

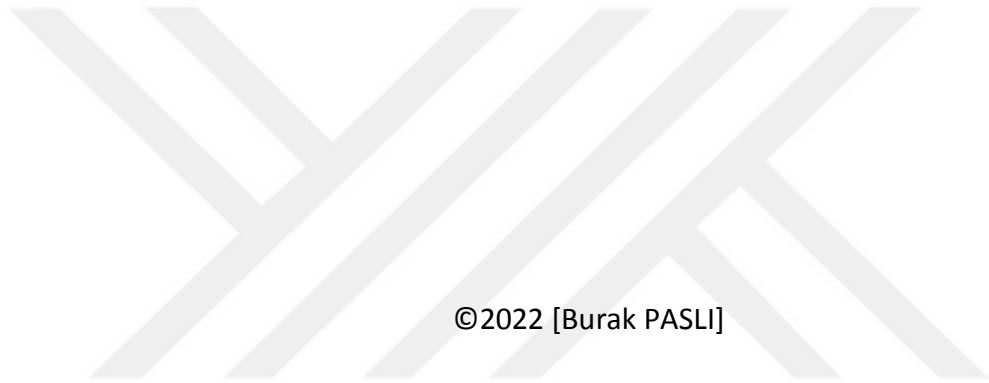
T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MODİFİYE KALEM GRAFİT ELEKTROT İLE ÜRENİN ELEKTROKİMYASAL
TAYİNİ VE VOLTAMETRİK DAVRANIŞI

Burak PASLI

Danışman
Prof. Dr. Esengül KIR

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI
ISPARTA-2022



©2022 [Burak PASLI]

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER	i
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
1.1. Üre	3
1.2. Metabolizmada Üre	5
1.3. Üre Tayin Yöntemleri	6
1.4. Sensörler	7
1.4.1. Karbonlu Modifiye Elektrotlar	7
1.5. Biyosensörler	9
1.6. Elektrokimya.....	11
1.6.1. Potansiyometri.....	14
1.6.2. Voltametri.....	15
1.7. İletken Polimerler	20
1.7.1. Polipirolun Elektrokimyasal Sentezi	22
1.8. Oksim Yapısı	25
2. KAYNAK ÖZETLERİ	27
3. MATERYAL VE METOT	34
3.1. Kullanılan Cihazlar	34
3.1.1. Potentiostat/Galvonostat cihazı	34
3.1.2. Analitik terazi	35
3.1.3. pH metre cihazı	35
3.1.4. Taramalı elektron mikroskobu (SEM).....	35
3.2. Kullanılan Elektrotlar	35
3.3. Hücreler.....	36
3.3.1. Susuz Ortam Hücresi	38
3.3.2. Sulu Ortam Hücresi	39
3.4. Deney Süresince Kullanılan Kimyasal Maddeler	40
3.5. Kullanılan Çözeltiler	42
3.6. Araştırmada Kullanılan Metot ve Prensipler	44
3.6.1. PPy elektrodun hazırlanması	45
3.6.2. OME elektrodun hazırlanması	45
3.7. Elektrotların Optimizasyonu	45
3.7.1. Döngü sayısının belirlenmesi	46
3.7.2. Tarama hızının belirlenmesi.....	46
3.7.3. Optimum madde miktarının belirlenmesi	46
3.7.4. Optimum çalışma pH değerinin belirlenmesi	47
3.7.5. Kalibrasyon aralığının belirlenmesi	47
3.8. Analiz İşleminin Yapılması	48
3.8.1. İdrar numunesinde analiz	48

3.8.2. Olası girişim maddeleri	48
3.8.2.1. Sodyum katyonu	49
3.8.2.2. Potasyum katyonu	49
3.8.2.3. Amonyum katyonu	49
3.8.2.4. Kalsiyum katyonu.....	50
3.8.2.5. Demir (III) katyonu.....	50
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	51
4.1. Taramalı Elektron Mikroskop Analizi	51
4.1.1. SEM-EDS analizi.....	52
4.2. Elektrotların Hazırlanması.....	54
4.2.1. PPy elektrodun hazırlanması	54
4.2.2. OME elektrodun hazırlanması	55
4.3. PPy ve OME Elektrotların Boş DP Voltomogramları	56
4.4. Elektrot Hazırlama Parametrelerinin Optimizasyonu.....	57
4.4.1. Döngü sayılarının elektrotların pik akımlarına etkisi.....	57
4.4.2. Tarama hızlarının elektrotların pik akımlarına etkisi	58
4.4.3. Modifiyer madde derişiminin elektrot pik akımına etkisi	60
4.4.4. Optimum pH değerinin belirlenmesi.....	60
4.4.5. Üre Analizi.....	61
4.4.6. Doğrusal çalışma aralığının belirlenmesi	63
4.4.7. Aynı üre derişiminde OME ve PPy elektrotların karşılaştırılması	65
4.4.8. İdrar numunesinde üre tayini ve geri kazanımın belirlenmesi	66
4.4.9. Girişim etkisi	66
5. SONUÇ	69
KAYNAKLAR	73
ÖZGEÇMİŞ.....	77

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

MODİFİYE KALEM GRAFİT ELEKTROT İLE ÜRENİN ELEKTROKİMYASAL TAYİNİ VE VOLTAMETRİK DAVRANIŞI

Burak PASLI

Süleyman Demirel Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Esengül KIR

Kullanım alanı oldukça geniş olan üre molekülü bazı tepkimelerde reaktif olarak kullanılır ve ayrıca birçok tepkimede de ürün olarak elde edilir. Endüstride; gübre ve hayvan yemleri üretiminde kullanımı oldukça yaygındır. Üre, insan ve memeli metabolizmasındaki azotlu organik moleküllerin toksik olmayan son ürünüdür. Metabolizmadaki üre derişiminin düşük ya da yüksek değerlerde bulunması ayrıca çeşitli hastalıkların da belirtisi olabilmektedir. Bu nedenle, kan ve idrardaki üre derişiminin tayin edilmesi özellikle klinik çalışmalarda hayati önem arz etmektedir.

