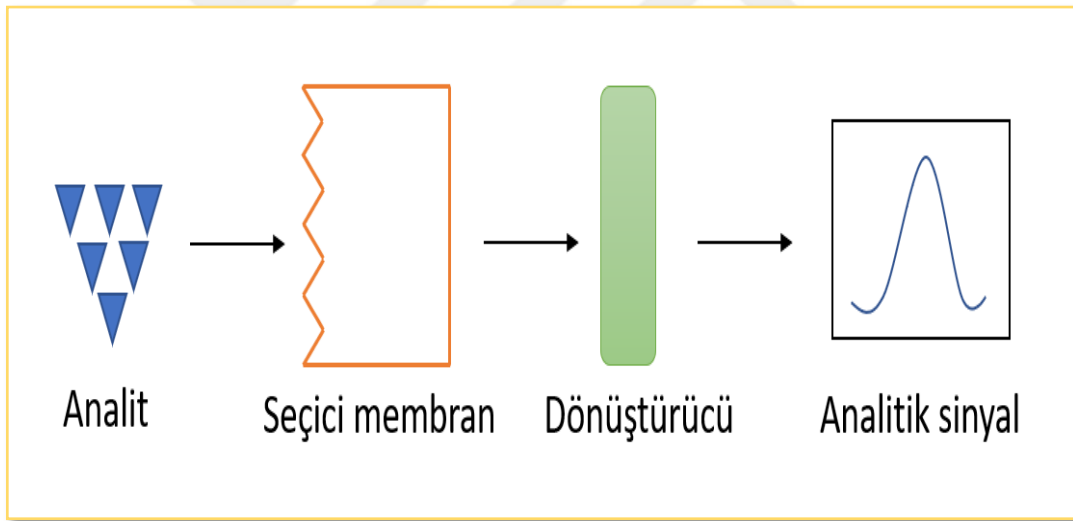
Belli sıcaklıkta sabit potansiyeli olan ve analit çözeltisinin derişiminden etkilenmeyen elektrotudur. Ayrıca üzerinden küçük akımlar geçtiğinde sabit bir potansiyel gösterir [110].

3.1.2.3 Karşıt Elektrot

Çalışma elektrotu ile aynı akımı ters bir işaretle geçiren elektrottur. Bu nedenle çalışma elektrotu üzerindeki hangi elektrokimyasal işlem gerçekleşiyorsa karşıt elektrot üzerinde bir karşıt elektrokimyasal reaksiyon gerçekleşmektedir [110].

3.2 Sensörler

Kimyasal sensör, numune matrisindeki analitin doğrudan ölçümü için kullanılabilen küçük bir cihazdır. İdeal olarak, böyle bir cihaz sürekli ve tersine çevrilebilir şekilde yanıt verir ve numuneyi bozmaz. Numune işleme ve ölçüm adımlarını birleştiren sensörler, numune toplama ve hazırlama ihtiyacını ortadan kaldırır. Kimyasal sensörler, kimyasal veya biyolojik bir tanıma katmanı ile kaplı bir transdüksiyon elemanından oluşur (Şekil 3.4). Bu tanıma katmanı, hedef analit ile etkileşime girerek bu etkileşimden kaynaklanan kimyasal değişiklikleri, iletim elemanı tarafından elektrik sinyallerine dönüştürülmesini sağlar [105].



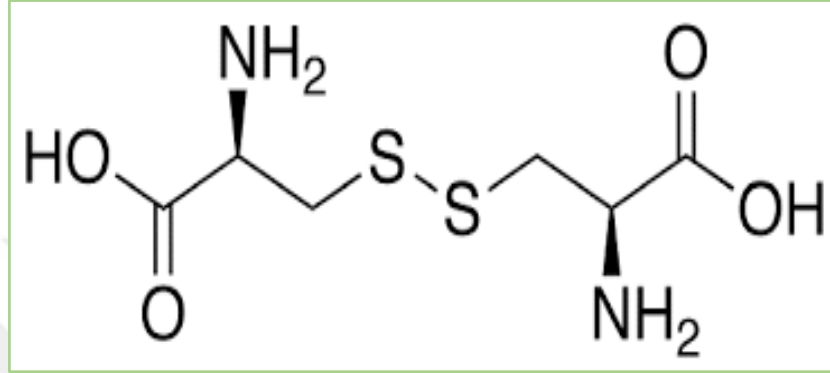
Şekil 3.4 Bir sensör sisteminde bulunan bileşenleri.

3.2.1 Tez Çalışmasında Kullanılan Sensör Malzemeleri

Bu tez çalışmasında modifikasyon işlemi için l-sistin aminoasidi, altın nanopartikül, fonksiyonellendirilmiş çok duvarlı karbon nanotüp ve fosforik asit çözeltisi kullanılmıştır. Bunlar ile ilgili detaylı bilgi aşağıda verilmiştir.

3.2.1.1 L-sistin Aminoasidi

Sistin, amino asit sisteininin oksitlenmiş dimer formudur ve moleküler formülü $(SCH_2CH(NH_2)CO_2H)_2$ şeklindedir (Şekil 3.5). Suda az çözünür olan beyaz bir katıdır. İki biyolojik işlevi vardır. Bunlar, bir redoks reaksiyonları bölgesi ve proteinlerin üç boyutlu yapılarını korumalarına izin veren mekanik bir bağlantıdır [111].



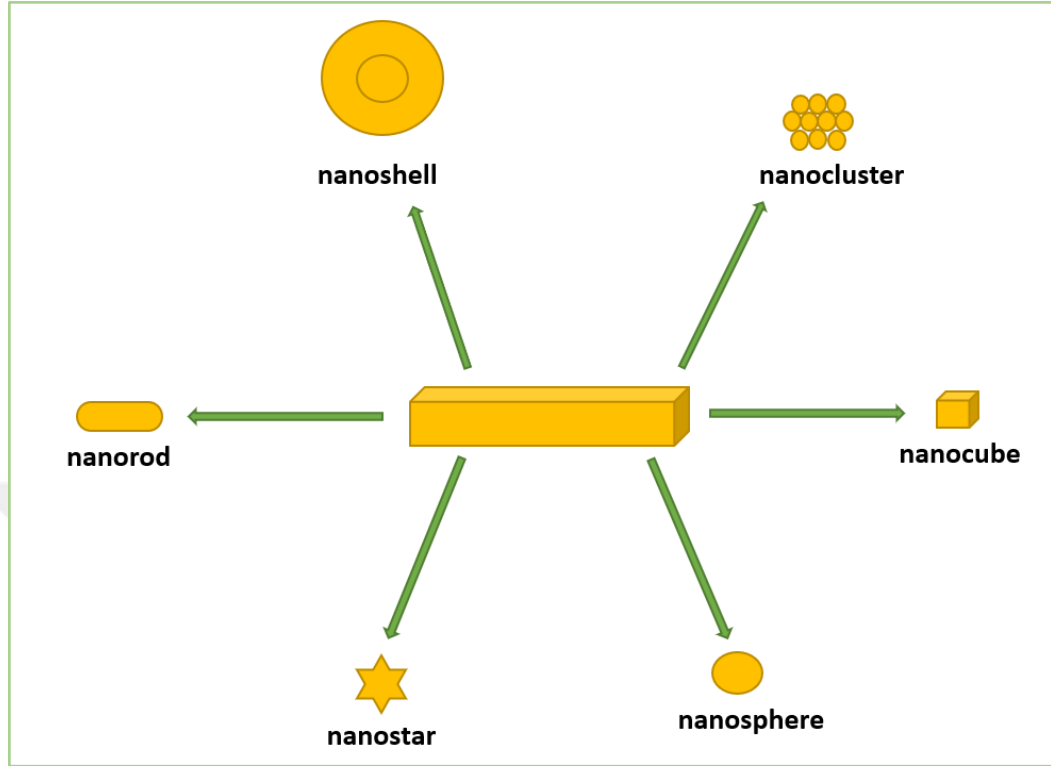
Şekil 3.5 L-sistin aminoasidin molekül yapısı.

L-sistin, tiyol gruplarının redoks özelliklerinden dolayı çok faydalı bir amino asittir [112]. L-sistin elektrokimyasal polimerizasyonu, elektrot yüzeyinde tioalkol kalıntılarının oluşmasına yol açarak duyarlılığı ve stabiliteyi artırır [113]. Karbon bazlı elektrotlarda aminlerin yükseltgenmesi ile ilgili elde edilen önceki raporlara göre [114], l-sistin molekülünün amino grubu önce karşılık gelen serbest radikale oksitlenir ve ardından kovalent olarak kurşun kalem grafit elektrot yüzeyine hareketsizleştirilir.

3.2.1.2 Altın Nanopartikül

Altın nanopartiküllerin özellikleri dökme halinden farklıdır çünkü dökme altın sarı katıdır ve doğada inert halde bulunur. Fakat altın nanopartiküller ise şarap kırmızısı rengindedir ve antioksidan özelliği olduğu bildirilmiştir. Altın nanopartikül ağlarının partiküller arası etkileşimleri ve modifikasyonu, bu nanopartiküllerin özelliklerinin belirlenmesinde anahtar bir rol oynar. Altın nanopartiküller 1 nm ile 8 µm arasında değişen birçok boyutları bulunmaktadır. Aynı zamanda küresel, alt oktahedral, dekahedral, icosahedral çoklu twined, oktahedral, nanoprizmler,

tetrahedral, nano üçgenler, nanorodlar ve altıgen trombositler gibi farklı şekiller sergilemektedir (Şekil 3.6) [115].



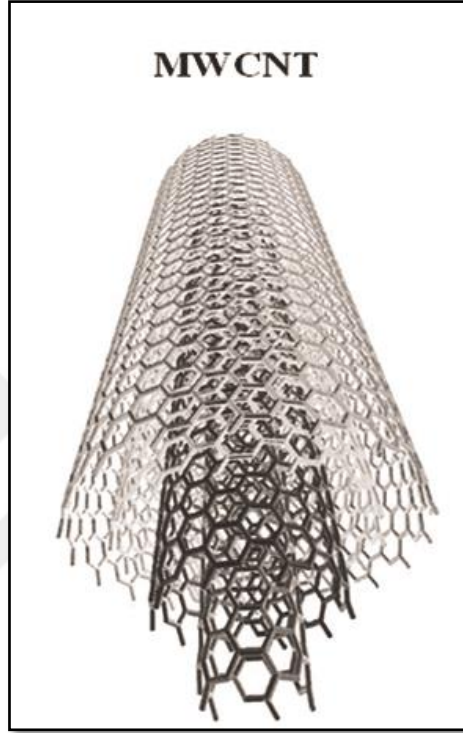
Şekil 3.6 Altın nanopartiküllerin bazı yapıları.

Altın nanopartikül gibi soy metallerin nanopartiküllerinin sahip olduğu elektronik, optik, termal ve katalitik gibi çekici özelliklerinden ötürü fizik, kimya, biyoloji, tıp, malzeme bilimi ve disiplinler arası alanlardaki uygulamaları oldukça fazladır [116]. Örneğin altın nanopartiküller (AuNP'ler), yüksek yüzey/hacim oranı, proteinler ile metal partiküller arasındaki mesafeyi azaltma, redoks proteinleri ile elektrot yüzeyi arasında elektron transferini kolaylaştırma gibi özellikleri sayesinde büyük değiştiriciler haline gelir. AuNP'lerin, hidrojen peroksit, oksijen veya nikotinamid adenin dinükleotid gibi analitik biyokimyasal reaksiyonlarda yer alan moleküllerin redoks işlemlerinin elektrokatalize edilebildiği faydalı ara yüzler sağladığı da gösterilmiştir [117].

3.2.1.3 Çok Duvarlı Karbon Nanotüp

Karbon nanotüpler, altıgenlerin tepelerinde karbon atomları bulunan, çoğunlukla uçları kapalı olan grafit tabakalardan yapılmış silindirler olarak düşünülebilir (Şekil

3.7) [118]. Karbon nanotüpler (CNT'ler), yüksek elektriksel iletkenlik, iyi kimyasal kararlılık ve aşırı mekanik mukavemet gibi m kemm l özelliklerinden dolayı büyük ilgi görmüştür [119]. CNT'lerin uygulanmasının, yüksek etkili yüzey alanı, iyileştirilmiş kütle taşıma, yüksek gözeneklilik, reaktif bölgeler ve daha fazla adsorpsiyon dahil olmak üzere, geleneksel elektrotlara göre olağanüstü avantajlar sağladığı kanıtlanmıştır [120].



şekil 3.7 çok duvarlı karbon nanotüpün şematik gösterimi [121].

3.2.1.4 Fosforik Asit   zeltisi

Destek elektrolit, elektroaktif olmayan (kullanılan potansiyel aralığı dahilinde) ve elektrolite eklenen elektroaktif türlerden çok daha büyük bir iyonik kuvvete ve iletkenliğe sahip kimyasal türler içeren bir elektrolittir. Elektrokimyasal  n işlemlerde birçok destek elektrolit çözeltisi kullanılabilir [48,75]. Bununla beraber, fosforik asit çözeltisi de birçok çalışmada elektrokimyasal  n işlemlerde tercih

edilmektedir. Bu nedenle, fosforik asit çözeltisi bu çalışmada piridoksin üzerindeki etkisini araştırmak için destek elektrolit çözeltisi olarak seçilmiştir.

3.2.2 Sensörlerin Karakterizasyonunda Kullanılan Yöntemler

Karakterizasyon yöntemleri arasında dönüşümlü voltametri ve elektrokimyasal empedans spektroskopisi sıklıkla kullanılmaktadır. Ayrıca, X ışınları fotoelektron spektroskopisi, taramalı elektron mikroskopisi ve atomik kuvvet mikroskopisi de karakterizasyon yöntemlerinde sıklıkla kullanıldığı görülmektedir.

3.2.2.1 Dönüşümlü Voltametri

Dönüşümlü voltametri yöntemi sensör karakterizasyonunda kolay ve hızlı sonuç vermesi nedeniyle sıklıkla tercih edilir. Bu yöntemde, elektrot yüzeyinde oluşan grupların yükleri, kütle aktarım türü ve aktarım hızı gibi özellikleri ile ilgili bazı önemli bilgiler sunmaktadır. Elektrot yüzeyinde oluşan türler hakkında bilgi edinebilmek için $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ redoks çifti sıklıkla tercih edilmektedir [106].

3.2.2.2 Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi

Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi (EIS), korozyon analizi, moleküllerin adsorpsiyon özellikleri gibi birçok amaçlar için kullanılan ve bununla birlikte yakıt hücrelerinin ve pillerin işleyişini takip etmek için tercih edilen bir tekniktir. Prensip olarak, empedans basitçe bir devredeki elektrik akımına karşı olan kuvvete denir ve dirençle aynı birimlerle ölçülür. Bununla birlikte, direnç, Ohm yasasına uyduğu için empedanstan farklıdır ve akımın değişmemesi nedeniyle direncin teknik olarak sıfır faz açılı empedans olduğu DC devrelerinde gözlemlenir [122]. Ölçümden sonra alınan veriler R_{ct} (yük-transfer direnci), W (warburg elemanı), R_s (çözelti direnci), ve C_{dl} (sabit faz elemanı) içeren devre modeli kullanılarak bu elektriksel devreye göre fit işlemi yapılır ve elektrot-elektrolit ara yüzeyinde meydana gelen elektron aktarım süreci ile ilgili bilgiler elde edilir [106].

3.2.2.3 X-Işını Fotoelektron Spektroskopisi

X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS), yüzeylerin karakterizasyonu için X-ışını radyasyonu tarafından uyarılan ve malzemeden boşluğa bırakılan fotoelektronları kullanarak ölçüm alan analitik bir yöntemdir. Katı numunedeki elektronlar, elementine bağlı olan bağlanma enerjileri (BE) ile karakterize edilir. Sadece

numuneden yayılan elastik olarak saçılmış elektronlar bir diğer deyişle enerji kaybı olmayan elektronlar ile numunenin bileşimi hakkındaki bilgiler enerji spektrumlarından elde edilebilir. Enerji spektrumu bir elektron spektrometresinde ölçülür ve elektronların ölçülen kinetik enerjisi (KE) incelenen materyaldeki bağlanma enerjileri ve uyarma için kullanılan X-ışını fotonlarının enerjisi ile belirlenir [123].

3.2.2.4 Taramalı Elektron Mikroskopisi

Taramalı elektron mikroskopisi, numune üstünün 1 μm 'sinin yüzey topografyası, kimyasal bileşimi, elektriksel davranışı ve kristal yapısı hakkında bilgi veren önemli bir tekniktir [124]. Taramalı elektron mikroskopu, numune yüzeyine yüksel gerilimle hızlandırılmış elektron demeti göndererek görüntü elde edilmesi ilkesine dayanır [106]. Bu yöntem sayesinde modifikasyonun sağlanıp sağlanmadığına bakılması nedeniyle çokça tercih edilmektedir. Ayrıca elektron mikroskopları, X-ışınlarının Enerji Dağılım Analizi (EDAX) olarak bilinen bir teknik kullanılarak numunenin bileşimini elde etmek için de kullanılabilir. Numuneye çarpan yüksek enerjili elektronlar, etkileştikleri atomların karakteristik X-ışınlarını üretir. Bu tür karakteristik X ışınlarının enerjilerinin ve yoğunluklarının analizi karşılaştırıldığında, incelenen numunenin içeriği hakkında bilgiler elde edilebilir [118].

3.2.2.5 Atomik Kuvvet Mikroskobu

Atomik kuvvet mikroskobu (AFM), polimerler, kompozitler, cam, seramikler ve biyolojik numuneler dahil olmak üzere neredeyse her tür yüzeyin görüntülenmesini sağlayan güçlü bir tekniktir. AFM, manyetik kuvvetler, yapışma mukavemeti ve mekanik özellikler dahil olmak üzere birçok farklı kuvveti lokalize etmek ve ölçmek için kullanılır. AFM, bir dirseğe tutturulmuş yaklaşık 10 ila 20 nm çapında keskin bir uçtan oluşur. Bir numunenin 2 boyutlu projeksiyonunu veya 2 boyutlu görüntüsünü sağlayan elektron mikroskobunun yanı sıra, AFM gerçek bir 3 boyutlu yüzey profili elde edilmesini sağlar. Bununla birlikte, AFM tarafından görüntülenen numuneler, numuneyi geri dönüşü olmayan bir şekilde değiştirecek veya metal/karbon kaplamalar gibi numuneye herhangi bir zarar verebilecek özel işlem gerektirmez [125].

4.1 Kullanılan Kimyasallar

Folik asit tayini için kullanılan kimyasallar aşağıdaki gibidir.

Folik asit (98%), L-Sistin (98%), potasyum hekzasiyanoferrat (II) trihidrat (99%), fosforik asit (85%), potasyum hekzasiyanoferrat (III) (99%), potasyum hidroksit (85%), lityum perklorat (95%) Sigma-Aldrich'ten satın alınmıştır. Dihidrojen fosfat (98%), potasyum dipotasyum hidrojen fosfat (98%) ve potasyum klorür Merck'ten temin edilmiştir.

Riboflavin tayini için kullanılan kimyasallar aşağıdaki gibidir.

Riboflavin, çok duvarlı karbon nanotüp (DxL 110–170 nm x 5–9 mm > %90), sülfürik asit (%95–97), nitrik asit (%70), potasyum hekzasiyanoferrat (II) trihidrat (%99), fosforik asit (%85), potasyum hekzasiyanoferrat (III) (%99), potasyum hidroksit (%85), N, N-dimetilformamid (%99,8) Sigma-Aldrich'ten satın alınmıştır. Hidrojen tetrakloroaurat (III) hidrat (%99,9) Alfa Aesar'dan elde edilmiştir. Dihidrojen fosfat (%98) ve potasyum dipotasyum hidrojen fosfat (%98) Merck'ten temin edilmiştir.

Piridoksin tayini için kullanılan kimyasallar aşağıdaki gibidir.

Piridoksin (%98), potasyum hekzasiyanoferrat (III) (%99), potasyum hekzasiyanoferrat (II) trihidrat (%99), fosforik asit (%85), potasyum hidroksit (%85) Sigma-Aldrich'ten satın alınmıştır. Dihidrojen fosfat (%98) ve potasyum dipotasyum hidrojen fosfat (%98) Merck'ten temin edilmiştir.

Tez çalışması gerçek numune analizleri için kullanılan portakal meyvesi, diyet içecekleri yerel satıcılardan temin edilmiştir. İlaç numunesi ise eczaneden alınmıştır.

Deneyler boyunca beş boyunlu cam hücre kullanılmıştır. Kalem ucu elektrot, Pt tel ve Ag/AgCl (3,0 mol L⁻¹ KCl) sırasıyla çalışma, karşıt ve referans elektrot olarak

kullanılmıştır. Kalem uçları (Tombow, HB, 0.5 mm çapında) 3,0 cm uzunluğunda parçalara kesilmiş ve her bir parçanın 1.0 cm'si çözeltiye daldırılmıştır.

4.2 Kullanılan Cihazlar

Tüm elektrokimyasal ölçümler, NOVA yazılımı (sürüm 2.1) ile donatılmış bilgisayar kontrollü Autolab PGSTAT 128 N ile gerçekleştirilmiştir.

EIS analizleri bir Gamry Reference 3000 Potansiyostat/Galvanostat yapılmıştır.

FESEM mikrograflarını elde etmek için Saha Emisyon Tabancalı FEI-Philips XL30 Çevresel Taramalı Elektron Mikroskobu kullanılmıştır.

X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS) ölçümleri, bir Thermo Scientific K-alfa X-ışını Fotoelektron Spektrometresi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Atomik kuvvet mikroskobu (AFM) analizleri NanoMagnetics Instruments (hpAFM) kullanılarak yapılmıştır.

Tartım işlemleri ise SHIMADZU ATX224 marka/model analitik terazi ile gerçekleştirilmiştir.

pH ölçümleri HANNA HI 2211 pH/ORP Meter marka pH-iyon metre ile yapılmıştır.

Çift damıtılmış su deiyonize edilmiştir ve Millipore Milli-Q Direct 16 tarafından sağlanan 18 M 18 cm⁻¹ ultra saf su kullanılarak saflaştırılmıştır.

Çözeltilerin hazırlanmasında ve seyreltilmesinde kullanılan mikropipetlerin markası eppendorf'tur.

4.3 Elektrot Modifikasyonunda Kullanılan Modifiye Ajanlarının Hazırlanması

4.3.1 Fonksiyonellendirilmiş Çok Duvarlı Karbon Nanotüp Hazırlanması

İlk olarak, 0,1 mg ticari MWCNT tartılmış ve HNO₃/H₂SO₄ (1:3) çözeltisi içinde dağıtılmıştır. Bundan sonra MWCNT çözeltisi ultrasonik banyoda 6 saat 40 °C'de karıştırılmıştır. Elde edilen ürünün asitliğini ve safsızlıklarını gidermek için santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir. Yıkama işlemi her seferinde saf su ile yapılmış ve ürünün süzöntüsü atılmıştır. pH 7,0'ye ulaşıldığında yıkama işlemi durdurulmuştur. Ürün gece boyunca 50 °C'de vakumlu bir fırında kurumaya bırakılmıştır. Ürün

kuruduktan sonra, 0,5 mg ürün 1,0 mL kuru N, N-dimetilformamid (DMF) içinde çözülmüştür. Elde edilen nihai ürün, ultrasonik banyoda 15 dakika karıştırılmıştır. Bu işlemin amacı, elde edilen ürünün DMF içerisinde homojen bir şekilde dağılmasını sağlamaktır.

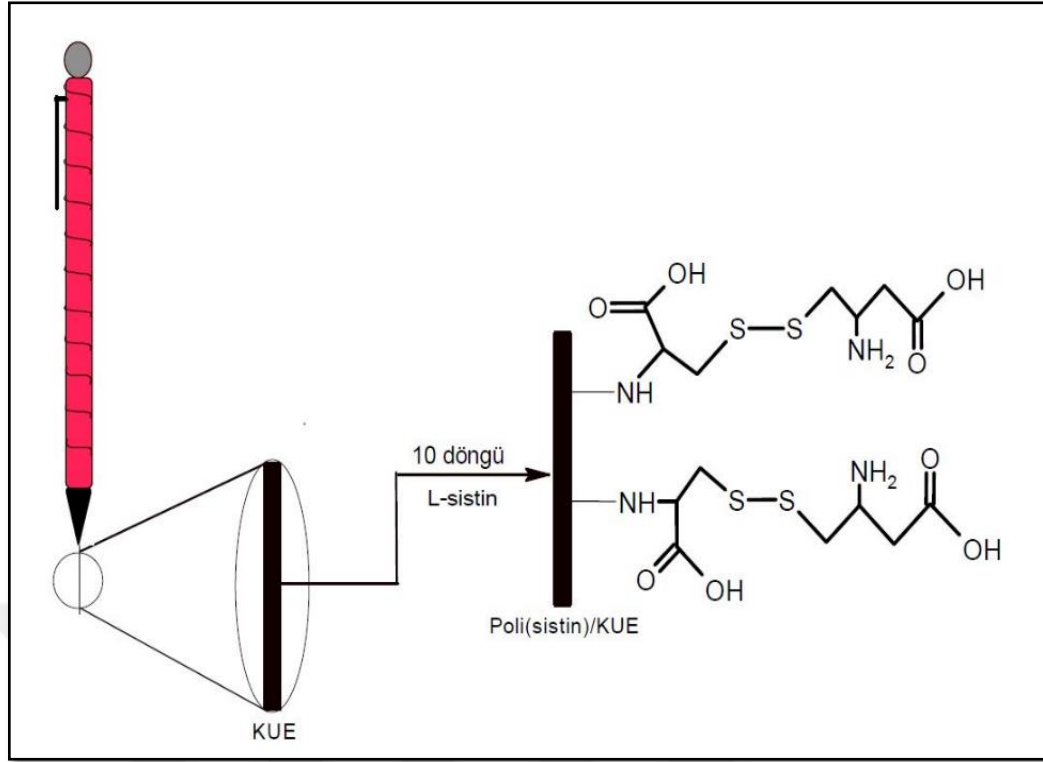
4.4 Modifiye Elektrotların Hazırlanması

4.4.1 Folik Asit Tayini İçin Modifiye Elektrotun Hazırlanması

Folik asit tayini için poli(sistin) kalem ucu elektrot (poli(sistin)/KUE) kullanılmıştır. KU elektrot üzerine l-sistin aminoasidin elektrokimyasal polimerizasyonu ile poli(sistin)/KUE elde edilmiştir.

Öncelikle 0,1 mol L⁻¹ LiClO₄ içeren 500 µmol L⁻¹ l-sistin çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan çözeltiye 3,0 cm kesilmiş kalem ucu elektrot (KUE) yerleştirilmiştir. Daha sonra, dönüşümlü voltametri (CV) yöntemi 1,8 V ile -1,1 V arasında potansiyel 100 mV s⁻¹ hızında 10 döngüde gerilim taraması gerçekleştirilerek elektrokimyasal polimerizasyon işlemi yapılmıştır (Şekil 4.1).

İlk olarak, döngü sayısının folik asit tayininde pik akımına olan etkisini incelemek için döngü optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu nedenle, polimerizasyon çözeltisi içerisinde 3, 5, 7, 10 ve 15 döngülerde poli(sistin)/KUE'lar hazırlanmıştır. Hazırlanan elektrotların ölçümleri folik asit çözeltisi içerisinde alınmıştır ve en iyi döngü sayısı 10 olarak belirlenmiştir.



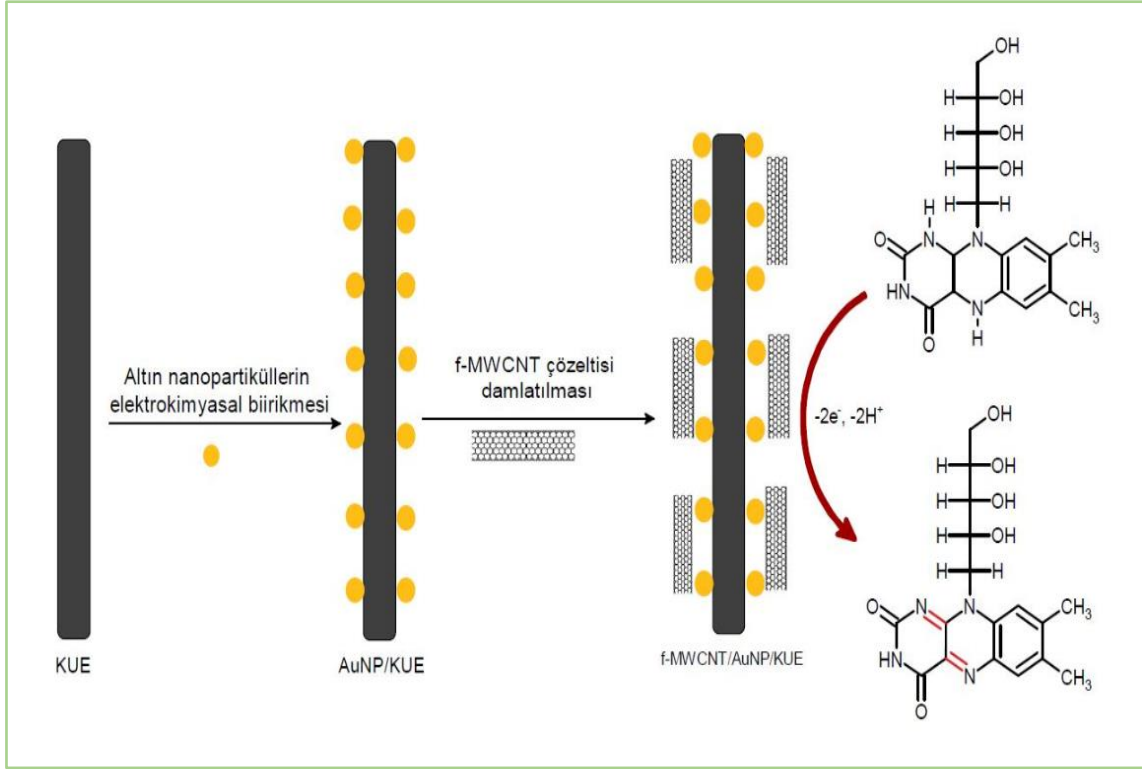
Şekil 4.1 Poli(sistin)/KUE'un hazırlanma işlemini şematik gösterimi.

4.4.2 Riboflavin Tayini İçin Modifiye Elektrotun Hazırlanması

Riboflavin tayini için fonksiyonellendirilmiş çok duvarlı karbon nanotüp/altın nanopartikül/kalem ucu elektrot (f-MWCNT/AuNP/KUE) hazırlanmıştır. Burada öncelikle 10 mmol L⁻¹ HAuCl₄ içeren 0,5 mol L⁻¹ H₂SO₄ çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan çözelti içerisinde kronoamperometri yöntemi kullanılarak -3,0 V, 30 saniye boyunca uygulanmış ve altın nanopartiküller elektrot yüzeyine biriktirilmiştir. Daha sonra hazırlanan altın nanopartikül/kalem ucu elektrot, AuNP/KUE, üzerine 10 µL fonksiyonellendirilmiş çok duvarlı karbon nanotüp (f-MWCNT) çözeltisi damlatılmıştır (Şekil 4.2). Elde edilen elektrotların riboflavinin pik akımını arttırdığı görülmüştür. Bu nedenle, elektrokimyasal biriktirme koşulları optimize edilmiştir.

İlk olarak, altın nanopartiküllerin elektrot üzerine uygulanan elektrokimyasal biriktirilme potansiyelleri optimize edilmiştir. Optimizasyon için -4,0 V, -3,0 V, -2,0 V, -1,0 V ve +1,0 V potansiyelleri kullanılarak altın nanopartikülün elektrokimyasal biriktirmesi gerçekleştirilmiştir. Bu potansiyellerde hazırlanan elektrotlar

riboflavin çözeltisinde ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlara göre en iyi potansiyel -3 V olarak belirlenmiştir. Daha sonra ise -3,0 V ile hazırlanan AuNP/KUE'lar üzerine 10 µL f-MWCNT çözeltisi damlatılarak riboflavin tayinleri gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.2 f-MWCNT/AuNP/KUE hazırlanmasının şematik gösterimi.

4.4.3 Piridoksin Tayini İçin Modifiye Elektrotun Hazırlanması

KUE'un elektrokimyasal ön işlemi, H_3PO_4 destekleyen elektrolit çözeltisinde kronoamperometri tekniği kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.3). Öncelikle elektrokimyasal ön işlem için farklı H_3PO_4 derişimlerinde (0,05, 0,1, 0,3, 0,5, 0,7, 1,0 ve 1,5 mol L^{-1}) hazırlanan elektrotların Piridoksin (Py) akımı üzerindeki etkisi incelenmiş ve optimum H_3PO_4 derişimi seçilmiştir. İkinci olarak, seçilen derişimde yapılan elektrotlar farklı potansiyellerde (-2,2 V, -2,1 V -2,0 V, -1,9 V, -1,8 V, +1,8 V, +1,9 V, + 2,0 V, +2,1 V ve + 2,2 V) hazırlanmış ve bunların Py akımı üzerindeki performansları incelenmiştir. Son olarak optimum H_3PO_4 derişimde ve potansiyelinde 25, 50, 100, 150, 200 ve 250 saniyelerde hazırlanan elektrotlar için zaman optimizasyonu incelenmiş, optimum zaman seçilmiştir. Sonuçlar, farklı potansiyellerde, zamanlarda ve farklı H_3PO_4 derişimlerinde yapılan anodik işlem

yeni hazırlanmış elektrotlarla yapılmış ve nitrojenle doyurulmuş çözeltilerde gerçekleştirilmiştir.

4.5.2 f-MWCNT/AuNP/KUE ile Riboflavinin Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi

Riboflavin çözeltisinin hazırlanması: 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ 100 mL'lik RF çözeltisi hazırlamak için, 0,0037 g RF tartılmış ve pH 4,0 fosfat tamponu kullanılarak 100 mL'ye tamamlanmıştır.

Elektrokimyasal ölçümler: CV ve DPV yöntemleri, 0,1 mol L^{-1} pH 7 fosfat tampon çözeltisi içinde poli(sistin)/KUE kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Diferansiyel puls voltametri (DPV) için en uygun koşullar sırasıyla (-0,52 V) ve (-0,01 V) başlangıç ve son potansiyeller; 100 mV/s'e eşit bir tarama hızı; 50 mV'lik bir modülasyon genliği, denge süresi 5 saniyeye ve 5,0 mV'luk bir adım potansiyeline eşittir. Tüm ölçümler yeni hazırlanmış elektrotlarla ve çözeltilerle yapılmıştır.

4.5.3 AİG/KUE ile Piridoksinin Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi

Piridoksin çözeltisinin hazırlanması: 300 $\mu\text{mol L}^{-1}$ 100 mL'lik Py çözeltisi hazırlamak için, 0,0050 g Py tartılmış ve pH 3,0 fosfat tamponu kullanılarak 100 mL'ye tamamlandı.

Elektrokimyasal ölçümler: CV ve DPV yöntemleri, 0,1 mol L^{-1} pH 3,0 fosfat tampon çözeltisi içinde AİG/KUE kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Diferansiyel puls voltametri (DPV) için en uygun koşullar sırasıyla 0,7 V ve 1,5 V başlangıç ve son potansiyeller; 100 mV/s'e eşit bir tarama hızı; 50 mV'lik bir modülasyon genliği, denge süresi 5 saniyeye ve 5,0 mV'luk bir adım potansiyeline eşittir. Tüm ölçümler yeni hazırlanmış elektrotlarla ve çözeltilerle yapılmıştır.

4.6 Analiz Koşullarının Optimizasyonları

4.6.1 Folik Asit Tayini İçin Analiz Koşullarının Optimizasyonu

Folik asit tayini için önemli bir parametre olan pH optimizasyonu poli(sistin)/KUE kullanılarak yapılmıştır. Bu nedenle, poli(sistin)/KUE ile farklı pH ortamlarında folik asit cevabı incelenmiştir. İlk olarak, aynı miktarda folik asit içeren farklı pH değerlerindeki (5,0, 6,0, 7,0, 8,0 ve 9,0) çözeltiler poli(sistin)/KUE ile 0,75 V – 1,05

V potansiyel aralığında DPV yardımıyla ölçümleri alınmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, folik asit için en yüksek akım cevabını pH 7,0 değerinde verdiği gözlemlenmiştir.

4.6.2 Riboflavin Tayini İçin Analiz Koşullarının Optimizasyonu

Riboflavin tayini için önemli bir parametre olan pH optimizasyonu f-MWCNT/AuNP/KUE kullanılarak yapılmıştır. Bu nedenle, f-MWCNT/AuNP/KUE ile farklı pH ortamlarında riboflavin cevabı incelenmiştir. İlk olarak, aynı miktarda riboflavin içeren farklı pH değerlerindeki (3,0, 4,0, 5,0, 6,0, 7,0 ve 8,0) çözeltiler f-MWCNT/AuNP/KUE ile -0,52 V – -0,0 V potansiyel aralığında DPV yardımıyla ölçümleri alınmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, riboflavin için en yüksek akım cevabını pH 4,0 değerinde verdiği gözlemlenmiştir.

4.6.3 Piridoksin Tayini İçin Analiz Koşullarının Optimizasyonu

Piridoksin tayini için önemli bir parametre olan pH optimizasyonu AlG/KUE kullanılarak yapılmıştır. Bu nedenle, AlG/KUE ile farklı pH ortamlarında piridoksin cevabı incelenmiştir. İlk olarak, aynı miktarda piridoksin içeren farklı pH değerlerindeki (2,0, 3,0, 4,0, 5,0, 6,0, 7,0 ve 8,0) çözeltiler AlG/KUE ile 0,7 V – 1,5 V potansiyel aralığında DPV yardımıyla ölçümleri alınmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, piridoksin için en yüksek akım cevabını pH 3,0 değerinde verdiği gözlemlenmiştir.

4.7 Kalibrasyon Grafiklerinin Oluşturulması

Gerçek örneklerde modifiye elektrotların hassasiyetini ve duyarlılığını ölçmek için poli(sistin)/KUE yardımıyla farklı derişimlerde folik asit çözeltisi hazırlanarak ölçümler alınmıştır. Kalibrasyon grafiğı, farklı miktarda folik asit içeren çözeltilerden elde edilen yükseltgenme pik akım değerlerinin derişime karşı grafiğı geçirilmesiyle elde edilmiştir. Elde edilen kalibrasyon grafiğinden tayin limit değerleri hesaplanmıştır.

Hazırlanan f-MWCNT/AuNP/KUE yardımıyla farklı derişimlerde riboflavin çözeltisi hazırlanarak ölçümler alınmıştır. Kalibrasyon grafiğı, farklı miktarda riboflavin içeren çözeltilerden elde edilen yükseltgenme pik akım değerlerinin derişime karşı

grafiğe geçirilmesiyle elde edilmiştir. Elde edilen kalibrasyon grafiğinden tayin limit değerleri hesaplanmıştır.

Hazırlanan AİG/KUE yardımıyla farklı derişimlerde piridoksin çözeltisi hazırlanarak ölçümler alınmıştır. Kalibrasyon grafiği, farklı miktarda piridoksin içeren çözeltilerden elde edilen yükseltgenme pik akım değerlerinin derişime karşı grafiğe geçirilmesiyle elde edilmiştir. Elde edilen kalibrasyon grafiğinden tayin limit değerleri hesaplanmıştır.

4.8 Girişim Yapabilecek Türlerin Analit Sinyali Üzerindeki Etkisinin İncelenmesi

Folik asit tayini için hazırlanan poli(sistin)/KUE ile girişim çalışması yapılmıştır. Folik asit çözeltisi için sıklıkla kullanılan girişim türleri olan ürik asit (ÜA) ve askorbik asit (AA) kullanılmıştır. Sonra, pH 7,0 fosfat tamponu içinde 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$ AA ve 0,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ÜA içeren 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ 'lik folik asit çözelti hazırlanarak girişim çalışması yapılmıştır.

Riboflavin tayini için hazırlanan f-MWCNT/AuNP/KUE ile girişim çalışması yapılmıştır. Riboflavin çözeltisi incelenen gerçek örneklerde 2 farklı tür ile bir arada bulunabilmesi nedeniyle girişim özelliklerinin incelenmesi oldukça önemlidir. Bu amaçla askorbik asit (AA) ve glikoz (G) girişim türleri olarak seçilmiştir. Daha sonra, pH 4,0 fosfat tamponu içinde 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ AA ve 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ 'lik G ve 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ AA ve 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ 'lik G içeren 1,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ 'lik Riboflavin içeren iki ayrı çözelti hazırlanarak girişim çalışması yapılmıştır.

Piridoksin tayini için hazırlanan AİG/KUE ile girişim çalışması yapılmıştır. Piridoksin çözeltisi için sıklıkla kullanılan girişim türleri olan ürik asit (ÜA) ve glikoz (G) kullanılmıştır. Sonra, pH 3,0 fosfat tamponu içinde 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ÜA ve 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ 'lik G ve 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ÜA ve 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ 'lik G içeren 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ 'lik Piridoksin içeren iki ayrı çözelti hazırlanarak girişim çalışması yapılmıştır.

4.9 Gerçek Örnek Çalışması

Sensörlerin uygulanabilirliğini incelemek amacıyla gerçek örnek çalışması yapılmıştır.

Folik asidin gerçek örneklerde uygulanabilirliğinin incelenmesi için poli(sistin)/KUE ile yerel pazarlardan satın alınan portakal meyvesi gerçek örnek olarak kullanıldı. rnek hazırlama, aşağıdaki adımlar kullanılarak gerçekleştirildi. Portakal suyu, filtre kâğıdı kullanılarak posasından ayrıldı. Daha sonra, 1,0 mL sıkılmış portakal suyu alındı ve 10 mL pH 7,0 fosfat tampon çözeltisi ile seyreltildi, ultrasonik banyoda 10 dakika karıştırılmış ve analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre % geri kazanım değeri hesaplanmıştır.

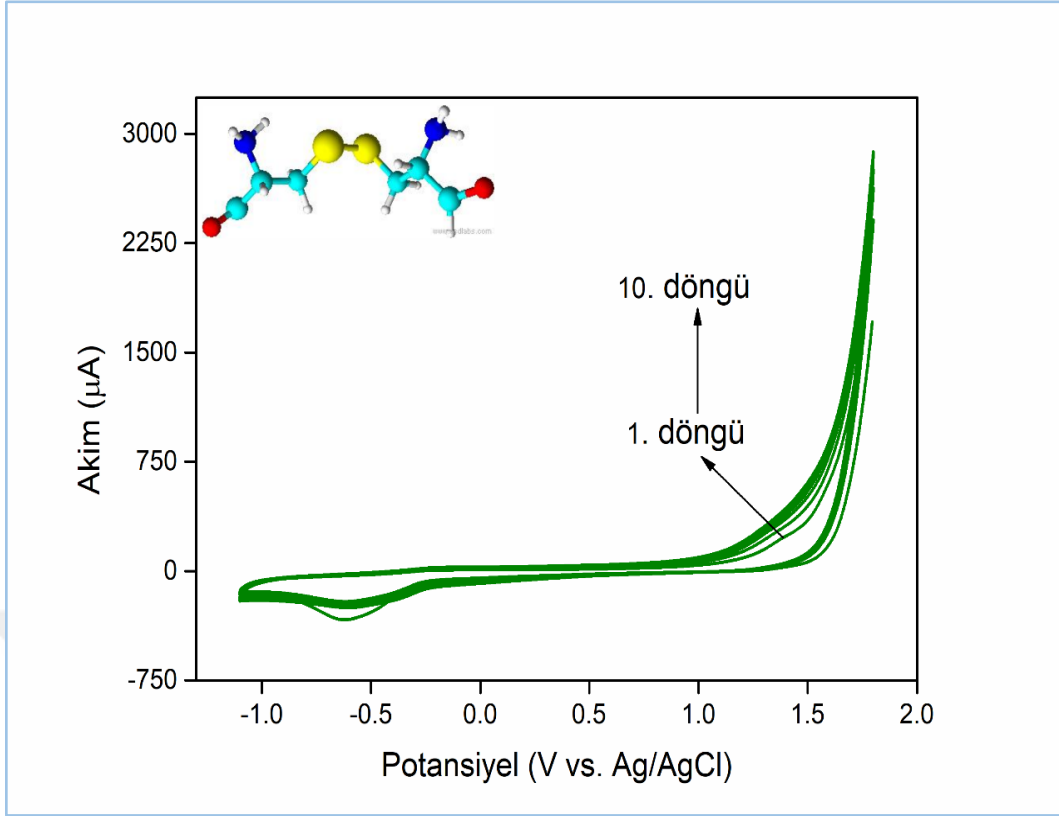
Riboflavinin gerçek örneklerde uygulanabilirliğinin incelenmesi için f-MWCNT/AuNP/KUE ile yerel pazarlardan satın alınan süt ve eczaneden satın alınan ilaç gerçek örnek olarak kullanılmıştır. Öncelikle süt numunesi, filtre kâğıdı kullanılarak szlmştr. Szldkten sonra, süt numunesinden 2,0 mL alınmış ve toplam hacmi, fosfat tamponu (pH 4,0, 0,1 mol L⁻¹) ile 10 mL'ye seyreltilmiştir. Daha sonra analiz diferansiyel puls voltametri (DPV) yöntemi kullanılarak -0.52 V ile 0.0 V arasında yapılmıştır. Bu alışma için süt numunesinin doğrudan analizinde matris etkisini azaltmak için standart ekleme yöntemi kullanılmıştır. Aynı şekilde, ilaç analizinde ise ilaç voltametrik cam hücreye aktarılmış ve 30 kez seyreltilmiştir. Daha sonra lm DPV yöntemi ile yapılmıştır ve elde edilen sonuçlara göre % geri kazanım değeri hesaplanmıştır.