Çalışmamızda yeni bir kalem grafit elektrot üzerine modifiye edilen homodinükleer iminoksim Cu(II) kompleks bileşğinin ilk kez modifiyer olarak kullanıldığı polipirol esaslı oksim modifiye elektrot (OME) geliştirilmiştir. OME elektrodun voltametrik davranışları ve yalın polipirol elektrota göre farklılaşmaları karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. OME elektrot doğrudan yöntemle çalışmakta olup sulu çözeltilerde bulunan üre molekülünün elektrokimyasal tayininde kullanılmıştır. Homodinükleer iminoksim Cu(II) kompleks-polipirol ile modifiye edilen kalem grafit elektrodun farklılaşması ve üre molekülüne karşı seçiciliğindeki artış incelenmiştir. Sulu ortam çözeltilerinde OME elektrot için kalibrasyon aralğı 1.67 µM ile 15 µM olarak bulunmuştur ($R^2=0.9978$). Tayin limiti 0.71 µM olarak bulunmuş ve elektrot gerçek numune çözeltilerinde yüksek bir geri kazanım değeri elde etmiştir. Geliştirilen modifiye elektrodun dezavantajları ise kullanım ömrünün kısa olması ve polipirol elektrota göre oda sıcaklığı şartlarında kararsız olmasıdır.

Anahtar Kelimeler: Üre, kalem grafit elektrot, diferansiyel puls voltametri, dönüşümlü voltametri, elektrokimyasal tayin, di nükleer kompleks

2022, 77 sayfa

ABSTRACT

M. Sc. Thesis

VOLTAMMETRIC BEHAVIOR AND ELECTROCHEMICAL DETERMINATION OF UREA WITH MODIFIED PENCIL GRAPHITE ELECTRODE

Burak PASLI

Süleyman Demirel University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Esengül KIR

Urea molecule, which has a wide usage area, is used as a reagent in some reactions and is also obtained as a product in many reactions. In industry; It is widely used in fertilizer and animal feed production. Urea is the non-toxic end product of nitrogenous organic molecules in human and mammalian metabolism. Low or high urea concentration in metabolism can also be a symptom of various diseases. Therefore, determination of urea concentration in blood and urine is of vital importance, especially in clinical studies.

In our study, a polypyrrole-based oxime modified electrode (OME) was developed in which homodinuclear iminoxime Cu(II) complex compound modified on a new pencil graphite electrode was used as a modifier for the first time. The voltammetric behaviors of the OME electrode and their differentiation compared to the plain polypyrrole electrode were investigated comparatively. The OME electrode works with the direct method and has been used for the electrochemical determination of the urea molecule in aqueous solutions. The differentiation of the pencil graphite electrode modified with homodinuclear iminoxime Cu(II) complex-polypyrrole and the increase in its selectivity towards the urea molecule were investigated. The calibration range for the OME electrode in aqueous media solutions was found to be 1.67 μM - 15 μM ($R^2 = 0.9978$). The detection limit was found to be 0.71 μM and the electrode achieved a high recovery value in the real sample solution. The disadvantages of the developed modified electrode are that it has a short lifetime and is unstable under room temperature conditions compared to the polypyrrole electrode.

Keywords: Urea, pencil graphite electrode, differential pulse voltammetry, cyclic voltammetry, electrochemical determination, di nuclear complex

2022, 77 pages

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim süresince beni destekleyen, tecrübeleriyle bana yol gösteren, araştırmaların yürütülmesinde her türlü bilgi ve öneri ile çalışmalarına ışık tutan karşılaştığım zorlukları aşmamda yardımlarını ve katkılarını esirgemeyen çok değerli Danışman hocam Prof. Dr. Esengül KIR ' a ve Doç. Dr. Tuğba SARDOHAN KÖSEOĞLU' na en içten dileklerle teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca araştırmanın yürütülmesi aşamasında tezimde kullandığım organometalik kompleksi sentezleyen Organik Kimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Bülent DEDE' ye teşekkür ederim. Ayrıca deneysel çalışmalarımda bana yardımcı olan Arş. Gör. Aybüke Durgut'a teşekkür ederim.

Hayatımın birçok alanında her zaman yanımda olan beni yalnız bırakmayan, maddi ve manevi her alanda yanımda olan aileme sonsuz sevgi ve şükranlarımı sunarım.

Burak PASLI
ISPARTA, 2022

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1.1. Üre molekülü	4
Şekil 1.2. Krebs-Henseleit döngüsü (Nichelsen ve GraBhoff, 2009)	6
Şekil 1.3. Grafitin hekzagonal yapısı	8
Şekil 1.4. Biyosensörlerin çalışma prensibi	10
Şekil 1.5. Kontrollü-potansiyelde elektroliz düzeneği.....	13
Şekil 1.6. Voltamtride kullanılan potansiyel uyarma sinyalleri	17
Şekil 1.7. Üç elektrotlu potansiyostat sistemi	18
Şekil 1.8. Dönüşümlü voltametriye ait voltamogram	19
Şekil 1.9. Bazı iletken polimerlerin moleküler yapısı	21
Şekil 1.10. Polipirolün elektrokimyasal sentez mekanizması.....	23
Şekil 1.11. Sulu ortamda pirolün polimerizasyonu	25
Şekil 1.12. Çeşitli oksim yapıları.....	26
Şekil 3.1. Autolab Potentiostat/ Galvonostat PGSTAT-302N cihazı.....	35
Şekil 3.2. Çalışma hücresinde kullanılan elektrotlar	36
Şekil 3.3. Voltametrik çalışma düzeneği.....	38
Şekil 3.4. Homodinükleer iminoksim Cu(II) kompleks çözeltisinin renginin zamanla değişimi	39
Şekil 3.5. Homodinükleer iminoksim Cu(II) kompleksi	40
Şekil 4.1. SEM görüntüleri (a) PPy elektrot, (b) OME elektrot	51
Şekil 4.2. PPy elektrodun SEM-EDS grafiği	52
Şekil 4.3. OME elektrodun SEM-EDS grafiği	53
Şekil 4.4. Polipirol elektrodun CV voltomogramı	54
Şekil 4.5. OME elektrodun CV voltomogramı.....	55
Şekil 4.6. Polipirol elektrot ile alınan 5 DP voltamogramı.....	56
Şekil 4.7. OME elektrot ile alınan 5 DP voltomogramı.....	57
Şekil 4.8. PPy elektrot için döngü sayıları ile akım ilişkisi.....	58
Şekil 4.9. OME elektrot için döngü sayıları ile akım ilişkisi.....	58
Şekil 4.10. Polipirol elektrot için optimum tarama hızı	59
Şekil 4.11. OME elektrot için optimum tarama hızı.....	59
Şekil 4.12. Homodinükleer iminoksim kompleks derişiminin akıma etkisi.....	60
Şekil 4.13. OME elektrot için optimum pH değeri	61
Şekil 4.14. PPy elektrot farklı üre derişimindeki voltomogramlar.....	62
Şekil 4.15. OME elektrodun üre derişimine duyarlılığı	62
Şekil 4.16. OME elektrot ile 0.1-0.9 ppm üre derişim aralığında elde edilen kalibrasyon eğrisi.....	64
Şekil 4.17. OME ve PPy elektrotların 0.2 ppm üreye verdikleri DP voltomogramı ...	65
Şekil 4.18. OME ve PPy elektrotların 0.5 ppm üreye verdikleri DP voltomogramı ...	65

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 1.1. Üre Molekülünün Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	4
Çizelge 3.1. Deneyde Kullanılan Kimyasal Maddeler	41
Çizelge 3.2. Deneyde kullanılan çözeltilerin hazırlanışı	44
Çizelge 3.3. lineer aralığın bulunması için incelenen derişimler	47
Çizelge 4.1. Orijinal PPy elektrodun atom miktarları.....	52
Çizelge 4.2. OME elektrodun atom miktarları	53
Çizelge 4.3. PPy ve OME elektrotların optimum çalışma şartları	63
Çizelge 4.4. OME elektrot kalibrasyon grafiği ile ilgili bazı parametre değerleri	64
Çizelge 4.5. İdrar numunesinde üre tayini ve geri kazanım sonuçları	66
Çizelge 4.6. OME elektrot için 0.5 ppm üre varlığında bazı girişim yapan türlerin etkisi.....	67
Çizelge 5.1. Bazı üre sensör ve biyosensörlerin karşılaştırılması.....	70

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

A	Elektrot yüzey alanı (cm ²)
ACN	Asetonitril
AgCl	Gümüş klorür
AgN	Gümüş nitrat
BR	Britton-Robinson tamponu
BUN	Kan üre azotu
c	Derişim (mol/cm ³)
C	Karbon
CME	Kimyasal modifiye elektrot
CV	Döngüsel voltametri
D	Difüzyon katsayısı (cm ² /s)
DPV	Diferansiyel puls voltametri
F	Faraday sabiti 96485 C (coulomb)
g	Gram
LiClO ₄	Lityum perklorat
ln	Doğal logaritma
LSV	Doğrusal taramalı voltametri
M	Molarite
M _A	Molekül Kütlesi
mg	Miligram
mL	Mililitre
mM	Milimolar
Mv	Milivolt
mV/s	Milivolt/saniye
n	Yarı reaksiyondaki elektronların mol sayısı
NaNO ₃	Sodyum nitrat
NaOH	Sodyum hidroksit
OME	Polipirol- homodinükleer iminoksim Cu(II) kompleks elektrot
ppm	Milyonda Bir
PPy	Polipirol
Pt	Platin
R	Gaz sabiti 8,314 J K ⁻¹ mol ⁻¹
S	Standart Sapma
SCE	Doymuş kalomel elektrot
SHE	Standart hidrojen elektrot
sn	Saniye
T	Sıcaklık, Kelvin
TBAP	Tetrabütülamonyum perklorat
TBAP	Tetrabütülamonyum perklorat
v	Tarama hızı (V/s)
%	Yüzde
E ⁰	Yarı reaksiyonun standart elektrot potansiyeli
µL	Mikrolitre
µM	Mikromolar

1. GİRİŞ

20. yy başlarından itibaren bilgisayar teknolojisindeki gelişmelere paralel olarak kimyasal analiz yöntemleri de gelişme kaydetmiştir. Klasik (yaş) analiz yöntemleriyle belirlenemeyen veya belirlenmesi uzun ve yorucu işlemler gerektiren analizler enstrümental analiz yöntemleriyle kolaylıkla yapılabilmektedir. Enstrümental analiz yöntemleriyle maddenin cinsine veya derişimine orantılı olarak bir sinyal üretilir. Dedektör veya algılayıcı sensörlerde de üretilen bu sinyaller bir bilgisayarda işlenerek kaydedilir. Enstrümental analiz yöntemleri kullanılarak analit maddelerinin düşük konsantrasyonlardaki nitel ve nicel analizleri hızlı ve kolay bir şekilde gerçekleştirilir.

Enstrümental (Aletli) analiz yöntemleri analiz maddesinin tayin yöntemine göre genel olarak spektroskopik yöntemler, termal yöntemler, elektrokimyasal yöntemler ve kromatografik yöntemler olmak üzere kullanılan tekniğe göre başlıklara ayrılmaktadırlar. Spektroskopik yöntemlerde maddelerin ışık ile etkileşimleri incelenir. Termal yöntemlerde ise numune sıcaklığı kontrollü bir şekilde değiştirilirken maddenin fiziksel özelliklerinden herhangi birisindeki değişimler veya tepkimelerdeki entalpi değişimleri incelenir. Elektrokimyasal yöntemlerde ise çözültideki elektriksel özelliklerin değişimleri incelenir. Genel anlamda elektrokimyasal yöntemlerde yükseltgenme-indirgenme reaksiyonları sonucu oluşan elektron alışverişine göre analiz yapılır. Kromatografik yöntemlerde ise sabit faz (kolon) üzerinden geçirilen hareketli (mobil) fazdaki çözünmüş maddelerin sabit fazdaki tutulma durumları ve süreleri incelenir.