Piridoksin gerçek örneklerde uygulanabilirliğinin incelenmesi için AİG/KUE ile yerel pazarlardan satın alınan diyet içecek örnekleri gerçek örnek olarak kullanılmıştır. İçecek örneklerinden 1,0 mL alındı ve bunların toplam hacmi fosfat tamponu (pH 3,0, 0,1 mol L⁻¹) kullanılarak 5,0 mL'ye seyreltilmiştir. Daha sonra 0,7 V ile 1,5 V arasında diferansiyel puls voltametri (DPV) yöntemi kullanılarak ölçümler yapılmıştır.

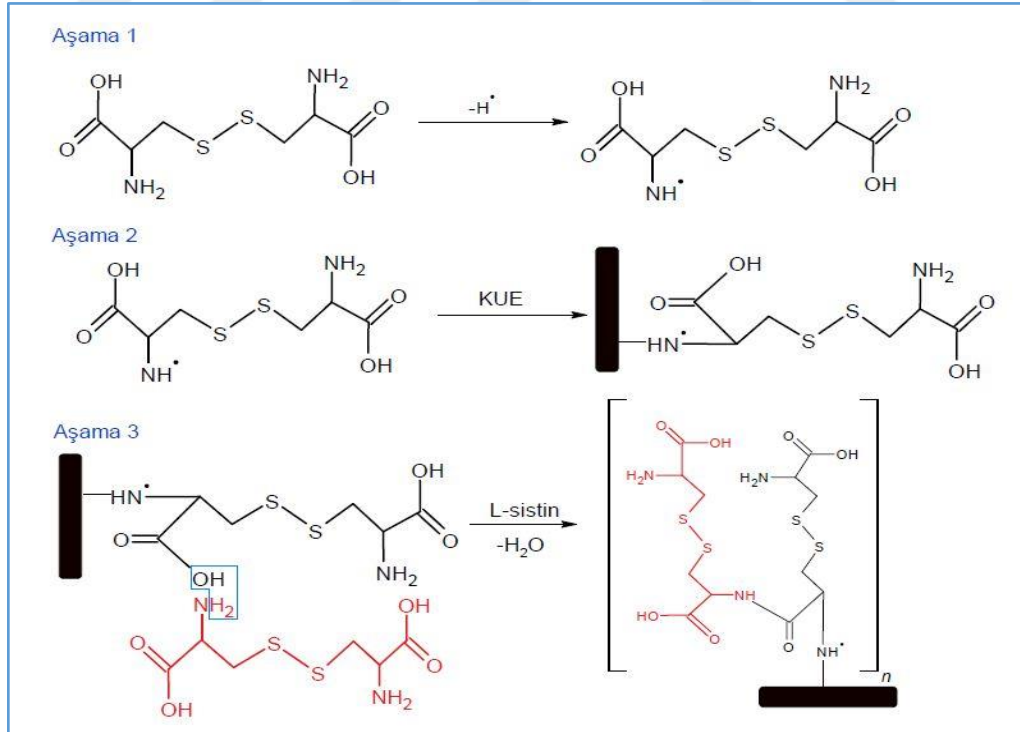
5.1 Folik Asit Tayini İçin Poli(Sistin)/KUE Geliştirilmesi

5.1.1 L-Sistin Aminoasidinin Elektrokimyasal Polimerizasyonu

L-Sistin'in elektrokimyasal polimerizasyonu, 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$ L-sistin içeren 0,1 mol L^{-1} LiClO_4 çözeltisinde Boş/KUE yüzeyinde dönüşümlü voltametri (CV) ile gerçekleştirilmiştir. L-sistin aminoasidinin polimerizasyon işlemi, 10 döngüde 50 mV s^{-1} 'lik bir tarama hızında 1,8 V ile -1,1 V arasında potansiyel uygulanarak gerçekleştirilmiştir. L-sistin aminoasidinin polimerizasyonu için optimum değer 10 döngü olduğu bulunmuştur. Elektrot, elektrokimyasal polimerizasyon yöntemi uygulanarak L-sistin film ile modifiye edilmiştir. 1,42 V'de gözlemlenen pik, l-sistin aminoasidinin monomerinden kaynaklanmaktadır. Polimerin elektrokimyasal polimerizasyon voltamogramında, 1,42 V'taki monomerin pik noktası, aktif yüzey alanındaki artışa bağlı olarak döngü sayısı arttıkça monomere ait pik akımında da artması sonucunda oluşmuştur (Şekil 5.1). L-sistin'in elektrokimyasal polimerizasyonu 1,8 V ile -1,1 V potansiyelleri arasında gerçekleştirildiğinde, aşama 1'de gösterildiği gibi L-sistin serbest radikali oluşmuş ve ardından bir hidrojen radikalinin çıkarılması izlenmiştir. Aşama 2'de ise, l-sistin'in oluşturulmuş serbest radikali, KUE'un yüzeyine bağlanmıştır. Aşama 3'te ise oluşturulan ürün, KUE yüzeyinde poli(sistin)/KUE adı verilen bir polimer film oluşturmak için su molekülünü ortadan kaldırarak başka bir l-sistin ile reaksiyona girip l-sistin polimeri oluşturmuştur (Şekil 5.2).

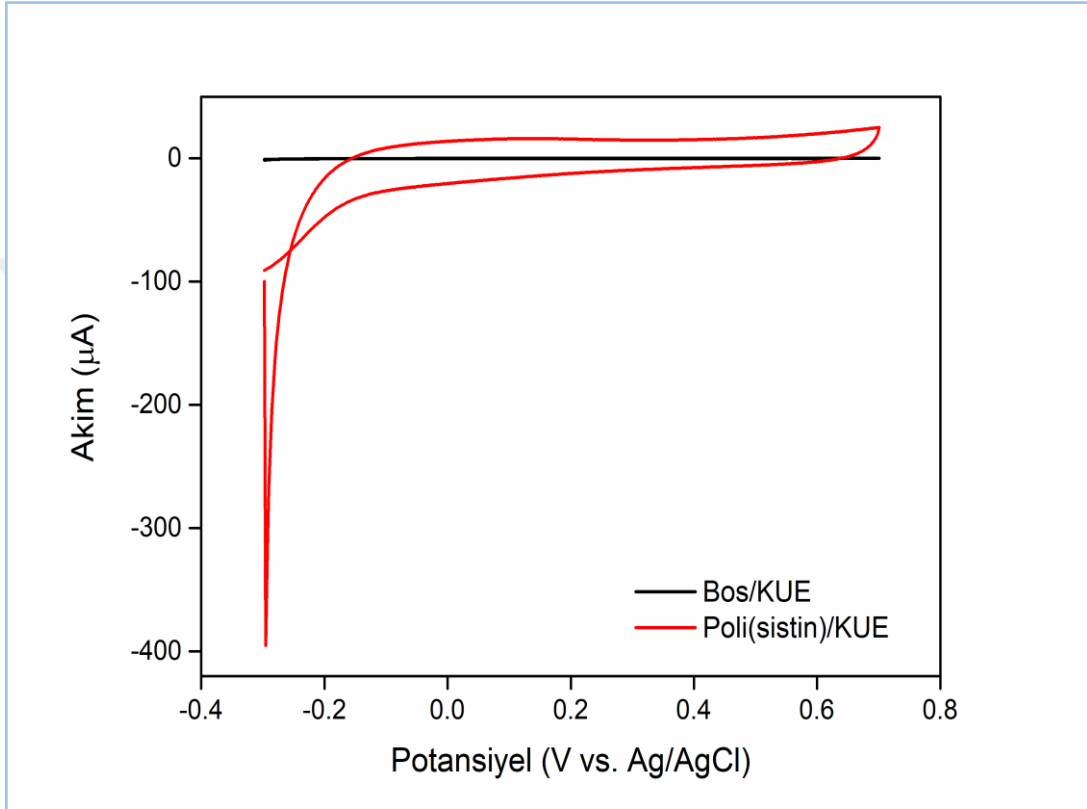


Şekil 5.1 L-sistin aminoasidinin elektrokimyasal polimerizasyon voltamogramı.



Şekil 5.2 L-sistin polimerizasyonu sırasında gerçekleşen reaksiyonlar.

Ayrıca, tasarlanan modifiye elektrotun elektroaktif özelliğini incelemek için 0,1 mol L⁻¹ KCl içeren sulu çözeltisi içerisinde ölçümleri alınmıştır. Hazırlanan poli(sistin)/KUE, KCl çözeltisi içerisinde -0,3 V ile 0,7 V arasında voltamogramı alınmıştır. Elde edilen voltamograma göre, kalem ucu elektrot yüzeyinde oluşturulan poli(sistin) yapısının elektroaktif özellik gösterdiği anlaşılmıştır (Şekil 5.3).

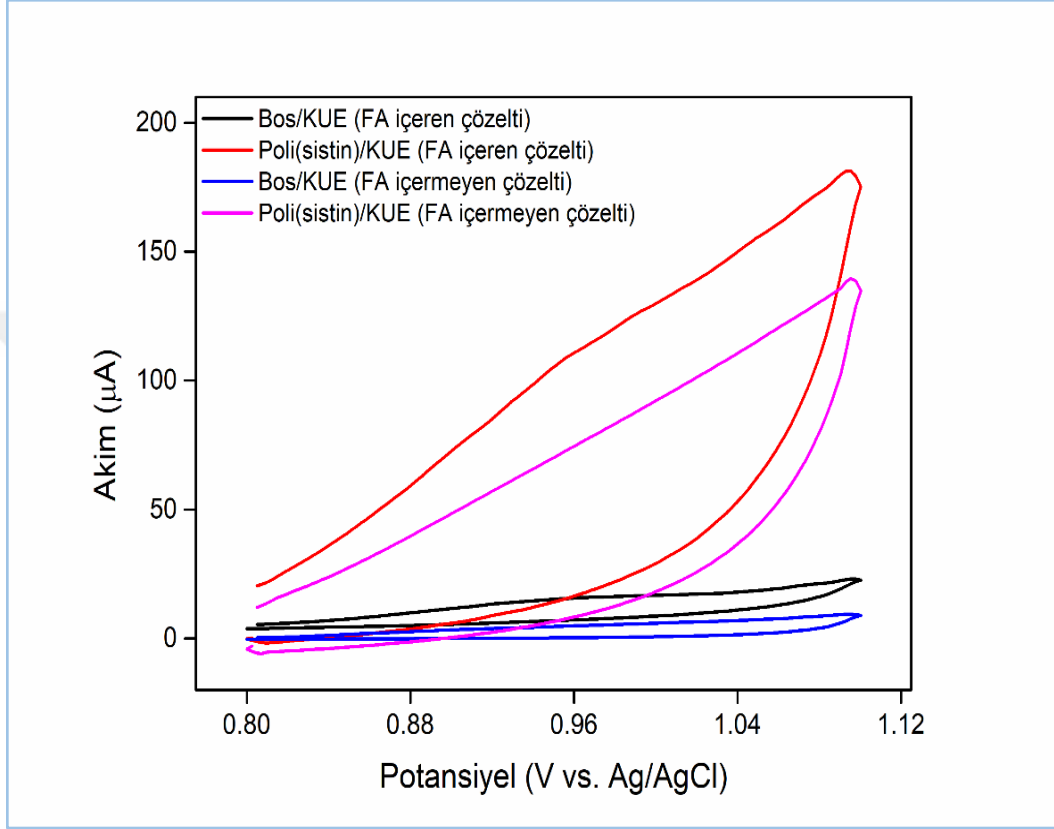


Şekil 5.3 Poli(sistin)/KUE ve Boş/KUE'un KCl çözeltisi içerisindeki davranışı.

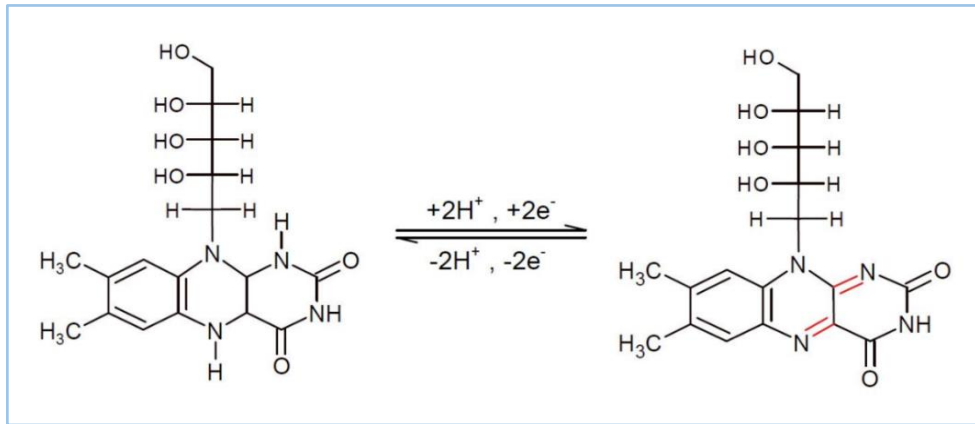
5.1.2 Poli(Sistin)/KUE'ta Folik Asidin Elektrokimyasal Özellikleri

pH değeri 7,0 olan fosfat tamponunda poli(sistin)/KUE ile 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ folik asidin elektrokimyasal özellikleri dönüşümlü voltametri kullanılarak incelenmiştir (Şekil 5.4). Folik asit içeren bir çözeltiye 0,8 V ile 1,1 V arasında bir potansiyel uygulandığında, poli(sistin)/KUE ve Boş/KUE'ta, sırasıyla 0,9 V ve 0,88 V'ta ve 114 μA ve 15,2 μA 'de yükseltgenme pikleri görülmüştür. Modifiye elektrotta meydana gelen bu pik artışı, poli(sistin)/KUE'un yüksek iletkenliğe sahip olması ve yüzey alanındaki artışı sonucu meydana gelmiştir. Bu da modifiye elektrotun elektrokatalitik etki gösterdiğinin kanıtıdır. Bununla birlikte, bu yükseltgenme piki

folik asidin C(9)-N(10) bağlarında meydana gelen folik asidin dihidrofolik aside yükseltgenmesinden kaynaklanmaktadır (Şekil 5.5). Ayrıca voltamograma bakıldığında, analit içermeyen çözeltide modifiye elektrotun herhangi bir davranış sergilemediği görülmüştür. Bu da modifiye elektrotun folik aside karşı duyarlı olduğu anlaşılmıştır.

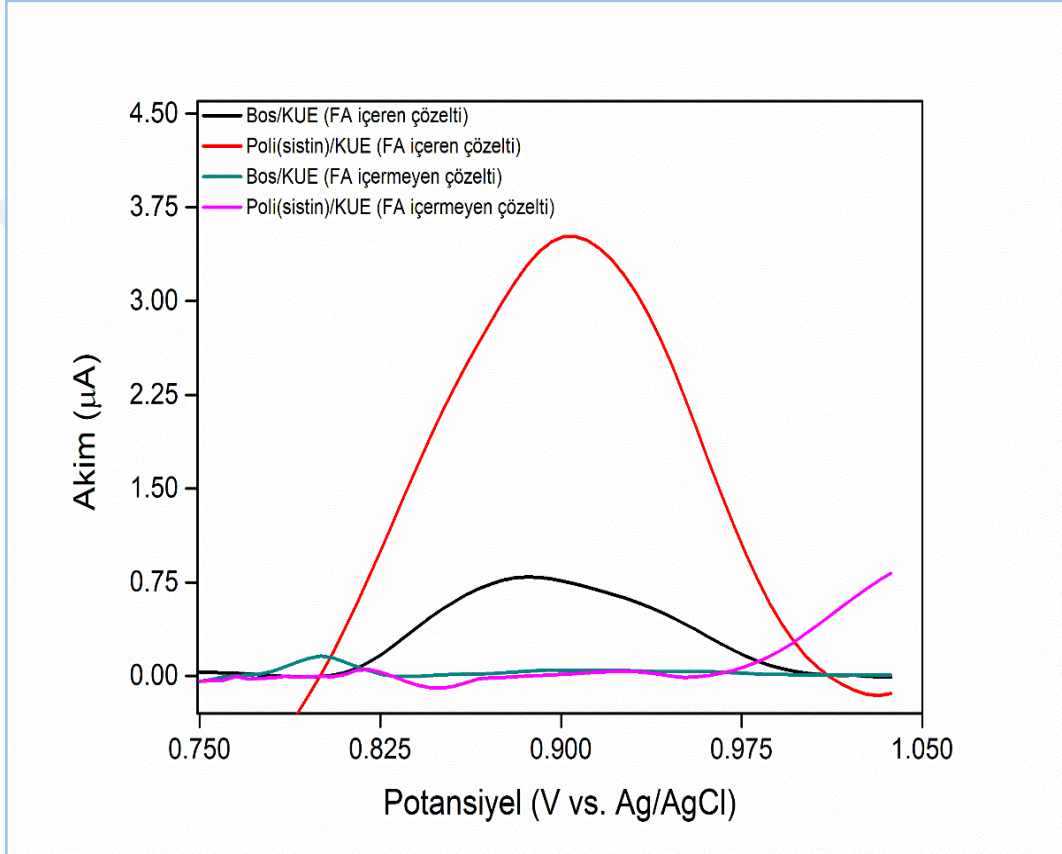


Şekil 5.4 CV yöntemiyle folik asidin elektrokimyasal davranışının poli(sistin) ve boş elektrotlarda incelenmesi.



Şekil 5.5 Folik asidin reaksiyon mekanizması.

Poli(sistin)/KUE ve Boş/KUE kullanılarak pH 7,0 fosfat tamponu içinde $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ folik asidin elektrokimyasal tepkileri DPV ile araştırılmıştır. Şekil 5.6, modifiye edilmemiş kurşun kalem ucu elektrotun pik akımı $0,77 \mu\text{A}$ iken, poli(sistin)/KUE ile folik asit tepkisinin $3,56 \mu\text{A}$ 'ya yükseldiğini göstermektedir. Modifiye elektrot sayesinde folik asidin pik akımını yaklaşık olarak 5 kat yükselttiği görülmüştür. Bu akım artışı, l-sistin içinde elektron transferini kolaylaştıran ve elektrotun iletken yapısını artıran tiyol gruplarının varlığından kaynaklanmaktadır.

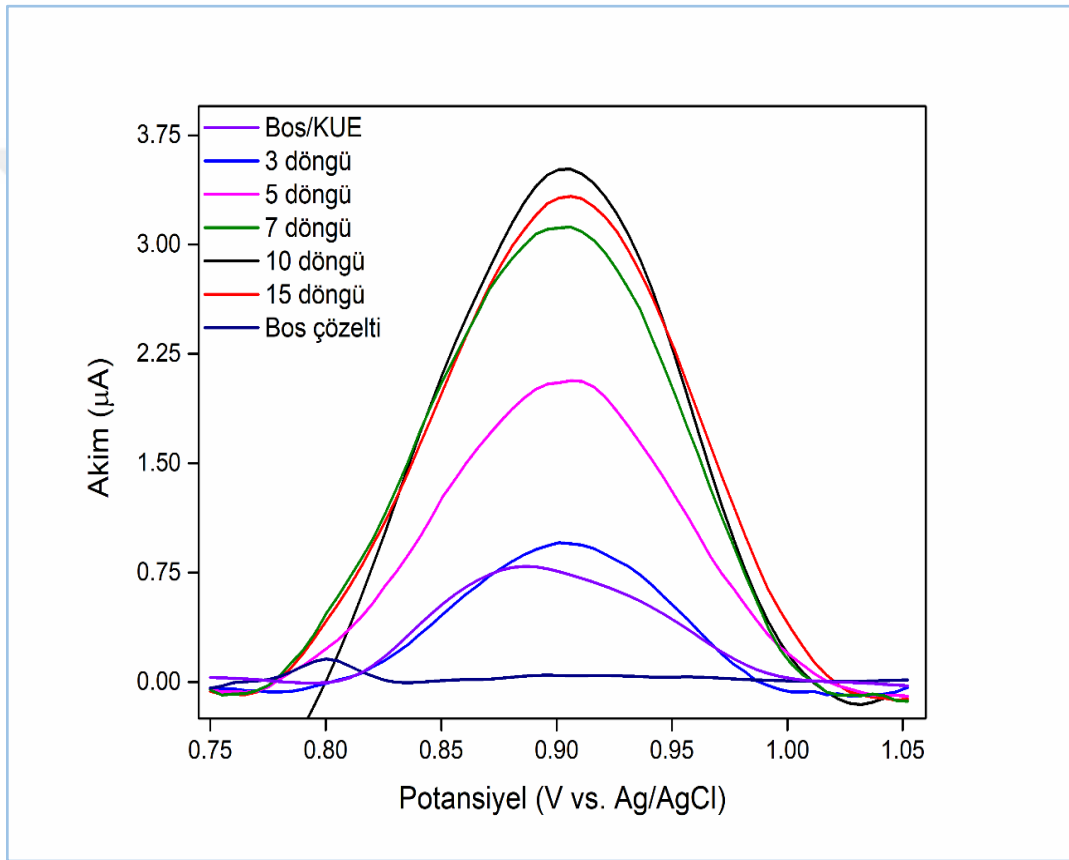


Şekil 5.6 DPV yöntemiyle folik asidin elektrokimyasal davranışının poli(sistin) ve boş elektrotlarda incelenmesi.

5.1.3 L-sistin aminoasidinin polimerizasyonunda döngü sayısının optimizasyonu

Elektrot yüzeyindeki polimer filmin kalınlığı, elektrotun folik asidi belirleme kabiliyetini etkileyen önemli parametrelerden biridir. Folik asit tayini yüksek hassasiyet gerektirdiğinden, polimerizasyon döngü sayısının folik asidin pik akımı üzerindeki etkisi DPV yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Bu nedenle, farklı

sayıdaki poli(sistin)/KUE döngülerinin folik asit akımı üzerindeki etkisini incelemek için 3, 5, 7, 10 ve 15 döngü sayıları kullanılarak araştırılmıştır. Döngü sayısı ile ilgili çalışmalar, folik asidin pik akımının 3 döngüden 10 döngüye arttığını ve 10 döngüden sonra bir düşüş gösterdiği gözlemlenmiştir (Şekil 5.7). Yüksek sayıda döngünün kullanılması elektrot yüzeyinde daha kalın bir film oluşturduğundan ve daha düşük bir yüzey alanına erişim sağlamasından ötürü 10 döngüden sonraki döngüde bir düşüş görülmüştür. Bu nedenle, optimum döngü olarak 10 döngü seçilmiştir.

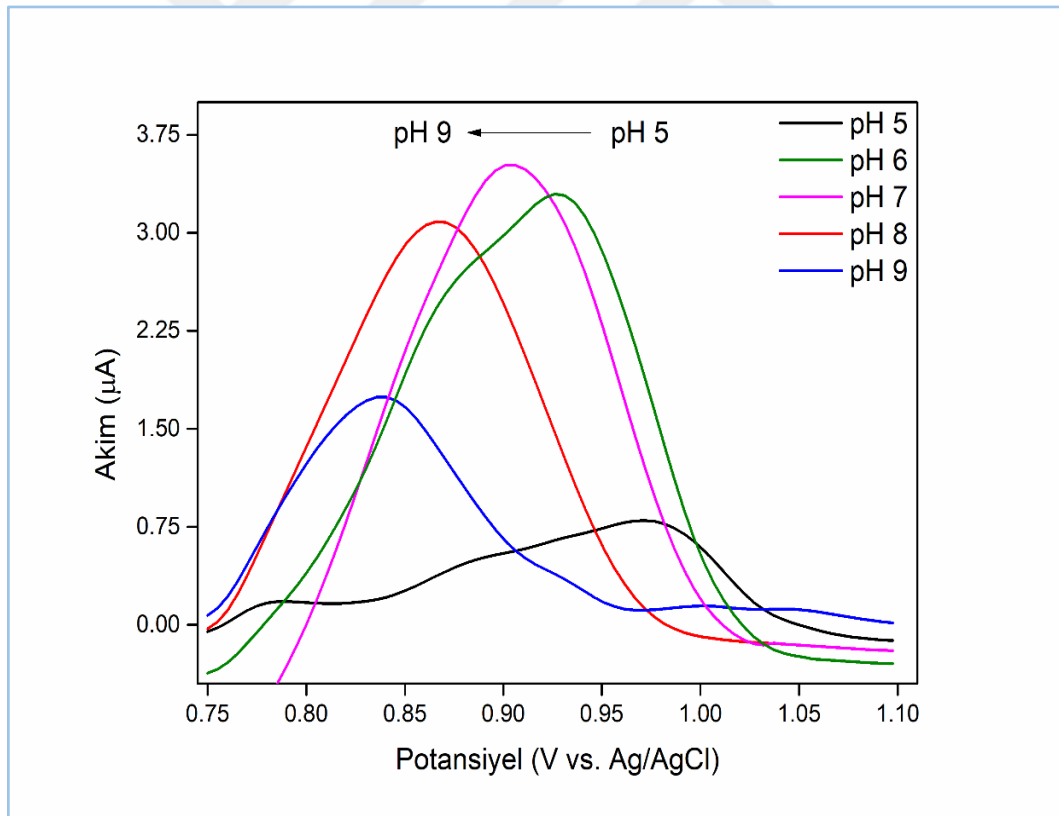


Şekil 5.7 Döngü sayısının folik asit cevabına olan etkisi.

5.1.4 Folik Asit İçin pH Optimizasyonu Çalışması

Poli(sistin)/KUE ile folik asit yükseltgenmesi üzerindeki pH'nın etkisini karakterize etmek için diferansiyel puls voltametri yöntemi kullanılmıştır. Ölçümler 5,0, 6,0, 7,0, 8,0 ve 9,0 pH değerlerinde $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ folik asit içeren fosfat tamponu çözeltilerinde yapılmıştır. Folik asit yükseltgenmesi, pH değişiminden etkilendiği gözlemlenmiştir (Şekil 5.8). pH 7,0'nin altındaki pH değerlerinde, yükseltgenme pik

akımı pH arttıkça artmıştır. pH 7,0'nin üzerindeki değerlerde ise, pik akımı pH arttıkça azalmış ve folik asidin yükseltgenme pik noktası katodik bölgeye kaymıştır. Bu nedenle, pik potansiyelinin katodik bölgesine kayması ve pik akımdaki artış poli(sistin)/KUE'un folik asit yükseltgenmesi üzerinde elektrokatalitik bir etkiye sahip olduğunu ve nötral bölgede daha az enerji tüketerek yükseltgenme reaksiyonunu meydana getirdiğini göstermiştir. Aynı zamanda, folik asidin pKa değerleri 3,46 ve 4,83 olarak belirlenmiştir. $pH > pK_a$ olduğunda molekül anyonik formda yani negatif formda bulunur. pH 7,0 ortamında da folik asidin yapısında bulunan karboksilik asit grupları negatif halde bulunmaktadır. Poli(sistin) elektrot ise CV karakterizasyonu sonucunda anlaşıldığı gibi pozitif yüklü gruplar içerdiği görülmektedir (Şekil 5.14). Böylece pH 7,0'de pozitif yüklü elektrot ile negatif yüklü molekül elektrostatik olarak birbirini çekerler. Bunun sonucunda pik akımında artış meydana gelir. Sonuç olarak, yükseltgenme pik akımının pH 7,0'de en yüksek olduğundan dolayı optimum değer 7,0 olarak seçilmiştir.

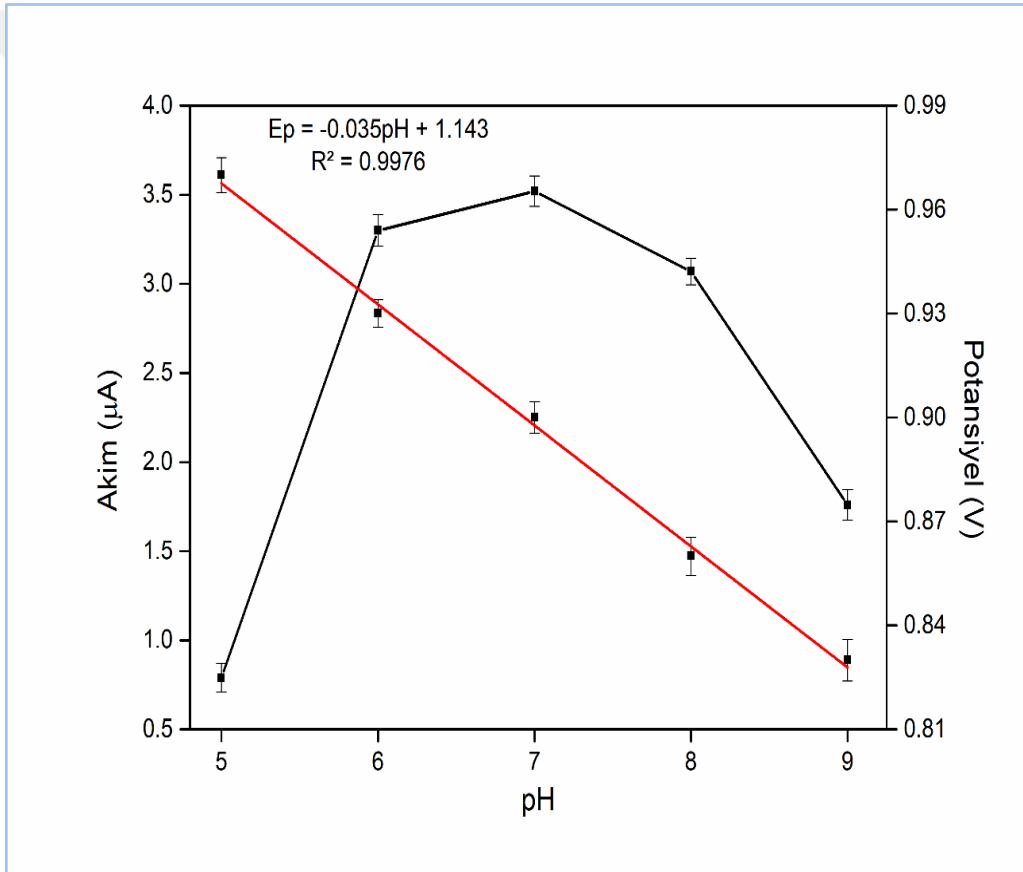


Şekil 5.8 Çeşitli pH değerlerinde 100 mmol L⁻¹ folik asit içeren nitrojenle doymuş 0,1 mol L⁻¹ pH 7,0 fosfat tampon çözeltisi içindeki poli(sistin)/KUE'un diferansiyel puls voltamogramı.

Folik asidin pik potansiyeli (E_p), çözelti pH'sı ile ilişkilidir. pH ve pik potansiyeli (E_p) arasındaki doğrusal ilişki şu şekilde verilmiştir:

$$E_p = -0,035\text{pH} + 1,143, \quad R^2 = 0,9976 \quad (5.1)$$

pH'nın bir fonksiyonu olarak E_p grafiğinin eğimi (-35 mV/pH) olarak belirlenmiştir (Şekil 5.9). Elde edilen eğim değeri ile nerst eşitliğindeki $0,059 \text{ V}$ değeri karşılaştırarak aktarılan proton sayısı ile elektron sayısının eşit olup olmadığını anlayabiliriz. Bu eğim değerine göre folik asidin yükseltgenmesinde aktarılan elektron sayısının yarısı kadar proton transferinin rol oynadığını söyleyebiliriz [126].

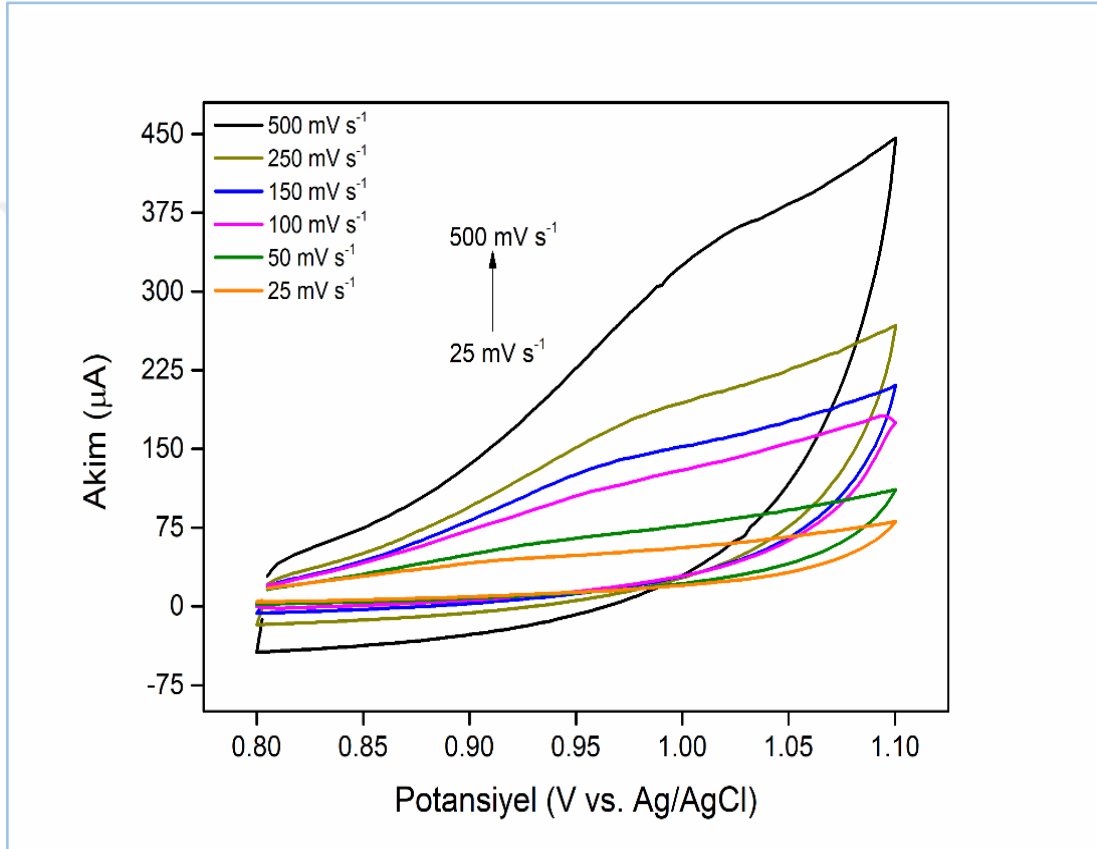


Şekil 5.9 pH değerinin bir fonksiyonu olarak akım ve potansiyel arasındaki ilişki.

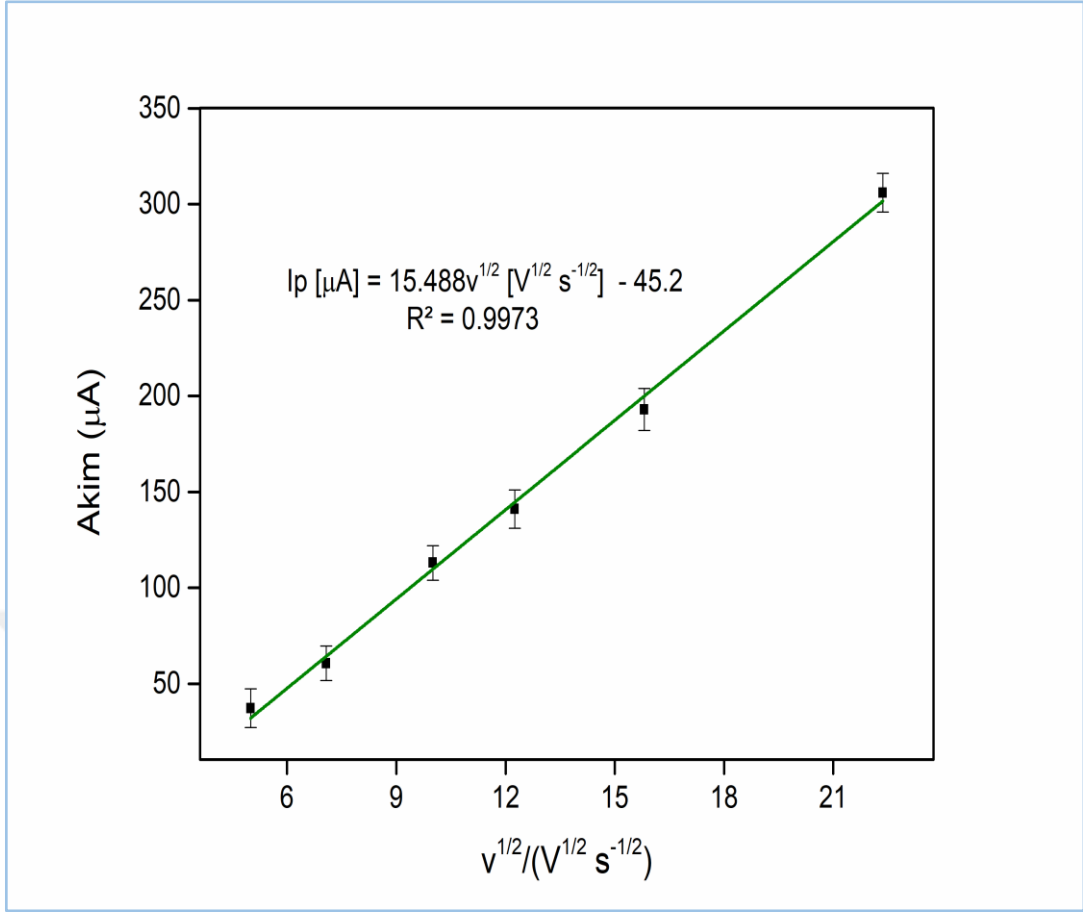
5.1.5 Tarama Hızının Folik Asit Cevabı Üzerindeki Etkisi

$100 \mu\text{mol L}^{-1}$ folik asidin pH 7,0 fosfat tamponunda $0,8 \text{ V}$ 'tan $1,1 \text{ V}$ 'a dönüşümlü voltametri cevabı, Şekil 5.10'da poli(sistin)/KUE üzerindeki tarama hızının bir

fonksiyonu olarak araştırılmıştır. Folik asit için dönüşümlü voltametri sonuçları, 25 mV s^{-1} ile 500 mV s^{-1} aralığında gerçekleştirilen ölçümlerin, folik asit akımı ve tarama hızının karekökü arasında doğrusal bir ilişki gösterdiği görülmüştür. Bu ölçümler sonucunda, folik asit için difüzyon kontrollü bir reaksiyon mekanizmasına sahip olduğunu söylemek mümkündür (Şekil 5.11) [50]. Ayrıca tarama hızı 25'ten 500 mV s^{-1} 'ye çıkarıldıkça pik potansiyelin daha yüksek değerlere kayması yükseltgenme işleminin tersinmez karakterinin bir göstergesidir [127].

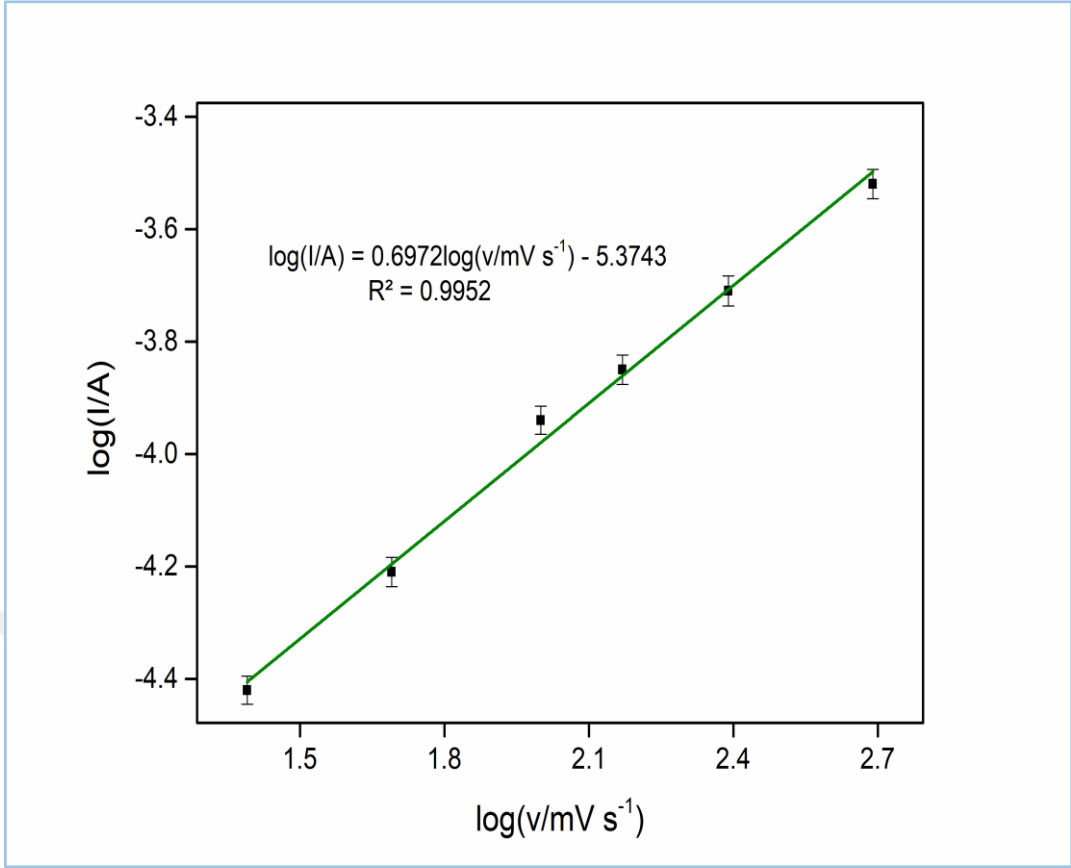


Şekil 5.10 Farklı tarama hızlarında tarama hızının bir fonksiyonu olarak 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ FA içeren fosfat tamponunda (pH 7,0, 0,1 mol L^{-1}) poli(sistin)/KUE'un dönüşümlü voltamogramları.



Şekil 5.11 Tarama hızının karekökü ile folik asidin akımı arasındaki doğrusal ilişki.

Folik asit yükseltgenmesinin kontrol süreçlerinin aydınlatılması için “log(I_p)-log(v)” analizi uygulanmıştır. Burada pik akımın logaritması tarama hızının logaritmasına karşı çizilmiştir [128]. Poli(sistin)/KUE ile elde edilen eğim bu grafiğe göre 0,697'dir ve korelasyon katsayısı 0,995'e eşittir (Şekil 5.12). 0,5'e yakın bir eğim, Randles-Sevcik denklemi ile tanımlandığı gibi difüzyon kontrollü bir süreci gösterir; 1,0'e yakın bir eğim ise adsorpsiyon kontrollü bir süreci gösterir [128]. Bu sonuçlara göre, folik asidin yükseltgenme işlemi poli(sistin)/KUE'ta hem difüzyon hem de adsorpsiyon kontrollü olduğu sonucu çıkarılmıştır.

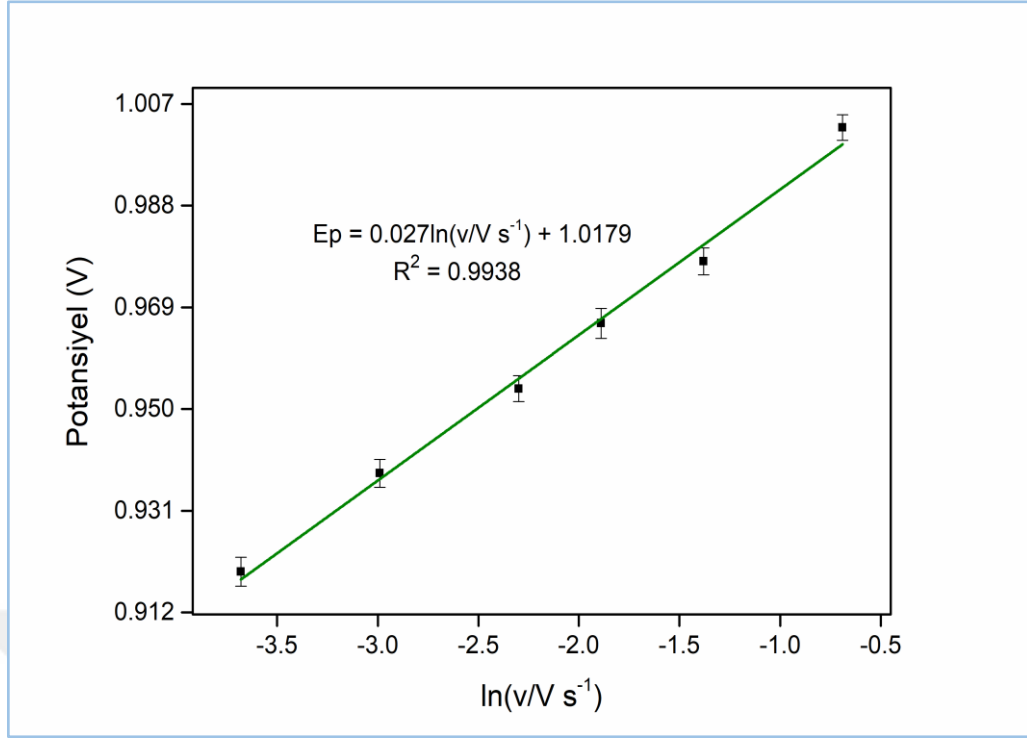


Şekil 5.12 Tarama hızının logaritması ile akımın logaritması arasındaki doğrusal ilişki.

Folik asidin yükseltgenmesinde aktarılan elektronların sayısını bulmak için Laviron denklemini kullanılmıştır [129]. Tarama hızının doğal logaritmasına ($\ln v$) karşı pik potansiyeli (E_p) grafiğinden (Şekil 5.13) elde edilen eğim şu şekilde verilmiştir:

$$RT / \alpha F n_a \quad (5.2)$$

α , tersinmez reaksiyonlar için 0,5 kabul edilir. R ideal gaz sabiti, F Faraday sabiti, T mutlak sıcaklık ve n_a aktarılan elektronların sayısıdır. Diğer değerler bilindiğinden, transfer edilen elektronların sayısı yaklaşık 2,0 olan 1,92 olarak belirlenmiştir.



Şekil 5.13 Tarama hızının potansiyeli ile doğal logaritması arasındaki doğrusal ilişki.