Elektro analitik yöntemlerin, elektrotların ve elektrokimyasal sensörlerin gelişimine kısa bir genel bakış yapılacak olursa; Elektrogravimetri üzerine gerçekleştirilen ilk çalışma 1864'te Wolcott Gibbs tarafından en eski kantitatif prosedürlere aittir. Kökleri daha da eskidir ve "voltametre" ile temsil edilir. Elektrogravimetri ile yakından ilgili olan, yine Faraday yasalarına dayanan kulometridir; erken uygulamalar, atomik kütlelerin ve ince metal tabakaların belirlenmesini içerir. İletkenlik ölçümleri de (doğru akımla) 18. yüzyılda uygulanan oldukça eski bir

analitik yöntemdir. Etkili prosedür, Friedrich Kohlrausch tarafından alternatif akımın kullanılmasından sonra 1860'larda geliştirildi. Nernst denklemi (1889), doğrudan potansiyometri, örneğin az çözünür elektrolitlerin belirlenmesi için temeldi. Max Cremer, ilk elektrokimyasal sensör olan cam elektrodun (1906) mucididir. Robert Behrend (1883) tarafından titrasyonların potansiyometrik gösterimi, hacimsel analizde ilk enstrümantal göstergeydi. Jaroslav Heyrovský (1922) tarafından polarografinin icadı, damlayan cıva elektrotlu elektroanalizlerin başlagıcısıdır ve Masuro Shikata ile işbirliği içinde geliştirilen polarografik yöntemle çalışan ilk otomatik analitik cihazdır. Polarografik yöntemlerin (örneğin, puls ve alternatif akım yöntemleri) geliştirilmesi ile sıyırma analizini içeren voltametri de önem kazanmıştır. Elektroanalizin daha da geliştirilmesi, yeni elektrotlar ve elektrot malzemeleri, örneğin sabit cıva elektrotları, karbon macun elektrotları, kimyasal olarak modifiye edilmiş elektrotlar ve elektrokimyasal sensörlerin uygulamaları artan bir hızda günümüzde devam etmektedir(Lubert ve Kalcher, 2010).

Elektrokimyasal yöntemlerle yapılan çalışmalar ve kullanılmakta olan teknikler uzun zamandır bilinmekte ve kullanılmaktadır. Ancak iletken polimerle yapılan çalışmalar daha yenidir. Bu durum iletken polimerlerin keşfinin diğer yöntemlere daha geç olmasından kaynaklanmaktadır. İletken polimerler üzerine elektrokimyasal çalışmalar her geçen gün artmaktadır.

Yarı iletken polimerin gümüşü filmleri, trans-poliasetilen, $(CH)_x$, klor, brom veya iyot buharına maruz kaldığında, halojen alımı meydana gelir ve iletkenlik belirgin şekilde artar (iyot durumunda yedi büyüklük mertebesinde fazla). Bu polimerler, halojenasyonun derecesine bağlı olarak, bazıları oda sıcaklığında oldukça yüksek iletkenliğe sahip olan gümüşü veya gümüşü-siyah filmler vermektedir (Shirakawa vd., 1977). Shirakawa ve ekibi tarafından yalıtkan ve yarı iletken özelliklerdeki polimerlerin, doplama işlemi sonucu yarı iletken veya iletken özellik gösterebileceğinin keşfinden sonra modifiye elektrotlar üzerine çalışmalar başlamıştır. Bu iletken polimerler özellikle sensör ve biyosensör çalışmalarında yaygın bir biçimde kullanılmaktadır.

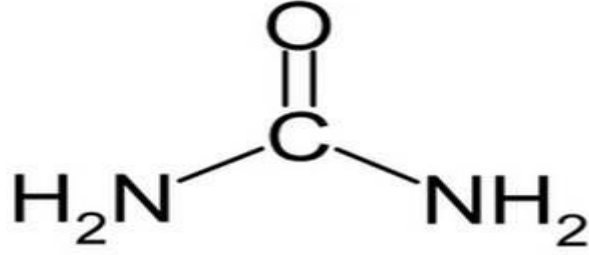
Kimyasal olarak modifiye edilmiş elektrot, Faraday (yük transferi) reaksiyonları vasıtasıyla ya da ara yüz ile bir kimyasal modifiye için seçilen mono moleküler, multi moleküler, iyonik ya da polimerik film ile ve kaplanmış olan bir iletken veya yarı iletken bir malzemedan imal edilebilirler. Elektrot potansiyelindeki farklılıklar (net yük aktarımı yoktur), filmin kimyasal, elektrokimyasal ve/veya optik özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Modifiye elektrotlar; daldırma kaplama, çözücü buharlaşması (damlacık buharlaşması), döndürme (spin) kaplama, elektrokimyasal biriktirme, elektrokimyasal polimerizasyon, radyofrekans polimerizasyonu ve çapraz bağlama gibi teknikler kullanılarak kaplanabilmektedir (Durst vd., 1997).

Fiziksel, Kimyasal ve Elektrokimyasal işlemler ile hazırlanılabilen modifiye elektrotların hazırlanışında kullanım kolaylıklarından dolayı elektrokimyasal yöntemler öne çıkmaktadır. Modifiye elektrotlarla kesinliği yüksek, hassas, doğruluğu yüksek, kullanımı kolay ve hızlı bir şekilde organik ve anorganik bileşiklerle sinyal üretilebilecek sensör veya biyosensörlerin geliştirilmesi mümkün olmaktadır.

Bu amaç doğrultusunda; tez çalışmasında yeni bir homodinükleer iminoksim Cu(II) kompleksinin ilk kez modifiyer olarak kullanıldığı polipirol bazlı yeni bir modifiye elektrot geliştirilmiş ve geliştirilen bu elektrot üre bileşiğinin sulu çözeltilerdeki elektrokimyasal tayininde kullanılmıştır.

1.1. Üre

Üre, karaciğerde oluşan azotlu bir bileşik olup CH_4N_2O kapalı kimyasal formülüne sahiptir. Ayrıca Karbomit veya Ureophil olarak da bilinmektedir. Üre, protein metabolizmasının son ürünü olduğundan dolayı atık bir üründür ve fizyolojik bir işlevi de yoktur. Kanda çözülür ve böbrekten geçerek idrarla atılır. Ayrıca suda çözülür ve toksik de değildir. Renksizdir ve kokusu yoktur. Endüstride yaygın olarak kullanılan önemli bir ham madde olup en çok gübre üretiminde kullanılır.



Şekil 1.1. Üre molekülü

Çizelge 1.1. Üre Molekülünün Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Kapalı Formülü	CH ₄ N ₂ O
Moleküler Ağırlığı / Molar Kütle	60.06 g / mol
Yoğunluk	1.32 g / cm ³
Görünüş	Beyaz katı
Erime noktası	133 ° C

Üre idrar içerisinde çokça bulunan organik bir bileşiktir. Ürenin keşfi 1773 yılında Hilaire Rouelle tarafından hayvan kaynaklı malzemelerle yapmış olduğu çalışmalarda (kurutulmuş kan, kemik ve idrarda) idrardan üreyi izole etmesi sonucu gerçekleşmiştir (Kurzer ve Sanderson, 1956). Yapay sentezi ise; Friedrich Woehler tarafından 1828 yılında kaza sonucu amonyum siyanatın ısıtılması ile ilk kez sentezlenmiştir. Bu olay, modern organik kimya sentezlerinin başlangıcı olmuştur. Keşfinden bu yana birçok tepkimede üre, ürün olarak elde edilmiştir. Üre bazı asit ve tuzlarla katılma tepkimesi verirken; bazı asitlerle de kondensasyon tepkimeleri verir. Endüstride kullanım alanları oldukça geniştir. En çok gübre ve hayvan yemi olarak kullanılan üreden; boya, ilaç ve plastik yapımında da faydalanılır. Üre tayinini gıda ve tarımsal işlemler, klinik teşhis ve çevre koruma gibi birçok alanda gerçekleştirilir. Klinik uygulamalarda üre tayini ayrıca önem arz etmektedir.

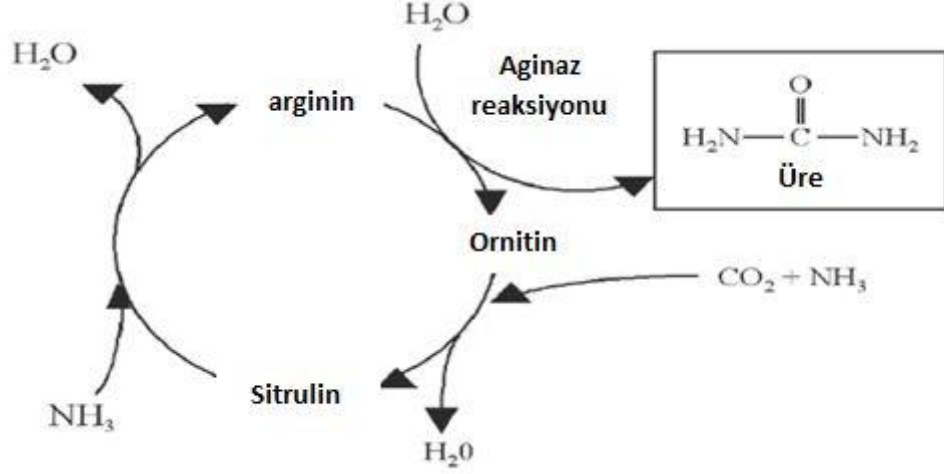
Üre, insan vücudundan % 80-90 azot atımını sağlayan, protein metabolizmasının toksik olmayan, azotlu organik bir son ürünüdür (Kurzer ve Senderson, 1956; Taylor ve Vadgama, 1992; Dervisevic vd., 2017). Üre, protein bozulmasının en önemli

ürünüdür ve kanda uygun dengede bulunması, genel vücut refahı ve özellikle böbrek sağlığı için gereklidir. Kandaki optimum üre konsantrasyonu uygun böbrek fonksiyonlarının göstergesidir ve sıklıkla klinik tanıda teşhis amacıyla kandaki üre miktarına bakılmaktadır. Normal serumdaki üre azot seviyesi 8 ila 20 mg/dL'dir. Kandaki yüksek üre seviyesi kronik veya akut böbrek yetmezliğine, idrar yolu tıkanmasına, dehidratasyona, şoka, yanıklara ve gastrointestinal kanamaya neden olur. Önemli derecede düşük üre konsantrasyonu, karaciğer yetmezliğine, nefrotik sendroma ve kaşeksiye neden olur (Ahuja vd.,2011).

1.2. Metabolizmada Üre

Üre insan ve memelilerde amonyağın vücutta taşınması ve vücuttan uzaklaştırılması için sentezlenir. Suda yaşayan kemikli balıklarda amonyak direkt olarak atılırken, sürüngen ve kuşlarda ürik asit olarak atılmaktadır. İnsan ve memeli metabolizmasında serbest halde amonyak kanda ve idrarda çok düşük derişimlerde bulunabilir. İnsan metabolizmasında kandaki yüksek derişimlerde amonyak konsantrasyonu santral sinir sistemine ciddi zararlar verir ve ağır serebral bozukluklara yol açar. Canlı metabolizmasındaki serbest amonyak çoğunluğu aminoasitlerin parçalanması olmak üzere pürin ve pirimidin bazlarının parçalanmasından açığa çıkar. Serbest amonyak metabolizmada porfirinler, pürinler, pirimidinler, kreatin ve amino şekerlere çeşitli yollarla dönüştürölüp kullanılabilir. Fazla miktardaki serbest amonyak ise üre çevrimi veya ornitin çevrimi olarak da bilinen Krebs-Henseleit döngüsü ile karaciğerde üre molekülüne çevrilir. Bu döngü keşfedilen ilk Krebs döngüsü olarak ayrıca da bir öneme sahiptir. Azotlu artıklar büyük oranda üre şeklinde vücuttan atılır.

Şekil 1.2'deki üre döngüsünde ornitin (sağda) bir molekül karbon dioksit ve bir molekül amonyakla birlikte reaksiyona girerek sitrülün oluşturur (böylece 1 mol suyu serbest bırakır). Sitrulin, arginin oluşturmak için başka bir amonyak molekülü ile birleşir (yine 1 mol suyu serbest bırakır). Arginin hidrolizi sonunda bir üre molekülü açığa çıkarır ve böylece ornitin üretir; bu son adım, arginaz enziminin varlığını gerektirir (Nichelsen ve GraBhoff, 2009).



Şekil 1.2. Krebs-Henseleit döngüsü (Nichelsen ve GraBhoff, 2009)

1.3. Üre Tayin Yöntemleri

Üre tayini için pek çok yöntem geliştirilmiştir. Direkt ve indirekt yöntemlerle üre tayini yapılabilmektedir. Bu yöntemlerde bazıları özetlenmiştir.