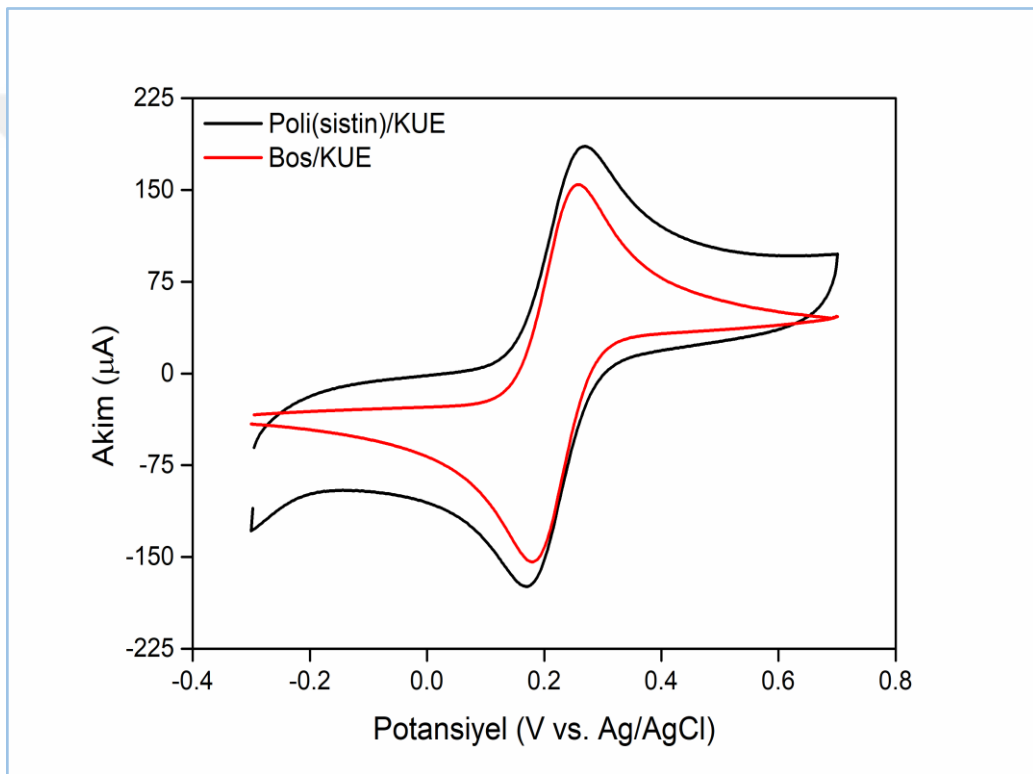
5.1.6 Poli(Sistin)/KUE'un Karakterizasyon Çalışmaları

Hazırlanan poli(sistin)/KUE'nin karakterizasyon çalışmasında dönüşümlü voltametri, elektrokimyasal empedans spektroskopisi ve taramalı elektron spektroskopisi yöntemleri kullanılmıştır.

5.1.6.1 Poli(Sistin)/KUE'un Dönüşümlü Voltametri İle Karakterizasyonu

$[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ redoks türleri, elektrokimyasal karakterizasyon çalışması sırasında kullanılmıştır. Poli(sistin)/KUE ve Boş/KUE, $2,5 \text{ mmol L}^{-1}$ $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ çözeltisinde ölçülmüştür. Şekil 5.14 gösterildiği gibi, anodik ve katodik pik akımları, Boş/KUE'da $154 \mu\text{A}$ ve $153 \mu\text{A}$ 'de gerçekleşmiştir. Poli(sistin)/KUE kullanıldığında, anodik ve katodik pik akımları sırasıyla $186 \mu\text{A}$ ve $174 \mu\text{A}$ 'e çıktığı görülmüştür. Poli(sistin)/KUE elde edilen yüksek pik akımları, elektrokimyasal polimerizasyon işlemini doğrulamaktadır. Bu karakterizasyon yöntemi aynı zamanda, Boş/KUE ve poli(sistin)/KUE yüzeylerindeki fonksiyonel gruplar hakkında da bilgi sağlamaktadır. Negatif yüklü çözeltide elde edilen yüksek pik akımları sayesinde, poli(sistin)/KUE'un, Boş/KUE'tan daha geniş bir yüzey alanı sağladığını

söyleyebiliriz. Ayrıca polimerin yüksek iletkenlik sağladığı da söylemek mümkündür. Randles-Sevcik denklemini kullanarak elektrotların aktif yüzey alanları, Boş/KUE ve poli(sistin)/KUE için sırasıyla $0,0018 \text{ cm}^2$ ve $0,0037 \text{ cm}^2$ olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak, elektrotta elektrokimyasal polimerizasyon sonucu alanın arttığı doğrulanmıştır. Bununla birlikte, modifiye elektrottaki pik akımlarındaki artış, elektrokimyasal polimerizasyon sonucu yüzeyde oluşan pozitif yüklü gruplardan da kaynaklanmaktadır. Yani yüzeyde oluşan pozitif yüklü gruplar çözelti ortamında bulunan negatif yüklü ferri-ferro gruplarıyla birbirini çekerek pik akımlarında artış meydana getirmiştir.

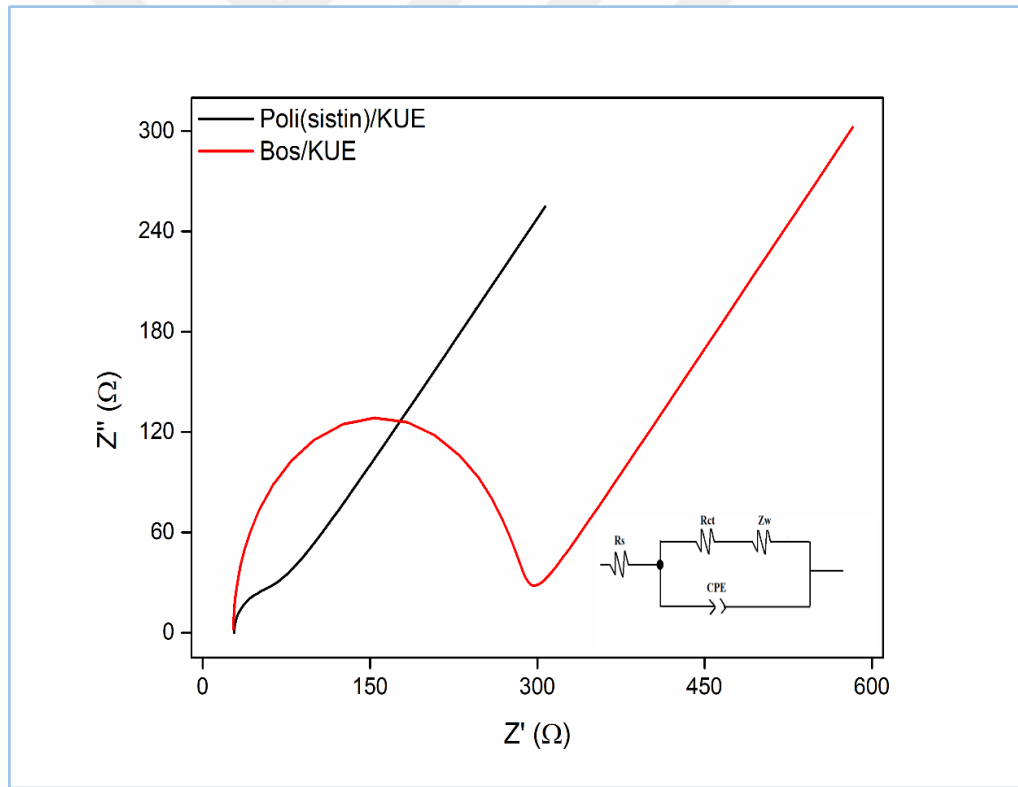


Şekil 5.14 Boş/KUE ve poli (sistin)/KUE'un $2,5 \text{ mmol L}^{-1} [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ KCl çözeltisi içerisinde alınan dönüşümlü voltamogramları.

5.1.6.2 Poli(Sistin)/KUE'un Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi ile Karakterizasyonu

Elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS), elektrot yüzey karakterizasyonu için yaygın olarak kullanılan bir yaklaşımdır [76]. Empedans spektrumu, yarımkreis ve doğrusal bölümlerden oluşur. Düşük frekanslardaki doğrusal bölüm, kontrollü bir difüzyon sürecini temsil ederken, yüksek frekanslardaki yarımkreis

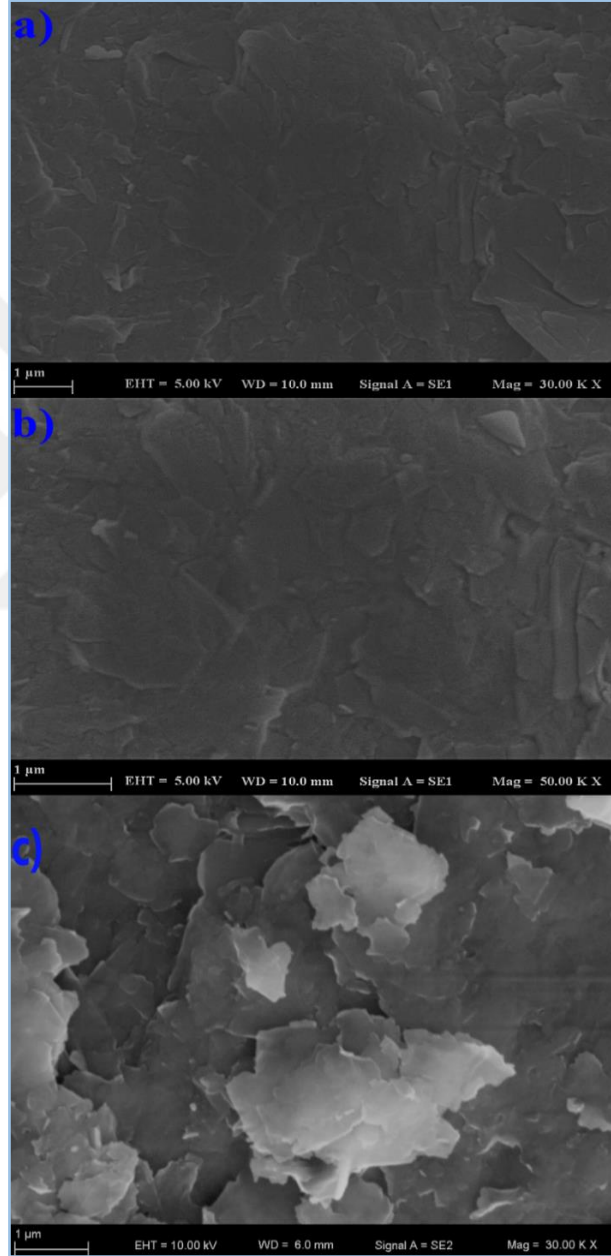
kesit, elektron transfer direncine (R_{ct}) karşılık gelmektedir [49]. Boş/KUE ve poli(sistin)/KUE'ların elektron transfer kapasitesi de Şekil 5.15'te gösterildiği gibi elektrokimyasal empedans spektroskopisi kullanılarak araştırılmıştır. Poli(sistin)/KUE ve Boş/KUE'un Nyquist diyagramları, oda sıcaklığında $5,0 \text{ mmol L}^{-1} \text{ K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6] + 0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$ çözeltisinde gerçekleştirilmiştir. Spektrumlar, literatürde bildirilen Şekil 5.15'in içinde gösterilen bilinen bir eşdeğer devre modeline yerleştirilmiştir [130]. Poli(sistin)/KUE'un elektrokatalitik etkisi, yük transfer direncindeki (R_{ct}) azalma ile gösterilmiştir. Ölçümler uygun bir eşdeğer devre kullanılarak yerleştirildiğinde, Boş/KUE ve poli(sistin)/KUE'lar için R_{ct} değerleri sırasıyla $253,30 \Omega$ ve $30,84 \Omega$ olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre poli(sistin)/KUE'un yüksek bir elektron transfer hızına ve yüksek bir kapasiteye sahip olduğu gözlemlenmiştir [131]. Ayrıca, elde edilen bu sonuçlar CV karakterizasyon voltamogramlarıyla da örtüşmektedir.



Şekil 5.15 $5,0 \text{ mmol L}^{-1} [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ve $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$ içeren bir elektrolit ortamında poli(sistin)/KUE ve Boş/KUE'nin Nyquist eğrileri. İç kısım: Boş/KUE ve poli(sistin)/KUE bağlantısı için kullanılan eşdeğer devre modeli ve R_s : çözelti direnci, R_{ct} : yük aktarım direnci, Z_w : Warburg empedansı ve CPE: elektrot/çözelti ara yüzünün sabit faz elemanıdır.

5.1.6.3 Poli(Sistin)/KUE'un Taramalı Elektron Mikroskopisi Sonuçları

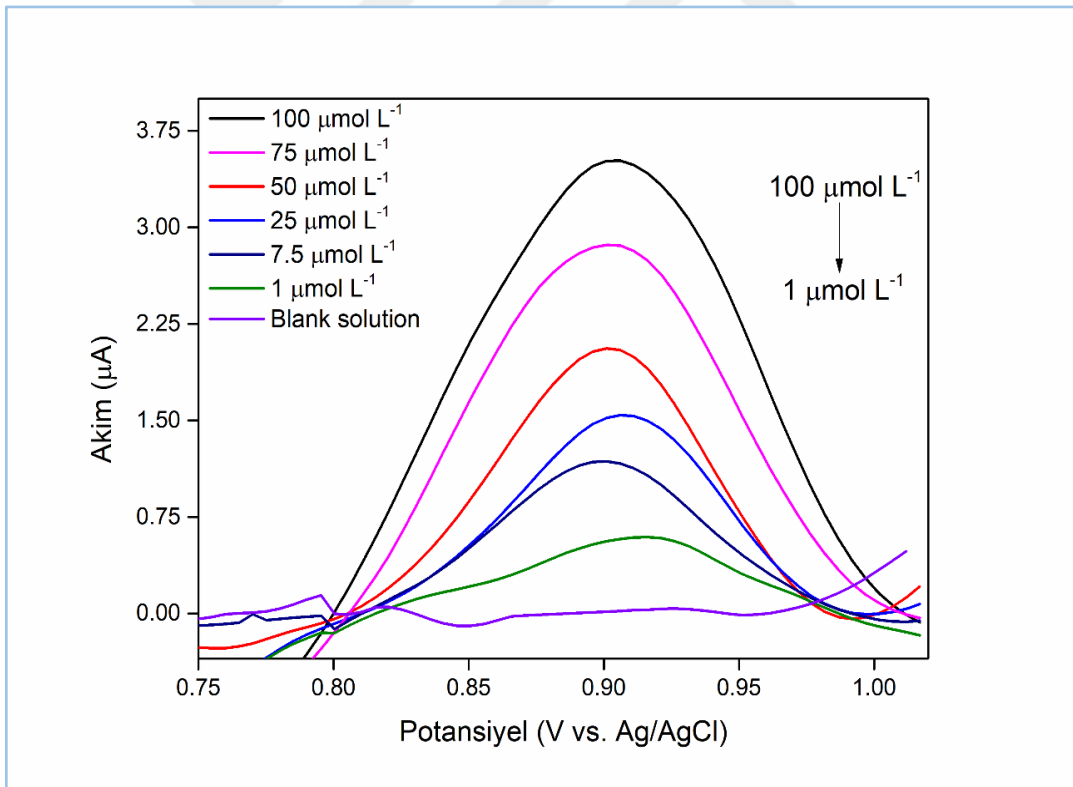
Taramalı elektron mikroskobu mikrografında gösterildiği gibi, Boş/KUE düz bir yapıya sahiptir (Şekil 5.16a). Kalem ucu elektrot poli(sistin) ile modifiye edildikten sonra ince film tabakaları olarak grafit yüzeyinde modifiye edilmiş nanoboyutlu bir poli(sistin) yapısı gözlemlenmiştir. Bu morfolojik sonuçların tümü, elektrot yüzeyinde poli(sistin) yapının varlığına işaret etmektedir (Şekil 5.16b ve 16c).



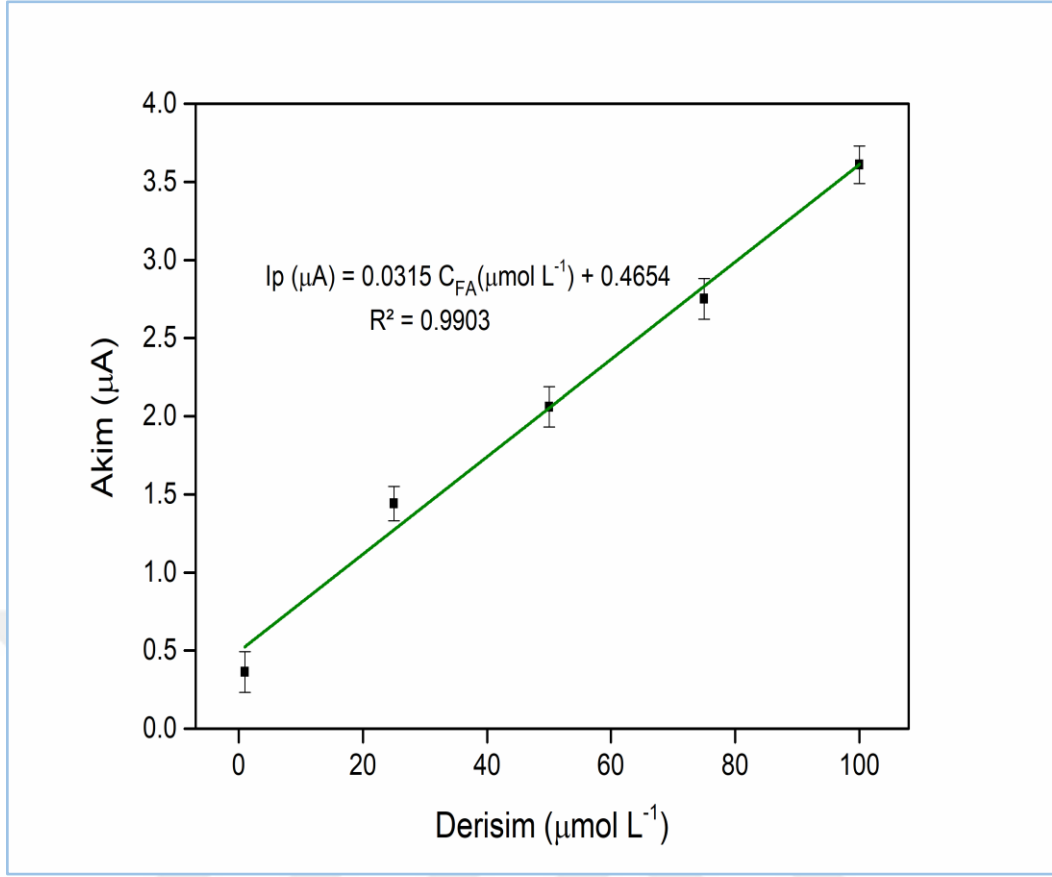
Şekil 5.16 a) x30000 büyütmede Boş/KUE, **b)** x30000 büyütmede poli(sistin)/KUE ve **c)** poli(sistin)/KUE'un x50000 büyütmede taramalı elektron mikrografları.

5.1.7 Poli(Sistin)/KUE'un Analitiksel Uygulaması

Yüksek akım hassasiyeti nedeniyle, tespit limitini değerlendirmek için diferansiyel puls voltametrisi (DPV) kullanılmıştır [131]. Poli(sistin)/KUE, 0,1 mol L⁻¹ fosfat tampon çözeltisi içindeki 1,0 µmol L⁻¹ ila 100 µmol L⁻¹ folik asit derişimlerinin etkilerini incelemek için kullanılmıştır. Şekil 5.17 ve Şekil 5.18'de gösterildiği gibi, folik asit derişimi arttıkça, pik akımında bir artış gözlemlenmiştir. Yöntemin kesinliğini belirlemek için tüm ölçümler beş kez tekrarlanmış ve standart sapma hesaplanmıştır. Gözlemlenebilme ve tayin sınırını, kS/m kullanılarak hesaplanmıştır. Burada k, gözlemlenebilme sınırı için 3, tayin sınırı için 10, S, boş cevabın standart sapması ve m, kalibrasyon grafiğinin eğimidir. 1,0 µmol L⁻¹ ve 100 µmol L⁻¹ arasındaki çeşitli derişimler kullanılarak, doğrusal ilişki $I_p (\mu A) = 0,0315C_{FA} (\mu mol L^{-1}) + 0,4654$ ve $R^2 = 0,9903$ ile tanımlanır. Bu denklem kullanılarak gözlemlenebilme sınırı (LOD) ve tayin sınırı (LOQ) sırasıyla 0,43 µmol L⁻¹ ve 1,45 µmol L⁻¹ olarak belirlenmiştir.



Şekil 5.17 Azot gazıyla doymuş pH 7,0 fosfat tampon çözeltisinde optimum koşullar kullanılarak farklı folik asit konsantrasyonları için diferansiyel puls voltamogramları.



Şekil 5.18 Folik aside ait kalibrasyon grafiği.

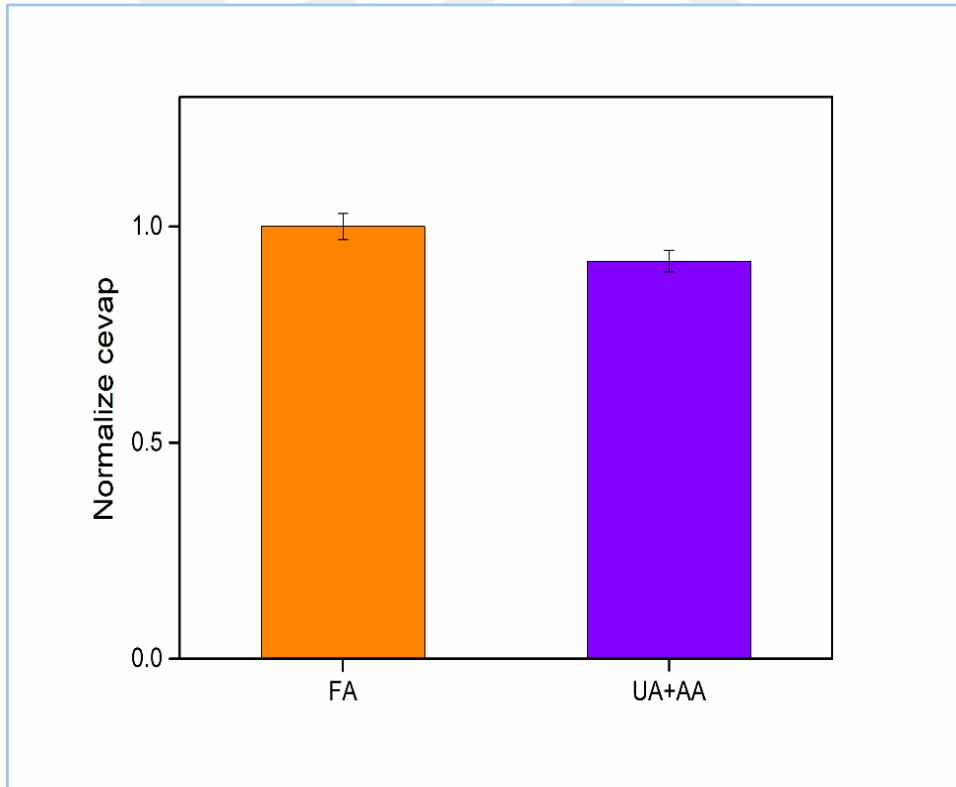
Tablo 5.1, daha önce bildirilen bazı elektrokimyasal prosedürlerle karşılaştırmalı olarak önerilen elektrotla folik asit tayini için analitik başarı rakamlarını özetlemektedir. Tablo 5.1'de sunulan sonuçların değerleri karşılaştırıldığında, bu çalışmada bildirilen yöntem diğer çalışmalara göre daha düşük bir tespit sınırına sahip olduğu görülür. Tablo 5.1'deki özellikler, rapor edilen elektrotun düşük maliyet, basitlik, tek aşamalı hazırlık, temizleme işlemi gerektirmemesi, iyi seçicilik ve yüksek hassasiyet sunduğunu göstermektedir.

Tablo 4.1 Önerilen elektrotun analitik parametrelerinin bildirilen diğer çalışmalarla karşılaştırılması.

Elektrot	Metot	Gözlemlenebilme sınırı ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Doğrusal aralık	Referanslar
Çok duvarlı karbon nanotüp/camsı karbon elektrot	Kare dalga voltametrisi	0,134	0,3-80	[52]
Poli(metakrilik asit)/silikon dioksit	Kare dalga voltametrisi	0,0016	0,01-0,23	[132]
Grafit pasta elektrot	Diferansiyel puls voltametrisi	2,67	4,97-29,4	[133]
Nanoyapılı mezogözenekli malzeme/karbon pastası elektrot	Diferansiyel puls voltametrisi	0,7	10-2000	[134]
Ferrosen dikarboksilik asit/karbon pasta elektrotu ile modifiye edilmiş karbon nanotüp pasta elektrot	Diferansiyel puls voltametrisi	1,1	4,6-152	[135]
Poli (3,4-Etilendioksitiyofen)/ β -siklodekstrin fonksiyonellendirilmiş tek duvarlı karbon nanotüpler	Diferansiyel puls voltametrisi	0,8	1,0-1000	[136]
Çinko oksit nanopartiküller/karbon pasta elektrot	Diferansiyel puls voltametrisi	9,86	20-2500	[137]
Poli(sistin)/kalem ucu elektrot	Diferansiyel puls voltametrisi	0,43	1,0-100	Bu çalışma

5.1.8 Folik Asit İçin Girişim Çalışması

Girişim çalışması, diferansiyel puls voltametrisi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. pH 7,0 fosfat tamponu içerisinde askorbik asit ($500 \mu\text{mol L}^{-1}$) ve ürik asit ($0,5 \mu\text{mol L}^{-1}$) içeren bir çözelti, girişim çözeltisi olarak seçilmiştir. Girişim çözeltisinde, askorbik asit ve ürik asit pikleri, Boş/KUE ile 0,75V'de gözlenirken, folik asit ($100 \mu\text{mol L}^{-1}$) piki, 0,9 V'ta elde edilmiştir. Bununla birlikte, poli(sistin)/KUE kullanıldığında, 0,075 V, 0,31 V ve 0,9 V'ta sırasıyla askorbik asit, ürik asit ve folik asit pikleri gözlenmiştir. Askorbik asit ve ürik asit piklerinin, Boş/KUE kullanılarak $3,87 \mu\text{A}$ 'da girişim yaptığı gözlenmiştir. Bununla birlikte, poli(sistin)/KUE'lar kullanıldığında askorbik asit ve ürik asit pikleri sırasıyla $0,47 \mu\text{A}$ ve $0,32 \mu\text{A}$ 'da başarıyla ayrılmıştır. Diğer yandan, askorbik asit, ürik asit ve folik asit içeren girişim çözeltisinde poli(sistin)/KUE ile folik asidin yükseltgenme pikinde önemli bir değişiklik izlenmemiştir (Şekil 5.19, Tablo 5.2). Bu sonuçlar, poli(sistin)/KUE'un folik asit tayini için girişimlerden etkilenmediği sonucu çıkarılmıştır.



Şekil 5.19 Ürik asit ve askorbik asidin folik asidin pik akım cevabı üzerine etkisini gösteren girişim çalışması.

Tablo 5.2 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ folik asit tayini için, Boş/KUE ve poli(sistin)/KUE üzerindeki potansiyel girişimlerin etkisi.

Elektrot	Girişim türleri	Akım (μA)	Akım farkı (μA)
Boş/KUE	ÜA ve AA	0,77	-1,64
Poli(sistin)/KUE	ÜA ve AA	3,6	+0,44

5.1.9 Poli(Sistin)/KUE'un Tekrar Üretilbilirlik Ve Tekrarlanabilirliği

Poli(sistin)/KUE elektrotunun tekrar üretilebilirliği, gün içi ve gün içi ölçümlerin kullanılmasıyla karakterize edilmiştir. Gün içi tekrarlanabilirlik için, 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ folik asidin diferansiyel puls voltametrik ölçümleri, ölçümlerden önce taze hazırlanmış 10 farklı poli(sistin)/KUE kullanılarak yapılmıştır. Bağlı standart sapma %3,26 olarak belirlenmiştir.

Günler arası tekrarlanabilirlik değerleri için, 10 gün boyunca tekrarlı ölçümler elde edilmiştir. Bağlı standart sapma %3,52 olarak belirlendi. Ölçülen değerler, poli(sistin)/KUE'un hazırlanmasında tekrar üretilebilir olduğunu göstermektedir. Elektrotlar, kararlılıklarını araştırmak için 45 gün süreyle vakumlu bir kurutucuda saklanmıştır.

Poli(sistin)/KUE'lar için 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ folik asidin periyodik diferansiyel puls voltametri ölçümleri elde edilmiştir. Nihai değerlerden başlangıç değerlerine fark sadece %4,11 bulunmuştur. Sonuç olarak, bu sonuçlar, poli(sistin)/KUE'un oldukça stabil olduğunu göstermektedir.

5.1.10 Gerçek Örnek Analizi

Gerçek numune çalışmasında portakal meyvesi sıkılmış ve filtre kâğıdı kullanılarak posasından ayrılmıştır. 1,0 mL sıkılmış portakal suyu pH 7,0 fosfat tamponu ile 10 mL'ye seyreltilmiştir. Hazırlanan numuneler ultrason banyoda bir dakika karıştırıldı ve azot gazı varlığında folik asit miktarı analiz edilmiştir.

Numunenin diferansiyel puls voltamogramı, analiz için standart ekleme yöntemi kullanılarak kaydedilmiştir. Tablo 5.3, poli(sistin)/KUE kullanılarak portakal

suyundan elde edilen sonuçları göstermektedir. Poli(sistin)/KUE için geri kazanım değerleri eklenen 30 μM ve 40 μM folik asit için sırasıyla %103,42 ve %104,35 olarak belirlenmiştir. Sonuçlar, önerilen yöntemin gerçek örnekler için doğru bir yaklaşım olarak uygulanabileceğini göstermiştir.

Tablo 5.3 Poli(sistin)/KUE ile yapılan gerçek örnek analiz sonuçları.

Örnek	Başlangıç ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Eklenen ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Bulunan ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Geri kazanım (%)
	9,2	-	-	-
Portakal	9,2	30	40,54 $\pm$ 0,0342	103,42
	9,2	40	51,34 $\pm$ 0,0354	104,35

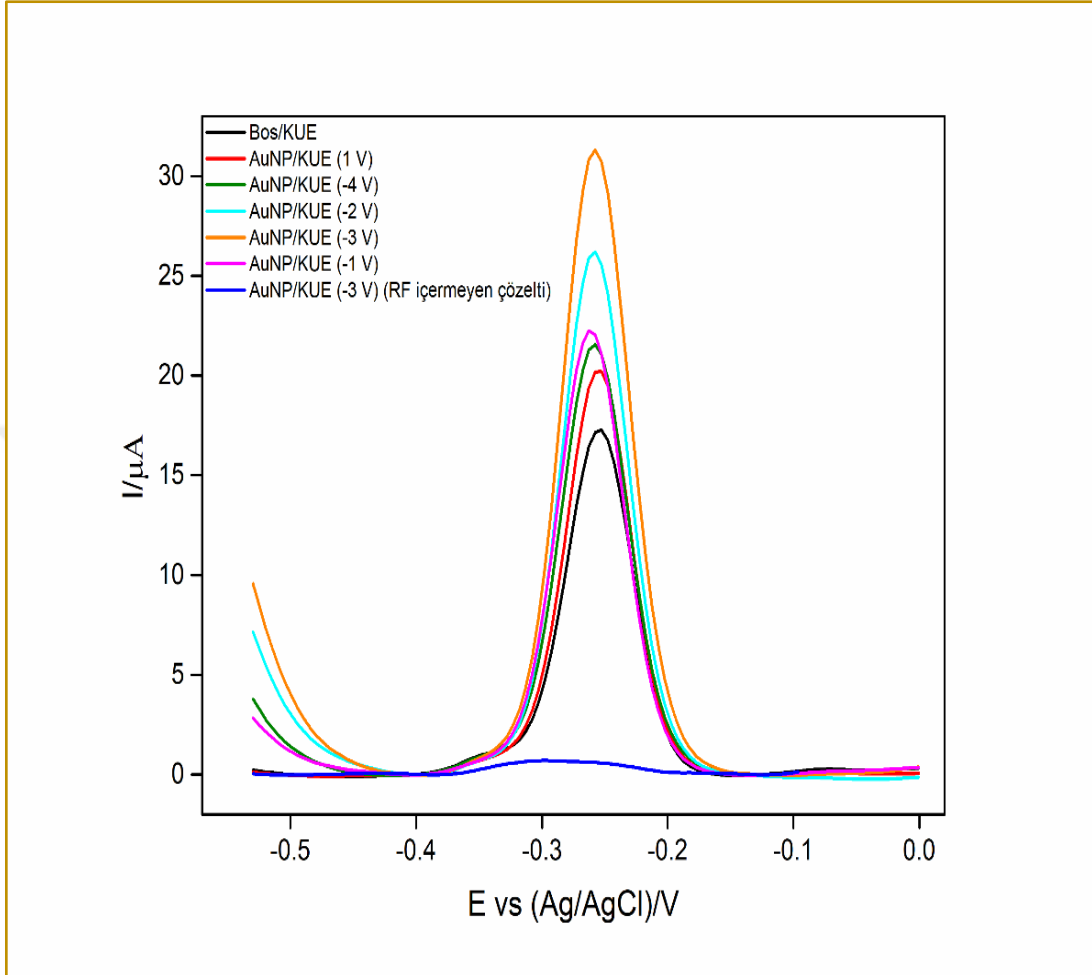
5.2 Riboflavin Tayini İçin F-MWCNT/AuNP/KUE Geliştirilmesi

Boş kalem ucu elektrot 10 mmol L^{-1} HAuCl_4 içeren 0,5 mol L^{-1} H_2SO_4 çözeltisi içerisine daldırılmıştır. Sonra, kronoamperometri tekniği kullanılarak altın nanopartikülleri elektrokimyasal olarak kalem ucu elektrot yüzeyine biriktirilmiştir. Son olarak, hazırlanan AuNP/KUE'lara 10 μL fonksiyonellendirilmiş çok duvarlı karbon nanotüp çözeltisi damlatılmıştır.

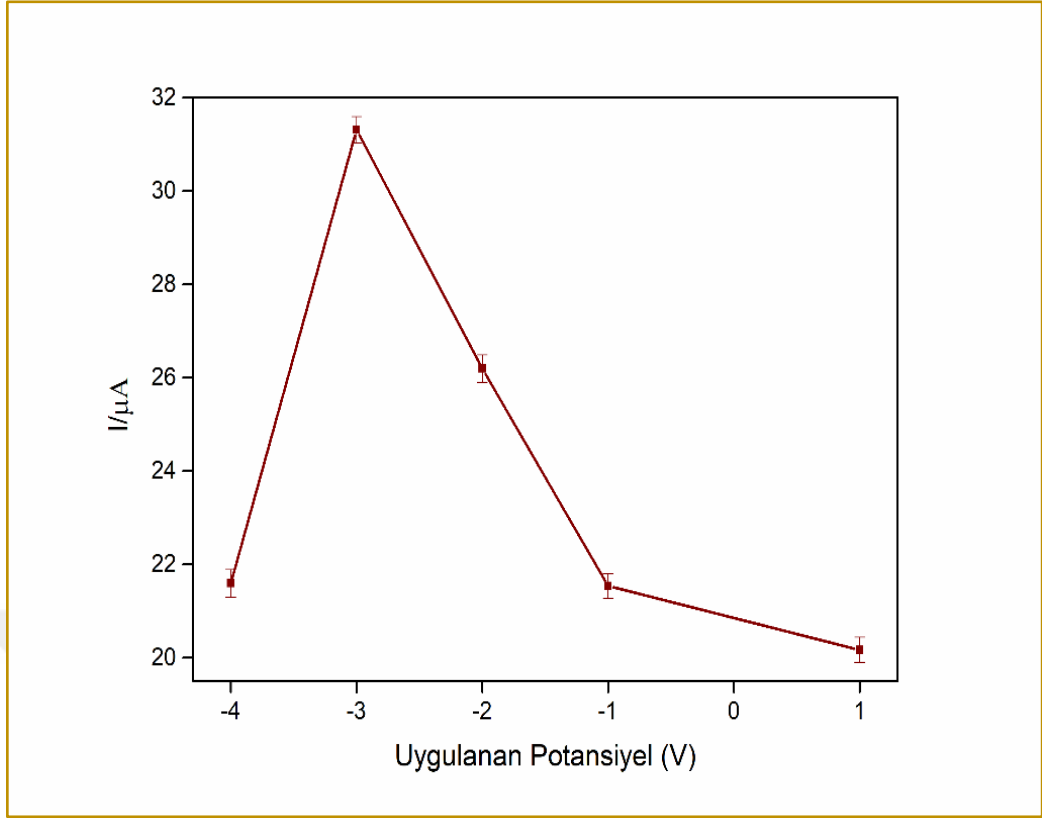
5.2.1 AuNP'ün Elektrokimyasal Modifikasyonunun Farklı Potansiyellerdeki Etkisi

Farklı potansiyellerin RF akım sinyali üzerindeki etkisini araştırmak için birçok AuNP elektrotu farklı potansiyellerde (-4,0 V, -3,0 V, -2,0 V, -1,0 V ve +1,0 V) kronoamperometri yöntemi kullanılarak hazırlanmıştır. Bundan sonraki deney, 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ RF içeren fosfat tamponunda (pH 4,0, 0,1 mol L^{-1}) gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan AuNP/KUE'ların farklı potansiyellerde yapılan DPV araştırmasında, potansiyel 1,0 V'tan -3,0 V'a düştüğünde RF'nin pik akımının önemli ölçüde arttığı görülmüştür. -3,0 V'tan sonra RF'nin mevcut sinyalde önemli bir ölçüde düşüş görülmüştür (Şekil 5.20). Bu kritik akım düşüşü, akım-potansiyel grafiğinde de açıkça görülebilir (Şekil 5.21). Elde edilen sonuçlara göre, en yüksek RF yanıtının -

3,0 V'ta yapılan AuNP/KUE'larda çıktığı görülmüştür. Bu nedenle, AuNP modifikasyonunun optimum potansiyeli, sonraki çalışmalar için -3,0 V olarak seçilmiştir.

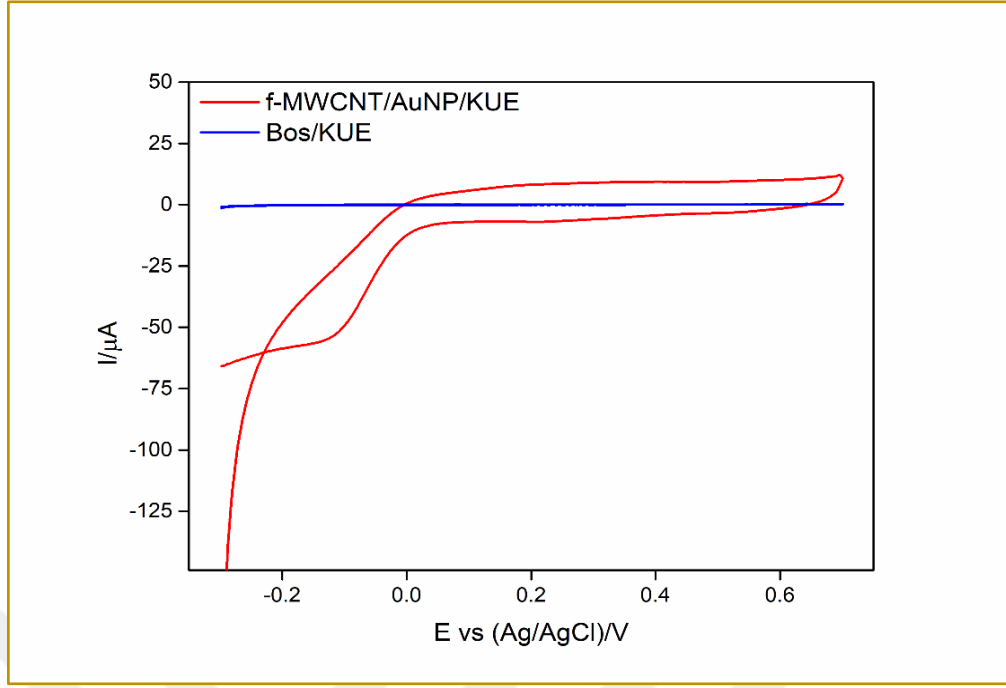


Şekil 5.20 AuNP/KUE (-3,0 V), AuNP/KUE (-2,0 V), AuNP/KUE (-1,0 V), AuNP/KUE (-4,0 V), AuNP/KUE (-1,0 V), AuNP/KUE (-3,0 V) (RF yokluğunda) ve Boş/KUE'un 100 μmol L⁻¹ RF içeren fosfat tamponu (pH 4,0, 0,1 mol L⁻¹) içinde DPV sonuçları.



Şekil 5.21 AuNP'ün farklı potansiyellerinin RF'nin tepe akımı üzerindeki etkisi.

Buna ek olarak, tasarlanan modifiye elektrotun elektroaktif özelliğini incelemek için $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ KCl çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan f-MWCNR/AuNP/KUE, KCl çözeltisi içerisinde $-0,3 \text{ V}$ ile $0,7 \text{ V}$ arasında voltamogramı alınmıştır. Elde edilen voltamograma göre, kalem ucu elektrot yüzeyine modifiye edilen altın ve fonksiyonellendirilmiş çok duvarlı karbon elektrot $-0,12 \text{ V}$ 'ta 1 tane indirgenme piki vermektedir. Bu veriler elde edilen modifiye elektrotun elektroaktif özellik gösterdiği söylemektedir. (Şekil 5.22).

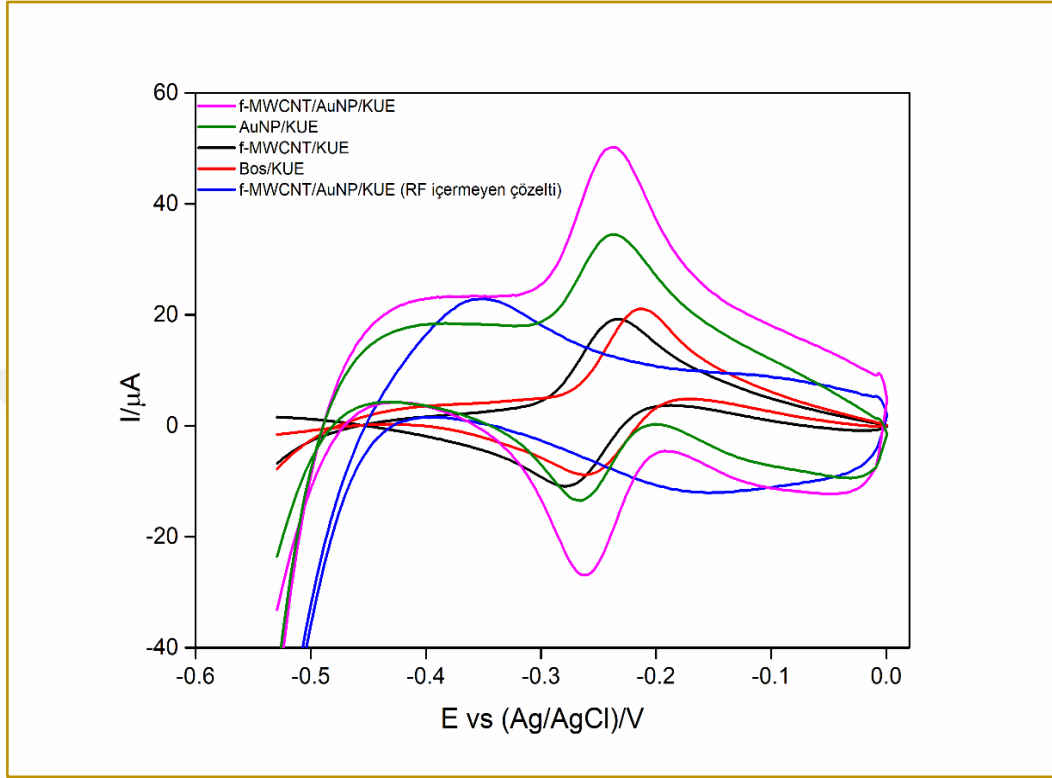


Şekil 5.22 f-MWCNT/AuNP/KUE ve Boş/KUE'un KCl çözeltisi içerisindeki davranışı.