Direkt yöntemler: Ksanthidrol yöntemi ve kolorimetrik (Diasetil monoksim=Fearon reaksiyonu) yöntemidir.

İndirekt yöntemler ise: Gazometrik yöntem (Kowarsky reaksiyonu), Kalorimetrik yöntemler (Berthelot reaksiyonu, Nessler reaksiyonu, Enzimatik yöntem) ve Elektrokimyasal yöntemlerle (Konduktometri, Potansiyometri, amperometri) yapılmaktadır (Dindar, 2010).

Klinik laboratuvarlarda üre ölçümü otoanalizörlerde kinetik UV assay ile yapılmaktadır. Çalışma prensibi; asidik ortamda üreaz enzimi kullanılarak üre parçalanmakta ve reaksiyonda kullanılarak azalan NADH miktarı kinetik olarak ölçülerek indirekt yöntemle analizler yapılmaktadır.

1.4. Sensörler

Sensör; ısı, ışık, ses, basınç, manyetizma veya hareket gibi fiziksel bir uyarana yanıt veren ve onu oluşturan malzemenin herhangi bir içsel özelliğindeki değişikliği ölçmek için ortaya çıkan bir elektrik uyarısını ileten cihazdır. Sensör kelimesinin kökeni Latince sentire kelimesinden gelir ve “hissetmek” anlamındadır. Anlamsal olarak, sensörler, bir bağlantı ilişkisini tanımlamak için çevrelerindeki ortamı hissetme özelliğine sahiptir. Özellikle elektrokimyasal sensörler, bir analit varlığında dönüştürücü eleman olarak bir elektrodun kullanıldığı bir kimyasal sensör sınıfıdır.

Elektrokimyasal sensörler, elektrodun dönüştürücü elemanı olduğu bir sensör sınıfıdır (20. yüzyılın ikinci yarısında ortaya çıkan). Bu cihazlar artık çok çeşitli ticari uygulamalarda kullanılmaktadır. Bu sensörler, birkaç faktör nedeniyle dikkate değerdir: Analitik uygulamalar için temiz bir model olarak kabul edilen ve atık üretimi olmadan sinyal alımı için elektron kullanımı; taşınabilir cihazlarda minyatürleştirme (mikro hacimlerde numunelerle analizler); hızlı analiz; ve düşük üretim maliyeti, bu yöntemlerin yaygınlaştırılmasını sağlamıştır (örneğin, ticari glikoz sensörleri olarak). Ek olarak, elektrokimyasal sensörlerin geliştirilmesi, kromatografi dedektörleri gibi diğer tekniklerin geliştirilmesine de yardımcı olmuştur. Nanoteknoloji ile bağlantılı olarak, elektrokimyasal sensörler giderek daha hassas, seçici, spesifik ve oldukça kararlı hale gelmiştir (Simões ve Xavier, 2017).

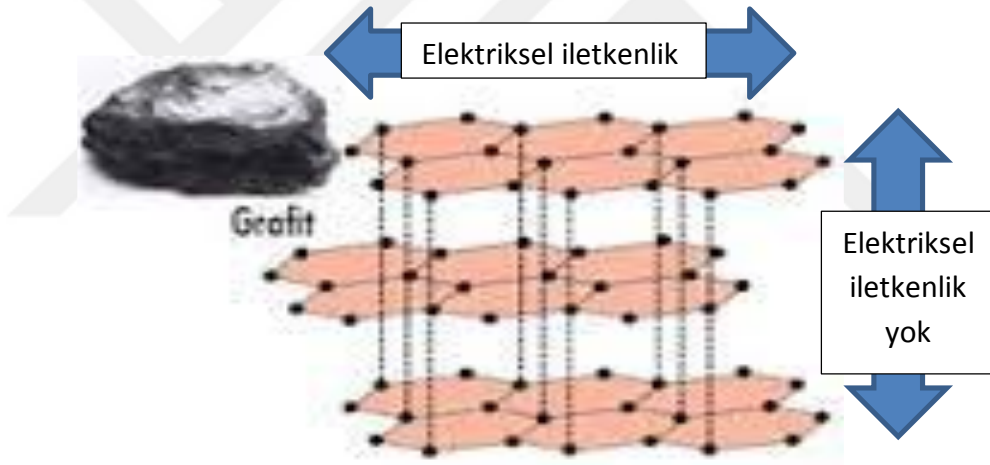
Elektrokimyasal sensörler, elektrokimyasal reaksiyonlarla (bir elektrot ve analit arasındaki reaksiyon) ilişkili bilgileri uygulanabilir bir nitel veya nicel sinyale dönüştürür. Elektrokimyasal sensörler temel olarak üç prensipte çalışırlar bunlar potansiyometrik, kondüktometrik ve amperometrik/voltametrik yöntemler ile çalışan sensörlerdir.

1.4.1. Karbonlu Modifiye Elektrotlar

Modifiye elektrotlar iletken veya yarı iletken elektrot yüzeyinin, tek veya çok katmanlı atomik-moleküler, iyonik veya polimerik bir filmle kaplandığında

elektriksel, optik ve diğerk özelliklerinin geliştirildiği elektron iletim hızının arttırıldığı elektrotlardır (Yaldız, 2016). Elektron aktarım hızlarını değiştirebilmek için elektrot yüzeylerinin tabaka ve filmlerle kaplanması gerekmektedir. Aynı zamanda modifikasyon, malzemeleri korozyona veya mekanik etkilere karşı koruma işlemlerinde de kullanılabilir. Elektriksel olarak iletken özelliğe sahip malzemeler, elektrokimyasal metotlarla modifiye edilebilir.

Elektrot materyali olarak karbonun pek çok türü kullanılmaktadır. En çok rastlanan türleri; tek kristalli grafit, yüksek düzenlilikte pirolitik grafit (HOPG), toz haline getirilmiş grafit, karbon siyahı ve camsı veya seramik karbondur. Grafit, hekzagonal karbonlar içeren levhaların içinde bulunan tabakalı bir yapıya sahiptir ve bu özelliğinden dolayı elektriksel iletkenliği, levhaya paralel olduğu yerlerde, dik olan yerlerdekine göre daha fazladır(Şekil 1.3).



Şekil 1.3. Grafitin hekzagonal yapısı

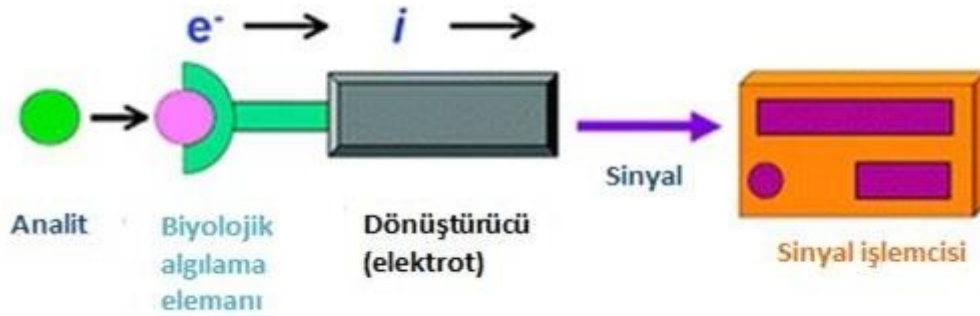
Grafitin anizotropik yapısı iletkenliğine etki göstermektedir. Grafitteki karbon atomlarının sp^2 hibritleşmesi sonucu halkaların olduğu düzlemdeki elektron yoğunluğundan dolayı yatay düzlemde elektriksel iletkenlik mevcuttur. Dikey yönde elektrik iletimine karşı direnç gösterir. Bu yönüyle yarı iletken özelliktedir.

1.5. Biyosensörler

Sensörler ile biyosensörler arasındaki en önemli fark; biyosensörün reseptörüne biyolojik bir materyalin eklenmesidir. Biyolojik materyal olarak çok çeşitli yapılar kullanılmaktadır. Kimyasal sensörlerin bir alt sınıfı olan elektrokimyasal biyosensörler, elektrokimyasal dönüştürücülerin düşük algılama limitleriyle gösterildiği gibi duyarlılığını biyolojik tanıma işlemlerinin yüksek özgüllüğü ile birleştirir. Bu cihazlar, hedef analit ile seçici olarak reaksiyona giren ve çalışılan analitin konsantrasyonu ile ilgili bir elektrik sinyali üreten bir biyolojik tanıma elemanı (enzimler, proteinler, antikorlar, nükleik asitler, hücreler, dokular veya reseptörler) içerir.

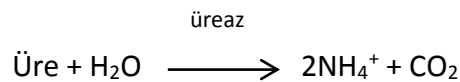
Elektrokimyasal biyosensörler, biyolojik tanıma sürecinin doğasına göre, biyokatalitik cihazlar ve afinite sensörleri gibi iki ana kategoriye ayrılabilir. Biyokatalitik cihazlar, hedef analiti tanıyan ve elektroaktif türler üreten enzimleri, tüm hücreleri veya doku dilimlerini içerir. Glikoz, laktoz ve ksantin tespiti için enzim elektrotlarına özel önem verilmektedir. Afinite sensörleri, analit ile bir antikor, nükleik asit veya bir reseptör gibi biyolojik bir bileşen arasındaki seçici bir bağlanma etkileşimine dayanır. Elektrokimyasal algılamalı immünosensörler ve DNA hibridizasyon biyosensörleri, afinite sensörlerinin örnekleri olarak tartışılmıştır. Biyosensörler, şu anda analitik kimyada en aktif araştırma alanlarından biri olan disiplinler arası bir alanı oluşturmaktadır. Biyosensörlerin kullanılması tipik olarak numune hazırlama ihtiyacını ortadan kaldırır. Biyosensörün performansı genellikle duyarlılığına, tayin sınırına (LOD), doğrusal ve dinamik aralıklara, yanıtın tekrarlanabilirliğine veya kesinliğine, seçiciliğine ve parazitlere verdiği yanıtı dayalı olarak deneysel olarak değerlendirilir. Sıklıkla karşılaştırılan diğer parametreler arasında sensörün yanıt süresi (sensör yanıtının nihai değerinin % 95'ine ulaşması için analitin eklenmesinden sonraki süre), operasyonel ve depolama kararlılığı, kullanım kolaylığı ve taşınabilirlik yer alır. İdeal olarak, ardışık birkaç ölçümün yapılabilmesi için algılama yüzeyi yenilenebilir olmalıdır. Birçok klinik, gıda, çevre ve ulusal savunma uygulaması için sensör, analiti çevrimiçi olarak sürekli izleyebilmelidir. Bununla birlikte, tek kullanımlık biyosensörler, şeker hastaları

tarafından kişisel kan şekeri izleme gibi bazı önemli uygulamalar için tatmin edicidir (Ronkainen vd. 2008).



Şekil 1.4. Biyosensörlerin çalışma prensibi (Ronkainen vd. 2008)

Üre tayini için ilk biyosensör 1969 yılında Guilbault ve Montalvo tarafından geliştirilmiştir. Kendilerinden önce yapılmış enzim sabitleme üzerine olan çalışmaları geliştirmişlerdir. Çalışmalarında; Poliakrilamid jelde üreazın yüksek aktiviteye sahip olduğunu göstermişlerdir. Vücut sıvılarında hızlı, sürekli üre tayini için üre dönüştürücüsü geliştirmişlerdir. Üre dönüştürücüsü, amonyum iyonlarına duyarlı bir Beckman katyonik cam elektrot üzerinde immobilize enzimin jelatinli bir zarının polimerize edilmesiyle yapıldığı için üreaz elektrodu olarak adlandırılır. Üre için özgüllük, enzim üreazın, cam elektrodun yüzeyinde 60-350 μ kalınlığında bir akrilamid jel tabakası içinde hareketsiz hale getirilmesiyle elde edilir. Üreaz elektrodu, üre içeren bir çözelti ile temas halinde yerleştirildiğinde, substrat, hareketsizleştirilmiş enzimin jel tabakasına difüze olur. Enzim, aşağıdaki denklemde gösterildiği gibi ürenin amonyum iyonuna ayrışmasını katalize eder.