5.2.2 f-MWCNT/AuNP/KUE'ta Riboflavinin Elektrokimyasal Çalışmaları

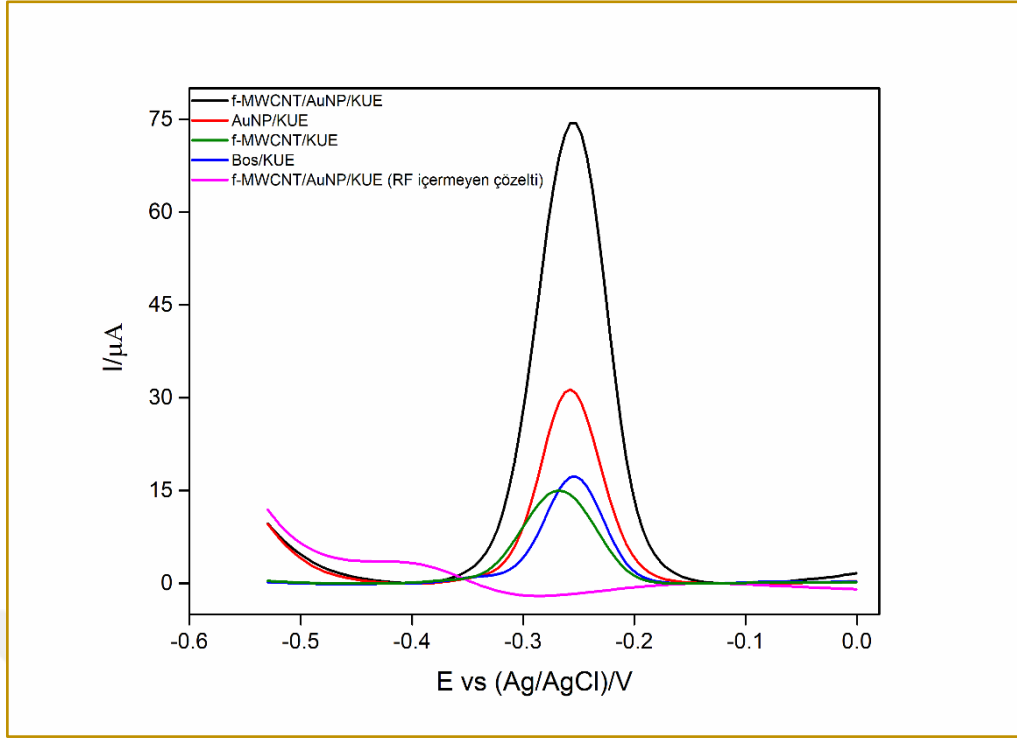
RF'nin elektrokimyasal davranışı, $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ RF içeren fosfat tamponunda (pH 4,0, $0,1 \text{ mol L}^{-1}$) Boş/KUE, AuNP/KUE, f-MWCNT/KUE ve f-MWCNT/AuNP/KUE'ta CV ve DPV teknikleri kullanılarak araştırılmıştır. CV tekniği kullanılarak analit çözeltisine -0,52 V ile 0,0 V arasında bir potansiyel uygulandığında, Boş/KUE sırasıyla -0,23 V ve -0,28 V'de yükseltgenme ve indirgeme piklerine sahiptir. Aynı şekilde, f-MWCNT/ AuNP/KUE kullanıldığında, sırasıyla -0,23 V ve -0,26 V'de yükseltgenme ve indirgeme pikleri göstermiştir (Şekil 5.23). Boş/KUE'un anodik ve katodik piklerindeki (ΔE) fark 0,05 V olarak hesaplanmıştır. Ayrıca, f-MWCNT/AuNP/KUE'un ΔE 'si 0,03 V olarak hesaplanmıştır. Bunun sonucunda yükseltgenme reaksiyonu Boş/KUE'a kıyasla daha az enerji kullanarak meydana geldiği potansiyel farkları göz önüne alındığında anlaşılabilmektedir. Ayrıca, Boş/KUE ve f-MWCNT/AuNP/ KUE'un yükseltgenme pikleri sırasıyla $21,05 \mu\text{A}$ ve $50,23 \mu\text{A}$ 'de gözlemlendi. Bu pik artışı, f-MWCNT/AuNP/KUE'un yüksek iletkenliğe sahip olması ve yüzey alanının artmasıyla açıklanabilir. Böylece f-MWCNT/AuNP/KUE'un RF'e karşı elektrokatalitik etki gösterdiği söylenebilir.

Dahası, f-MWCNR/AuNP/KUE RF içermeyen pH 4,0 tampon çözeltisinde ölçümü alındığında, hiçbir karakteristik redoks tepe noktası göstermemiştir. Bu sonuçlara dayanarak, oluşturulan f-MWCNR/AuNP/KUE sadece RF'e karşı duyarlı olduğu anlaşılmıştır.



Şekil 5.23 Boş/KUE, AuNP/KUE, f-MWCNT/KUE, f-MWCNT/AuNP/KUE'ta $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ RF içeren fosfat tamponunda (pH 4,0, $0,1 \text{ mol L}^{-1}$) RF yanıtının dönüşümlü voltamogramı.

DPV ölçümünde ise pik akımı f-MWCNT/AuNP/KUE'ta -0.254 V 'ta $74,34 \mu\text{A}$ iken, Boş/KUE'ta -0.252 V 'ta $17,27 \mu\text{A}$ 'dır (Şekil 5.24). Bu sonuçlara göre, RF yükseltgenmesinin f-MWCNT/AuNP/KUE'daki pik akımı, Boş/KUE'tan yaklaşık beş kat daha yüksektir. Tüm bu sonuçlar, f-MWCNT/AuNP/KUE'un elektrokatalitik etkisi ve daha yüksek aktif yüzey alanının artmasıyla ilişkilendirilmektedir.



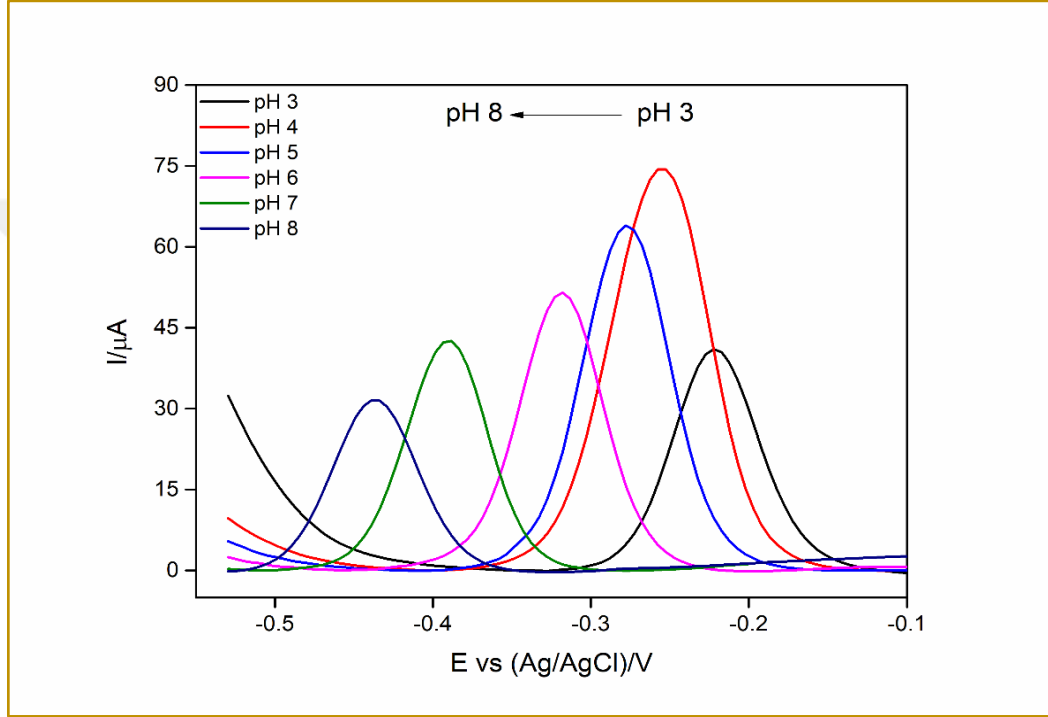
Şekil 5.24 Bos/KUE, AuNP/KUE, f-MWCNT/KUE, f-MWCNT/AuNP/KUE ve f-MWCNT/AuNP/KUE (RF yokluğunda) fosfat tamponunda (pH 4,0, 0,1 mol L⁻¹) RF yanıtının diferansiyel puls voltamogramı.

5.2.3 pH'nın f-MWCNT/AuNP/KUE'ta Riboflavinin Voltametrik Davranışı Üzerindeki Etkisi

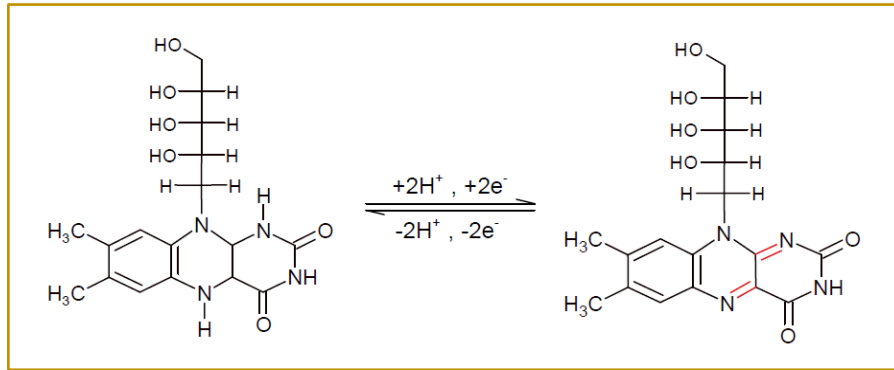
Farklı pH değerlerinin f-MWCNT/AuNP/KUE'ta RF yükseltgenmesi üzerindeki etkisini incelemek etmek için DPV yöntemi kullanılmıştır. Ölçümler, f-MWCNT/AuNP/KUE'de pH 3,0, 4,0, 5,0, 6,0, 7,0 ve 8,0 değerlerinde 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ RF içeren fosfat tamponu çözeltilerinde gerçekleştirilmiştir.

Şekil 5.25'e göre pH 8,0'den 4,0'e indikçe pik akımlarında bir artış ve anodik bölgeye de bir kayma gözlemlenmiştir. pH 4,0'ten sonra ise RF'nin pik akımında bir azalma meydana gelmiştir. Destek elektrolitin daha yüksek pH değerlerinde RF sinyallerinin pik akımlarındaki azalma, bazik ortamda daha az sayıda proton bulunmasından kaynaklanmaktadır. Bu da protonun elektrotun yükseltgenme sürecinde yer aldığı kanıtıdır. Bununla birlikte, bazik ortamda RF akımında meydana gelen düşüşün bir başka nedeni ise ışık radyasyonu ile kararsız lumiflavin moleküllerinin oluşumundan kaynaklanmaktadır [16,138]. Yükseltgenme pik akımının pH 4,0'te en yüksek olduğundan ötürü optimum pH değeri 4,0 olarak

seçilmiştir. Sonuçlar, RF yükseltgenme pikinin büyük ölçüde elektrolitin pH değerine bağlı olduğunu göstermiştir. Bu nedenle, pik potansiyelin anodik bölgesine kayması ve pik akımdaki artış, f-MWCNT/AuNP/KUE'un RF yükseltgenmesi üzerinde elektrokatalitik bir etkiye sahip olduğunu ve RF'nin yükseltgenme reaksiyonunun asidik ortamda daha düşük enerji tüketerek meydana geldiğini göstermiştir. Bununla birlikte, asidik koşullar altında, Şekil 4.2'deki gibi RF bir reaksiyon mekanizmasına sahip olduğu literatürde bildirilmiştir [139].



Şekil 5.25 Çeşitli pH değerlerinde (pH 3,0, pH 4,0, pH 5,0, pH 6,0, pH 7,0 ve pH 8,0) 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ RF içeren fosfat tamponu içerisinde f-MWCNT/AuNP/KUE'un diferansiyel puls voltamogramları.



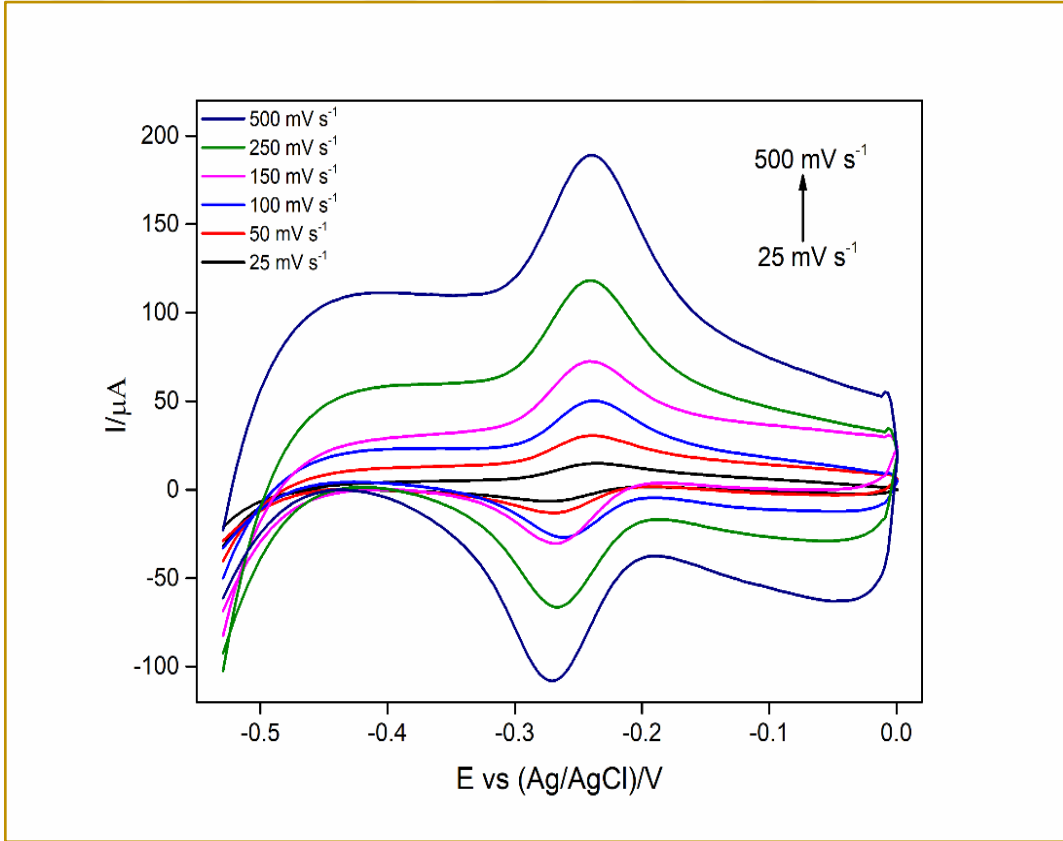
Şekil 5.26 Riboflavinin reaksiyon mekanizması.

5.2.4 Tarama Hızının Riboflavin Cevabı Üzerindeki Etkisi

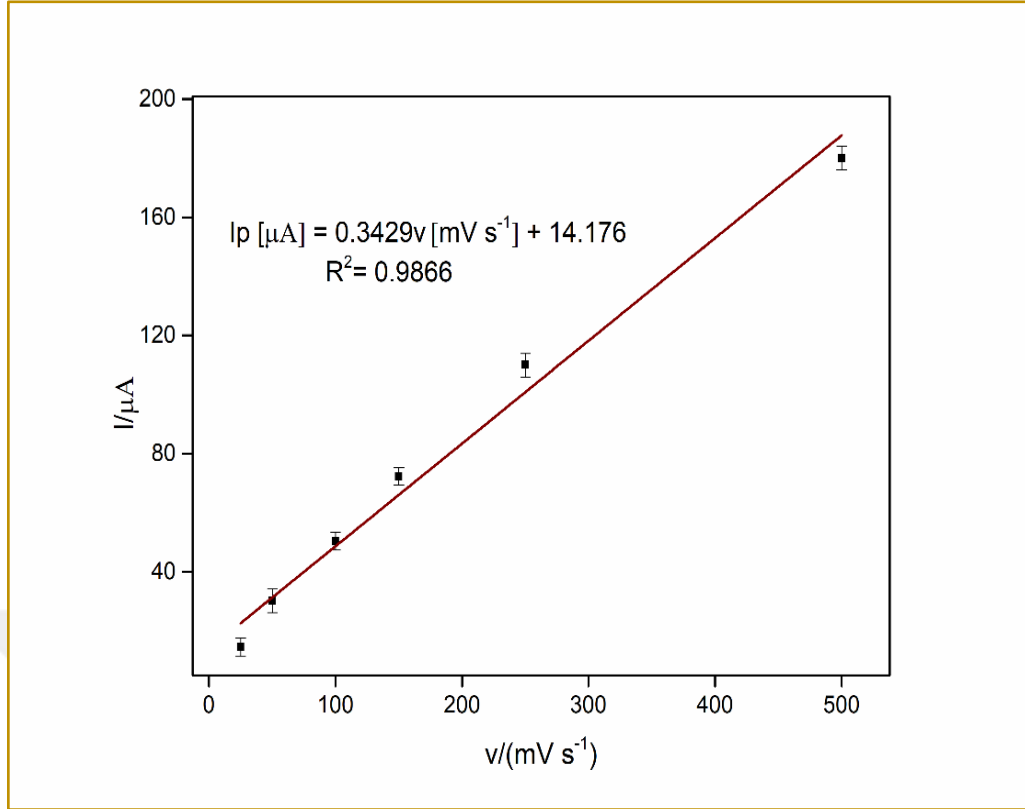
Geliştirilen sensörde RF'nin kinetik davranışını incelemek için CV yöntemi kullanılmıştır (Şekil 5.27). Şekil 5.28'te gösterildiği gibi, 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ RF için I_p (μA) ve v (mV s^{-1}) arasındaki doğrusal bir denklem şu şekilde bulunmuştur:

$$I_p [\mu\text{A}] = 0,3429 v [\text{mV s}^{-1}] + 14,764, \quad R^2 = 0,9866 \quad (5.3)$$

Bu sonuca göre, tarama hızı arttıkça RF sinyalinin anodik pik akımının arttığı bulunmuştur. Bu da RF'nin f-MWCNT/AuNP/KU elektrotundaki elektrokimyasal yükseltgenme reaksiyonunun adsorpsiyon kontrollü bir süreç olduğunu göstermektedir. Tarama hızındaki artış, redoks pik potansiyellerinde ($\Delta E_p \sim 70 \text{ mV}$) önemli değişikliklere neden olmamıştır. Bu sonuçlar, elektrokimyasal reaksiyonun doğası için tersinir bir süreci göstermektedir [140].



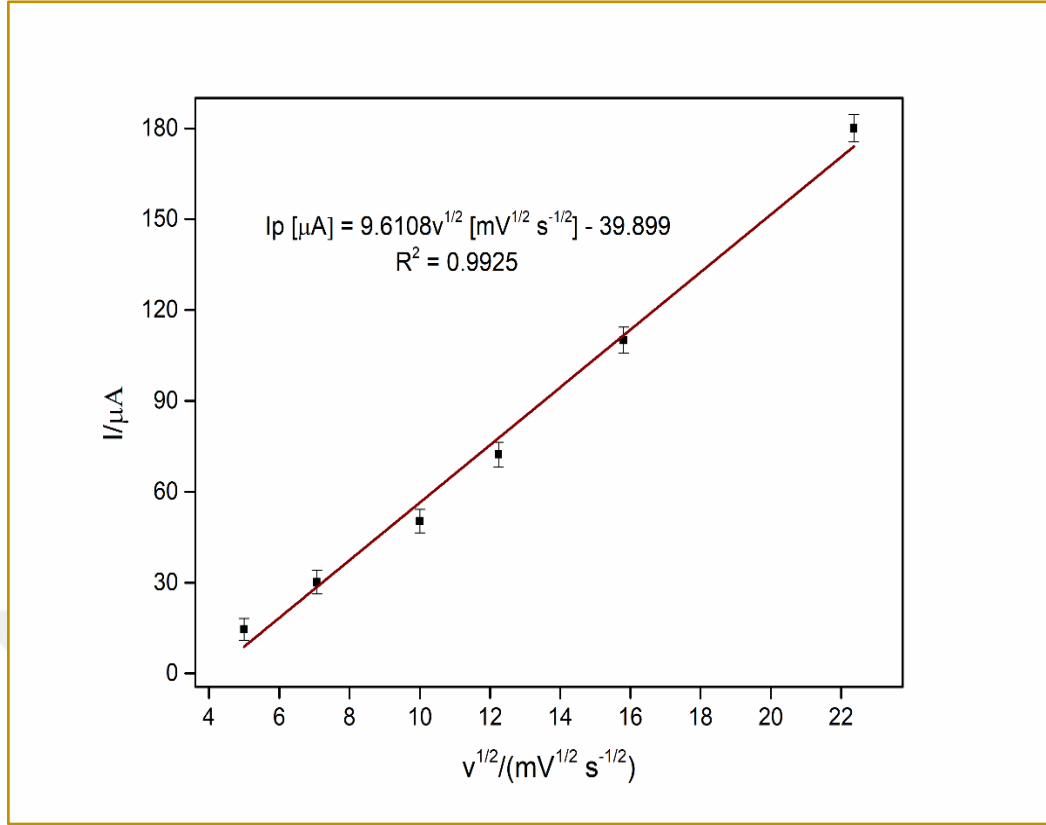
Şekil 1.27 Farklı tarama hızlarında tarama hızının bir fonksiyonu olarak 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ RF içeren fosfat tamponunda (pH 4,0, 0,1 mol L^{-1}) f-MWCNT/AuNP/KUE'un dönüşümlü voltamogramları.



Şekil 5.28 Tarama hızı ile tepe akımı arasındaki doğrusal ilişki.

25 ila 500 mV s⁻¹ tarama hızları için tepe akımı ile tarama hızının karekökü ($v^{1/2}$) arasındaki ilişki incelenmiş ve doğrusallık elde edilmiştir (Şekil 5.29). Bu da elektrot üzerindeki yükseltgenme işleminin difüzyon işlemi tarafından kontrol edildiğinin göstergesidir. Şekil 29'un üzerindeki, doğrusal ilişki aşağıdaki denklemle ifade edilebilir:

$$I_p [\mu A] = 9,6108v^{1/2} [mV^{1/2} s^{-1/2}] - 39,899, \quad R^2 = 0,9925 \quad (5.4)$$

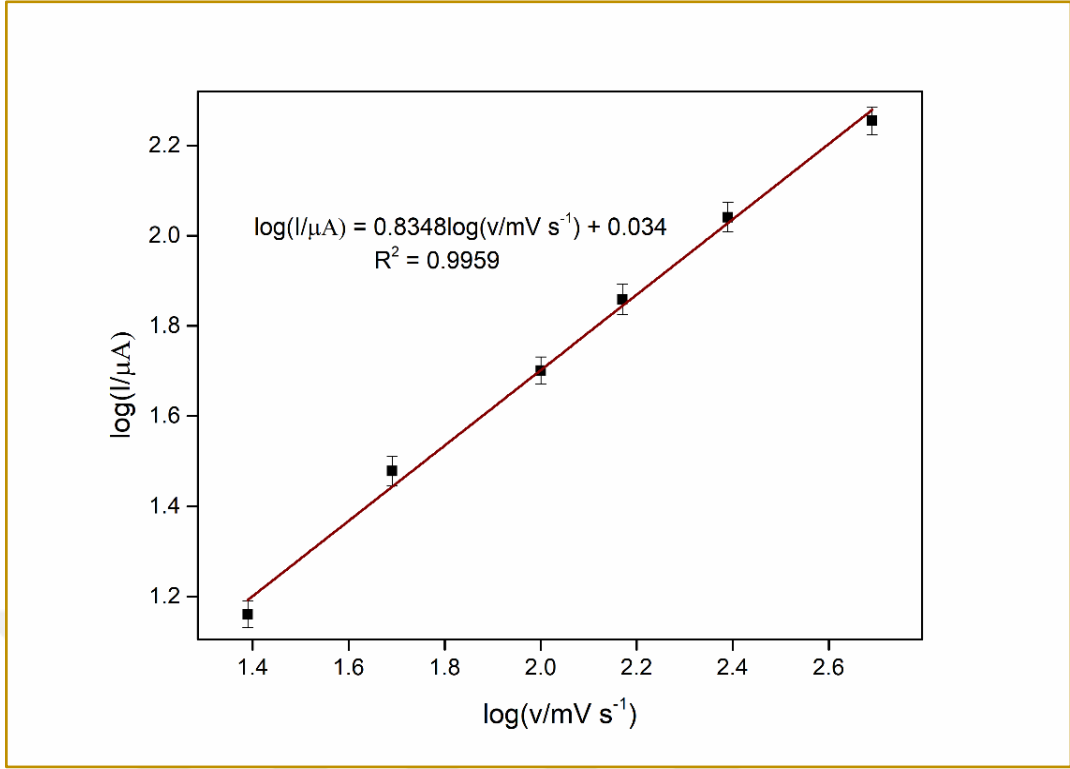


Şekil 5.29 Tarama hızının karekökü ile tepe akımı arasındaki doğrusal ilişki.

RF yükseltgenmesinin kontrol süreçlerinin aydınlatılması için “ $\log(I_p) - \log(v)$ ” analizi uygulanmıştır (Şekil 5.30). Şekil 5.30'un içinde, doğrusal ilişki aşağıdaki denklemle ifade edilebilir:

$$\log(I/\mu A) = 0,8348 \log(v/mV s^{-1}) + 0,034, \quad R^2 = 0,9959 \quad (5.5)$$

0,5'e yakın bir eğim, Randles-Sevcik denklemi ile tarif edildiği gibi difüzyon kontrollü bir süreci gösterir; 1'e yakın bir eğim ise adsorpsiyon kontrollü bir süreci gösterir [141]. Bu sonuçlara göre, f-MWCNT/AuNP/KUE'daki yükseltgenme süreci hem difüzyon hem de adsorpsiyon ile kontrol edildiği anlaşılmaktadır [142].



Şekil 5.30 Tarama hızının logaritması ile akımın logaritması arasındaki doğrusal ilişki.

Elektrot/çözelti ara yüzünde aktarılan elektron (n) sayısı Laviron teorisine göre Denklem (5) ile hesaplanabilir [143].

$$I_p = n^2 F^2 A \Gamma_T v / 4RT = n F Q v / 4RT \quad (5.6)$$

I_p pik akımı, Faraday sabiti olarak F ($96485 \text{ C} \cdot \text{mol}^{-1}$), elektrot yüzey alanı olarak A (cm^2), adsorpsiyon miktarı Γ_T ($\text{mol} \cdot \text{cm}^2$), Q ise pik alanını yani dönüşümlü voltametrinin yükseltgenme veya indirgeme pik alanıdır. v (V s^{-1}) tarama hızı, $R = 8,3145 \text{ J} \cdot \text{K} \cdot \text{mol}^{-1}$, $T = 298 \text{ Kelvin}$ 'dir. Sonuç olarak, Riboflavinin elektron transfer sayısı tarama hızı $v = 0,1 \text{ (V s}^{-1}\text{)}$ olduğunda $n = 1,94$ olarak hesaplanmıştır. Yani aktarılan elektron sayısı 2 olarak kabul edilebilir.

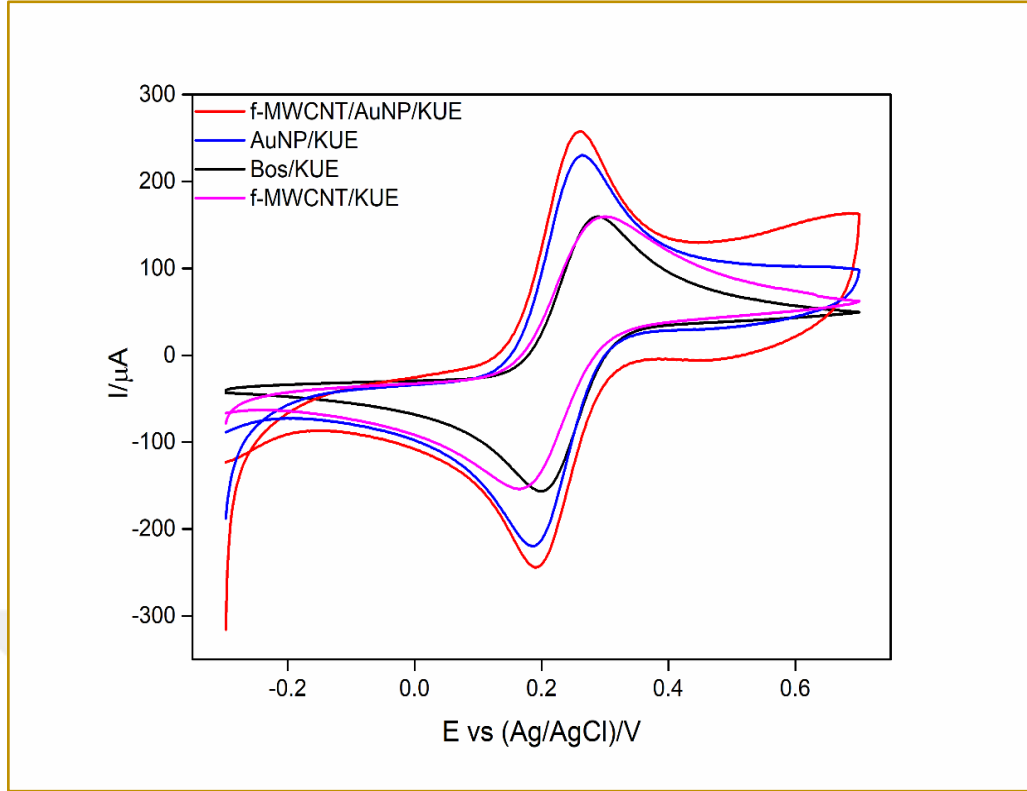
5.2.5 f-MWCNT/AuNP/KUE'un Karakterizasyon Çalışmaları

Hazırlanan f-MWCNT/AuNP/KUE'nin karakterizasyon çalışmasında dönüşümlü voltametri, elektrokimyasal empedans spektroskopisi, taramalı elektron spektroskopisi ve X-ışını fotoelektron spektroskopisi yöntemleri kullanılmıştır.

5.2.5.1 f-MWCNT/AuNP/KUE'un Dönüşümlü Voltametri ile Karakterizasyonu

Boş/KUE, AuNP/KUE, f-MWCNT/KUE ve f-MWCNT/AuNP/KUE, CV karakterizasyonu için 2,5 mmol L⁻¹ [Fe(CN)₆]^{3-/4-} çözeltisinde ölçülmüş ve elektrotların ölçümleri 100 mV s⁻¹ tarama hızında -0,3 V ila 0,7 V potansiyel aralığında gerçekleştirilmiştir.

Şekil 5.31'te gösterildiği gibi, anodik ve katodik tepe akımları, Boş/KUE'ta sırasıyla 0,28 V ve 0,19 V'de görülmektedir. Anodik ve katodik pikler arasındaki potansiyel fark (ΔE) 0,09 V olarak hesaplanmıştır. f-MWCNT/AuNP/KUE kullanıldığında, anodik ve katodik pik potansiyeli sırasıyla 0,26 V ve 0,19 V olarak bulunmuştur. Bu durumda, f-MWCNT/AuNP/KUE'un ΔE 'si 0,07 V olarak hesaplanmıştır. Buna göre yükseltgenme pik potansiyelinin daha anodik bölgeye kaydığı ve f-MWCNT/AuNP/KUE'nin ΔE 'sinin daha düşük olduğu söylenebilir. Boş/KUE'tan daha düşük potansiyel farka sahip olan f-MWCNT/AuNP/KUE'un elektrokatalitik bir etkiye sahip olduğunu ve elektron transfer hızının Boş/KUE'a kıyasla daha hızlı olduğunu kanıtıdır. Ayrıca, modifiye edilmiş elektrotta meydana gelen yükseltgenme reaksiyonu, Boş/KUE'ye göre daha az enerji harcayarak gerçekleştiği söylenebilir. Ayrıca, CV karakterizasyonu elektrot yüzeyindeki gruplar hakkında bilgi vermektedir [144]. f-MWCNT/AuNP/KU elektrottaki pik akımlarındaki artış, modifikasyon ile yüzeyde oluşan pozitif yüklü gruplardan kaynaklanmaktadır. Yani yüzeyde oluşan pozitif yüklü gruplar çözelti ortamında bulunan negatif yüklü ferri-ferro gruplarıyla birbirini çekerek pik akımlarında artış meydana getirmiştir.

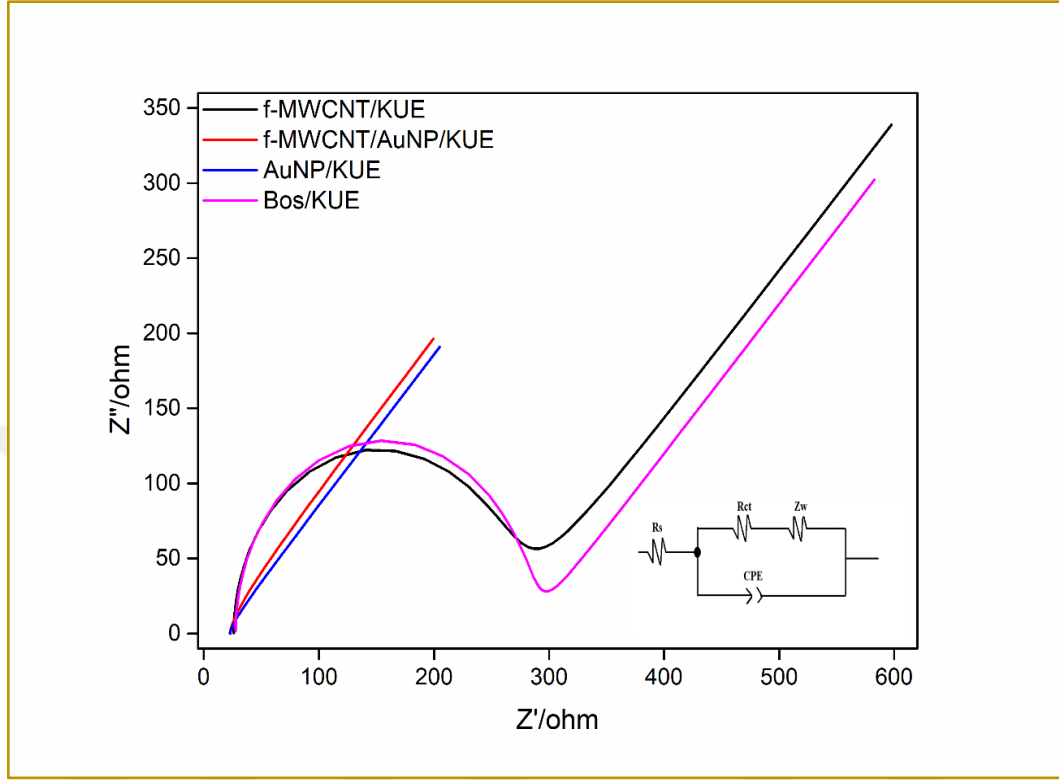


Şekil 5.31 Boş/KUE, AuNP/KUE, f-MWCNT/KUE ve f-MWCNT/AuNP/KUE'un 2,5 mmol L⁻¹ de [Fe(CN)₆]^{3-/4-} ve 0,1 mol L⁻¹ KCl içeren dönüşümlü voltamogramları.

5.2.5.2 f-MWCNT/AuNP/KUE'nin Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi İle Karakterizasyonu

EIS'nin, modifiye elektrotların yüzey özelliklerini incelemek için en çok kullanılan yöntemlerden biri olduğu iyi bilinmektedir [76]. Ölçümler, oda sıcaklığında 0,1 mol L⁻¹ KCl içeren 5,0 mmol L⁻¹ [Fe(CN)₆]^{3-/4-} çözeltisi içerisinde yapılmıştır. Boş/KUE, AuNP/KUE, f-MWCNT/KUE ve f-MWCNT/AuNP/KUE'un yük aktarım süreci, elektrot-elektrolit ara yüzünde yük transfer direnci (R_{ct}) değerleri gözlemlenerek incelenmiştir. Şekil 5.32, Boş/KUE, AuNP/KUE, f-MWCNT/KUE ve f-MWCNT/AuNP/KUE'un EIS eğrilerini göstermektedir ve bu eğriler Şekil 5.32'in içinde gösterildiği gibi eşdeğer devre modeli kullanılarak fitlenmiştir. Boş/KUE, AuNP/KUE, f-MWCNT/KUE ve f-MWCNT/AuNP/KUE'un yük aktarım direncinin değerleri sırasıyla 253,3 ohm, 1,68x10⁻³ ohm, 240,9 ohm ve 8,54x10⁻⁴ ohm' dur (Tablo 5.4). Boş/KUE, yüksek frekans aralıklarında büyük bir elektron transfer direnci ile büyük bir yarım daire göstermiştir. f-MWCNT/AuNP/KUE'un daha yüksek elektrokatalitik davranışı, yük transfer direncindeki (R_{ct}) azalma ile

kanıtlanmıştır. Bu sonuçlara dayanarak, R_{ct} değerindeki azalma f-MWCNT/AuNP/KUE'un daha yüksek bir elektron transfer hızına sahip olduğunu ve modifiye elektrotun yüksek kapasitesini göstermiştir.



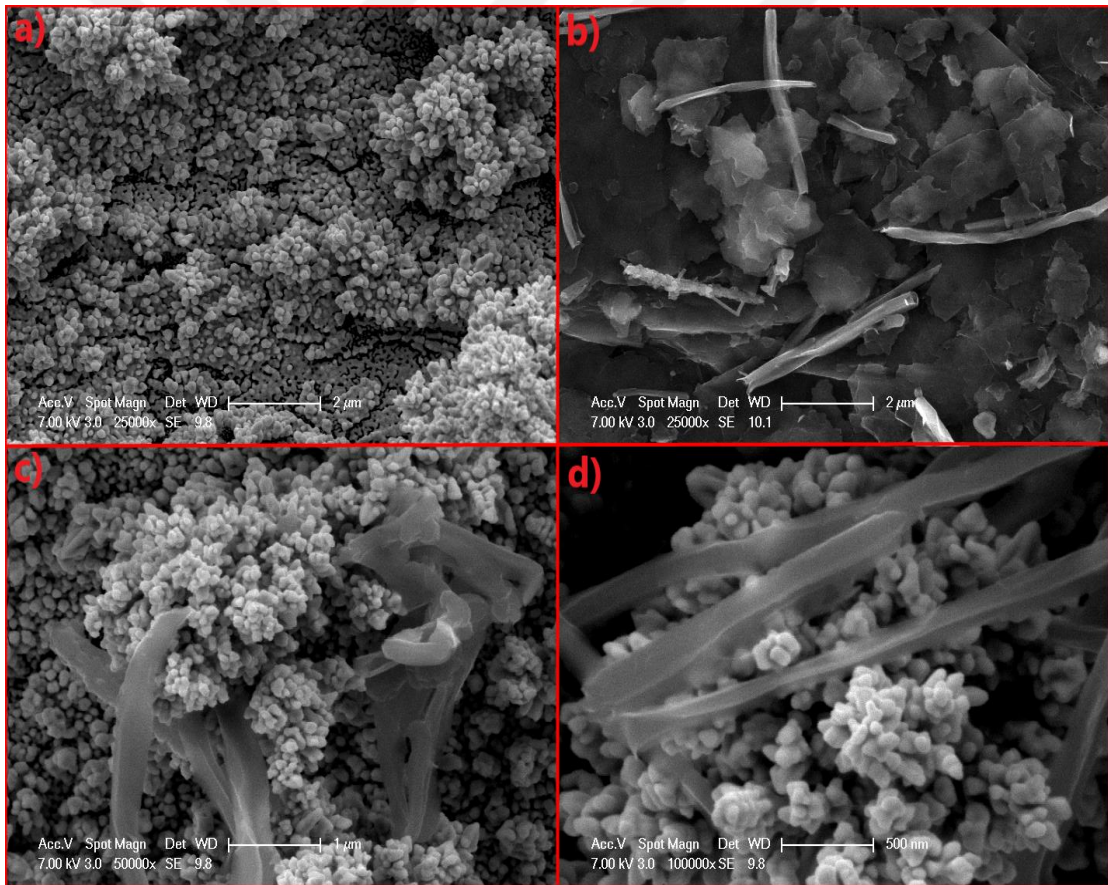
Şekil 5.32 5,0 mmol L⁻¹ [Fe(CN)₆]^{3-/4-} + 0,1 mol L⁻¹ KCl içeren elektrolitlerde Boş/KUE, AuNP/KUE, f-MWCNT/KUE ve f-MWCNT/AuNP/KUE'un Nyquist diyagramları; ek: spektrumların elektrot fitleme için kullanılan eşdeğer devre modeli.

Tablo 5.4 Boş/KUE, AuNP/KUE, f-MWCNT/KUE ve f-MWCNT/AuNP/KUE'un 5,0 mmol L⁻¹ [Fe(CN)₆]^{3-/4-} + 0,1 mol L⁻¹ KCl içeren elektrokimyasal empedans spektroskopisi ölçümleri için fitlenmiş sonuçları.

Elektrot	R_s (Ω)	R_{ct} (Ω)	Z_w (Ω)
Boş/KUE	27,53	253,3	$2,95 \times 10^{-3}$
AuNP/KUE	22,86	$1,68 \times 10^{-3}$	$4,67 \times 10^{-3}$
f-MWCNT/KUE	2,00	240,9	$2,54 \times 10^{-3}$
f-MWCNT/AuNP/KUE	22,77	$8,54 \times 10^{-4}$	$4,52 \times 10^{-3}$

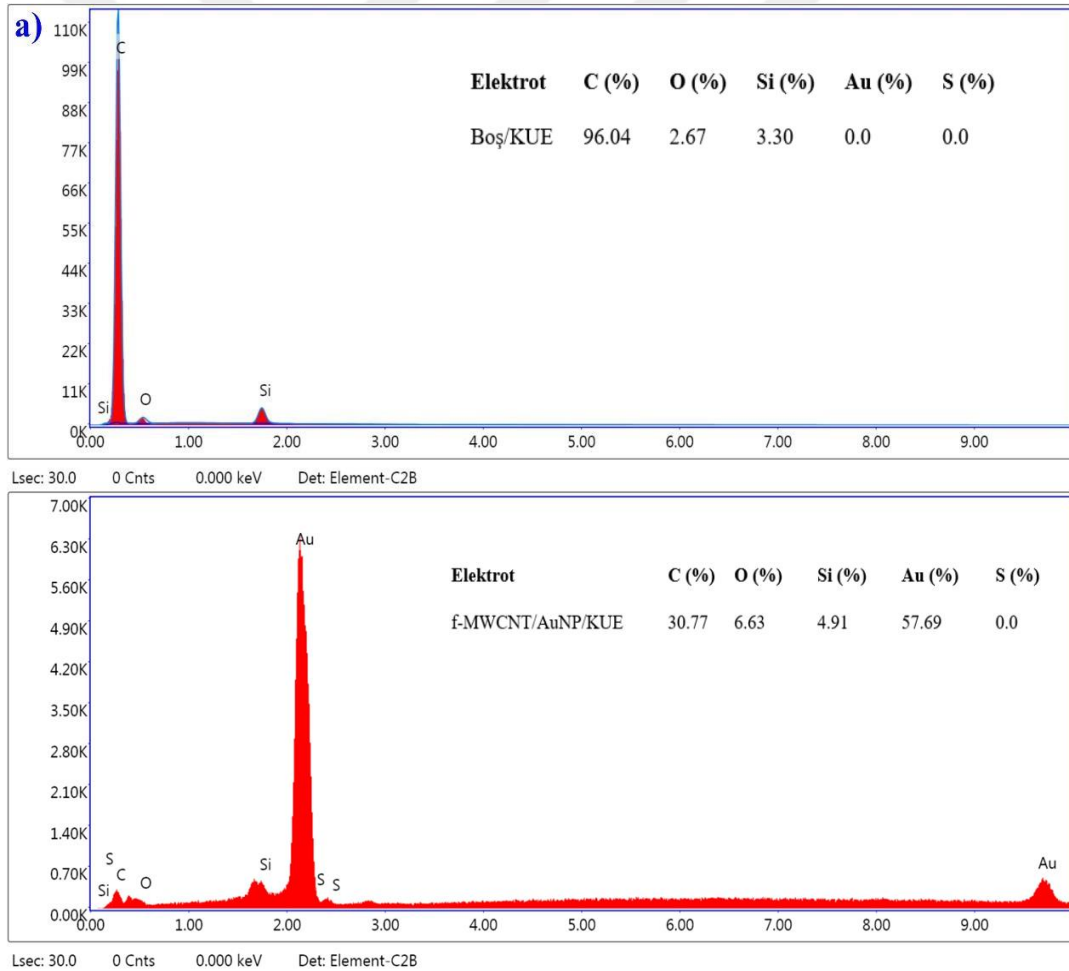
5.2.5.3 f-MWCNT/AuNP/KUE'un Taramalı Elektron Mikroskopisi Sonuçları

Morfoloji çalışmalarında, AuNP/KUE, f-MWCNT/KUE ve f-MWCNT/AuNP/KUE'un yüzeyini araştırmak için FESEM kullanılmıştır. Şekil 5.33c-d, farklı büyütmelerde f-MWCNT/AuNP/KUE'nin FESEM mikrograflarını göstermektedir. Boş/KUE, önceki çalışmalarda gösterildiği gibi düz bir yapıya sahiptir [28, 19]. AuNP, Boş/KUE'ye modifiye edildiğinde, altın nanopartiküller, Boş/KUE'a homojen bir şekilde dağılmış parlak küreler olarak görünmüştür (Şekil 5.33a). Şekil 5.33b'de, f-MWCNT, KUE yüzeyine adsorbe edilmiş ve birbiriyle bağlantılı tipik boru şeklindeki yapı olarak görülmüştür. Son elektrot olan f-MWCNT/AuNP/KUE, FESEM mikrografisinde (Şekil 5.33c-d), hem AuNP küreleri hem de adsorbe edilmiş f-MWCNT ile birlikte homojen olarak görülmüştür. FESEM sonuçları, AuNP ve f-MWCNT malzemelerinin KUE yüzeyinde başarıyla modifiye edildiğini desteklemektedir.



Şekil 5.33 a) AuNP/KUE (25000x büyütme), **b)** f-MWCNT/KUE (25000x büyütme) ve **c)** f-MWCNT/AuNP/KUE (50000x) ve **d)** f-MWCNT/AuNP/KUE (100000x büyütme) yüzeyinden FESEM mikrografları.

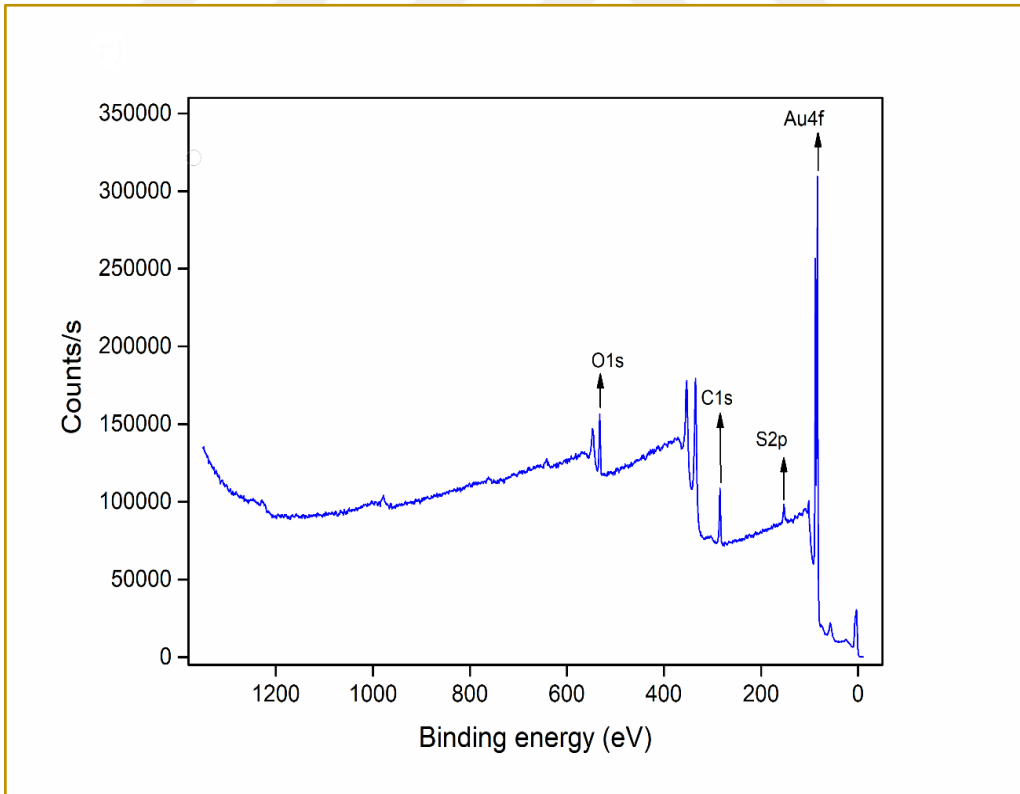
Elektrot malzemesinin temel bileşimleri, f-MWCNT/AuNP/KUE, Şekil 5.34'te gösterildiği gibi enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi (EDX) spektrumları kullanılarak incelenmiştir. EDX spektrumunda gösterildiği gibi, hem Boş/KUE hem de f-MWCNT/AuNP/KUE, Karbon (C), Oksijen (O) ve Silikon (Si) içerir. Si, elektrot bileşiminden gelmektedir. f-MWCNT/AuNP/KUE'un EDX spektrumlarında görülen kükürt (S) ise destek elektrolit çözeltisinden (sülfürik asit) gelmektedir. Boş/KUE ve f-MWCNT/AuNP/KUE için atom yüzdeleri, Şekil 5.34'ün içinde verilmiştir. EDX spektrumu f-MWCNT/AuNP/KUE'un %30,77, %6,63 ve %57,69 ile sırasıyla C, O ve Altın (Au) elementleri içerdiğini göstermiştir. Bu sonuçlar, AuNP'ün varlığını ve MWCNT'ün KUE yüzeyinde karboksilik asit grupları ile işlevselleştirilmesini açıkça doğrulamaktadır. Bu nedenle, modifikasyon KUE yüzeyinde başarıyla gerçekleştirilmiştir.



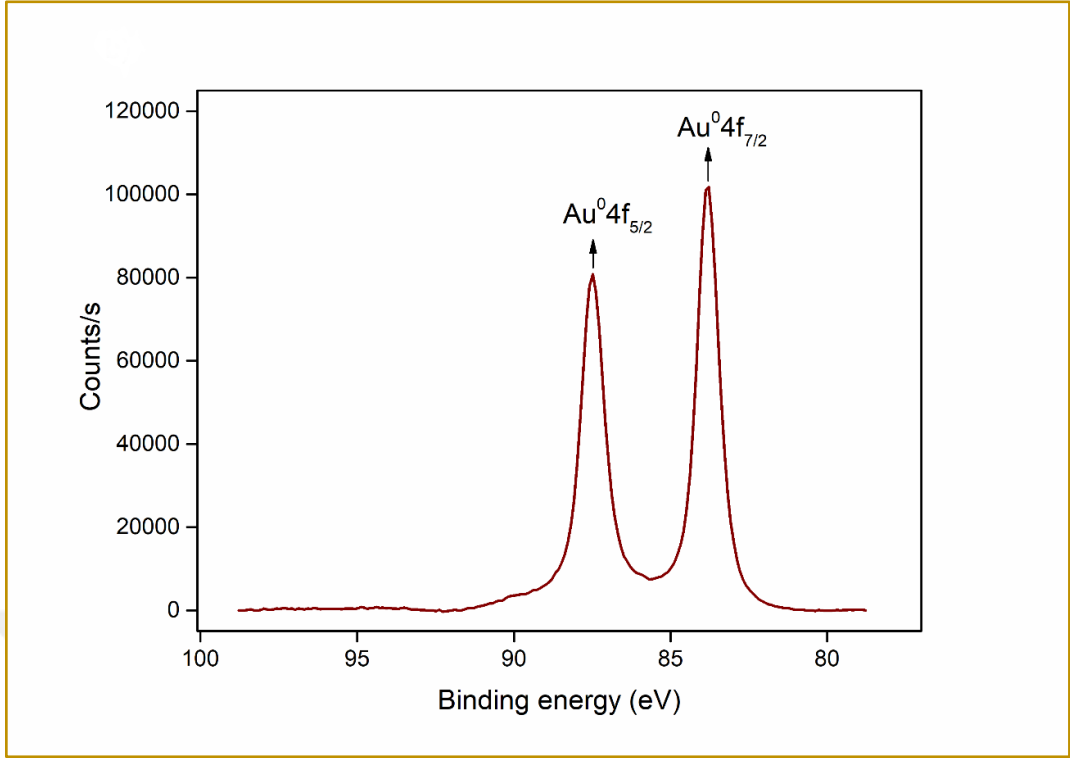
Şekil 5.34 a) Boş/KUE ve b) f-MWCNT/AuNP/KUE'un atomik yüzde tabloları ile EDX analiz sonuçları.

5.2.5.4 f-MWCNT/AuNP/KUE'nin X-Işınları Fotoelektron Spektroskopisi İle Karakterizasyonu

Elektrotun temel bileşimi XPS ile tanımlanabilir ve bileşen atomların (iyonların) özelliklerini, bağlanma enerjilerini göstererek belirlemede etkili olduğu bulunmuştur [130]. Şekil 5.35 ve Şekil 5.36, f-MWCNT/AuNP/KUE'un XPS profillerini göstermektedir. Şekil 5.35'te gösterildiği gibi, C, O ve Au olmak üzere üç temel element vardır. 285,08 eV ve 532,08 eV'deki f-MWCNT/AuNP/KUE'un ana pikleri sırasıyla C1s ve O1s'lerin bağlanma enerjisine atfedilir [145]. 84,08 eV'de Au4f çekirdek hattı Au⁰ ile ilgilidir [146]. Ayrıca, 153,08 eV'deki S2p çekirdek hattı AuNP modifikasyonundaki H₂SO₄ kalıntılarına atfedilebilir. Şekil 5.36'te ise, 78 ile 98 eV arasındaki f-MWCNT/AuNP/KUE'un bağlanma enerjisinin tarama aralığını göstermektedir. Bu tarama sonucunda, 83,7 ve 87,4 eV'de bir çift pik noktasının meydana geldiği görülmektedir. Bu pikler, sırasıyla Au4f_{7/2} ve Au4f_{5/2}'ye karşılık gelir ve bu, Au⁰ varlığının tipik bir göstergesidir [106]. Bu sonuçlar, modifikasyon işlemlerinin KUE yüzeyinde başarıyla gerçekleştirildiğini göstermektedir.



Şekil 5.35 f-MWCNT/AuNP/KUE'un XPS taraması spektrumu



Şekil 5.36 f-MWCNT/AuNP/KUE'a karşılık gelen Au4f XPS bantları.

5.2.5.5 f-MWCNT/AuNP/KUE'un Elektroaktif Yüzey Alanının Hesaplanması

Boş/KUE ve f-MWCNT/AuNP/KUE'un elektroaktif yüzey alanı, standart elektrolit çözeltisi olarak 0,1 mol L⁻¹ KCl içeren 1,0 mmol L⁻¹ K₄Fe(CN)₆'da CV yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir [112]. Pik akımının (I_p) tarama hızının (v^{1/2}) kareköküne bağımlılığı, Randles-Sevcik denklemi (1) kullanılarak belirlenmiştir.

$$I_p = 2.69 \times 10^5 n^{1/2} A D^{1/2} C^* v^{1/2} \quad (5.7)$$

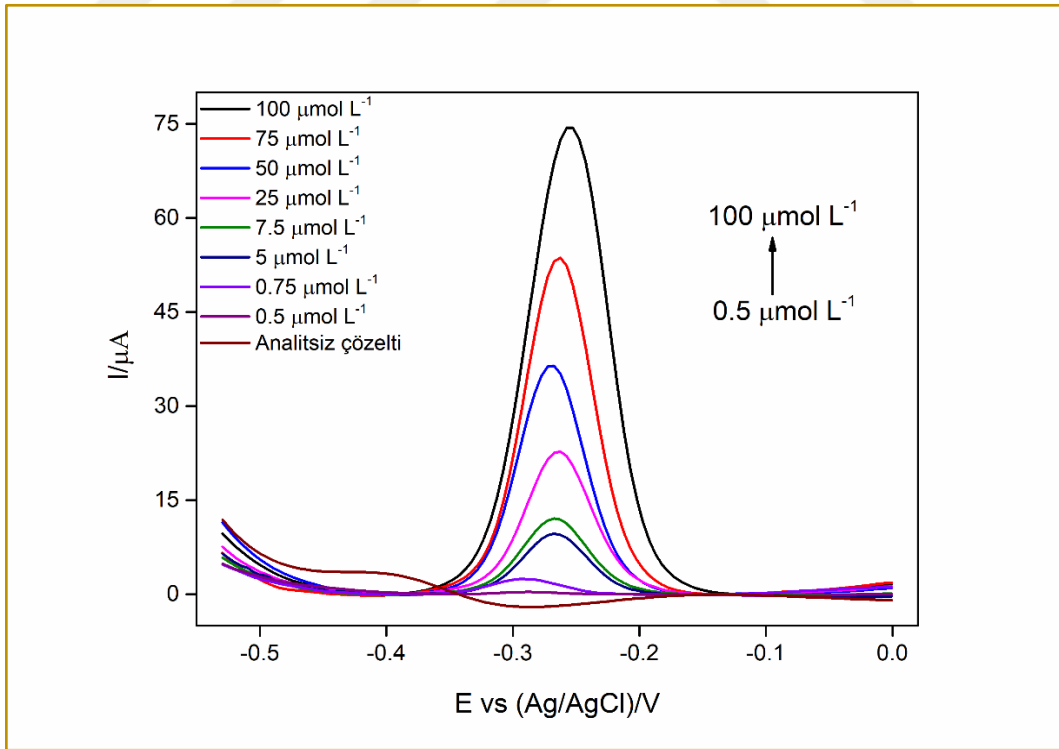
Bu denklemde I_p redoks çiftinin pik akımı, n redoks reaksiyonuna katılan elektronların sayısı, A elektrotun alanı (cm²), D ise çözeltideki moleküllerin difüzyon katsayısı, C * K₄Fe(CN)₆'nın (mol cm⁻³) derişimi ve v (V s⁻¹) tarama hızıdır. 25 ° C'de difüzyon sabiti değeri (D = 6,7×10⁻⁵ cm² s⁻¹) literatürden bulunmuştur [112]. Denkleme göre, etkin yüzey alanları (A) I_p/v^{1/2} grafiği kullanılarak hesaplanmıştır. Boş/KUE'nin elektroaktif yüzey alanı değeri 2,86×10⁻⁷ cm² iken, f-MWCNT/AuNP/KUE ise 5,73×10⁻⁷ cm² olarak hesaplanmıştır. Bu sonuca göre, f-MWCNT/AuNP/KUE'nin elektroaktif yüzey alanı Boş/KUE'den 2 kat daha büyüktür ve tasarlanan sensör RF davranışına duyarlıdır.

5.2.6 f-MWCNT/AuNP/KUE'un Analitiksel Uygulaması

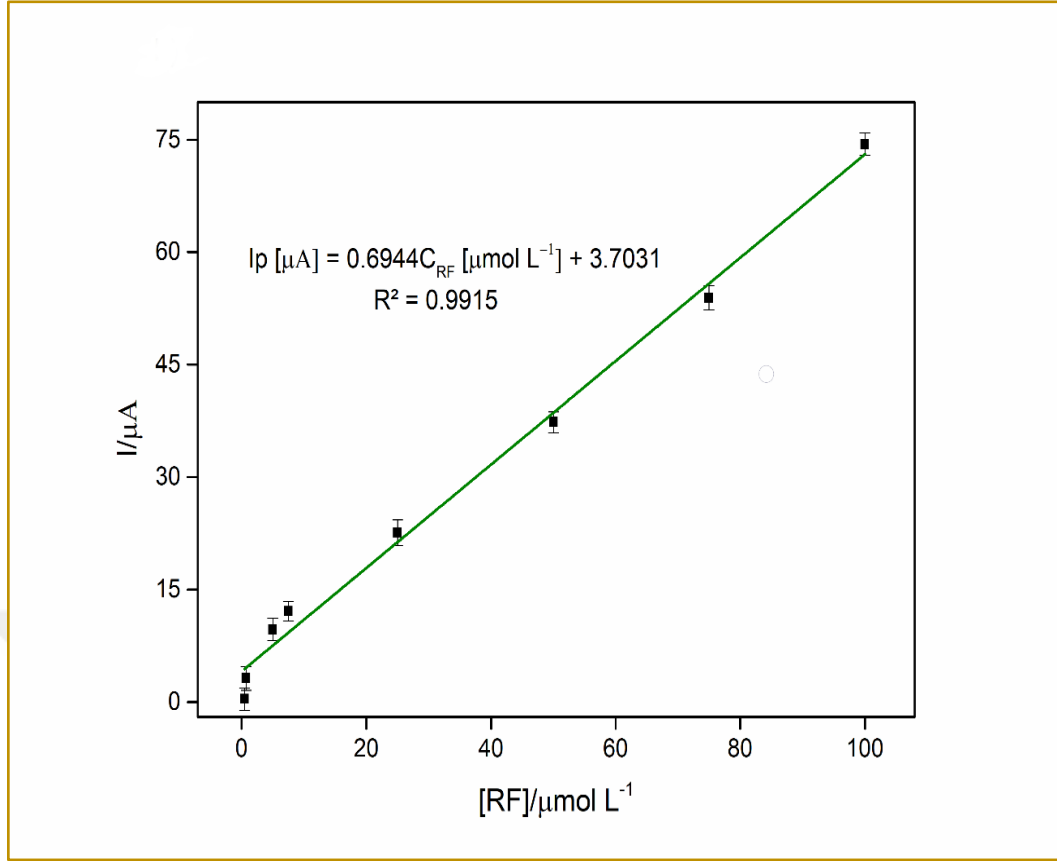
f-MWCNT/AuNP/KUE'un hassasiyetini değerlendirmek için, DPV yöntemi 0,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$, 0,75 $\mu\text{mol L}^{-1}$, 5,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, 7,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$, 25 $\mu\text{mol L}^{-1}$, 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$, 75 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ve 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ derişimlerdeki RF fosfat tamponu içinde (pH 4,0, 0,1 mol L^{-1}) ölçülmüştür. DPV tekniğı, faradaik olmayan akımları en aza indirerek daha hassas sonuçlar ürettiğinden, derişim analizi için DPV tekniğı kullanılmıştır.

Şekil 5.37 ve Şekil 5.38'de gösterildiğı gibi, RF derişimi arttıkça pik akımında bir artış gözlemlenmiştir. Yöntemin kesinliğini belirlemek için tüm ölçümler beş kez tekrarlanmış ve standart sapma hesaplanmıştır. Gözlemlenebilme ve tayin sınırları kS/m kullanılarak hesaplanmıştır. Burada LOD için $k = 3$, LOQ için $k = 10$, S boş cevabın standart sapması ve m kalibrasyon eğrisinin eğimidir. LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 0,0352 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ve 0,118 $\mu\text{mol L}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. 0,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ve 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ arasında çeşitli konsantrasyonlar kullanılarak, doğrusal ilişki şu şekilde tanımlanmıştır:

$$I_p [\mu\text{A}] = 0,6944C_{\text{RF}} [\mu\text{mol L}^{-1}] + 3,7031, \quad R^2 = 0,9915 \quad (5.8)$$



Şekil 5.37 Farklı RF derişimlerinin DPV sonuçları.



Şekil 5.38 RF için ortaya çıkan kalibrasyon ilişkisi.

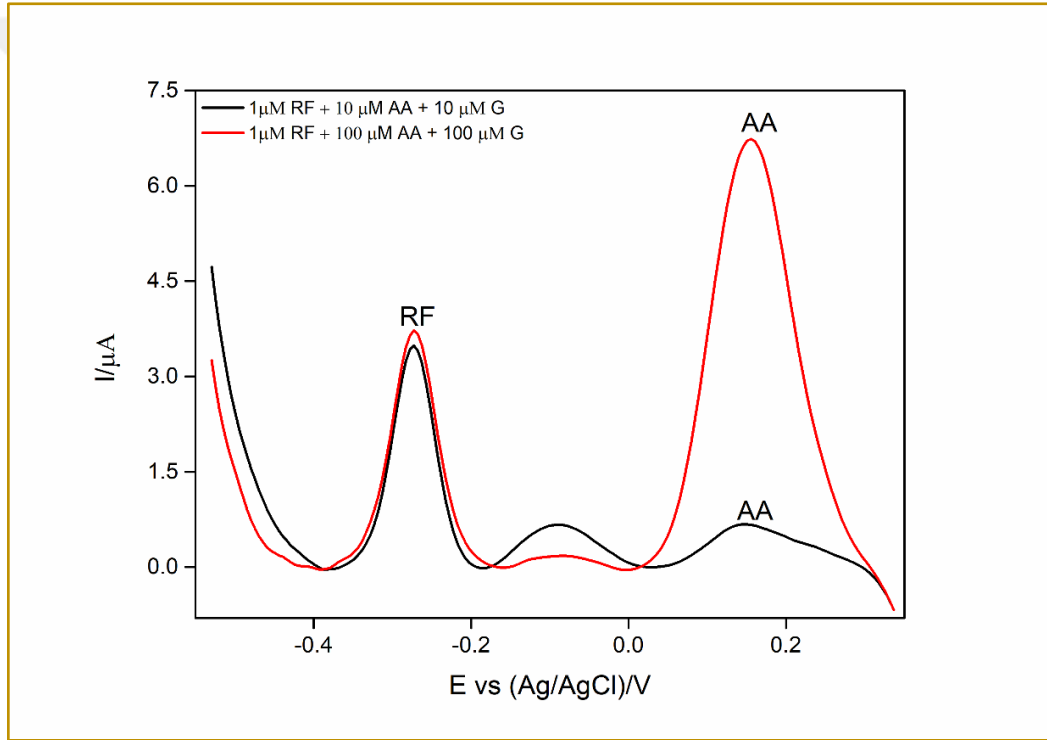
Literatürde RF belirlemeye yönelik bazı çalışmalar, önceden bildirilen bazı elektrokimyasal prosedürlerle karşılaştırmak için Tablo 5.5 verilmiştir. İlk olarak, hazırlanan sensör tek kullanımlık, kolay hazırlama ve düşük maliyet gibi bazı avantajlar sağlar. İkinci olarak, f-MWCNT/AuNP/KUE'un Tablo 5.5'deki RF tayini için önceki yöntemlere kıyasla geniş bir kalibrasyon aralığı, yüksek hassasiyet ve düşük tespit limiti sergilediği gösterilmiştir. Ayrıca, f-MWCNT/AuNP/KUE, geniş bir kalibrasyon aralığı gösterir. Bu nedenle, süt ve ilaç örneklerinde RF'nin belirlenmesinde tatmin edici geri kazanım sonuçları elde edilmiştir, bu da f-MWCNT/AuNP/KUE'un gerçek örneklerde RF'i belirlemek için başarıyla kullanılabileceğini göstermektedir.

Tablo 5.5 Önerilen elektrotun analitik parametrelerinin bildirilen diğer sensörlerle karşılaştırılması.

Elektrot	Metot	Doğrusal aralık ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Referans
Poli(treonin) modifiye karbon macun elektrot	Diferansiyel puls voltametrisi	0,2-1,0	1,78	[147]
Camsı karbon elektrot	Kare dalga voltametrisi	1,5-30	0,90	[148]
Hematit film modifiyeli döner disk	Kare dalga voltametrisi	1,3-9,0	0,1	[149]
Sıralı mezogözenekli karbon elektrot	Dönüşümlü voltametri	0,4-1	0,02	[150]
SnO ₂ -nanoteller	Diferansiyel puls voltametrisi	0,0-13	0,6	[151]
Co ²⁺ -Y modifiyeli karbon pasta elektrot	Dönüşümlü voltametri	1,7-34	0,71	[152]
TiO ₂ nanopartikül modifiyeli karbon pasta elektrot	Diferansiyel puls voltametrisi	2,4-240	1,6	[153]
Grafen modifiyeli camsı karbon elektrot	Diferansiyel puls voltametrisi	0,015-0,001	0,0001	[154]
Fonksiyonellendirilmiş çok duvarlı karbon nanotüp/altın nanopartikül/kalem ucu elektrot	Diferansiyel puls voltametrisi	0,5-100	0,0352	Bu çalışma

5.2.7 f-MWCNT/AuNP/KUE'un Anti-Girişim Yeteneği

Anti-girişim yeteneği, bir elektrokimyasal sensörü değerlendirmek için önemli bir faktördür. f-MWCNT/AuNP/KUE'un seçiciliğini araştırmak için glikoz (G) ve askorbik asit (AA) gibi potansiyel etkileşimler seçilmiştir. Optimize edilmiş koşullar altında, bu girişimleri içeren ($10 \mu\text{mol L}^{-1}$ AA, $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ G, $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ AA ve $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ G) $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ RF çözeltisinde yükseltgenme pik akımları DPV yöntemi kullanılarak ölçülmüştür (Şekil 5.39). Sonuçlar, 10 kat AA ve 10 kat G ve 100 kat G ve 100 kat AA'nın RF ile önemli bir etkileşime sahip olmadığını göstermiştir. Voltamogram, f-MWCNT/AuNP/KUE'un RF'nin seçici belirlenmesi için iyi bir anti-girişim olarak kullanılabileceğini açıkça göstermiştir.



Şekil 5.39 $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ RF içeren $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ AA ve $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ G ve $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ AA ve $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ G çözeltileri DPV sonuçları.

5.2.8 f-MWCNT/AuNP/KUE'un Tekrar Üretilirlik Ve Tekrarlanabilirliği

f-MWCNT/AuNP/KUE'un tekrarlanabilirliği, gün içi ve günler arası ölçümler kullanılarak karakterize edilmiştir. Gün içi tekrarlanabilirlik için, $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ RF çözeltisinde diferansiyel puls voltametrik ölçümler ile yeni hazırlanmış 10 farklı f-MWCNT/AuNP/KUE'lar kullanılmıştır. Bağıl standart sapma %3,26 olarak

belirlendi. Günler arası tekrarlanabilirlik değerleri, 10 gün boyunca tekrarlanan ölçümlerle elde edilmiştir. Bağlı standart sapma %3,52 olarak belirlendi. Ölçülen değerlere göre, f-MWCNT/AuNP/KUE'ların hazırlık aşamasında yeniden üretilbileceğini göstermektedir.

f-MWCNT/AuNP/KUE'lar, elektrotların stabilitesini incelemek için 45 gün süreyle bir vakumlu desikatörde saklanmıştır. 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ RF'de f-MWCNT/AuNP/KUE'ların periyodik diferansiyel puls voltametri ölçümleri yapılmıştır. Nihai değerlerden temel değerlere olan fark sadece %4,11 olarak bulunmuştur. Sonuç olarak, bu sonuçlar f-MWCNT/AuNP/KUE'un oldukça kararlı olduğunu göstermektedir.

5.2.9 Gerçek Örnek Analizi

Fizibiliteyi değerlendirmek için, süt ve ilaç numunelerinde RF tayininde f-MWCNT/AuNP/KUE kullanılmıştır. Süt örneğinde standart ekleme yöntemi kullanılarak ölçümler alınmıştır. Süt ve ilaç numuneleri Bölüm 4'te gerçek örnek çalışması kısmında ayrıntılı bir biçimde anlatılmıştır. Elde edilen sonuçlar Tablo 5.6'te verilmektedir. Tüm ölçümler üç kez tekrarlanmış ve bağlı standart sapma hesaplanmıştır. Süt numunesinin geri kazanım değerleri eklenen 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ RF ve 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ RF için sırasıyla %108,06 ve %103,03 olarak hesaplanmıştır. Ayrıca ilaç numunesinin geri kazanım değeri %105 olarak hesaplanmıştır (Tablo 5.7). Sonuçlar, önerilen yöntemin gerçek örnekler için doğru bir yaklaşım olarak uygulanabileceğini göstermiştir.

Tablo 5.6 Fosfat tamponunda (pH 4,0, 0,1 mol L⁻¹) f-MWCNT/AuNP/KUE ile süt numunesinde RF'nin belirlenmesi.

Örnek	Başlangıç ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Eklenen ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Bulunan ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Geri kazanım (%)	RSD (%)
	0,0	0,0	0,0	-	-
Süt	0,0	10	10,8	108,06	2,91
	0,0	20	20,6	103,03	3,07

Tablo 5.7 Fosfat tamponun'da (pH 4,0, 0,1 mol L⁻¹) f-MWCNT/AuNP/KUE ile ilaç numunesinde RF'nin belirlenmesi.

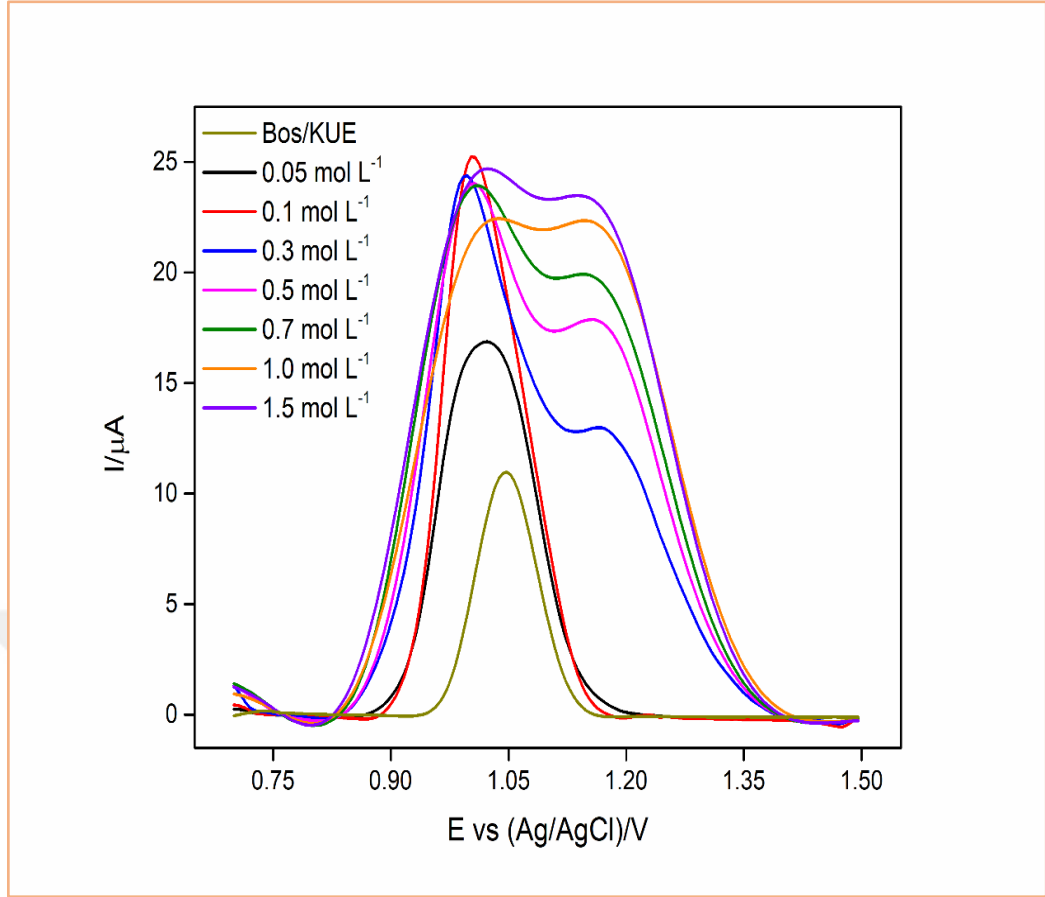
Örnek	Rapor edilen RF değeri (mg/mL)	Tayin edilen RF değeri (mg/mL)	Geri kazanım (%)	RSD (%)
İlaç	2,0	2,1	105,0	2,99

5.3 Piridoksin Tayini İçin AİG/KUE Geliştirilmesi

5.3.1 Anodik İşlem Görmüş Kalem Ucu Elektrotun Optimizasyon Çalışmaları

Anodik olarak ön işleme tabi tutulmuş elektrotun optimizasyon parametreleri olarak H₃PO₄ destek elektrolit çözeltisinin derişimi, uygulanan potansiyeli ve süresi gibi parametreler incelenmiş ve bunların Py akımı üzerindeki etkileri 300 µmol L⁻¹ Py içeren fosfat tamponunda (pH 3,0, 0,1 mol L⁻¹) değerlendirilmiştir.

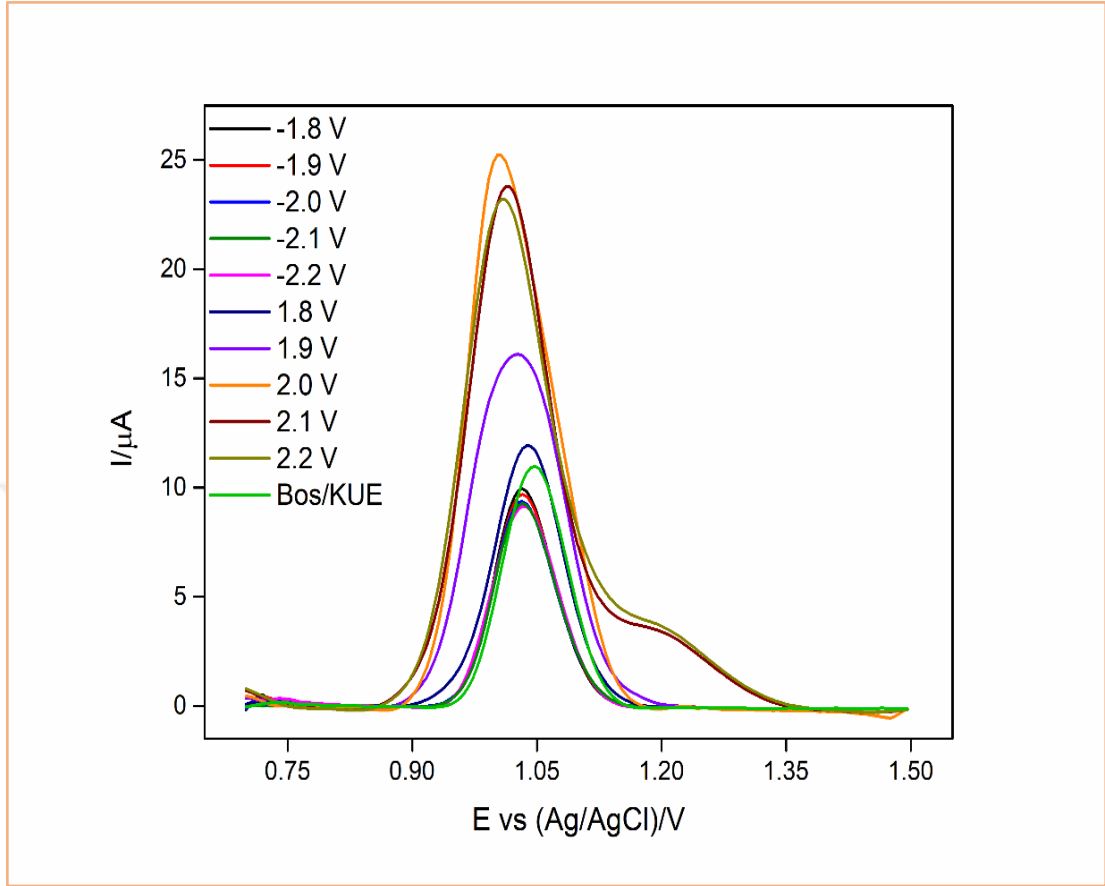
İlk olarak elektrotlar, 2,0 V ve 100 saniyede 0,05, 0,1, 0,3, 0,5, 0,7, 1,0 ve 1,5 mol L⁻¹ derişimlerinde H₃PO₄ destek elektrolit çözeltileri içinde hazırlanmıştır. Daha sonra bu elektrotlar, analit çözeltisinde DPV yöntemi kullanılarak ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlara göre pik akımı 0,05 mol L⁻¹'den 0,1 mol L⁻¹'e yükselirken, 0,1 mol L⁻¹'den sonra akım azalmış ve bu düşüşler ile pik şeklinde bozulma meydana gelmiştir (Şekil 5.40). Elde edilen voltamogramlar ışığında, en yüksek yanıtı veren 0,1 mol L⁻¹, H₃PO₄ destek elektrolit çözelti derişimi olarak seçilmiştir.



Şekil 5.40 Elektrokimyasal ön işlem süreci için H_3PO_4 destekleyici elektrolit çözeltisinin derişim optimizasyonu.

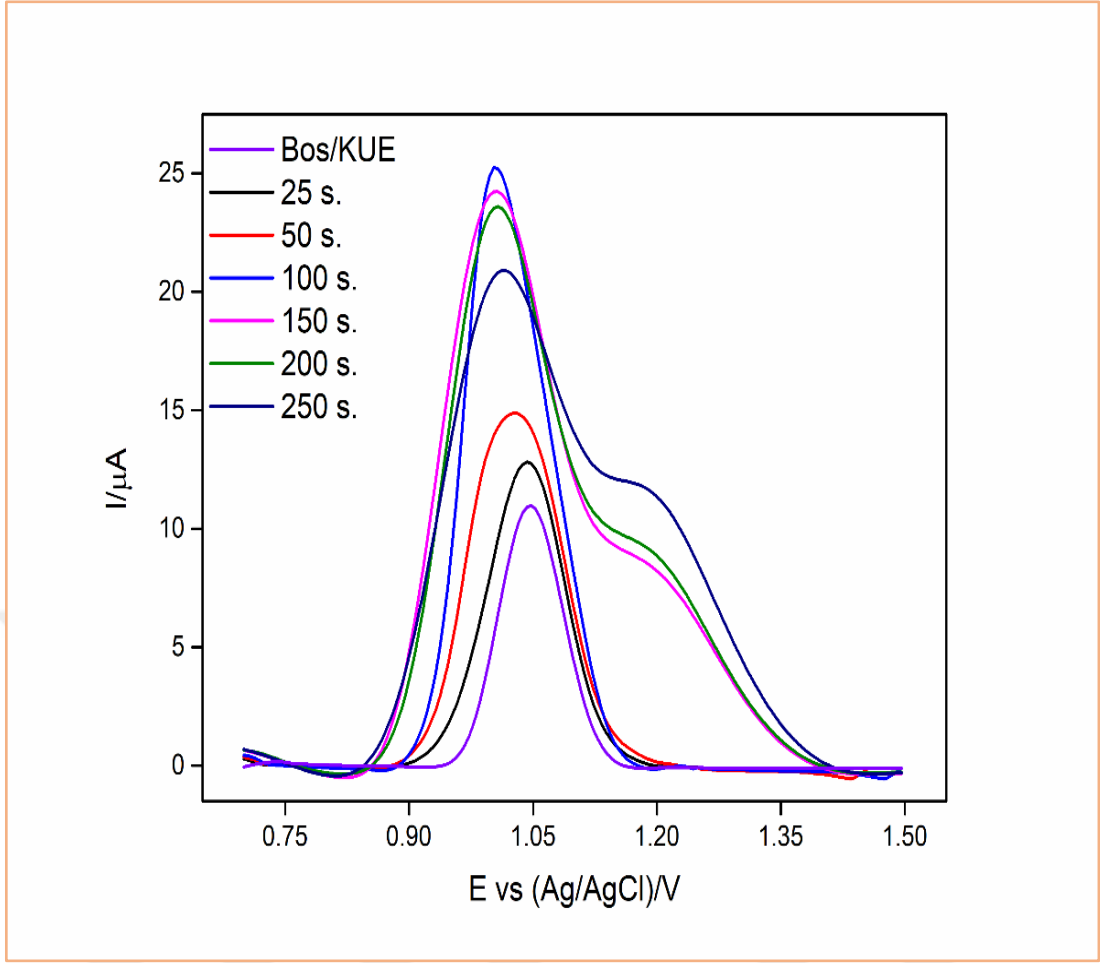
İkinci olarak, en yüksek Py akımı yanıtına sahip derişimini seçtikten sonra, seçilen derişimde bir potansiyel optimizasyon çalışması gerçekleştirilmiştir. Bu optimizasyon çalışmasında -2,2 V ila +2,2 V arasındaki tüm potansiyeller test edilmiştir. Katodik polarizasyon ile yapılan elektrokimyasal ön işlem elektrotları, pik akımında -2,2 V'tan -1,8 V'a bir artış gösterdi. Ancak bu artış, anodik polarizasyonda yapılan elektrotlar kadar iyi bir yanıt değildir. Öte yandan anodik polarizasyon ile yapılan elektrotlar +1,8 V'den +2,0 V'a artış gösterirken, +2,0 V'den sonraki potansiyeller pik şeklinde bir azalma ve bozulma göstermiştir (Şekil 5.41). Bunun nedeni şu şekilde açıklanabilir. Karbon elektrotların anodik polarizasyonunda sonucunda elektrot yüzeyinde oksijen içeren fonksiyonel grupların oluşumunun literatürde bildirilmektedir [155,156]. AİG/KUE yüzeyinde fonksiyonel gruplar arttıkça, Py'nin adsorpsiyonu ve yükseltgenme miktarı artar.

Ancak daha yüksek potansiyel değerlerinde, bu fonksiyonel gruplar -COOH gruplarına dönüşebilir ve elektrot aktivitesi kaybolabilmektedir [157].



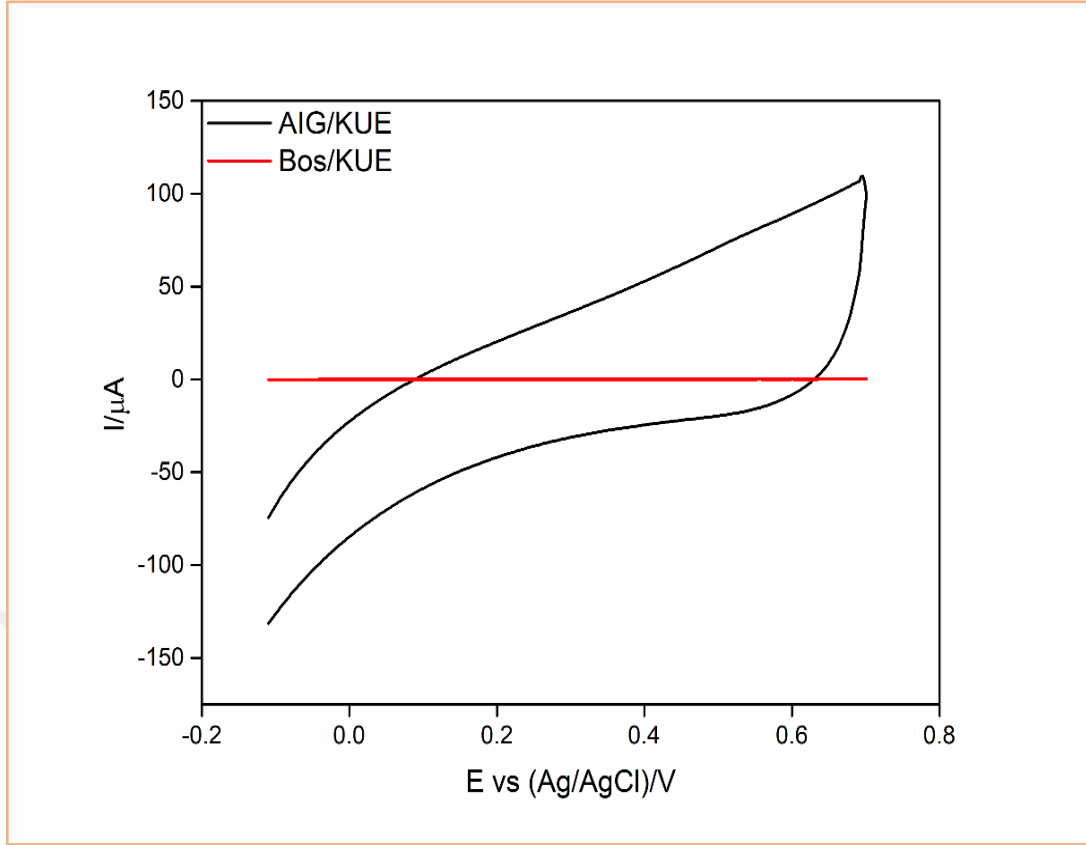
Şekil 5.41 Elektrokimyasal ön işlem süreci için potansiyel optimizasyonu.

Son olarak, zaman optimizasyonu (25, 50, 100, 150, 200 ve 250 saniye) önceden seçilen derişim ve potansiyelde ($0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_3\text{PO}_4$ ve $2,0 \text{ V}$) gerçekleştirildi. Derişim ve potansiyel çalışmalarında görüldüğü gibi pik akımı 25 saniyeden 100 saniyeye doğru artarken, 100 saniyeden sonra pik akımında bir azalma meydana gelmiş ve pik şekli bozulmuştur (Şekil 5.42). Bu nedenle, en yüksek Py akım yanıtını veren 100 saniye, optimum süre olarak seçilmiştir.



Şekil 5.42 Elektrokimyasal ön işlem süreci için zaman optimizasyonu.

Buna ek olarak, tasarlanan modifiye elektrotun elektroaktif özelliğini incelemek için 0,1 mol L⁻¹ KCl içeren sulu çözelti hazırlanmıştır. Hazırlanan AİG/KUE, KCl çözeltisi içerisinde -0,3 V ile 0,7 V arasında voltamogramı alınmıştır. Elde edilen voltamograma göre, kalem ucu elektrot yüzeyinde gerçekleştirilen elektrokimyasal ön işlem sonucunda elektrot herhangi bir pik vermemektedir. Bu veriler, elde edilen modifiye elektrotun elektroinaktif özellik gösterdiği söylenebilir. (Şekil 5.43).

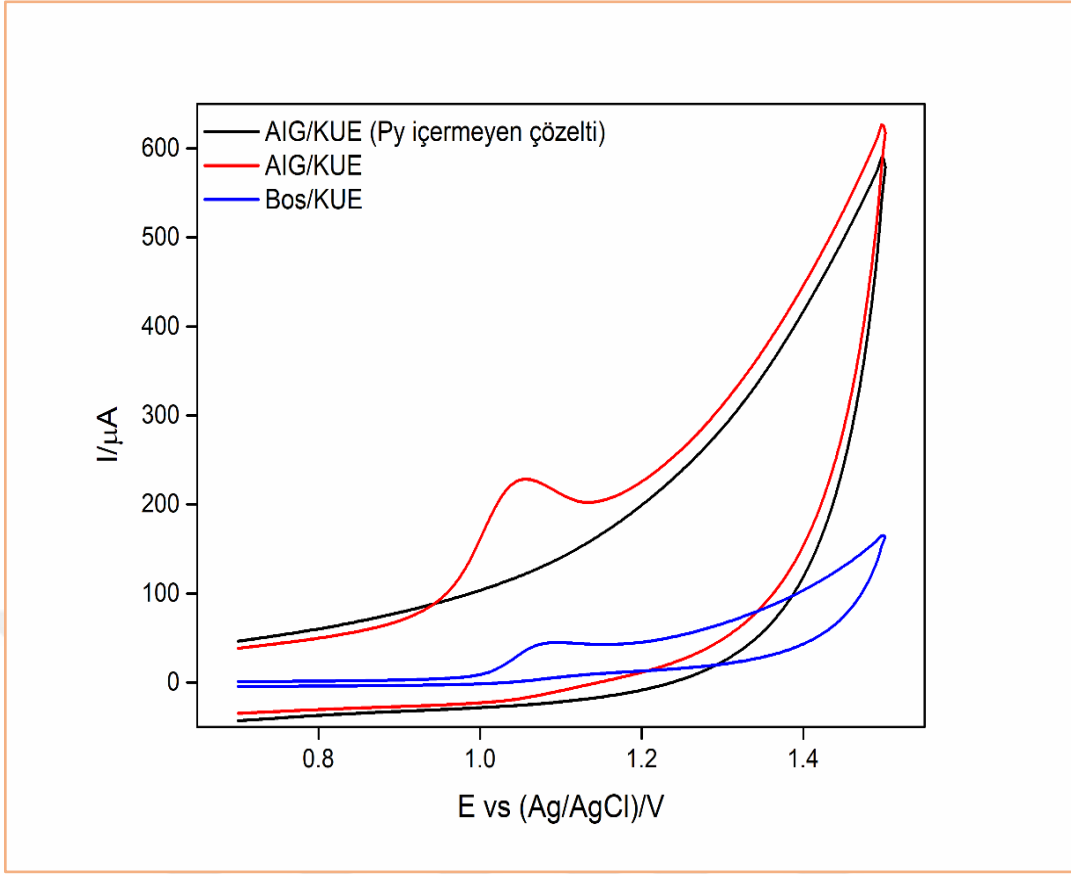


Şekil 5.43 AlG/KUE ve Boş/KUE'un 0.1 mol L⁻¹ KCl çözeltisindeki davranışı.

5.3.2 Py'nin AlG/KUE'taki Elektrokimyasal Çalışmaları

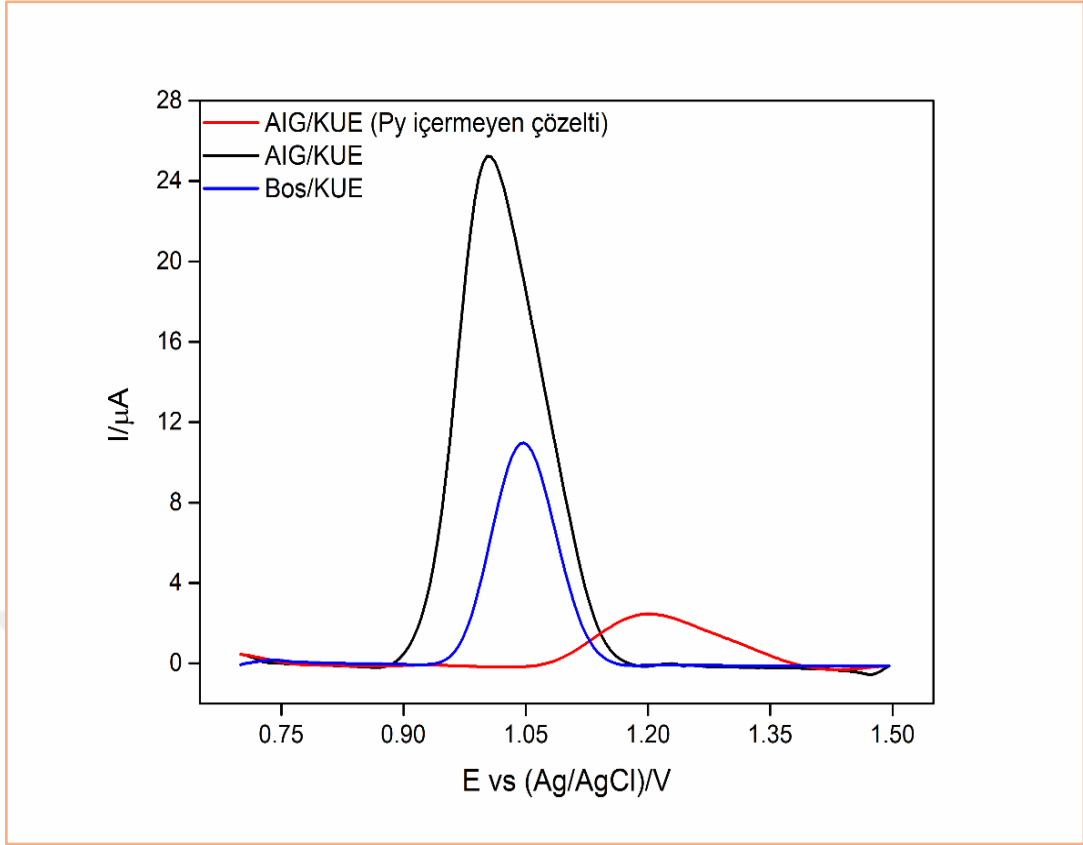
Elektrokimyasal çalışmalar, DPV ve CV yöntemleri kullanılarak 300 $\mu\text{mol L}^{-1}$ Py içeren fosfat tamponunda (pH 3,0, 0,1 mol L⁻¹) gerçekleştirilmiştir.

Elektrokimyasal davranış, analit çözeltisine 0,7 ile 1,5 V arasında bir potansiyel uygulanarak CV yöntemi kullanılarak incelenmiştir. CV voltamogramlarına göre, Boş/KUE'taki Py, 1,09 V'ta tersinmez bir yükseltgenme piki göstermiştir (Şekil 5.44). Benzer şekilde, bu yükseltgenme piki, AlG/KUE kullanıldığında 1,00 V'ta meydana gelmiştir. Ayrıca, Boş/KUE ve AlG/KUE'un yükseltgenme pik akımları sırasıyla 43 μA ve 228 μA 'de gözlemlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, Py yükseltgenme pikinin anodik işlem görmüş elektrot tarafından katodik bölgeye kaydırıldığını ve pik akımda yüksek bir artış meydana getirdiğini göstermiştir. Yani AlG/KUE'ta Py reaksiyonu boş elektrota göre daha az enerji harcayarak gerçekleşmiştir. Bu, AlG/KUE'un Py'e karşı elektrokatalitik etkisini kanıtlamaktadır.



Şekil 5.44 Boş/KUE ve AİG/KUE'ta $300 \mu\text{mol L}^{-1}$ Py içeren fosfat tamponunda (pH 3,0, 0,1 mol L^{-1}) Py yanıtının dönüşümlü voltamogramı.

Öte yandan, DPV ölçümlerinde Boş/KUE'taki pik akımı yaklaşık $11 \mu\text{A}$ iken, AİG/KUE kullanıldığında bu akım $25 \mu\text{A}$ 'e kadar çıkmıştır (Şekil 5.45). AİG/KUE akım farkını 2,3 kat artırmış ve pik potansiyeli CV sonuçlarında olduğu gibi katodik bölgeye taşımıştır. Bu pik artışı, elektrokimyasal ön işlem sürecinin elektrota iletkenlik, elektrokatalitik etki ve yüzey alanında bir artış meydana getirdiğinin bir kanıtıdır. Bununla birlikte, 1,2 V'ta elektrotun kendisine ait bir pik görünmektedir. Fakat bu pik analit pikinden ayrı potansiyellerde meydana gelmesinden ötürü Py analizinde herhangi bir engel teşkil etmemektedir.



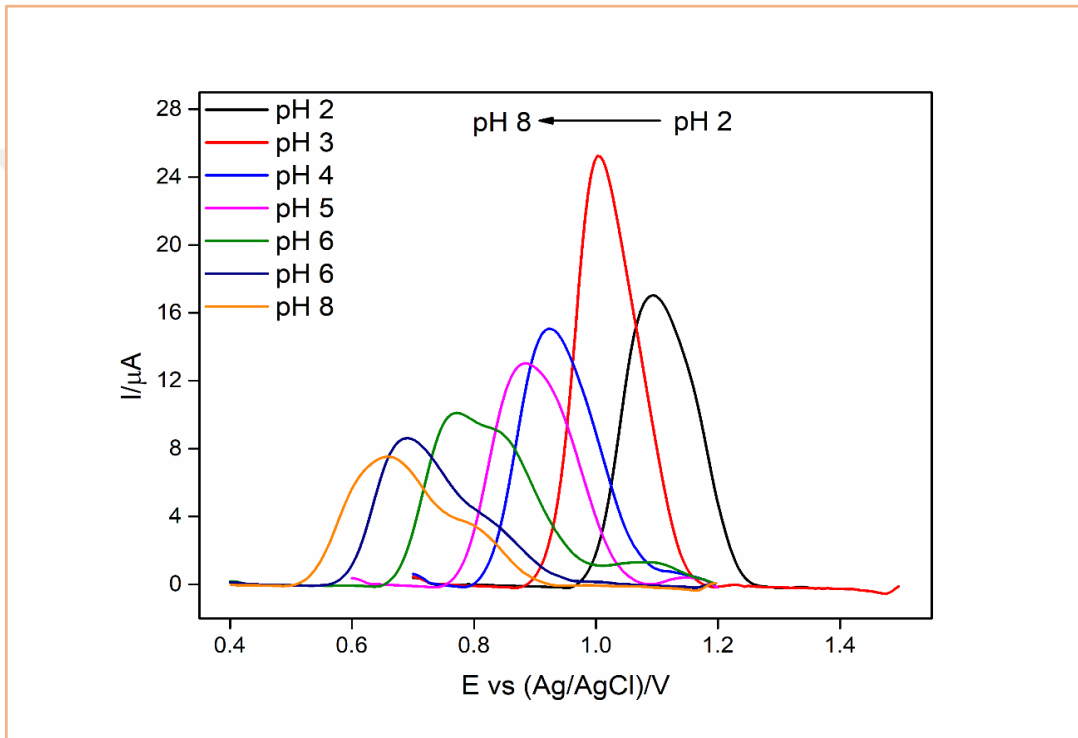
Şekil 5.45 Boş/KUE ve AlG/KUE'ta $300 \mu\text{mol L}^{-1}$ Py içeren fosfat tamponunda (pH 3,0, $0,1 \text{ mol L}^{-1}$) Py yanıtının diferansiyel puls voltamogramı.

5.3.3 pH Değişiminin Py'nin AlG/KUE'taki Elektrokimyasal Davranışı Üzerindeki Etkisi

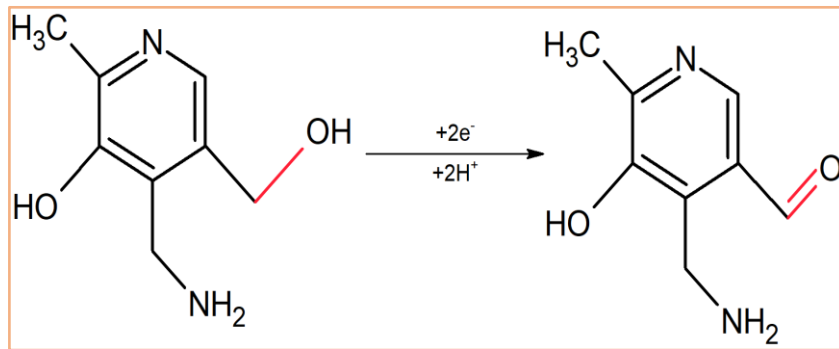
pH'nın Py oksidasyonu üzerindeki etkisini incelemek için DPV yöntemi kullanılmıştır. Ölçümler, fosfat tamponu pH 2,0, 3,0, 4,0, 5,0, 6,0, 7,0 ve 8,0'de AlG/KUE ile $300 \mu\text{mol L}^{-1}$ Py içeren fosfat tampon çözeltilerinde gerçekleştirilmiştir.

Şekil 5.46'e göre, pik akımı pH 2,0'den 3,0'e çıktıkça artarken, pH 3,0'den 8,0'e çıktıkça azalmakta ve pik şeklinde bir bozulma gözlemlenmektedir. Bunun sebebi şöyle açıklanabilir. Py, $pK_{a1} = 5,0$ ve $pK_{a2} = 8,96$ olmak üzere iki pKa değerine sahiptir [158]. $pH > pK_{a1}$ olduğunda, Py'nin yapısındaki piridinik nitrogen deprotonasyonlanır ve bir anyon haline gelir. Elektrokimyasal ön işlemlili elektrotta ise pH arttıkça yüzeydeki oksijen içeren gruplar protonlarını bırakır ve yüzey negatif olarak yüklenir [159]. Böylece hem analit hem de elektrot yüzeyi negatif yüke sahip olduğundan, elektrostatik olarak birbirlerini iterler ve Py'nin pik

akımında azalma görülür. Bununla birlikte, pH bazık bölgeye gittikçe pik akımı azalır ve pik şekli bozulur. Bunu sebebi ise bazık bölgeye gidildiğinde muhtemelen Py yapısının bozulmasıyla birlikte yapıdaki elektroaktif aldehit salınır ve molekül radikal forma dönüşür [160]. Bu nedenle, pik akımı azalabilir ve pik şekli bozulabilir. Sonuç olarak, artan pH ile negatif bölgeye kaydığı görülebilir, bu da protonun piridoksinin yükseltgenme reaksiyonuna katılımını gösterir [161]. Sonuç olarak, pH 3,0 optimum pH değeri olarak seçilmiştir. Bununla birlikte, gerçekleşen reaksiyon Şekil 5.47'deki gibidir [158].



Şekil 5.46 Çeşitli pH değerlerinde 300 $\mu\text{mol L}^{-1}$ Py içeren fosfat tamponu içindeki AİG/KUE'un diferansiyel puls voltamogramları.

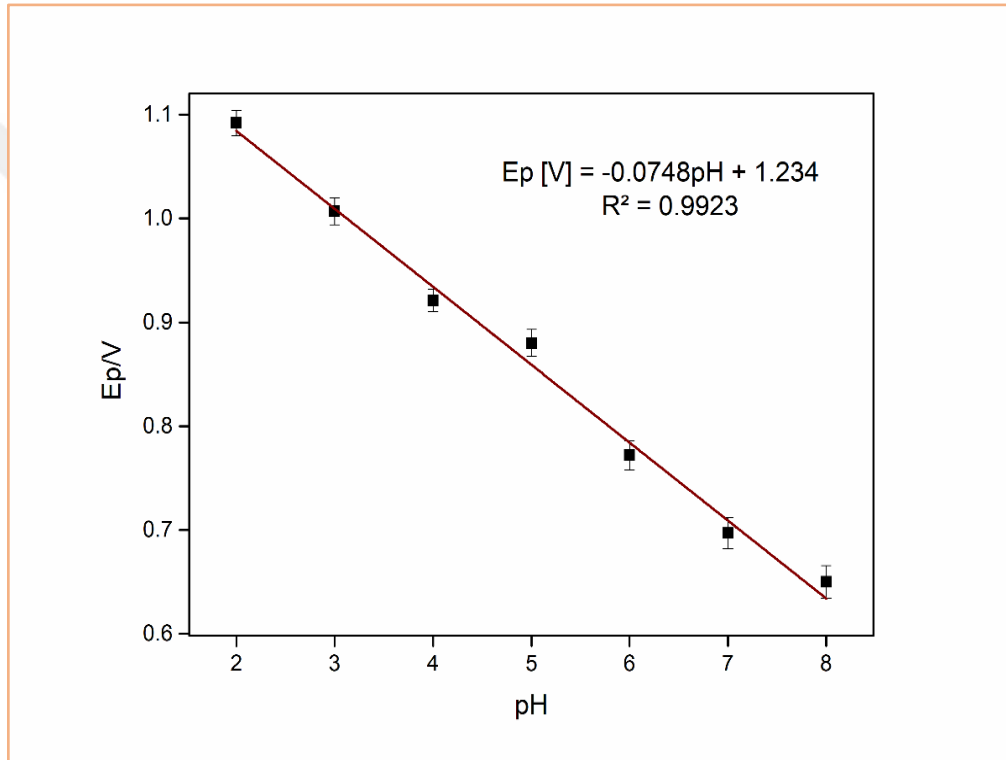


Şekil 5.47 AİG/KUE'ta gerçekleşen yükseltgenme reaksiyonu.

Py'nin pik potansiyeli (E_p), çözelti pH'sı ile ilgilidir (Şekil 5.48). pH ve pik potansiyeli (E_p) arasındaki doğrusal ilişki şu şekilde verilir:

$$E_p [V] = -0,0748pH + 1,234, \quad R^2 = 0,9923 \quad (5.9)$$

pH'nın bir fonksiyonu olarak E_p grafiğinin eğimi (-74 mV pH^{-1}) olarak hesaplanmıştır. Bu eğim değeri, $0,059 \text{ V pH}^{-1}$ teorik değerinden daha yüksek görülmektedir ve bu sonuç aktarılan elektron sayısının proton sayısına eşit olduğunu göstermektedir [162].



Şekil 5.48 pH değerinin bir fonksiyonu olarak akım ve potansiyel arasındaki ilişki.

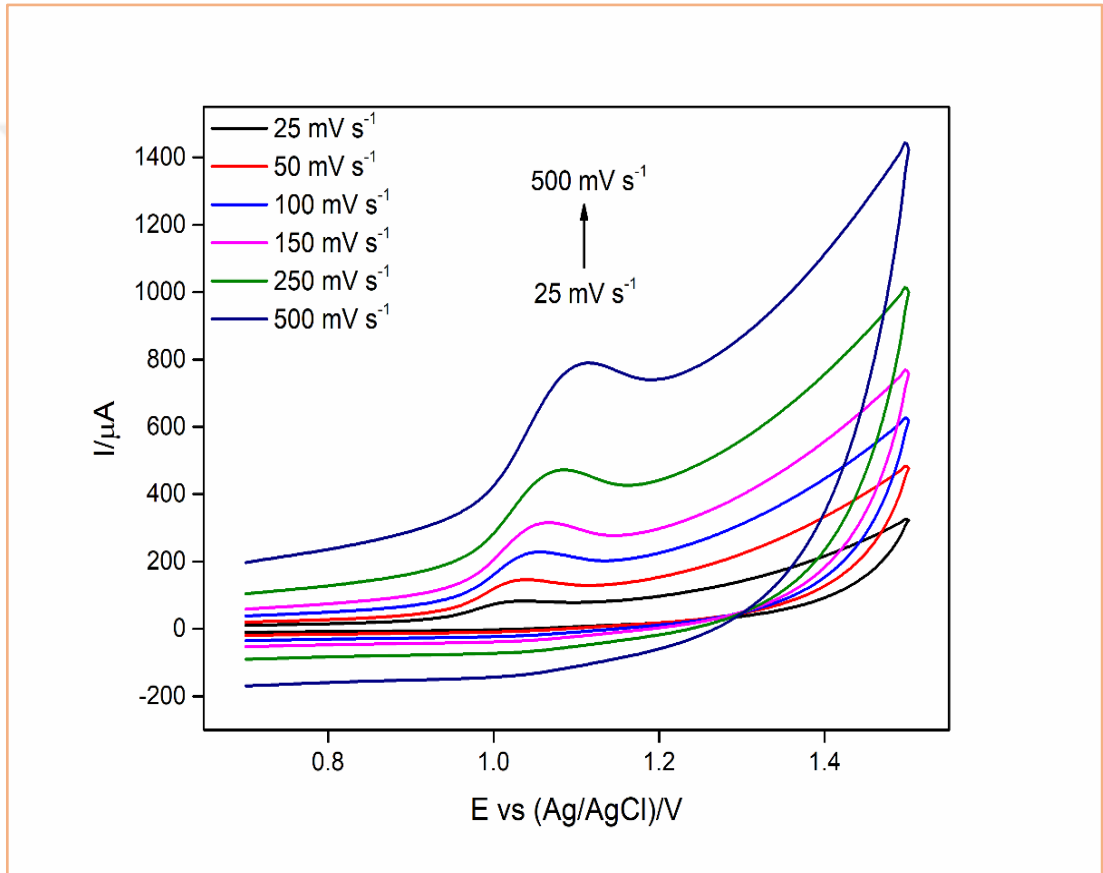
5.3.4 Tarama Hızının Py Cevabı Üzerindeki Etkisi

Piridoksinin kinetik özellikleri ve elektrokimyasal davranışı hakkında bilgi elde etmek için bir tarama hızı çalışması yapılmıştır. $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ fosfat tamponu pH 3,0'de AİG/KUE'un dönüşümlü voltamogramları, $25\text{-}500 \text{ mV s}^{-1}$ tarama hızı aralığında $300 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ piridoksin içeren analit çözeltisinde gerçekleştirilmiştir. Şekil 5.49'da gösterildiği gibi, tarama hızı 25'ten 500 mV s^{-1} 'e yükseldiğinde, pik potansiyeli daha yüksek değerlere kaymıştır. Bu da yükseltgenme işleminin tersinmez karakterini

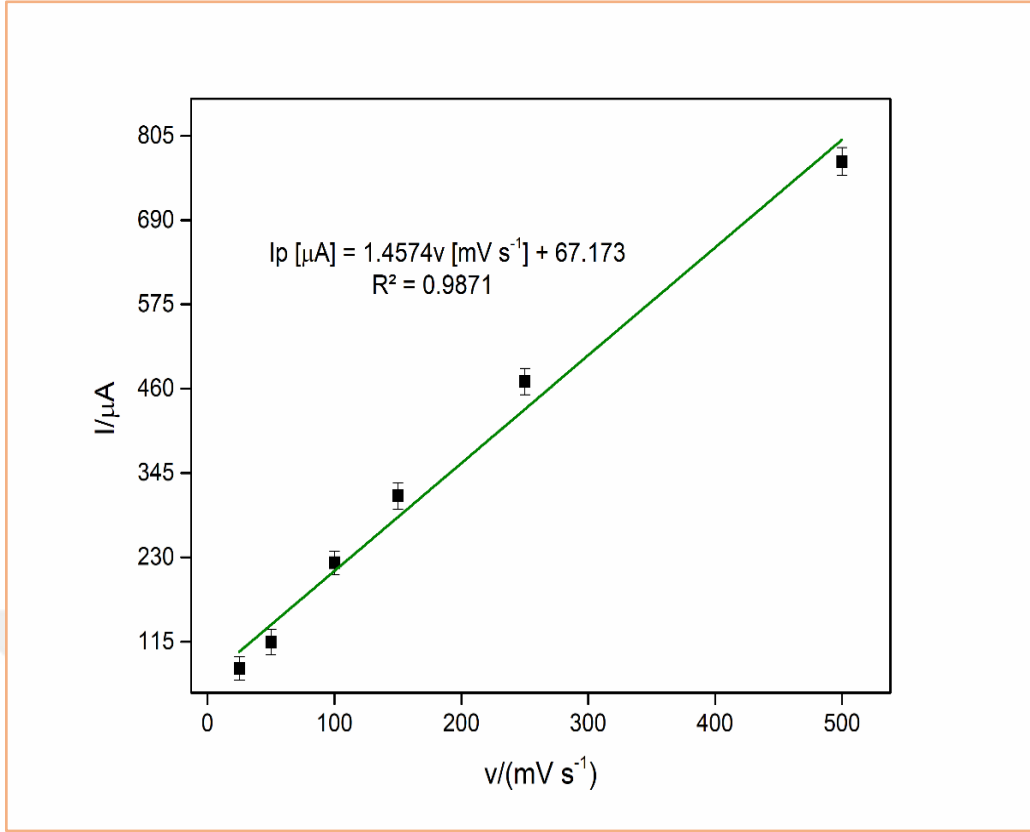
göstermektedir [163]. Bununla birlikte, I_p - v grafiğine bakıldığında, Py'nin yükseltgenme pik akımının doğrusallık gösterdiği görülmüştür (Şekil 5.50). 300 $\mu\text{mol L}^{-1}$ Py için I_p (μA) ve v (mV s^{-1}) arasında doğrusal bir denklem şu şekilde bulunmuştur:

$$I_p [\mu\text{A}] = 1,4718v [\text{mV s}^{-1}] + 65,752, \quad R^2 = 0,9884 \quad (5.10)$$

Bu sonuçlara göre, elde edilen bu doğrusallık, gerçekleşen reaksiyonun adsorpsiyon kontrollü olarak meydana geldiğini söylemektedir.



Şekil 5.49 Farklı tarama hızlarında tarama hızının bir fonksiyonu olarak 300 $\mu\text{mol L}^{-1}$ Py içeren fosfat tamponu (pH 3,0, 0,1 mol L^{-1}) içinde AİG/KUE'un dönüşümlü voltamogramları.

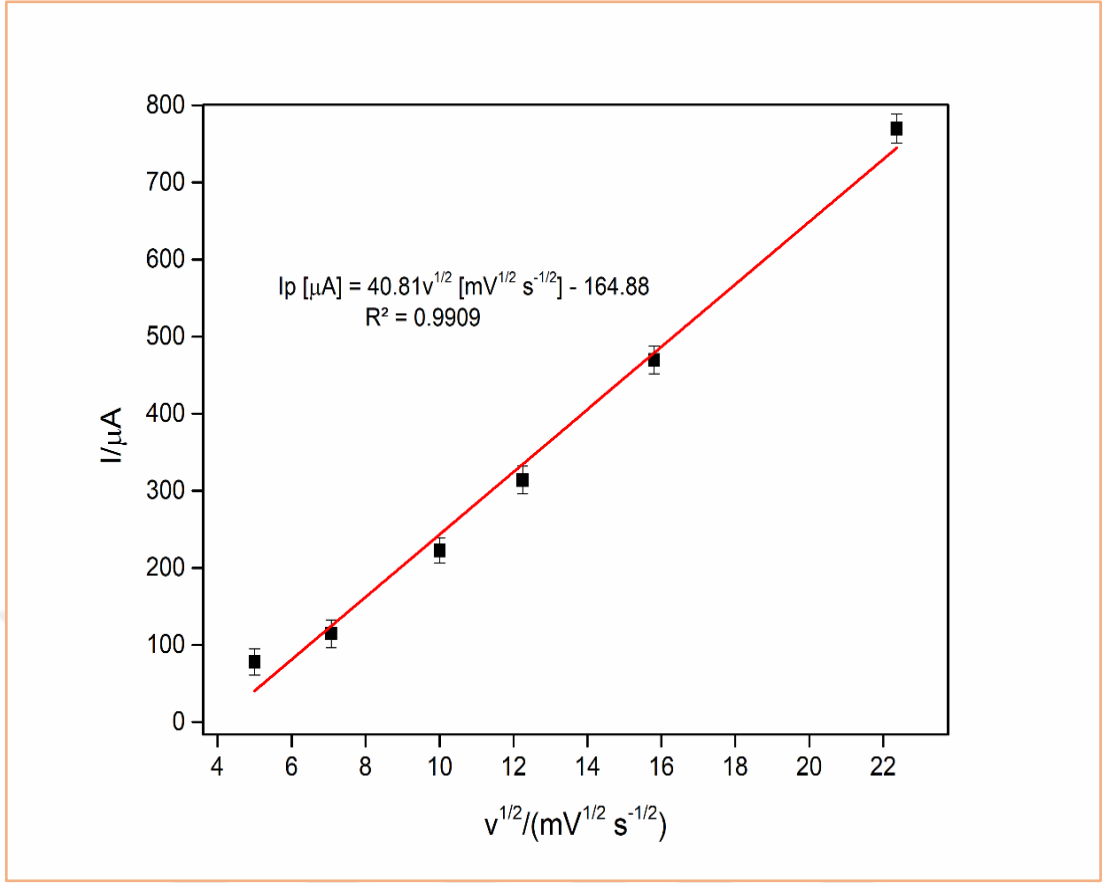


Şekil 5.50 Tarama hızı ile pik akımı arasındaki doğrusal ilişki.

Elektrokimyasal mekanizmaları içeren bilgiler, pik akımı ile tarama hızının karekökü arasındaki ilişkiden de elde edilebilir (Şekil 5.51) [131]. I_p - $v^{1/2}$ grafiği incelendiğinde, tarama hızının karekökü ile akım arasında doğrusal bir ilişki mevcuttur. 300 $\mu\text{mol L}^{-1}$ Py için I_p (μA) ve $v^{1/2}$ (mV s^{-1}) arasında doğrusal bir denklem şöyle bulunmuştur:

$$I_p [\mu\text{A}] = 40,818v^{1/2} [\text{mV}^{1/2} \text{s}^{-1/2}] - 164,88, \quad R^2 = 0,9909 \quad (5.11)$$

Bu doğrusal ilişki, AİG/KUE'taki PY'nin elektrokimyasal yükseltgenmesinin difüzyon kontrollü gerçekleştiğini doğrulamıştır [164].

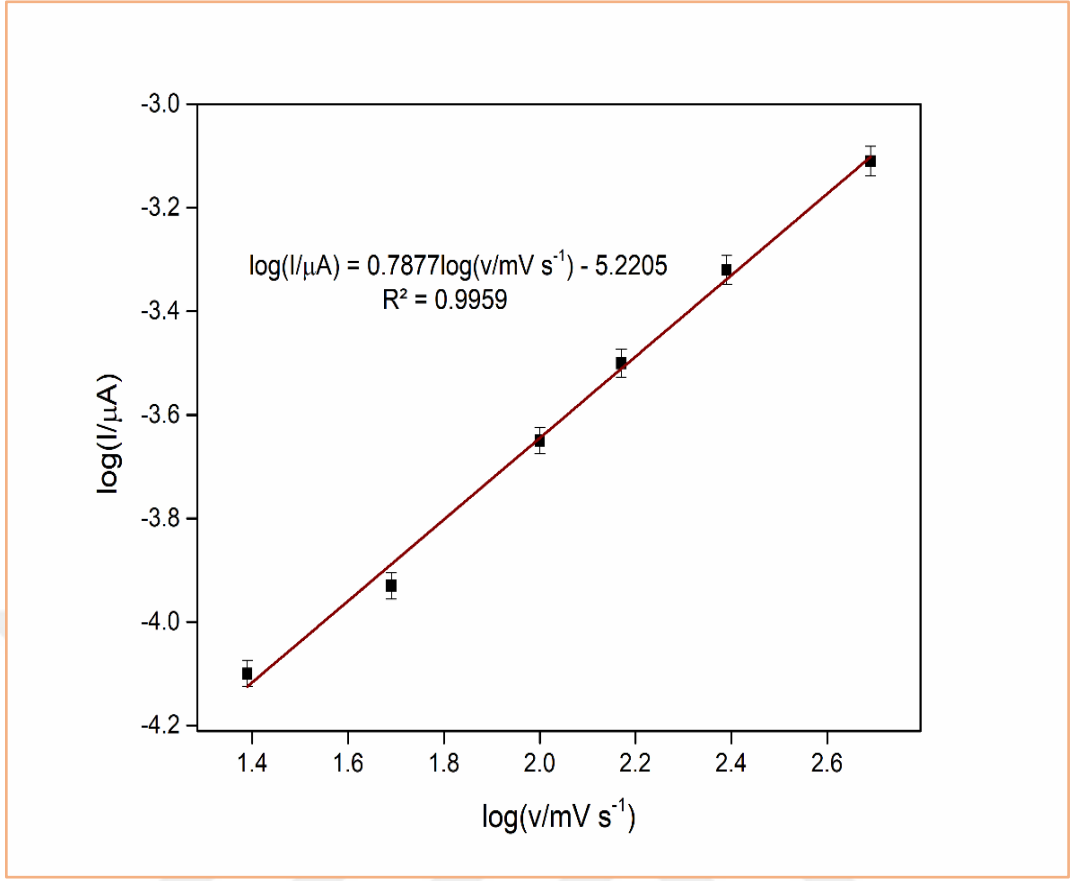


Şekil 5.51 Tarama hızının karekökü ile akım arasındaki doğrusal ilişki.

Ayrıca, Şekil 5.52'de, aşağıdaki grafiğe göre Py için $\log(I)$ ile $\log(v)$ arasında doğrusal bir ilişki vardı. $300 \mu mol L^{-1}$ Py için $\log(I/\mu A)$ ve $\log(v/mV s^{-1})$ arasında doğrusal bir denklem şöyle bulunmuştur:

$$\log(I/\mu A) = 0,791 \log(v/mV s^{-1}) + 0,7611, \quad R^2 = 0,9946 \quad (5.12)$$

0,5'e yakın bir eğim, Randles-Sevcik denklemi ile tarif edildiği gibi difüzyon kontrollü bir süreci gösterir; 1,0'e yakın bir eğim, adsorpsiyon kontrollü bir süreci gösterir. Bu sonuçlara göre, AİG/KUE'daki yükseltgenme süreci hem difüzyon hem de adsorpsiyon kontrollü gerçekleşme olduğu söylenmelidir.



Şekil 5.52 Tarama hızının logaritması ile pik akımının logaritması arasındaki doğrusal ilişki.

Modifiye edilmiş elektrotun bazı kinetik özelliklerini incelemek için, APre/KUE'ta piridoksin için elektron transfer katsayısı (α) ve elektron numarası (n) gibi bazı kinetik parametreler değerlendirilmiştir. Elektron transfer katsayısı, tersinmez bir reaksiyon için Tafel'in 50 mV s^{-1} tarama hızındaki grafiği ile dönüşümlü voltametri kullanılarak elde edilmiştir [165]. Ep-log (I) grafiğinden elde edilen eğim değerini kullanarak α denklem (5.13) ile hesaplanabilir.

$$\text{Eğim} = (1-\alpha) F = 2,3RT \quad (5.13)$$

AİG/KUE için dönüşümlü voltamogramdan elde edilen Tafel grafiğinin eğimi $0,128 \text{ mV}$ olarak bulunmuştur ve sonuç olarak α değeri $0,25$ olarak bulunmuştur. Bu α değeri, aşağıdaki denklem kullanılarak dönüşümlü voltametri ile n 'nin değerini hesaplamak için kullanılmaktadır [165].

$$|E_p - E_{p/2}| = 47,7/\alpha n \quad (5.14)$$

E_p , anodik pik potansiyelidir ve $E_{p/2}$, akımın pik değerinin yarısı olduğu potansiyeldir. $E_p - E_{p/2}$ değeri 50 mV s^{-1} 'de 80 mV olarak hesaplanmıştır. Bu da tersinmez reaksiyon için 95 mV olan teorik değerine yakındır. n , yaklaşık olarak 2,0 olan 2,3 olarak hesaplanmıştır.

P_y 'nin heterojen hız sabiti (k_0) değerleri deneysel veriler E_p ve denklem (5.15) kullanılarak belirlenmiştir. ΔE_p değerleri 10 mV 'den büyükse denklem deneysel veriler için kullanılabilir. P_y oksidasyonu için k_0 değerleri 25 ile 500 mV s^{-1} aralığında elde edilmiştir [166]. Denklem (5.15)'ye göre k_0 değeri $0,77 \text{ s}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır.

$$\Delta E_p = 201,39 \log (v/k_0) - 301,78 \quad (5.15)$$

Elektrotun yüzey kaplaması, Bard tarafından kullanılan yöntem kullanılarak hesaplanmıştır [167]. Mol cm^{-2} olarak verilen AİG/KUE yüzey derişim değeri (Γ), aşağıdaki gibi anodik pikin entegre yüklerinden (Q) elde edilmiştir.

$$\Gamma_{\text{AİG/KUE}} = Q/nFA \quad (5.16)$$

Q , AİG/KUE anodik pik noktasının altındaki alandan gelen yüküdür ve dönüşümlü voltamogramdan elde edilmiştir. n , elektron sayısıdır. AİG/KUE 'un hesaplanan yüzey derişimi, $n = 2,0$ için $2,34 \times 10^{-5} \text{ mol cm}^{-2}$ 'dir.

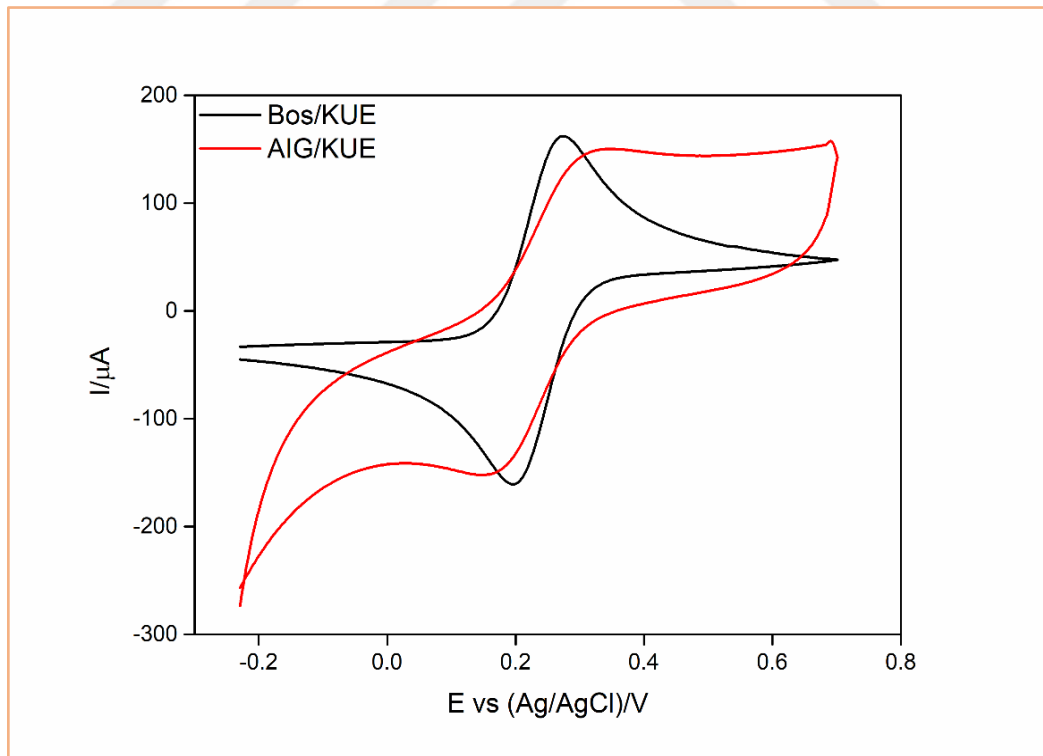
5.3.5 AİG/KUE 'un Karakterizasyon Çalışmaları

Hazırlanan AİG/KUE 'un karakterizasyon çalışmasında dönüşümlü voltametri, elektrokimyasal empedans spektroskopisi, taramalı elektron spektroskopisi, X-ışını fotoelektron spektroskopisi ve atomik kuvvet mikroskopisi yöntemleri kullanılmıştır.

5.3.5.1 AİG/KUE 'un Dönüşümlü Voltametri ile Karakterizasyonu

Elektrokimyasal karakterizasyon çalışmasında $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ redoks türleri seçilmiştir. Boş/ KUE ve AİG/KUE , CV karakterizasyonunda $2,5 \text{ mmol L}^{-1} [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ çözeltisi içerisinde ölçülmüştür ve elektrotların ölçümleri $-0,23 \text{ V}$ ile $0,7 \text{ V}$ 'ta 100 mV s^{-1} tarama hızında gerçekleştirilmiştir.

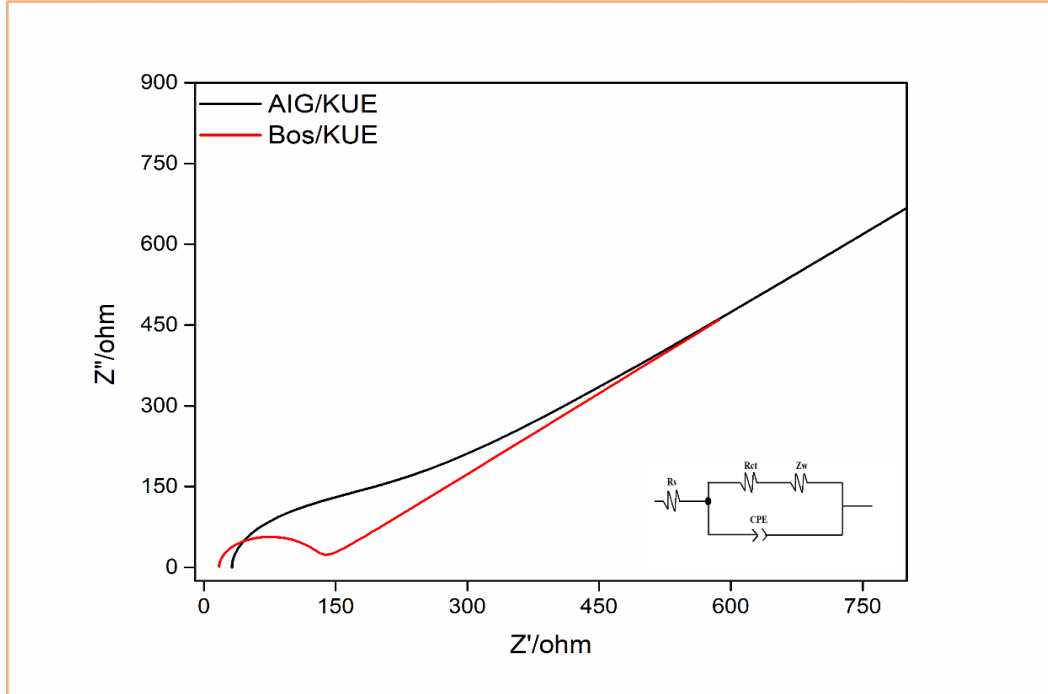
Şekil 5.53'de gösterildiği gibi, Boş/KUE'taki anodik ve katodik pik potansiyelleri sırasıyla 0,28 ve 0,20 V olarak bulunmuştur. Anodik ve katodik pikler arasındaki potansiyel fark (ΔE) 0,08 V olarak hesaplanmıştır. Benzer şekilde, AİG/KUE'ta anodik ve katodik pik potansiyeli sırasıyla 0,31 V ve 0,16 V olarak bulunmuştur. AİG/KUE'un ΔE 'si 0,15 V olarak bulundu. Bu sonuçlara göre, KUE'taki piklerin akımı AİG/KUE'tan daha yüksektir. Bu muhtemelen AİG/KUE yüzeyindeki oksijen içeren grupların $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ grupları ile elektrostatik etkileşimlerinden kaynaklanmaktadır [130]. Ayrıca, elde edilen bu akım düşüşü, elektrokimyasal ön işlemin Boş/KUE üzerinde başarıyla gerçekleştirildiğini doğrulamaktadır. Bununla birlikte, CV karakterizasyonu, elektrot yüzeyindeki gruplar hakkında bilgi vermektedir [101]. Negatif yüklü bir çözelti içinde elde edilen voltamograma göre, AİG/KUE'un Boş/KUE'tan daha negatif polarize olduğu görülmüştür. Yani elektrot yüzeyinde negatif yüklü gruplar olduğunu söyleyebiliriz. Ayrıca pik akımındaki düşüşün AİG/KUE yüzeyinde bulunan negatif yüklü yüzey fonksiyonel gruplarının ve $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ gruplarının birbirlerini elektrostatik itmesi ile açıklanabileceğini söyleyebiliriz.



Şekil 5.53 Boş/KUE ve AİG/KUE'un 2,5 mmol L⁻¹ $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 0,1 mol L⁻¹ KCl içeren bir çözelti içinde dönüşümlü voltamogramları.

5.3.5.2 AİG/KUE'un EIS Yöntemi ile Karakterizasyonu

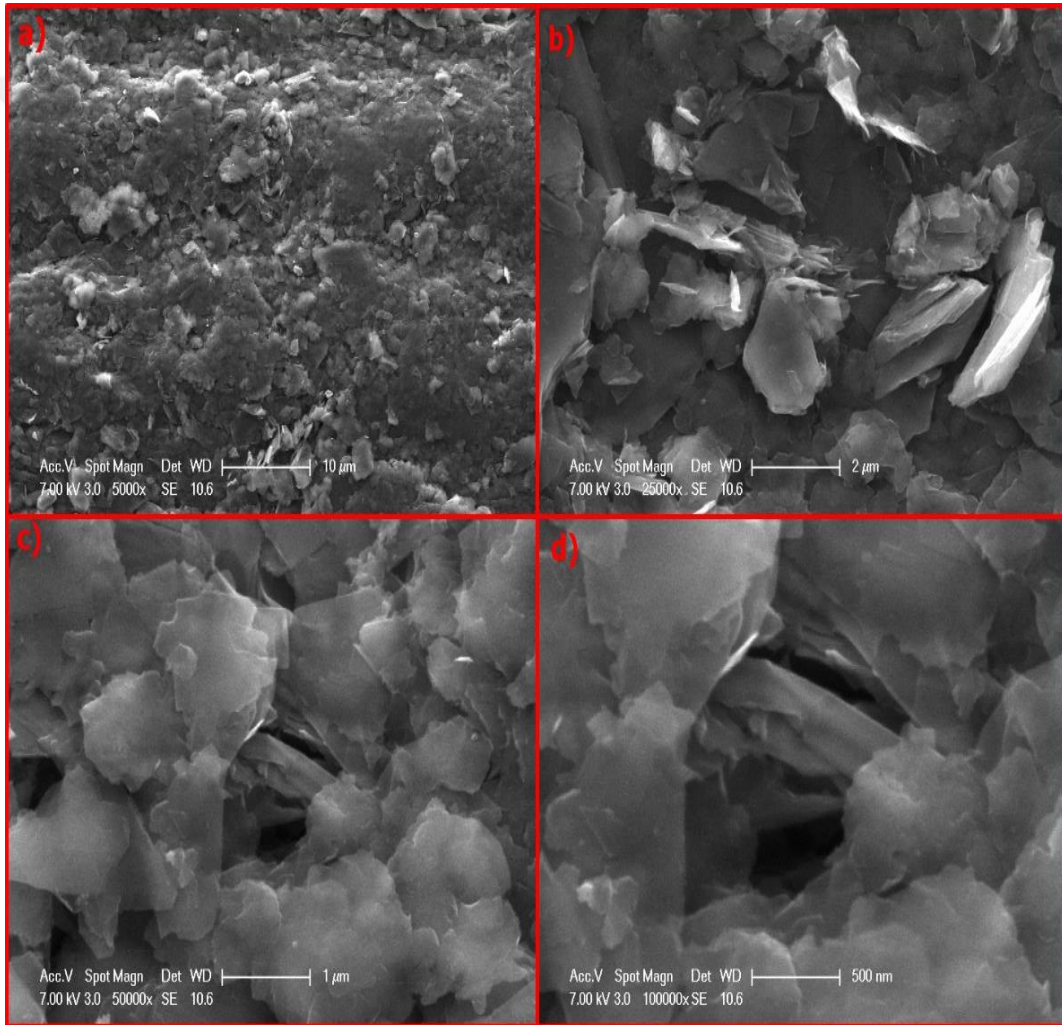
EIS, tasarlanan sensörün yüzey ve kapasitif özelliklerini incelemek için en çok kullanılan yöntemlerden biridir [168]. EIS ölçümleri, $2,5 \text{ mmol L}^{-1} [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ve $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$ içeren çözeltide gerçekleştirilmiştir. Boş/KUE ve AİG/KUE'un yük transfer süreci, elektrot-elektrolit ara yüzeyinde yük transfer direnci (R_{ct}) değerleri gözlemlenerek incelenmiştir. Şekil 5.54, Boş/KUE ve AİG/KUE'un EIS eğrilerini ve elektrotların EIS spektrumlarını, Şekil 5.54'ün içinde gösterilen, bilinen eşdeğer bir devre modeline yerleştirilerek fitlenmiştir [131]. Boş/KUE ve AİG/KUE'un R_{ct} değerleri incelendiğinde, R_{ct} değerlerinin sırasıyla 109,8 ohm ve 154,1 ohm olduğu görülmektedir. Burada, elektrokimyasal reaksiyondaki elektron transferi, modifiye elektrot yüzeyinde boş elektrota göre daha zor gerçekleşmiştir. Bununla birlikte, yük transfer yükündeki artış, KUE'un yüzey modifikasyonunun bir sonucu olarak oluşan oksijen içeren gruplarla, $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ elektrolit çözeltisinin negatif yüklü iyonlarının birbirini itmesiyle oluşmuştur. Bu sonuçlar, dönüşümlü voltametri karakterizasyonunda olduğu gibi gerçekleşen elektrokimyasal ön işlem sürecini doğrulamaktadır.



Şekil 5.54 $5,0 \text{ mmol L}^{-1} [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-} + 0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$ içeren çözeltide Boş/KUE ve AİG/KUE'un Nyquist diyagramları; Ekinde spektrumların elektrot fitlemesi için kullanılan eşdeğer devre modeli.

5.3.5.3 AİG/KUE'un Taramalı Elektron Mikroskopisi ile Karakterizasyonu

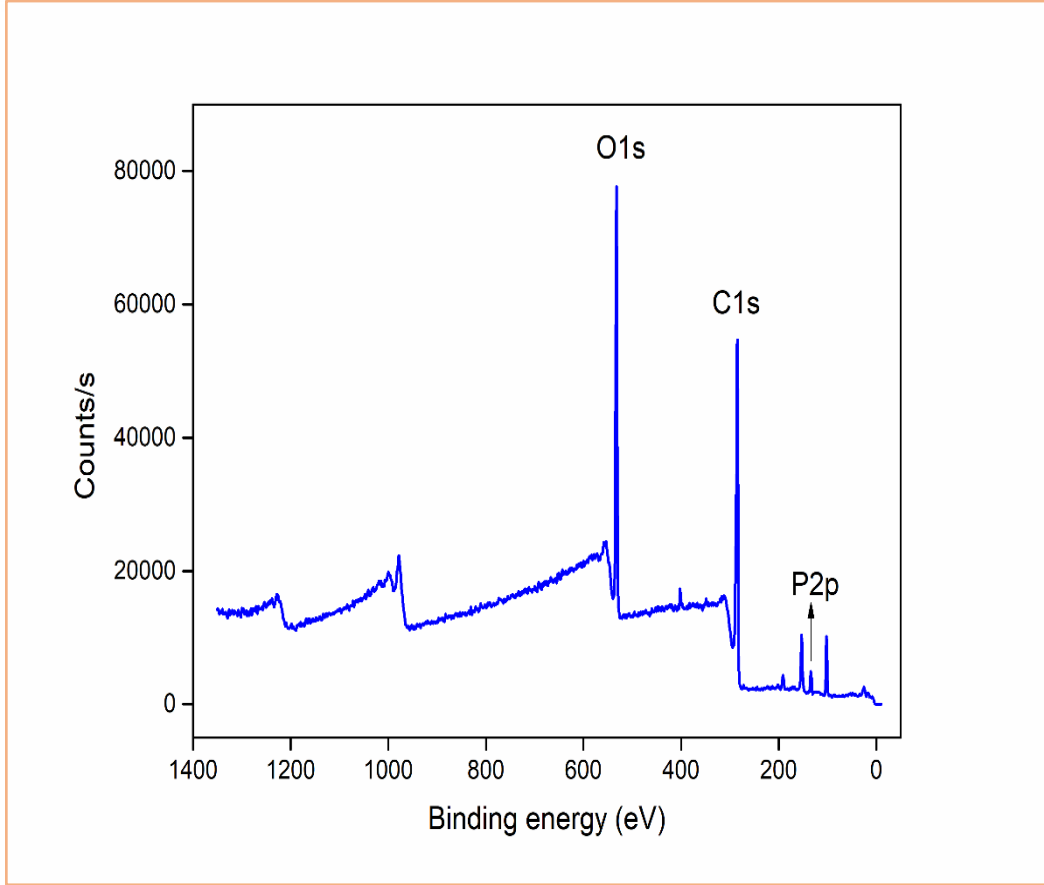
Elektrot yüzeyini incelemek için FESEM analizleri yapılmıştır. Şekil 5.55a-d, AİG/KUE'un farklı büyütmelerdeki yüzey morfolojisini göstermektedir. Boş/KUE, önceki yazılarımızda da görüldüğü gibi düz bir yapıya sahiptir [101]. Elde edilen FESEM mikrograflarına göre, anodik işlem görmüş elektrot yüzeyinin pürüzlü olduğu ve grafit tabakaları kırıldığı görülmüştür. Ayrıca, elektrotun elektrokimyasal olarak işlenmiş grafit katmanları küçük parçalara bölünmüştür. Elde edilen sonuçlar, yüzey ön işlem sürecine bağlı olarak KUE'un yüzey alanındaki artışın bir kanıtıdır.



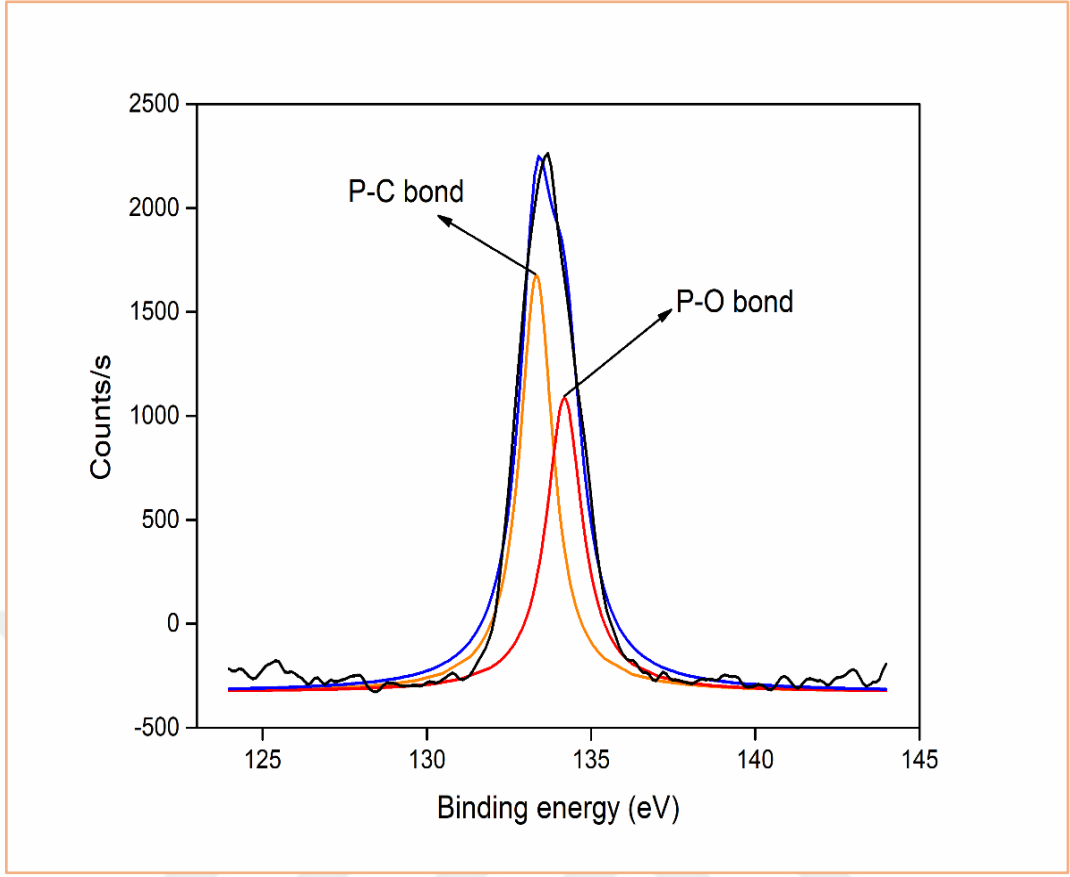
Şekil 5.55 Farklı büyütmelerde yüzeyden alınan FESEM mikrografları **a)** AİG/KUE (5000x büyütme), **b)** AİG/KUE (25000x büyütme), **c)** AİG/KUE (50000x büyütme) ve **d)** AİG/KUE (100000x büyütme).

5.3.5.4 AİG/KUE'un X-Işınları Fotoelektron Spektroskopisi ile Karakterizasyonu

Elektrotun temel bileşimi XPS ile tanımlanır ve bağlayıcı enerjilerini göstererek bileşen atomların (iyonların) özelliklerinin (değerliklerinin) belirlenmesinde etkilidir [123]. AİG/KUE XPS profilleri Şekil 5.56 ve Şekil 5.57'de gösterilir. Şekil 5.56'da O1s, N1s, C1s ve P2p pikleri sırasıyla 532,08, 402,08, 284,08 ve 133,6'da açıkça görülmüştür [169]. Şekil 5.57'ye bakıldığında ise P2p spektrumu iki tür kimyasal bağ ortaya çıkarır. Bunlar P-O, P-C bağlarıdır. P2p spektrumunda, yaklaşık 132,6 eV ve 134,2'deki pikleri, sırasıyla P-C ve P-O bağlanmasına atfedilir [170]. Bu sonuçlar, H₃PO₄ destek elektrolit çözeltisinde elektrokimyasal ön işlemin başarıyla gerçekleştirildiğini doğrulamaktadır.



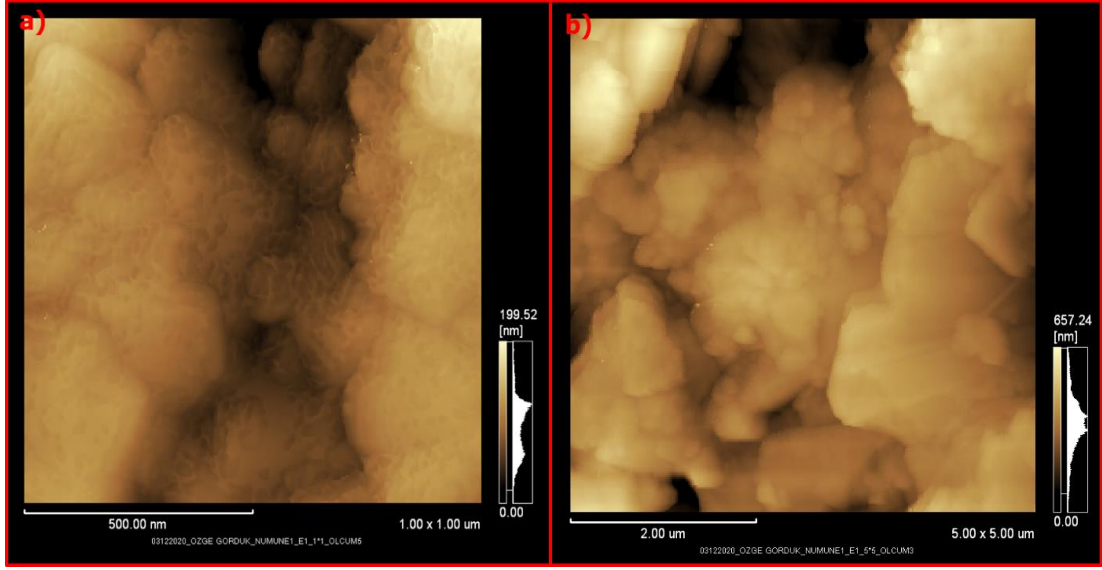
Şekil 5.56 AİG/KUE'un XPS tarama spektrumu.



Şekil 5.57. AİG/KUE'a karşılık gelen XPS bantları.

5.3.5.5 AİG/KUE'un Atomik Kuvvet Mikroskobu ile Karakterizasyonu

Atomik kuvvet mikroskobu (AFM), modifiye elektrotun yüzey topografyasını ve pürüzlülüğünü incelemek için kullanılmıştır (Şekil 5.58). Şekil 5.58a ve 5.58b, AİG/KUE'un genlikli iki boyutlu (2D) görüntüleridir. Yüzeydeki topoğrafyanın değişimi, modifikasyon işlemlerinden sonra belirgin bir şekilde görülmektedir. Elektrotun elektrokimyasal olarak işlenmiş grafit katmanları, katman katman küçük parçalara bölünmüştür. AFM görüntülerinden alınan elektrotların ortalama pürüzlülük değerleri (R_a) incelendiğinde, bunlar Boş/KUE ve AİG/KUE ($5,0 \times 5,0 \mu\text{m}$ büyüklük için) için sırasıyla 60,96 ve 92,83 olarak bulunmuştur. Böylelikle yüzey özelliklerinin SEM görüntüleri ile benzer bir eğilim gösterdiğini söylemek mümkündür.



Şekil 5.58. a) AİG/KUE'un (1,0 x 1,0 μm) AFM 2D görüntüsü ve b) AİG/KUE'un (5,0 x 5,0 μm) AFM 2D görüntüsü.

5.3.5.6 AİG/KUE'un Elektroaktif Yüzey Alanının Hesaplanması

Boş/KUE ve AİG/KUE'un elektroaktif yüzey alanı, 0,1 mol L⁻¹ KCl içeren 1,0 mmol L⁻¹ K₄Fe(CN)₆'da CV yöntemi kullanılarak hesaplandı. Pik akımının (I_p) tarama hızının karekökü (v^{1/2}) ile ilişkisi Randles-Sevcik denklemi (5.17) kullanılarak belirlenmiştir.

$$I_p = 2.69 \times 10^5 n^{1/2} A D^{1/2} C^* v^{1/2} \quad (5.17)$$

Bu denklemde I_p redoks çiftinin pik akımı, n redoks reaksiyonuna katılan elektronların sayısı, A elektrotun yüzey alanı (cm²), D (D = 6,7×10⁻⁵ cm² s⁻¹, 25 °C) çözeltideki moleküllerin difüzyon katsayısıdır ve literatürden alınmıştır [101]. C*, K₄Fe(CN)₆ (mol cm⁻³) derişimi ve v, potansiyel tarama hızıdır (V s⁻¹). Bu sonuçlara göre AİG/KUE'un elektroaktif yüzey alanı 1,82×10⁻⁶ cm², Boş/KUE'un elektroaktif yüzey alanı ise 9,08×10⁻⁷ cm² olarak hesaplanmıştır. Bu sonuca göre AİG/KUE'un elektroaktif yüzey alanı Boş/KUE'dan 2 kat daha büyüktür ve tasarlanan elektrot Py yükseltgenmesine karşı daha hassastır.

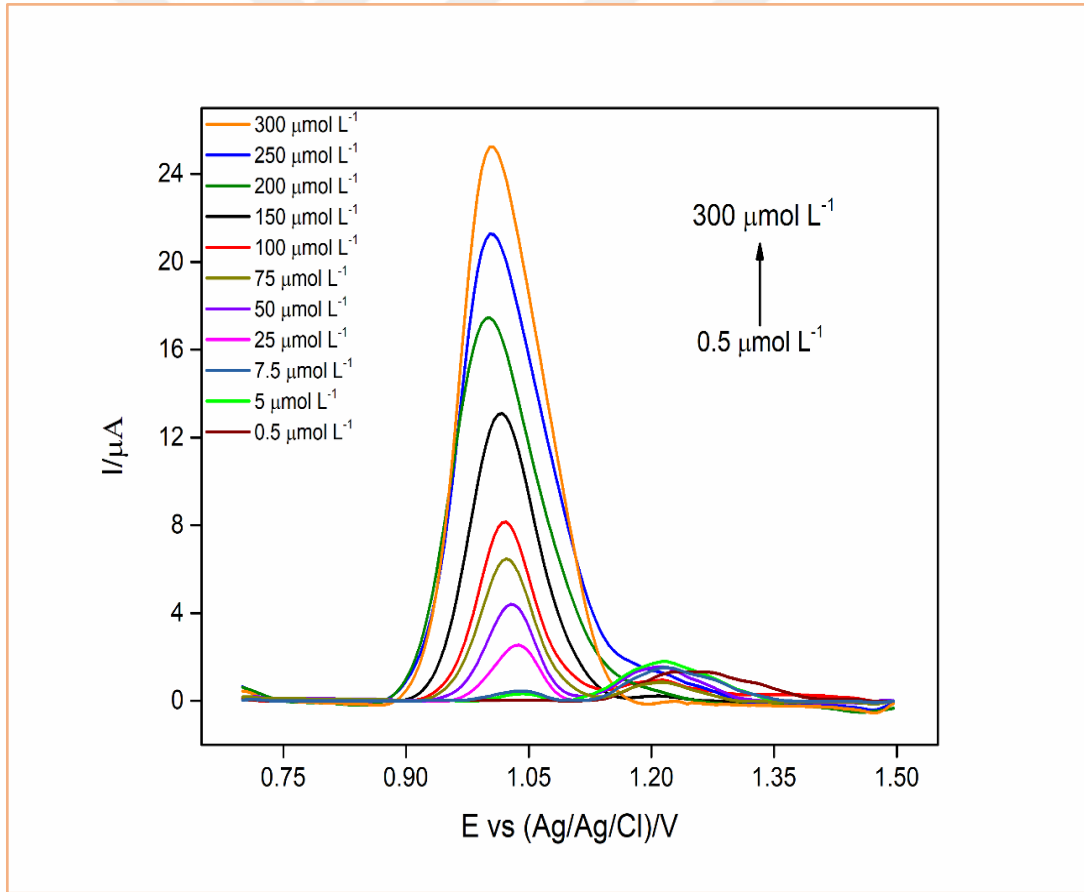
5.3.6 AİG/KUE'un Analitiksel Uygulaması

Önerilen sensörün Py'ye duyarlılığı diferansiyel puls voltametri tekniği kullanılarak belirlenmiştir. Ölçümler, bir dizi farklı Py çözeltisi derişimlerinde (0,5 μmol L⁻¹, 0,75

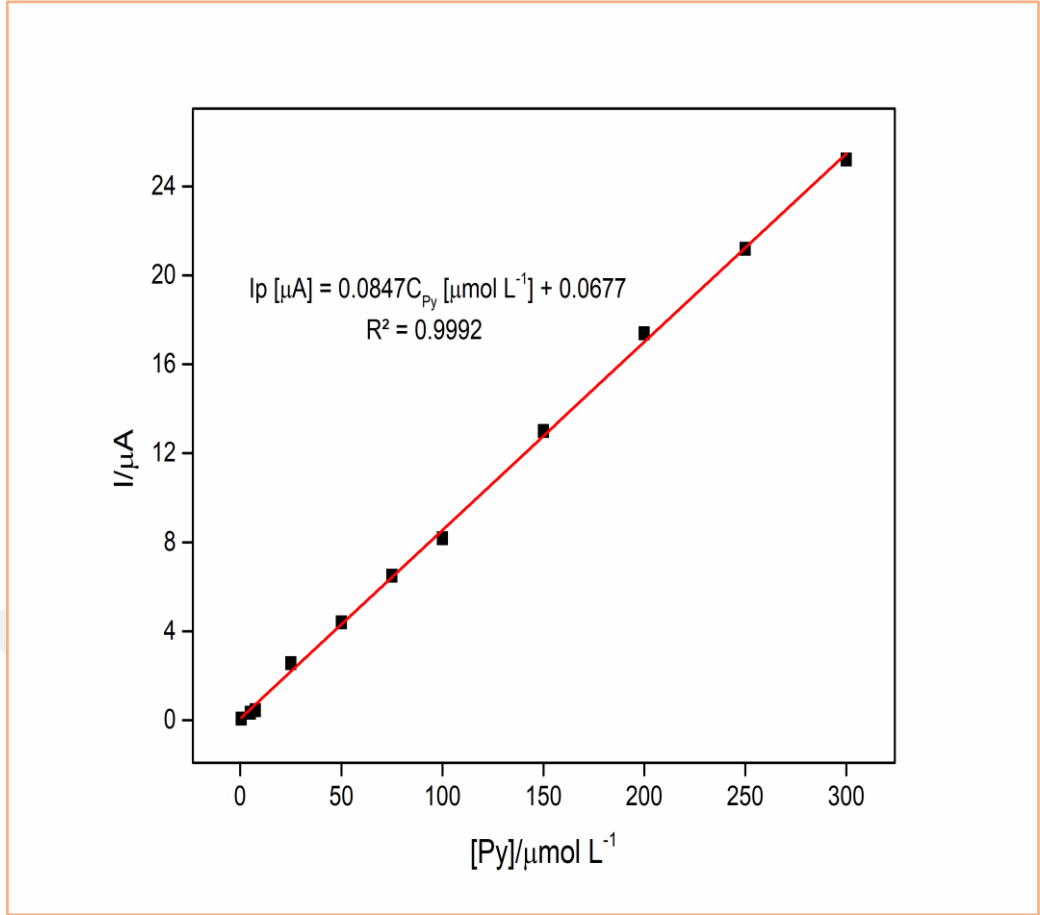
$\mu\text{mol L}^{-1}$, $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$, $7,5 \mu\text{mol L}^{-1}$, $25 \mu\text{mol L}^{-1}$, $50 \mu\text{mol L}^{-1}$, $75 \mu\text{mol L}^{-1}$, $100 \mu\text{mol L}^{-1}$, $150 \mu\text{mol L}^{-1}$, $200 \mu\text{mol L}^{-1}$, $250 \mu\text{mol L}^{-1}$ ve $300 \mu\text{mol L}^{-1}$ of Py) fosfat tamponunda ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 3,0) gerçekleştirilmiştir (Şekil 5.59). Bu ölçümler sonucunda elde edilen verilerle kalibrasyon grafiği çizilmiştir (Şekil 5.60). Mevcut yanıt, $0,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ ile $300 \mu\text{mol L}^{-1}$ arasında değişen piridoksin derişimleri ile doğrusaldır. Yöntemin kesinliğini belirlemek için tüm ölçümler beş kez tekrarlanmış ve standart sapma hesaplanmıştır. Gözlemlenebilme sınırı (LOD) ve tayin sınırı (LOQ) literatürde belirtilen formüllere göre hesaplanmıştır [171].

Burada S standart sapmadır ve m kalibrasyon eğrisinin eğimidir. Bu sonuçlara göre LOD ve LOQ değerleri sırasıyla $0,166 \mu\text{mol L}^{-1}$ ve $0,554 \mu\text{mol L}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Doğrusal ilişki şu şekilde bulunmuştur.

$$I_p [\mu\text{A}] = 0,0847C_{Py} [\mu\text{mol L}^{-1}] + 0,0677, \quad R^2 = 0,9992 \quad (5.18)$$



Şekil 5.59 Farklı Py derişimlerinde alınan DPV sonuçları.



Şekil 5.60 Py için elde edilen kalibrasyon grafiği.

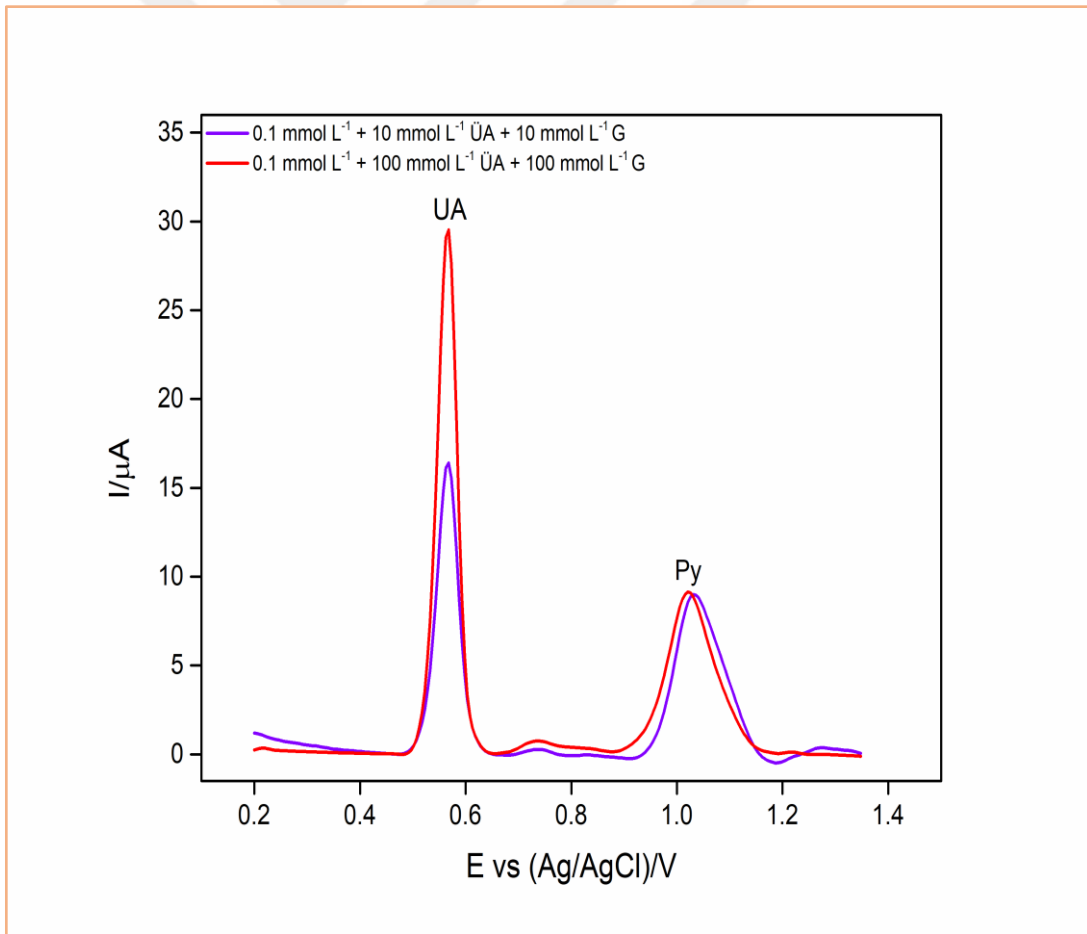
Literatürde Py tayini ile ilgili bazı çalışmalar Tablo 5.8'de gösterilmektedir. AİG/KUE'ta DPV ile Py'nin belirlenmesi, literatürde açıklanan diğer elektrokimyasal yöntemlere göre basitlik (tek adımlı hazırlık), düşük maliyet ve hız gibi bazı önemli avantajlara sahiptir. Bununla birlikte, kimyasal olarak modifiye edilmiş elektrotların hazırlanmasının, çeşitli karmaşık adımları içeren zaman alıcı bir yöntem olduğu unutulmamalıdır. Ancak kimyasal olarak modifiye edilmiş elektrotlara nazaran her ölçümden önce elektrot yüzeyinin (tek kullanımlık) temizlenmesi adımını ortadan kaldırarak analiz süresini önemli ölçüde azaltır. Tüm bunlara rağmen, elektrokimyasal ön işlem gibi çok basit, kısa ve çevre dostu bir işlem sayesinde Boş/KUE ve diğer elektrot türlerinden daha iyi sonuçlar verdiği tabloda görülebilir.

Tablo 5.8 Önerilen sensörün literatürdeki çalışmaların karşılaştırılması.

Elektrot	Metot	Doğrusal aralık ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Referanslar
Çok duvarlı karbon nanotüp modifiyeli ekran baskılı elektrot	Diferansiyel puls voltametrisi	2,0-72	1,5	[162]
Boron doplu elmas elektrot	Kare dalga voltametrisi	7,0-47	3,76	[172]
Kalem ucu elektrot	Diferansiyel puls voltametrisi	5,0-1000	2,81	[173]
Vanadyl (IV) Salen kompleksi ile modifiye edilmiş karbon pasta elektrot	Doğrusal tarama voltametrisi	450-3300	37	[174]
Katodik olarak ön işlem görmüş boron doplu elmas elektrot	Kare dalga voltametrisi	59-850	6,6	[175]
Altın nanopartiküller ve çok duvarlı karbon nanotüp ile modifiye edilmiş camı karbon elektrot	Diferansiyel puls voltametri	7,7-500	2,5	[176]
Elektrokimyasal olarak indirgenmiş grafen oksit modifiyeli camı karbon elektrot	Amperometri	0,1-0,8	0,01	[177]
Anodik olarak işlem görmüş kalem ucu elektrot	Diferansiyel puls voltametri	0,5-300	0,166	Bu çalışma

5.3.7 Girişim Çalışmaları

Anti-girişim yeteneği, bir elektrokimyasal sensörün değerlendirilmesinde önemli faktörlerden biridir ve girişimler, analitin kantitatif tayininde yöntemin seçiciliğini önemli ölçüde etkiler. Ürik asit (ÜA) ve glikoz (G) gibi girişim ajanları, modifiye edilmiş elektrotun Py'ye duyarlılığını anlamak için seçilmiştir. Optimize edilmiş koşullar altında, bu girişim ajanlarını (10 mmol L^{-1} UA, 10 mmol L^{-1} G, 100 mmol L^{-1} UA ve 100 mmol L^{-1} G) içeren Py çözeltisinde ($0,1 \text{ mmol L}^{-1}$) DPV yöntemi kullanarak yükseltgenme pik akımları ölçülmüştür. ÜA ve G'nin, incelenen potansiyel aralık dahilinde piridoksinin 100 kat daha yüksek konsantrasyonda mevcut olduğunda bile söz konusu ortamda Py ile girişim yapmadığı görülmüştür (Şekil 5.61). Dahası, ürik asit reaksiyonunun gerçekleştiği potansiyel piridoksinin gerçekleştiği potansiyelden oldukça uzak olması sayesinde girişim yapması pek mümkün gözükmemektedir.



Şekil 5.61 Girişim çalışmasının analizinin sonuçları.

5.3.8 AİG/KUE'un Tekrar Üretilirlik ve Tekrarlanabilirliği

AİG/KUE'un tekrarlanabilirlik deneyleri, gün içi ve günler arası ölçümler kullanılarak gerçekleştirildi. Gün içi tekrarlanabilirlik için, taze hazırlanmış 10 farklı AİG/KUE kullanılarak 300 $\mu\text{mol L}^{-1}$ Py çözeltisinde diferansiyel puls voltametrik ölçümler yapılmıştır. Bağlı standart sapma %3,26 olarak hesaplanmıştır. Günler arası tekrarlanabilirlik değerleri, 10 gün boyunca tekrarlanan ölçümlerle elde edilmiştir. Bağlı standart sapma %3,52 olarak hesaplanmıştır. Ölçülen değerler ışığında, AİG/KUE'ların hazırlama sürecinde yeniden üretilileceği anlaşılmıştır.

AİG/KUE'lar, elektrotların stabilitesini incelemek için 45 gün süreyle vakumlu bir kurutucuda saklanmıştır. Diferansiyel puls voltametri ölçümleri, AİG/KUE kullanılarak 300 $\mu\text{mol L}^{-1}$ Py'de gerçekleştirilmiştir. Nihai değerlerden temel değerlere olan fark sadece %4,11 olarak bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara göre AİG/KUE'un oldukça kararlı olduğu anlaşılmıştır.

5.3.9 Gerçek Örnek Analizi

Mevcut sistemin güvenilirliğini doğrulamak için içecek numunelerinde Py tayini için uygulanmıştır. Enerji içeceği 1, enerji içeceği 2 ve vitamin suyunda ölçülen Py miktarı ile belirlenen geri kazanım değeri sırasıyla %106,06, %106,35 ve %104,16 olarak bulunmuştur ve bu numunelerde bulunan Py derişimleri bildirilenlere oldukça yakındır (Tablo 5.9). Bu sonuçlara göre, önerilen yöntem gerçek numuneler için bir yaklaşım olarak uygulanabilir.

Tablo 5.9 Piridoksinin belirlenmesi için yapılan gerçek örnek analiz sonuçları.

Örnek	Rapor edilen değer ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Bunulan değer ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	RSD (%)	Geri kazanım (%)
Enerji içeceği 1	6,6	7,0	1,59	106,06
Enerji içeceği 2	2,36	2,51	2,27	106,35
Vitaminli su	4,8	5,0	2,97	104,16

5.4 Genel Değerlendirme

Bu tez çalışmasının ilk kısmında insan sağlığı için önemli bir vitamin olan folik asit tayini için l-sistin aminoasidinin elektrokimyasal polimerizasyonu ile bir sensör geliştirilmiştir. L-sistin aminoasidinin elektrokimyasal polimerizasyonu $500 \mu\text{mol L}^{-1}$ l-sistin aminoasidi içeren $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ LiClO}_4$ çözeltisinde hazırlanmıştır. $1,8 \text{ V}$ ile $-1,1 \text{ V}$ potansiyel arasında 50 mV s^{-1} 'de ve 10 döngüde dönüşümlü voltametri kullanarak hazırlanan elektrotlar, poli(sistin)/KUE, ile folik asit ölçümleri alındığında en iyi sonuçlar bu koşullarda elde edildiği görülmüştür. Poli(sistin)/KUE ile DPV yöntemi kullanılarak yapılan derişim çalışması sonucunda, modifiye elektrotların $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ ile $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ arasında doğrusal bir sinyal elde edilmiştir. Bu derişim çalışması sonucunda folik asit için gözlemlenebilme sınırı (LOD) $0,43 \mu\text{mol L}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Sensörün değerlendirilmesinde önemli faktörlerden biri olan girişim çalışmasında askorbik asit ve ürik asit kullanılarak gerçekleştirilmiştir ve bu girişim ajanlarıyla folik asidin herhangi bir girişim yapmadığı gözlemlenmiştir. Son olarak, hazırlanan sensörün gerçek örneklerde uygulanabilirliğini incelemek için gerçek örnek çalışması yapılmıştır ve bunun sonucunda hazırlanan sensörün gerçek örneklerde de uygulanabilir olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Tez çalışmasının ikinci kısmında ise önemli bir vitamin olan riboflavin tayini için fonksiyonellendirilmiş çok duvarlı karbon nanotüp ve altın nanopartikül kullanılarak bir sensör geliştirilmiştir. Sensör hazırlanmasının ilk aşamasında öncelikle altın nanopartiküller kalem ucu elektrot üzerine kronoamperometri yöntemiyle elektrokimyasal olarak biriktirilmiştir. Elektrokimyasal biriktirme işlemi $10 \text{ mmol L}^{-1} \text{ HAuCl}_4$ içeren $0,5 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ çözeltisinde $-3,0 \text{ V}$ potansiyelde 30 saniye boyunca yapılarak elde edilmiştir. Elde edilen bu elektrotla riboflavin çözeltisinde ölçüm alındığında en yüksek cevabın bu koşullarda elde edildiği görülmüştür. Daha sonra optimum koşulda hazırlanan AuNP/KUE üzerine $10 \mu\text{l}$ fonksiyonellendirilmiş çok duvarlı karbon nanotüp damlatılmıştır. Hazırlanan f-MWCNT/AuNP/KUE ile DPV yöntemi kullanılarak $0,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ – $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ derişimleri arasında riboflavine karşı doğrusal bir cevap elde edilmiştir. Bu çalışma sonucunda LOD değeri $0,0352 \mu\text{mol L}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Sensörün

değerlendirilmesinde önemli faktörlerden biri olan girişim çalışmasında askorbik asit ve glikoz kullanılarak gerçekleştirilmiş ve bu girişim ajanlarıyla riboflavinin herhangi bir girişim yapmadığı gözlemlenmiştir. Son olarak, hazırlanan sensörün gerçek örneklerde uygulanabilirliğini incelemek için gerçek örnek çalışması yapılmıştır ve bunun sonucunda hazırlanan sensörün gerçek örneklerde de uygulanabilir olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Tez çalışmasının son kısmında ise önemli bir vitamin olan piridoksin tayini için anodik olarak işlem görmüş kalem ucu elektrot hazırlanmıştır. Sensör hazırlanması 0,1 mol L⁻¹ H₃PO₄ destek elektrolit çözeltisi içerisinde kronoamperometri yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Sensör hazırlama koşulları incelendiğinde, 0,1 mol L⁻¹ H₃PO₄ destek elektrolit çözeltisinde, 2,0 V potansiyelde 100 saniyede hazırlanan elektrotlarla piridoksine karşı en iyi cevap elde edilmiştir. AlG/KUE ile 0,5 µmol L⁻¹–300 µmol L⁻¹ derişim aralığında DPV ölçümleri alındığında piridoksine karşı doğrusal bir cevap elde edilmiştir. Bu çalışma sonucunda LOD değeri 0,166 µmol L⁻¹ olarak bulunmuştur. Sensörün değerlendirilmesinde önemli faktörlerden biri olan girişim çalışmasında ürik asit ve glikoz kullanılarak gerçekleştirilmiş ve bu girişim ajanlarıyla piridoksinin herhangi bir girişim yapmadığı gözlemlenmiştir. Son olarak, hazırlanan sensörün gerçek örneklerde uygulanabilirliğini incelemek için gerçek örnek çalışması yapılmıştır ve bunun sonucunda hazırlanan sensörün gerçek örneklerde de uygulanabilir olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Sonuç olarak, bu sensörler kullanılarak folik asit, riboflavin ve piridoksin gibi önemli vitaminleri iyi bir tayin limiti ve geniş bir doğrusal çalışma aralığı ile tayin edilebileceği anlaşılmıştır. Tasarlanan bu sensörler ile gerçek örneklerde analiz yapılabildiği de görülmüştür. Bununla birlikte hazırlanan bu sensörlerin birçok analit için kolay ve ucuz bir yöntem ile elektrokimyasal tayinlerini gerçekleştirilebileceği ön görülmektedir.

- [1] M. R. Shishehbore, A. Sheibani, and A. Haghdoost, "Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy Kinetic spectrophotometric method as a new strategy for the determination of vitamin B 9 in pharmaceutical and biological samples," *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 81, no. 1, pp. 304–307, 2011, doi: 10.1016/j.saa.2011.06.015.
- [2] R. A. S. Lapa, J. L. F. C. Lima, B. F. Reis, J. L. M. Santos, and E. A. G. Zagatto, "Photochemical-fluorimetric determination of folic acid in a multicommutated flow system," *Anal. Chim. Acta*, vol. 351, no. 1–3, pp. 223–228, 1997, doi: 10.1016/S0003-2670(97)00335-8.
- [3] J.R. A. S. Lapa, J. L. F. C. Lima, B. F. Reis, J. L. M. Santos, and E. A. G. Zagatto, "Photochemical-fluorimetric determination of folic acid in a multicommutated flow system," *Anal. Chim. Acta*, vol. 351, no. 1–3, pp. 223–228, 1997, doi: 10.1016/S0003-2670(97)00335-8.
- [4] B. Zhang, L. Zhao, and J. Lin, "Determination of folic acid by chemiluminescence based on peroxomonosulfate-cobalt (II) system," vol. 74, pp. 1154–1159, 2008, doi: 10.1016/j.talanta.2007.08.027.
- [5] C. Wang, C. Li, L. Ting, X. Xu, and C. W. Å, "Original Paper Application of a Single-Wall Carbon Nano-Tube Film Electrode to the Determination of Trace Amounts of Folic Acid," vol. 238, pp. 233–238, 2006, doi: 10.1007/s00604-005-0441-5.
- [6] X. Wang et al., "Application of nanosized gold and graphene modified carbon ionic liquid electrode for the sensitive electrochemical determination of folic acid," *J. Mol. Liq.*, vol. 204, pp. 112–117, 2015, doi: 10.1016/j.molliq.2015.01.036.
- [7] V. D. Vaze and A. K. Srivastava, "Electrochemical behavior of folic acid at calixarene based chemically modified electrodes and its determination by adsorptive stripping voltammetry," *Electrochim. Acta*, vol. 53, no. 4, pp. 1713–1721, 2007, doi: 10.1016/j.electacta.2007.08.017.
- [8] A. Taherkhani et al., "ZnO nanoparticle-modified ionic liquid-carbon paste electrode for voltammetric determination of folic acid in food and pharmaceutical samples," *Ionics (Kiel)*, vol. 20, no. 3, pp. 421–429, 2014, doi: 10.1007/s11581-013-0992-0.
- [9] S. H. Ashoor, G. J. Seperich, W. C. Monte, And J. Welty, "HPLC Determination," vol. 48, pp. 2917–2921, 1994.
- [10] J. Ghasemi, B. Abbasi, A. Niazi, E. Nadaf, and A. Mordai, "Simultaneous spectrophotometric multicomponent determination of folic acid, thiamine, riboflavin, and pyridoxal by using double divisor-ratio spectra derivative-zero crossing method," *Anal. Lett.*, vol. 37, no. 12, pp. 2609–2623, 2004, doi: 10.1081/AL-200029389.

- [11] M. Wang, L. Zhao, M. Liu, and J. M. Lin, "Determination of riboflavin by enhancing the chemiluminescence intensity of peroxomonosulfate-cobalt(II) system," *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 66, no. 4–5, pp. 1222–1227, 2007, doi: 10.1016/j.saa.2006.06.010.
- [12] A. K. Su and C. H. Lin, "Determination of riboflavin in urine by capillary electrophoresis-blue light emitting diode-induced fluorescence detection combined with a stacking technique," *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.*, vol. 785, no. 1, pp. 39–46, 2003, doi: 10.1016/S1570-0232(02)00849-8.
- [13] E. Zarei, Mohammad Reza Jamali and Jaber Bagheri, "Electrochemical Determination of Riboflavin by an Ionic Liquid Modified Carbon Paste Electrode as a Sensitive Sensor" vol. 10, no. 6, pp. 642–657, 2018.
- [14] É. S. Sá, P. S. Da Silva, C. L. Jost, and A. Spinelli, "Electrochemical sensor based on bismuth-film electrode for voltammetric studies on vitamin B2 (riboflavin)," *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 209, pp. 423–430, 2015, doi: 10.1016/j.snb.2014.11.136.
- [15] T. J. O'Shea, A. C. Garcia, P. T. Blanco, and M. R. Smyth, "Electrochemical pretreatment of carbon fibre microelectrodes for the determination of folic acid," *J. Electroanal. Chem.*, vol. 307, no. 1–2, pp. 63–71, 1991, doi: 10.1016/0022-0728(91)85539-2.
- [16] G. Tigari and J. G. Manjunatha, "A surfactant enhanced novel pencil graphite and carbon nanotube composite paste material as an effective electrochemical sensor for determination of riboflavin," *J. Sci. Adv. Mater. Devices*, vol. 5, no. 1, pp. 56–64, 2020, doi: 10.1016/j.jsamd.2019.11.001.
- [17] M. Kamruzzaman, A. M. Alam, S. H. Lee, and T. D. Dang, "Chemiluminescence microfluidic system on a chip to determine vitamin B1 using platinum nanoparticles triggered luminol-AgNO₃ reaction," *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 185, pp. 301–308, 2013, doi: 10.1016/j.snb.2013.04.029.
- [18] A. Pathak and S. Rajput, "Simultaneous derivative spectrophotometric analysis of doxylamine succinate, pyridoxine hydrochloride and folic acid in combined dosage forms," *Indian J. Pharm. Sci.*, vol. 70, no. 4, pp. 513–517, 2008, doi: 10.4103/0250-474X.44607.
- [19] M. L. Marszał, A. Lebiezińska, W. Czarnowski, and P. Szefer, "High-performance liquid chromatography method for the simultaneous determination of thiamine hydrochloride, pyridoxine hydrochloride and cyanocobalamin in pharmaceutical formulations using coulometric electrochemical and ultraviolet detection," *J. Chromatogr. A*, vol. 1094, no. 1–2, pp. 91–98, 2005, doi: 10.1016/j.chroma.2005.07.091.
- [20] W. Hou and E. Wang, "Determination of water-soluble vitamins by liquid chromatography with a parallel dual-electrode electrochemical detector," *Talanta*, vol. 37, no. 8, pp. 841–844, 1990, doi: 10.1016/0039-9140(90)80129-4.

- [21] M. F. S. Teixeira, G. Marino, E. R. Dockal, and É. T. G. Cavaleiro, "Voltammetric determination of pyridoxine (Vitamin B6) at a carbon paste electrode modified with vanadyl(IV)-Salen complex," *Anal. Chim. Acta*, vol. 508, no. 1, pp. 79–85, 2004, doi: 10.1016/j.aca.2003.11.046.
- [22] M. A. Kassem, O. A. Hazazi, T. Ohsaka, and M. I. Awad, "Electroanalysis of Pyridoxine at Copper Nanoparticles Modified Polycrystalline Gold Electrode," *Electroanalysis*, vol. 28, no. 3, pp. 539–545, 2016, doi: 10.1002/elan.201500209.
- [23] H. Razmi, M. Jabbari, and R. Mohammad-Rezaei, "Electrochemically Reduced Graphene Oxide Modified Carbon Ceramic Electrode for the Determination of Pyridoxine," *Anal. Chem. Lett.*, vol. 4, no. 2, pp. 73–85, 2014, doi: 10.1080/22297928.2014.925826.
- [24] H. Beitollahi and F. Garkani Nejad, "Voltammetric determination of vitamin B6 (pyridoxine) at a graphite screen-printed electrode modified with graphene oxide/Fe₃O₄@SiO₂ nanocomposite," *Russ. Chem. Bull.*, vol. 67, no. 2, pp. 238–242, 2018, doi: 10.1007/s11172-018-2064-0.
- [25] D. O. Kennedy, "B Vitamins and the Brain: Mechanisms, Dose and Efficacy-A Review," *Nutrients*, vol. 8, no. 68, 2016, doi: 10.3390/nu8020068.
- [26] G.F.M. Ball, "Vitamins in Foods: Analysis, Bioavailability, and Stability (1st ed.)," CRC Press, <https://doi.org/10.1201/9781420026979>.
- [27] Pietrzik K. Concept of borderline vitamin deficiencies. *Int. J. Vitam. Nutr. Res. Suppl.*, vol. 27, no. 61-73, 1985.
- [28] R. A. Fricker, E. L. Green, S. I. Jenkins, and S. M. Griffin, "The Influence of Nicotinamide on Health and Disease in the Central Nervous System," *Int. J. Tryptophan Res.*, vol. 11, 2018, doi: 10.1177/1178646918776658.
- [29] S. Dakshinamurti and K. Dakshinamurti, "Vitamin b6. In Handbook of Vitamins." 5th ed.; Zempleni, J., Suttie, J.W., Gregory, J.F., III, Stover, P.J., Eds.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2013.
- [30] M. Daugherty, B. Polanuyer, M. Farrell, M. Scholle, A. Lykidis, V. de Crécy-Lagard and A. Osterman, "Complete reconstitution of the human coenzyme a biosynthetic pathway via comparative genomics." *J. Biol. Chem.*, vol. 277, no. 21431–21439, 2002.
- [31] E. Gujska and K. Majewska, "Effect of baking process on added folic acid and endogenous folates stability in wheat and rye breads," *Plant Foods Hum. Nutr.*, vol. 60, no. 2, pp. 37–42, 2005, doi: 10.1007/s11130-005-5097-0.
- [32] Y. Zheng and L. C. Cantley, "Toward a better understanding of folate metabolism in health and disease," pp. 253–266, 2016.
- [33] T. D. Cilt, Z. Nur, M. Nur, Z. Gazi, and F. Fak, "Folate Deficiency and Probiotics N-pozisyonu," vol. 2, no. 2, pp. 21–36, 2013.
- [34] J. K. Shabert, "Folate Deficiency," in *Encyclopedia of Gastroenterology*, Elsevier, 2004, pp. 44–47.

- [35] W. Ren, Y. Fang, and E. Wang, "A binary functional substrate for enrichment and ultrasensitive SERS spectroscopic detection of folic acid using graphene oxide/Ag nanoparticle hybrids," *ACS Nano*, vol. 5, no. 8, pp. 6425–6433, 2011, doi: 10.1021/nn201606r.
- [36] J. K. Friel, M. Frecker, and F. C. Fraser, "Nutritional patterns of mothers of children with neural tube defects in Newfoundland," *Am. J. Med. Genet.*, vol. 55, no. 2, pp. 195–199, 1995, doi: 10.1002/ajmg.1320550209.
- [37] P. Kalimuthu and S. A. John, "Selective electrochemical sensor for folic acid at physiological pH using ultrathin electropolymerized film of functionalized thiadiazole modified glassy carbon electrode," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 24, no. 12, pp. 3575–3580, 2009, doi: 10.1016/j.bios.2009.05.017.
- [38] P. Nagaraja, R. A. Vasantha, and H. S. Yathirajan, "Spectrophotometric determination of folic acid in pharmaceutical preparations by coupling reactions with iminodibenzyl or 3-aminophenol or sodium molybdate-pyrocatechol," *Anal. Biochem.*, vol. 307, no. 2, pp. 316–321, 2002, doi: 10.1016/S0003-2697(02)00038-6.
- [39] R. A. S. Lapa, J. L. F. C. Lima, B. F. Reis, J. L. M. Santos, and E. A. G. Zagatto, "Photochemical-fluorimetric determination of folic acid in a multicommutated flow system," *Anal. Chim. Acta*, vol. 351, no. 1–3, pp. 223–228, 1997, doi: 10.1016/S0003-2670(97)00335-8.
- [40] A. Rodríguez-Bernaldo De Quirós, C. Castro De Ron, J. López-Hernández, and M. A. Lage-Yusty, "Determination of folates in seaweeds by high-performance liquid chromatography," *J. Chromatogr. A*, vol. 1032, no. 1–2, pp. 135–139, 2004, doi: 10.1016/j.chroma.2003.11.027.
- [41] S. M. Wabaidur, S. M. Alam, S. H. Lee, Z. A. Allothman, and G. E. Eldesoky, "Chemiluminescence determination of folic acid by a flow injection analysis assembly," *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 105, pp. 412–417, 2013, doi: 10.1016/j.saa.2012.11.078.
- [42] X. Gao et al., "Synthesis of graphene/ZnO nanowire arrays/graphene foam and its application for determination of folic acid," *J. Electroanal. Chem.*, vol. 808, pp. 189–194, 2018, doi: 10.1016/j.jelechem.2017.12.017.
- [43] K.V. Harisha, B. E. Kumara Swamy, H. Jayadevappa and C. C. Vishwanath, "Voltammetric Determination of Folic acid in presence of Dopamine and Ascorbic Acid at Poly (Alanine) Modified Carbon Paste Electrode," *Anal. Bioanal. Electrochem.*, vol. 7, no. 4, pp. 454–465, 2015.
- [44] J. M. F. Alvarez, A. C. Garcia, A. J. M. Ordieres, and P. Tuñón Blanco, "Adsorptive Stripping Voltammetric Behaviour of Folic Acid," *J. Electroanal. Chem.*, vol. 225, no. 1–2, pp. 241–253, 1987, doi: 10.1016/0022-0728(87)80017-7.
- [45] Z. Kun et al., "Electrochemical behavior of folic acid in neutral solution on the modified glassy carbon electrode: Platinum nanoparticles doped multi-walled carbon nanotubes with Nafion as adhesive," *J. Electroanal. Chem.*, vol. 677–680, pp. 105–112, 2012, doi: 10.1016/j.jelechem.2012.05.010.

- [46] L. Bandžuchová, R. Šelešovská, T. Navrátil, and J. Chýlková, "Electrochemical behavior of folic acid on mercury meniscus modified silver solid amalgam electrode," *Electrochim. Acta*, vol. 56, no. 5, pp. 2411–2419, 2011, doi: 10.1016/j.electacta.2010.10.090.
- [47] M. Arvand and M. Dehsaraei, "A simple and efficient electrochemical sensor for folic acid determination in human blood plasma based on gold nanoparticles-modified carbon paste electrode," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 33, no. 6, pp. 3474–3480, 2013, doi: 10.1016/j.msec.2013.04.037.
- [48] A. Özcan and Y. Şahin, "Preparation of selective and sensitive electrochemically treated pencil graphite electrodes for the determination of uric acid in urine and blood serum," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 25, no. 11, pp. 2497–2502, 2010, doi: 10.1016/j.bios.2010.04.020.
- [49] S. Tahtaisleyen, O. Gorduk, and Y. Sahin, "Electrochemical Determination of Tartrazine Using a Graphene/Poly (L-Phenylalanine) Modified Pencil Graphite," *Anal. Lett.*, vol. 0, no. 0, pp. 1–21, 2020, doi: 10.1080/00032719.2020.1716242.
- [50] O. Gorduk, "Differential Pulse Voltammetric Determination of Serotonin Using an Acid-Activated Multiwalled Carbon Nanotube–Over-Oxidized Poly(3,4-ethylenedioxythiophene) Modified Pencil Graphite Electrode," *Anal. Lett.*, vol. 53, no. 7, pp. 1034–1052, 2020, doi: 10.1080/00032719.2019.1693583.
- [51] M. H. Mahnashi, A. M. Mahmoud, S. A. Alkahtani, R. Ali, and M. M. El-Wekil, "Facile fabrication of a novel disposable pencil graphite electrode for simultaneous determination of promising immunosuppressant drugs mycophenolate mofetil and tacrolimus in human biological fluids," *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 412, no. 2, pp. 355–364, 2020, doi: 10.1007/s00216-019-02245-8.
- [52] X. L. Jiang, R. Li, J. Li, and X. He, "Electrochemical behavior and analytical determination of folic acid on carbon nanotube modified electrode," *Russ. J. Electrochem.*, vol. 45, no. 7, pp. 772–777, 2009, doi: 10.1134/S1023193509070106.
- [53] M. P. Kingsley, P. B. Desai, and A. K. Srivastava, "Simultaneous electro-catalytic oxidative determination of ascorbic acid and folic acid using Fe₃O₄ nanoparticles modified carbon paste electrode," *J. Electroanal. Chem.*, vol. 741, pp. 71–79, 2015, doi: 10.1016/j.jelechem.2014.12.039.
- [54] S. Viswanathan, H. Radecka, and J. Radecki, "Electrochemical biosensors for food analysis," *Monatshefte fur Chemie*, vol. 140, no. 8, pp. 891–899, 2009, doi: 10.1007/s00706-009-0143-5.
- [55] S. Ershad, K. Dideban, and F. Faraji, "Analytical & Carbon Nanotube Nanocomposite for Electrochemical," vol. 5, no. 2, pp. 178–192, 2013.
- [56] A. Ananthi, S. S. Kumar, and K. L. Phani, "Facile one-step direct electrodeposition of bismuth nanowires on glassy carbon electrode for selective determination of folic acid," *Electrochim. Acta*, vol. 151, pp. 584–590, 2015, doi: 10.1016/j.electacta.2014.11.069.

- [57] S. Hussain, S. A. Zaidi, D. Vikraman, H. S. Kim, and J. Jung, "Facile preparation of molybdenum carbide (Mo₂C) nanoparticles and its effective utilization in electrochemical sensing of folic acid via imprinting," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 140, no. March, p. 111330, 2019, doi: 10.1016/j.bios.2019.111330.
- [58] M. A. Sheraz, S. H. Kazi, S. Ahmed, Z. Anwar, and I. Ahmad, "Photo, thermal and chemical degradation of riboflavin," *Beilstein J. Org. Chem.*, vol. 10, no. September, pp. 1999–2012, 2014, doi: 10.3762/bjoc.10.208.
- [59] N. Hareesha and J. G. Manjunatha, "Elevated and rapid voltammetric sensing of riboflavin at poly(helianthin dye) blended carbon paste electrode with heterogeneous rate constant elucidation," *J. Iran. Chem. Soc.*, vol. 17, no. 6, pp. 1507–1519, 2020, doi: 10.1007/s13738-020-01876-4.
- [60] R.S. Rivlin, "Disorders of vitamin metabolism: deficiencies, metabolic abnormalities and excesses," *Cecil Textbook of Medicine*, 19th ed., Wyngaarden, J.H., Smith, L.H. Jr., Bennett, J.C., and Plum, F., eds., W.B. Saunders, Philadelphia, 1170, 1991.
- [61] Traber MG, "Vitamin E. In Handbook of Vitamins," in CRC Press, Taylor & Francis Group, Zempleni J, Rucker RB, McCormick DB and Suttie JW., Ed., 4th ed., Boca Raton, 2007, p:153-174. FL. ISBN-13: 978-0-8493-4022-2.
- [62] L. Bandžuchová, R. Šelešovská, T. Navrátil, J. Chýlková, and L. Novotný, "Voltammetric monitoring of electrochemical reduction of riboflavin using silver solid amalgam electrodes," *Electrochim. Acta*, vol. 75, pp. 316–324, 2012, doi: 10.1016/j.electacta.2012.05.009.
- [63] R. Gupta, P. K. Rastogi, U. Srivastava, V. Ganesan, P. K. Sonkar, and D. K. Yadav, "Methylene blue incorporated mesoporous silica microsphere based sensing scaffold for the selective voltammetric determination of riboflavin," *RSC Adv.*, vol. 6, no. 70, pp. 65779–65788, 2016, doi: 10.1039/c6ra12336h.
- [64] P. K. Sonkar, V. Ganesan, S. K. Sen Gupta, D. K. Yadav, R. Gupta, and M. Yadav, "Highly dispersed multiwalled carbon nanotubes coupled manganese salen nanostructure for simultaneous electrochemical sensing of vitamin B2 and B6," *J. Electroanal. Chem.*, vol. 807, no. October, pp. 235–243, 2017, doi: 10.1016/j.jelechem.2017.11.050.
- [65] K. R. Dawson, N. F. Unklesbay, and H. B. Hedrick, "HPLC determination of riboflavin, niacin, and thiamin in beef, pork, and lamb after alternate heat-processing methods," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 36, no. 6, pp. 1176–1179, 1988, doi: 10.1021/jf00084a012.
- [66] M. Ashraf et al., "Spectrophotometric Determination of Riboflavin with Spermine-Copper Chloride Complexes in Pharmaceutical Preparations," vol. 14, no. 12, pp. 1397–1401, 2014, doi: 10.5829/idosi.aejaes.2014.14.12.9189.
- [67] C. Zhang and H. Qi, "Highly sensitive determination of riboflavin based on the enhanced electrogenerated chemiluminescence of lucigenin at a platinum electrode in a neutral aqueous solution," *Anal. Sci.*, vol. 18, no. 7, pp. 819–822, 2002, doi: 10.2116/analsci.18.819.

- [68] L. Hu, X. Yang, C. Wang, H. Yuan, and D. Xiao, "Determination of riboflavin in urine and beverages by capillary electrophoresis with in-column optical fiber laser-induced fluorescence detection," *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.*, vol. 856, no. 1–2, pp. 245–251, 2007, doi: 10.1016/j.jchromb.2007.06.011.
- [69] B. Yuan et al., "Electrochemical Determination of Glutathione Based on Analytical Methods Accepted Manuscript," *Anal. Methods*, vol. 5, no. 7, pp. 1779–1783, 2013.
- [70] G. Tigari, J. G. Manjunatha, C. Raril, and N. Hareesha, "Determination of Riboflavin at Carbon Nanotube Paste Electrodes Modified with an Anionic Surfactant," *ChemistrySelect*, vol. 4, no. 7, pp. 2168–2173, 2019, doi: 10.1002/slct.201803191.
- [71] S. Z. Mohammadi, H. Beitollahi, B. Khodaparast, and R. Hosseinzadeh, "Electrochemical determination of epinephrine, uric acid and folic acid using a carbon paste electrode modified with novel ferrocene derivative and core-shell magnetic nanoparticles," *Res. Chem. Intermed.*, vol. 45, no. 3, pp. 1117–1129, 2019, doi: 10.1007/s11164-018-3668-6.
- [72] P. Li et al., "An Electrochemical Sensor for Determination of Vitamin B 2 and B 6 Based on AuNPs@PDA-RGO Modified Glassy Carbon Electrode," *J. Electrochem. Soc.*, vol. 166, no. 10, pp. B821–B829, 2019, doi: 10.1149/2.1281910jes.
- [73] D. Amin, "Application of differential pulse polarography to the assay of ascorbic acid," *Microchem. J.*, vol. 28, no. 2, pp. 174–179, 1983, doi: 10.1016/0026-265X(83)90049-8.
- [74] A. Chatterjee and J. S. Foord, "Biological applications of diamond electrodes; electrochemical studies of riboflavin," *Diam. Relat. Mater.*, vol. 18, no. 5–8, pp. 899–903, 2009, doi: 10.1016/j.diamond.2009.02.016.
- [75] O. Koyun, S. Gorduk, M. B. Arvas, and Y. Sahin, "Electrochemically Treated Pencil Graphite Electrodes Prepared in One Step for the Electrochemical Determination of Paracetamol," *Russ. J. Electrochem.*, vol. 54, no. 11, pp. 796–808, 2018, doi: 10.1134/S1023193518110046.
- [76] O. Koyun and Y. Sahin, "Poly(L-cysteine) modified pencil graphite electrode for determination of sunset yellow in food and beverage samples by differential pulse voltammetry," *Int. J. Electrochem. Sci.*, vol. 13, no. 1, pp. 159–174, 2018, doi: 10.20964/2018.01.40.
- [77] A. Nezhadali, Z. Rouki, and M. Nezhadali, "Electrochemical preparation of a molecularly imprinted polypyrrole modified pencil graphite electrode for the determination of phenothiazine in model and real biological samples," *Talanta*, vol. 144, pp. 456–465, 2015, doi: 10.1016/j.talanta.2015.06.082.
- [78] Annu, S. Sharma, R. Jain, and A. N. Raja, "Review—Pencil Graphite Electrode: An Emerging Sensing Material," *J. Electrochem. Soc.*, vol. 167, no. 3, p. 037501, 2020, doi: 10.1149/2.0012003jes.

- [79] W. Gao, J. Song, and N. Wu, "Voltammetric behavior and square-wave voltammetric determination of trepibutone at a pencil graphite electrode," *J. Electroanal. Chem.*, vol. 576, no. 1, pp. 1–7, 2005, doi: 10.1016/j.jelechem.2004.09.026.
- [80] D. Tonelli, E. Scavetta, and I. Gualandi, "Electrochemical deposition of nanomaterials for electrochemical sensing," *Sensors (Switzerland)*, vol. 19, no. 5, 2019, doi: 10.3390/s19051186.
- [81] P. Yáñez-Sedeño and J. M. Pingarrón, "Gold nanoparticle-based electrochemical biosensors," *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 382, no. 4, pp. 884–886, 2005, doi: 10.1007/s00216-005-3221-5.
- [82] T. L. Lu and Y. C. Tsai, "Sensitive electrochemical determination of acetaminophen in pharmaceutical formulations at multiwalled carbon nanotube-alumina-coated silica nanocomposite modified electrode," *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 153, no. 2, pp. 439–444, 2011, doi: 10.1016/j.snb.2010.11.013.
- [83] T. Madrakian, E. Haghshenas, and A. Afkhami, "Simultaneous determination of tyrosine, acetaminophen and ascorbic acid using gold nanoparticles/multiwalled carbon nanotube/glassy carbon electrode by differential pulse voltammetric method," *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 193, pp. 451–460, 2014, doi: 10.1016/j.snb.2013.11.117.
- [84] K. K. Shiu and K. Shi, "Selective determination of vitamin B2 at electrochemically activated glassy carbon electrode," *Electroanalysis*, vol. 12, no. 2, pp. 134–139, 2000, doi: 10.1002/(SICI)1521-4109(200002)12:2<134::AID-ELAN134>3.0.CO;2-V.
- [85] D. Q. Huang et al., "The determination of riboflavin (vitamin B2) using manganese dioxide modified glassy carbon electrode by differential pulse voltammetry," *Int. J. Electrochem. Sci.*, vol. 13, no. 9, pp. 8303–8312, 2018, doi: 10.20964/2018.09.02.
- [86] Z. Zhang, J. Xu, Y. Wen, and T. Wang, "A highly-sensitive VB2 electrochemical sensor based on one-step co-electrodeposited molecularly imprinted WS2-PEDOT film supported on graphene oxide-SWCNTs nanocomposite," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 92, no. April, pp. 77–87, 2018, doi: 10.1016/j.msec.2018.06.029.
- [87] M. Parra, S. Stahl, and H. Hellmann, "Vitamin B6 and Its Role in Cell Metabolism and Physiology," *Cells*, vol. 7, no. 7, p. 84, 2018, doi: 10.3390/cells7070084.
- [88] C. A. Calderón-Ospina and M. O. Nava-Mesa, "B Vitamins in the nervous system: Current knowledge of the biochemical modes of action and synergies of thiamine, pyridoxine, and cobalamin," *CNS Neurosci. Ther.*, vol. 26, no. 1, pp. 5–13, 2020, doi: 10.1111/cns.13207.
- [89] M. J. Brown, M. A. Ameer, K. Beier, "Vitamin B6 Deficiency," [Updated 2020 Oct 3]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan-

- [90] I. Ahmad, T. Mirza, K. Qadeer, U. Nazim, and F. H. M. Vaid, "Vitamin B6: Deficiency diseases and methods of analysis," *Pak. J. Pharm. Sci.*, vol. 26, no. 5, pp. 1057–1069, 2013.
- [91] R. Rejithamol and S. Beena, "Electrochemical quantification of pyridoxine (VB6) in human blood from other water-soluble vitamins," *Chem. Pap.*, vol. 74, no. 6, pp. 2011–2020, 2020, doi: 10.1007/s11696-019-01049-5.
- [92] A. A. Alwarthan and F. A. Aly, "Chemiluminescent determination of pyridoxine hydrochloride in pharmaceutical samples using flow injection," *Talanta*, vol. 45, no. 6, pp. 1131–1138, 1998, doi: 10.1016/S0039-9140(97)00223-3.
- [93] M. S. Arayne, N. Sultana, F. A. Siddiqui, M. H. Zuberi, and A. Z. Mirza, "Spectrophotometric methods for the simultaneous analysis of meclezine hydrochloride and pyridoxine hydrochloride in bulk drug and pharmaceutical formulations.," *Pak. J. Pharm. Sci.*, vol. 20, no. 2, pp. 149–156, 2007.
- [94] A. P. Argekar and J. G. Sawant, "Simultaneous determination of pyridoxine hydrochloride and doxylamine succinate from tablets by ion pair reversed-phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC)," *Drug Dev. Ind. Pharm.*, vol. 25, no. 8, pp. 945–950, 1999, doi: 10.1081/DDC-100102255.
- [95] B. Kaur and R. Srivastava, "Nanocrystalline metallosilicate modified electrodes for the simultaneous, sensitive, and selective determination of riboflavin, rutin, and pyridoxine," *Electroanalysis*, vol. 26, no. 5, pp. 1078–1089, 2014, doi: 10.1002/elan.201400064.
- [96] D. R. Kumar, D. Manoj, J. Santhanalakshmi, and J. J. Shim, "Au-CuO core-shell nanoparticles design and development for the selective determination of Vitamin B6," *Electrochim. Acta*, vol. 176, pp. 514–522, 2015, doi: 10.1016/j.electacta.2015.07.034.
- [97] S. M. Wang, W. Y. Su, and S. H. Cheng, "A simultaneous and sensitive determination of hydroquinone and catechol at anodically pretreated screen-printed carbon electrodes," *Int. J. Electrochem. Sci.*, vol. 5, no. 11, pp. 1649–1664, 2010.
- [98] A. Özcan and Y. Şahin, "Selective and sensitive voltammetric determination of dopamine in blood by electrochemically treated pencil graphite electrodes," *Electroanalysis*, vol. 21, no. 21, pp. 2363–2370, 2009, doi: 10.1002/elan.200904695.
- [99] J. M. Zen, H. H. Chung, G. Ilangovan, and A. S. Kumar, "Electrochemical impedance study and sensitive voltammetric determination of Pb(II) at electrochemically activated glassy carbon electrodes," *Analyst*, vol. 125, no. 6, pp. 1139–1146, 2000, doi: 10.1039/b001848l.
- [100] R. C. Engstrom and V. A. Strasser, "Characterization of Electrochemically Pretreated Glassy Carbon Electrodes," *Anal. Chem.*, vol. 56, no. 2, pp. 136–141, 1984, doi: 10.1021/ac00266a005.
- [101] T. Nagaoka and T. Yoshino, "Surface Properties of Electrochemically Pretreated Glassy Carbon," *Anal. Chem.*, vol. 58, no. 6, pp. 1037–1042, 1986, doi: 10.1021/ac00297a012.

- [102] D. Manoj et al., "Heterostructures of mesoporous TiO₂ and SnO₂ nanocatalyst for improved electrochemical oxidation ability of vitamin B₆ in pharmaceutical tablets," *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 542, pp. 45–53, 2019, doi: 10.1016/j.jcis.2019.01.118.
- [103] T. A. D. Dos Santos, L. N. Barreto, A. G. S. L. Ritta, W. S. De Meneses, R. S. Nunes, and F. S. Semaan, "Cost-effective composite electrode for the fast voltammetric screening and determination of riboflavin (B₂) and pyridoxine (B₆) in pharmaceuticals," *Rev. Virtual Quim.*, vol. 5, no. 4, pp. 548–562, 2013, doi: 10.5935/1984-6835.20130042.
- [104] T. Nie, J. K. Xu, L. M. Lu, K. X. Zhang, L. Bai, and Y. P. Wen, "Electroactive species-doped poly(3,4-ethylenedioxythiophene) films: Enhanced sensitivity for electrochemical simultaneous determination of vitamins B₂, B₆ and C," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 50, pp. 244–250, 2013, doi: 10.1016/j.bios.2013.06.057.
- [105] D. L. Langhus, "Analytical Electrochemistry, 2nd Edition (Wang, Joseph)." *Journal of Chemical Education*, vol. 78, pp. 457, 2001.
- [106] O. Koyun, "Electrochemical determination of some substances important for food safety," Ph.D. dissertation, Dept. Chem., Yildiz Tech. Univ., Istanbul, Turkey, 2017.
- [107] D.A. Skoog, F.J. Holler, and S.R. Crouch, "Principles of instrumental analysis," Cengage learning, USA, 2017.
- [108] P. T. Kissinger and W. R. Heineman, "Cyclic voltammetry," *J. Chem. Educ.*, vol. 60, no. 9, pp. 702–706, 1983, doi: 10.1021/ed060p702.
- [109] F. R. Simões and M. G. Xavier, *Electrochemical Sensors*. Elsevier Inc., 2017.
- [110] P. Vanýsek, H. Tavassol, and K.-L. Pilsona, "The role of reference and counter electrodes in electrochemical impedance measurement," presented at the 224th ECS Meeting, San Francisco, CA, USA. Oct. 29-Nov. 1, 2013.
- [111] J. Boyle, D. Nelson, and M. Cox, "The foundations of biochemistry," *Lehninger Princ. Biochem.*, vol. 33, no. 1, pp. 74–75, 2005, [Online]. Available: <http://doi.wiley.com/10.1002/bmb.2005.494033010419>.
- [112] P. Shaikshavali, T. M. Reddy, T. M. Reddy, and G. Venkataprasad, "Fabrication, Characterization and Application of Poly (L-Cystine)/multi Walled Carbon Nanotubes Modified Glassy Carbon Electrode towards the Simultaneous Determination of Dopamine in presence of Uric Acid and Folic Acid," *Anal. Bioanal. Electrochem.*, vol. 9, no. 7, pp. 940-955, 2017.
- [113] P. Gopal, T. M. Reddy, and K. Reddaiah, "Electrocatalytic Activity of L-Cystine towards the Sensitive and Simultaneous Measurement of Nitrobenzene and 4-Nitrophenol: A Voltammetric Study," *Anal. Bioanal. Electrochem.*, vol. 7, no. 6, pp. 739-751, 2015.
- [114] R. S. Deinhammer, M. Ho, J. W. Anderegg, and M. D. Porter, "Electrochemical Oxidation of Amine-Containing Compounds: A Route to the Surface

- Modification of Glassy Carbon Electrodes," *Langmuir*, vol. 10, no. 4, pp. 1306–1313, 1994, doi: 10.1021/la00016a054.
- [115] A. K. Khan, R. Rashid, G. Murtaza, and A. Zahra, "Gold nanoparticles: Synthesis and applications in drug delivery," *Trop. J. Pharm. Res.*, vol. 13, no. 7, pp. 1169–1177, 2014, doi: 10.4314/tjpr.v13i7.23.
- [116] L. Mirmoghtadaie, A. A. Ensafi, M. Kadivar, M. Shahedi, and M. R. Ganjali, "Highly selective, sensitive and fast determination of folic acid in food samples using new electrodeposited gold nanoparticles by differential pulse voltammetry," *Int. J. Electrochem. Sci.*, vol. 8, no. 3, pp. 3755–3767, 2013.
- [117] P. Yáñez-Sedeño and J. M. Pingarrón, "Gold nanoparticle-based electrochemical biosensors," *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 382, no. 4, pp. 884–886, 2005, doi: 10.1007/s00216-005-3221-5.
- [118] S. K. Kulkarni, "Some Special Nanomaterials" in *Nanotechnology - Principles and Practices*, Springer, 3rd ed. New Delhi, India, Springer, 2015.
- [119] J. G. Manjunatha, "A new electrochemical sensor based on modified carbon nanotube-graphite mixture paste electrode for voltammetric determination of resorcinol," *Asian J. Pharm. Clin. Res.*, vol. 10, no. 12, pp. 295–300, 2017, doi: 10.22159/ajpcr.2017.v10i12.21028.
- [120] F. Valentini, S. Orlanducci, E. Tamburri, M. L. Terranova, A. Curulli, and G. Palleschi, "Single-walled carbon nanotubes on tungsten wires: A new class of microelectrochemical sensors," *Electroanalysis*, vol. 17, no. 1, pp. 28–37, 2005, doi: 10.1002/elan.200403119.
- [121] M. A. Gizawy, H. A. Shamsel-Din, I. M. Abdelmonem, M. I. A. Ibrahim, L. A. Mohamed, and E. Metwally, "Synthesis of chitosan-acrylic acid/multiwalled carbon nanotubes composite for theranostic ^{47}Sc separation from neutron irradiated titanium target," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 163, pp. 79–86, 2020, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.06.249.
- [122] E. P. Randviir and C. E. Banks, "Electrochemical impedance spectroscopy: An overview of bioanalytical applications," *Anal. Methods*, vol. 5, no. 5, pp. 1098–1115, 2013, doi: 10.1039/c3ay26476a.
- [123] S. Oswald, *X-Ray Photoelectron Spectroscopy in Analysis of Surfaces*, 2013.
- [124] K. D. Vernon-Parry, *III-Vs Rev.*, 2000, 13, 40–44.
- [125] S. Sinha Ray, "Techniques for characterizing the structure and properties of polymer nanocomposites," *Environ. Friendly Polym. Nanocomposites*, pp. 74–88, 2013, doi: 10.1533/9780857097828.1.74
- [126] F. Xiao, C. Ruan, L. Liu, R. Yan, F. Zhao, and B. Zeng, "Single-walled carbon nanotube-ionic liquid paste electrode for the sensitive voltammetric determination of folic acid," *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 134, no. 2, pp. 895–901, 2008, doi: 10.1016/j.snb.2008.06.037.
- [127] U. Sivasankaran, A. E. Vikraman, D. Thomas, and K. G. Kumar, "Nanomolar Level Determination of Octyl Gallate in Fats and Oils," *Food Anal. Methods*, vol. 9, no. 7, pp. 2115–2123, 2016, doi: 10.1007/s12161-015-0356-7.

- [128] L. F. Loguercio, P. Demingos, L. D. M. Manica, J. B. Griep, M. J. L. Santos, and J. Ferreira, "Simple One-step method to synthesize polypyrrole-indigo carmine-silver nanocomposite," *J. Chem.*, vol. 2016, 2016, doi: 10.1155/2016/5284259.
- [129] E. Laviron, "Adsorption, autoinhibition and autocatalysis in polarography and in linear potential sweep voltammetry," *J. Electroanal. Chem.*, vol. 52, no. 3, pp. 355–393, 1974, doi: 10.1016/S0022-0728(74)80448-1.
- [130] O. Koyun, S. Gorduk, M. Gencten, and Y. Sahin, "A novel copper(II) phthalocyanine-modified multiwalled carbon nanotube-based electrode for sensitive electrochemical detection of bisphenol A," *New J. Chem.*, vol. 43, no. 1, pp. 85–92, 2019, doi: 10.1039/c8nj03721c.
- [131] O. Koyun, H. Gursu, S. Gorduk, and Y. Sahin, "Highly sensitive electrochemical determination of dopamine with an overoxidized polypyrrole nanofiber pencil graphite electrode," *Int. J. Electrochem. Sci.*, vol. 12, no. 7, pp. 6428–6444, 2017, doi: 10.20964/2017.07.41.
- [132] M. Kuceki et al., "Selective and sensitive voltammetric determination of folic acid using graphite/restricted access molecularly imprinted poly(methacrylic acid)/SiO₂ composite," *J. Electroanal. Chem.*, vol. 818, no. March, pp. 223–230, 2018, doi: 10.1016/j.jelechem.2018.04.043.
- [133] E. GonçalvesdeAraújo, N. S. Fernandes, L. G. daSilvaSolon, C. F. SoaresAragão, and C. A. Martinez-Huitle, "Voltammetric Determination of Folic Acid Using a Graphite Paste Electrode," *Electroanalysis*, vol. 27, no. 2, pp. 398–405, 2015, doi: 10.1002/elan.201400475.
- [134] M. Mazloun-Ardakani, M. A. Sheikh-Mohseni, M. Abdollahi-Alibeik, and A. Benvidi, "Electrochemical sensor for simultaneous determination of norepinephrine, paracetamol and folic acid by a nanostructured mesoporous material," *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 171–172, pp. 380–386, 2012, doi: 10.1016/j.snb.2012.04.071.
- [135] A. A. Ensafi and H. Karimi-Maleh, "Modified multiwall carbon nanotubes paste electrode as a sensor for simultaneous determination of 6-thioguanine and folic acid using ferrocenedicarboxylic acid as a mediator," *J. Electroanal. Chem.*, vol. 640, no. 1–2, pp. 75–83, 2010, doi: 10.1016/j.jelechem.2010.01.010.
- [136] T. Nie et al., "Simultaneous determination of folic acid and uric acid under coexistence of l-ascorbic acid using a modified electrode based on poly(3,4-ethylenedioxythiophene) and functionalized single-walled carbon nanotubes composite," *Int. J. Electrochem. Sci.*, vol. 8, no. 5, pp. 7016–7029, 2013.
- [137] M. Mazloun-Ardakani, H. Beitollahi, M. K. Amini, F. Mirkhalaf, and M. Abdollahi-Alibeik, "New strategy for simultaneous and selective voltammetric determination of norepinephrine, acetaminophen and folic acid using ZrO₂ nanoparticles-modified carbon paste electrode," *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 151, no. 1, pp. 243–249, 2010, doi: 10.1016/j.snb.2010.09.011.

- [138] R. Huang, J. K. Hyun, and D. B. Min, "Photosensitizing effect of riboflavin, lumiflavin, and lumichrome on the generation of volatiles in soy milk," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 54, no. 6, pp. 2359–2364, 2006, doi: 10.1021/jf052448v.
- [139] P. Li et al., "An Electrochemical Sensor for Determination of Vitamin B2 and B6 Based on AuNPs@PDA-RGO Modified Glassy Carbon Electrode," *J. Electrochem. Soc.*, vol. 166, no. 10, pp. B821–B829, 2019, doi: 10.1149/2.1281910jes.
- [140] E. Mehmeti, D. M. Stanković, S. Chaiyo, L. Švorc, and K. Kalcher, "Manganese dioxide-modified carbon paste electrode for voltammetric determination of riboflavin," *Microchim. Acta*, vol. 183, no. 5, pp. 1619–1624, 2016, doi: 10.1007/s00604-016-1789-4.
- [141] S. Nellaiappan and A. S. Kumar, "Selective flow injection analysis of iodate in iodized table salts by riboflavin immobilized multiwalled carbon nanotubes chemically modified electrode," *Electrochim. Acta*, vol. 109, pp. 59–66, 2013, doi: 10.1016/j.electacta.2013.07.076.
- [142] J. li Zhang and N. Zhang, "Preparation of novel cystine-multiwalled carbon nanotubes-graphene oxide-glassy carbon electrode and electrochemical detection of riboflavin and dopamine," *Sensors Mater.*, vol. 30, no. 12, pp. 2799–2810, 2018, doi: 10.18494/SAM.2018.1970.
- [143] E. Laviron, "General expression of the linear potential sweep voltammogram in the case of diffusionless electrochemical systems," *J. Electroanal. Chem.*, vol. 101, pp. 19–28, 1979.
- [144] S. Tahtaisleyen, O. Gorduk, and Y. Sahin, "Electrochemical Determination of Sunset Yellow Using an Electrochemically Prepared Graphene Oxide Modified–Pencil Graphite Electrode (EGO-PGE)," *Anal. Lett.*, vol. 0, no. 0, pp. 1–23, 2020, doi: 10.1080/00032719.2020.1767120.
- [145] N. Lavanya, S. Radhakrishnan, C. Sekar, M. Navaneethan, and Y. Hayakawa, "Fabrication of Cr doped SnO₂ nanoparticles based biosensor for the selective determination of riboflavin in pharmaceuticals," *Analyst*, vol. 138, no. 7, pp. 2061–2067, 2013, doi: 10.1039/c3an36754a.
- [146] A. B. Monnappa, J. G. G. Manjunatha, A. S. Bhatt, and P. P. Ananda, "Fabrication of a sensitive and selective electrochemical sensing platform based on poly-l-leucine modified sensor for enhanced voltammetric determination of Riboflavin," *J. Food Meas. Charact.*, vol. 14, no. 6, pp. 3633–3643, 2020, doi: 10.1007/s11694-020-00608-9.
- [147] E. S. D'Souza, J. G. Manjunatha, C. Raril, G. Tigari, and P. A. Pushpanjali, "Polymer modified carbon paste electrode as a sensitive sensor for the electrochemical determination of riboflavin and its application in pharmaceutical and biological samples," *Anal. Bioanal. Chem. Res.*, vol. 7, no. 4, pp. 461–472, 2020.
- [148] K. Mielech, "Simultaneous voltammetric determination of riboflavin and L-ascorbic acid in multivitamin pharmaceutical preparations," *J. Trace*

- Microprobe Tech., vol. 21, no. 1, pp. 111–121, 2003, doi: 10.1081/TMA-120017900.
- [149] L. C. Gribat, J. T. Babauta, H. Beyenal, and N. A. Wall, “New rotating disk hematite film electrode for riboflavin detection,” *J. Electroanal. Chem.*, vol. 798, pp. 42–50, 2017, doi: 10.1016/j.jelechem.2017.05.008.
- [150] É. S. Sá, P. S. Da Silva, C. L. Jost, and A. Spinelli, “Electrochemical sensor based on bismuth-film electrode for voltammetric studies on vitamin B2 (riboflavin),” *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 209, pp. 423–430, 2015, doi: 10.1016/j.snb.2014.11.136.
- [151] A. Sharma, A. Khosla, and S. Arya, “Synthesis of SnO₂ nanowires as a reusable and flexible electrode for electrochemical detection of riboflavin,” *Microchem. J.*, vol. 156, no. April, p. 104858, 2020, doi: 10.1016/j.microc.2020.104858.
- [152] A. Nezamzadeh-Ejhieh and P. Pouladsaz, “Voltammetric determination of riboflavin based on electrocatalytic oxidation at zeolite-modified carbon paste electrodes,” *J. Ind. Eng. Chem.*, vol. 20, no. 4, pp. 2146–2152, 2014, doi: 10.1016/j.jiec.2013.09.044.
- [153] E. Zarei, M. R. Jamali, and J. Bagheri, “Application of TiO₂ Nanoparticles Modified Carbon Paste Electrode for the Determination of Vitamin B₂,” *J. Anal. Chem.*, vol. 74, no. 12, pp. 1213–1222, 2019, doi: 10.1134/S1061934819120049.
- [154] A. M. Bagoji and S. T. Nandibewoor, “Redox Behavior of Riboflavin and Its Determination in Real Samples at Graphene Modified Glassy Carbon Electrode,” *Phys. Chem. Commun.*, vol. 3, no. 2, 2016, [Online]. Available: www.bacpl.org/j/pcc.
- [155] N. E. Zoulis, D. P. Nikolelis, and C. E. Efstathiou, “Pre-concentration of indolic compounds at a carbon paste electrode and indirect determination of l-tryptophan in serum by adsorptive stripping voltammetry,” *Analyst*, vol. 115, no. 3, pp. 291–295, 1990, doi: 10.1039/an9901500291.
- [156] S. Thiagarajan, T. H. Tsai, and S. M. Chen, “Easy modification of glassy carbon electrode for simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid,” *Biosens. Bioelectron.*, vol. 24, no. 8, pp. 2712–2715, 2009, doi: 10.1016/j.bios.2008.12.010.
- [157] T. R. L. C. Paixão, L. Kosminsky, and M. Bertotti, “Use of electrochemically pretreated glassy carbon electrodes as pH sensors in potentiometric titrations,” *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 87, no. 1, pp. 41–46, 2002, doi: 10.1016/S0925-4005(02)00201-0.
- [158] L. S. Porto, D. N. da Silva, M. C. Silva, and A. C. Pereira, “Electrochemical Sensor Based on Multi-walled Carbon Nanotubes and Cobalt Phthalocyanine Composite for Pyridoxine Determination,” *Electroanalysis*, vol. 31, no. 5, pp. 820–828, 2019, doi: 10.1002/elan.201800789.
- [159] K. Shi and K. K. Shiu, “Determination of uric acid at electrochemically activated glassy carbon electrode,” *Electroanalysis*, vol. 13, no. 16, pp. 1319–1325,

2001, doi: 10.1002/1521-4109(200111)13:16<1319::AID-ELAN1319>3.0.CO;2-C.

- [160] G. Tigari and J. G. Manjunatha, "Electrochemical Preparation of Poly(arginine)-Modified Carbon Nanotube Paste Electrode and its Application for the Determination of Pyridoxine in the Presence of Riboflavin: An Electroanalytical Approach," *J. Anal. Test.*, vol. 3, no. 4, pp. 331–340, 2019, doi: 10.1007/s41664-019-00116-w.
- [161] R. Amini and K. Asadpour-Zeynali, "Cauliflower-like NiCo₂O₄-Zn/Al Layered Double Hydroxide Nanocomposite as an Efficient Electrochemical Sensing Platform for Selective Pyridoxine Detection," *Electroanalysis*, vol. 32, no. 6, pp. 1160–1169, 2020, doi: 10.1002/elan.201900600.
- [162] B. Brunetti and E. Desimoni, "Voltammetric determination of vitamin B6 in food samples and dietary supplements," *J. Food Compos. Anal.*, vol. 33, no. 2, pp. 155–160, 2014, doi: 10.1016/j.jfca.2013.12.008.
- [163] N. F. Atta, A. Galal, E. H. El-Ads, and A. R. M. El-Gohary, "Effective and Facile Determination of Vitamin B6 in Human Serum with CuO Nanoparticles/Ionic Liquid Crystal Carbon Based Sensor," *J. Electrochem. Soc.*, vol. 164, no. 13, pp. B730–B738, 2017, doi: 10.1149/2.1981713jes.
- [164] B. Habibi, H. Phezhhan, and M. H. Pournaghi-Azar, "Voltammetric determination of vitamin B6 (pyridoxine) using multi wall carbon nanotube modified carbon-ceramic electrode," *J. Iran. Chem. Soc.*, vol. 7, no. 2, pp. 103–112, 2010, doi: 10.1007/bf03246189.
- [165] P. B. Desai, R. M. Kotkar, and A. K. Srivastava, "Electrochemical behaviour of pyridoxine hydrochloride (vitamin B 6) at carbon paste electrode modified with crown ethers," *J. Solid State Electrochem.*, vol. 12, no. 9, pp. 1067–1075, 2008, doi: 10.1007/s10008-007-0435-9.
- [166] J. K. Shashikumara, B. E. Kumara Swamy, and H. D. Madhuchandra, "Poly(amido black) modified carbon paste electrode sensor for dopamine in the presence of uric acid," *Mater. Sci. Energy Technol.*, vol. 3, pp. 390–396, 2020, doi: 10.1016/j.mset.2020.02.004.
- [167] A. J. B. Larry, and R. Faulkner, "Electrochemical methods - Fundamentals and applications," 2nd Ed. New York, NY, USA, Wiley, 2000.
- [168] O. Gorduk, S. Gorduk, M. Gencten, M. Sahin, and Y. Sahin, "One-step electrochemical preparation of ternary phthalocyanine/acid-activated multiwalled carbon nanotube/polypyrrole-based electrodes and their supercapacitor applications," *Int. J. Energy Res.*, vol. 44, no. 11, pp. 9093–9111, 2020, doi: 10.1002/er.5634.
- [169] Y. Li et al., "Electrochemical synthesis of phosphorus-doped graphene quantum dots for free radical scavenging," *Phys. Chem. Chem. Phys.*, vol. 19, no. 18, pp. 11631–11638, 2017, doi: 10.1039/c6cp06377b.
- [170] J. Wu, X. Zheng, C. Jin, J. Tian, and R. Yang, "Ternary doping of phosphorus, nitrogen, and sulfur into porous carbon for enhancing electrocatalytic oxygen

- reduction," *Carbon* N. Y., vol. 92, pp. 327–338, 2015, doi: 10.1016/j.carbon.2015.05.013.
- [171] H. D. Madhuchandra and B. E. K. Swamy, "Poly (vanillin) modified carbon paste electrode for the determination of adrenaline: A voltammetric study," *Mater. Sci. Energy Technol.*, vol. 2, no. 3, pp. 697–702, 2019, doi: 10.1016/j.mset.2019.09.002.
- [172] D. Kuzmanović, M. Khan, E. Mehmeti, R. Nazir, N. R. R. Amaizah, and D. M. Stanković, "Determination of pyridoxine (Vitamin B6) in pharmaceuticals and urine samples using unmodified boron-doped diamond electrode," *Diam. Relat. Mater.*, vol. 64, pp. 184–189, 2016, doi: 10.1016/j.diamond.2016.02.018.
- [173] I. G. David et al., "Voltammetric determination of B1 and B6 vitamins using a pencil graphite electrode," *Chem. Pap.*, vol. 69, no. 7, pp. 901–910, 2015, doi: 10.1515/chempap-2015-0096.
- [174] M. F. S. Teixeira, G. Marino, E. R. Dockal, and É. T. G. Cavalheiro, "Voltammetric determination of pyridoxine (Vitamin B6) at a carbon paste electrode modified with vanadyl(IV)-Salen complex," *Anal. Chim. Acta*, vol. 508, no. 1, pp. 79–85, 2004, doi: 10.1016/j.aca.2003.11.046.
- [175] N. Alpar, P. T. Pınar, Y. Yardım, and Z. Şentürk, "Voltammetric Method for the Simultaneous Determination of Melatonin and Pyridoxine in Dietary Supplements Using a Cathodically Pretreated Boron-doped Diamond Electrode," *Electroanalysis*, vol. 29, no. 7, pp. 1691–1699, 2017, doi: 10.1002/elan.201700077.
- [176] Y. Zhang and Y. Wang, "Voltammetric Determination of Vitamin B6 at Glassy Carbon Electrode Modified with Gold Nanoparticles and Multi-Walled Carbon Nanotubes," *Am. J. Anal. Chem.*, vol. 02, no. 02, pp. 194–199, 2011, doi: 10.4236/ajac.2011.22022.
- [177] M. A. Raj, N. S. K. Gowthaman, and S. A. John, "Highly sensitive interference-free electrochemical determination of pyridoxine at graphene modified electrode: Importance in Parkinson and Asthma treatments," *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 474, pp. 171–178, 2016, doi: 10.1016/j.jcis.2016.04.025.

TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

İletişim Bilgisi: ebrardk@gmail.com

Makale

1. E. Dokur, O. Gorduk and Y. Sahin, "Differential pulse voltammetric determination of folic acid using a poly(cystine) modified pencil graphite electrode," *Anal. Lett.*, 2020.
2. E. Dokur, O. Gorduk and Y. Sahin, "Selective Electrochemical Sensing of Riboflavin Based on Functionalized Multi-Walled Carbon Nanotube/Gold Nanoparticle/Pencil Graphite Electrode," *ECS J. Solid State Sci. Technol.*, vol. 9, no. 12, pp.121003, 2020.

Konferans Bildirileri

1. E. Dokur, O. Gorduk and Y. Sahin, "Voltammetric determination of pyridoxine using electrochemically pretreated electrode," in International Eurasian Conference on Biotechnology and Biochemistry, Ankara, Turkey, December 16-18, 2020, pp. 847.
2. E. Dokur, O. Gorduk and Y. Sahin, "Electrochemical determination of riboflavin based on functionalized multi-walled carbon nanotube/gold nanoparticle/pencil graphite electrode," in International Eurasian Conference on Biotechnology and Biochemistry, Ankara, Turkey, December 16-18, 2020, pp. 836.
3. E. Dokur, O. Gorduk and Y. Sahin, "Karbon Esaslı Elektrot ile Folik Asitin Elektrokimyasal Olarak Belirlenmesi," Ulusal Kimya Kongresi, İstanbul, Türkiye, 10-13 Eylül, 2019.