Elektrodun yüzeyinde üretilen amonyum iyonu, bu tek değerli katyonun aktivitesini bir cam elektrotla pH belirlemeye benzer bir şekilde ölçen özel olarak formüle edilmiş cam elektrot tarafından algılanır. Bu elektrodun potansiyeli, difüzyon prosesinin kararlı duruma ulaşması için yeterli zaman verildikten sonra ölçülür. Bu aralık, jel zarının kalınlığına bağlı olarak, kararlı durum yanıtının % 98'i için yaklaşık 25 ila 60 saniye arasında değişir. Üre konsantrasyonu, hareketsizleştirilmiş enzim

için görünen K_m 'nin altında, ancak 0.6 mg üre/100 mL çözeltinin üzerinde olduğunda, elektrodun potansiyeli, üre konsantrasyonunun logaritması ile doğrusal olarak değişir. Ayrıca, tepki eğrisi düşük üre konsantrasyonlarında birinci dereceden yüksek substrat konsantrasyonlarında sıfır dereceye kadar gider.

Biyosensörlerin tarihi 1950'li yılların ortalarında L. C. Clark'ın Cincinnati Hastanesi'nde (Ohio, ABD) ameliyat sırasında kanın O_2 miktarını bir elektrot ile izlemesiyle başlamıştır. 1962 yılında Clark ve Lyons, Glukozoksidaz (GOD) enzimini O_2 elektrodu ile kombine ederek kanın glukoz düzeyini ölçmeyi başarmışlardır (Bulut,2011). Bu güne kadar biyosensörler üzerine yapılan yüzlerce çalışma mevcuttur ve mükemmel çalışan sistemler geliştirilene kadar bu konuda çalışmalar devam edilecektir. Üre analizlerinin çok çeşitli alanlarda yapılması direkt yöntemlerle çalışacak üre sensörü ihtiyacını doğurmuştur.

1.6. Elektrokimya

Tüm kimyasal bağlar da elektronlar yer aldığı gibi bütün kimyasal reaksiyonların doğası temel olarak elektron ile ilgilidir (Erdik ve Sarıkaya, 2009). Elektrokimyasal reaksiyonlarda elektrik enerjisi ve kimyasal enerji arasında ilişki incelenir. Ancak bir molekülden diğer bir moleküle doğrudan yük aktarımı elektrokimyanın konusu değildir. Kimyanın alt dalı olan elektrokimya genel ifadeyle yükseltgenme-indirgenme reaksiyonlarını incelenir. Bir elektrokimyasal hücrede potansiyel fark altında bir kimya reaksiyonu gerçekleşiyorsa diğer bir ifade ile hücreye voltaj uygulandığında bir kimyasal reaksiyon gerçekleşiyorsa bu hücre elektrolitik hücredir. Bir hücredeki kimyasal reaksiyon sonucu bir potansiyel fark oluşması durumunda ise galvanik veya voltaik hücre elde edilir. Galvanik hücreler elektrik enerjisini kimyasal olarak depolamaktadır ve "pil" olarak da bilinmektedir. Elektrokimyasal tepkimelerde elektrik enerjisi arasındaki ilişki, teorik ve pratik uygulamalarda oldukça geniş kullanım alanına sahiptir.

Elektrokimyasal hücre reaksiyonunun kendiliğinden gerçekleşip gerçekleşmeyeceği durumu serbest entalpiden (Gibbs enerjisinden) türetilmiş Nerst eşitliği ile bulunur.

$$E = E^0 - \frac{RT}{nF} \ln \frac{[C]^c [D]^d \dots}{[A]^a [B]^b \dots} \quad (\text{Eşitlik 1.1.})$$

Elektrokimyasal hücrede reaksiyonlar iki elektrot arasındaki potansiyel farkın sonucu olarak gerçekleşir. Bu iki elektrottan birisi olan katot (negatif) elektrotta indirgenme reaksiyonları gerçekleşirken anot (pozitif) elektrotta yükseltgenme reaksiyonları gerçekleşir.

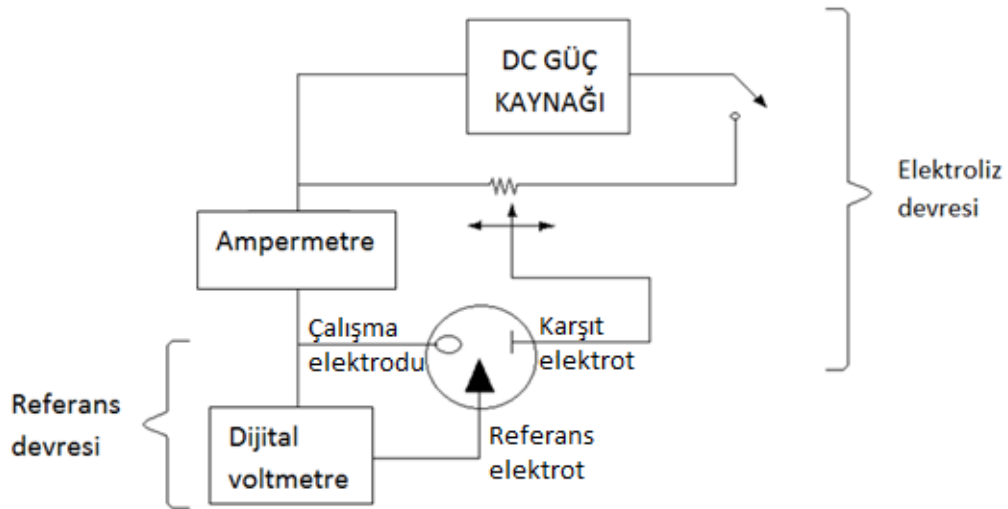
Bir elektroliz çözeltisinden geçen akım ile elektrotta biriken madde miktarı arasındaki ilişki Faradayın elektroliz yasası olarak bilinir. Faraday birinci yasasını 1833'de yayınlamıştır. Buna göre çözeltiden geçen yük miktarıyla (akımla) elektrotta biriken veya ayrılan madde miktarı arasında doğru orantılı olması birinci yasayı oluşturur. Faradayın 1834'de yayınlanan çalışmasına göre elektrotta biriken veya ayrılan maddenin eşdeğer molar kütlelerinin çözeltiden geçen yük miktarıyla doğru orantılı olması ikinci yasayı oluşturur.

Metallerin elektrolitik çöktürme yoluyla analizleri elektrogravimetrik yöntemlerle uzun yıllardır yapılmaktadır. Çoğu uygulamada tartılmış platin katot elektrot kullanılır ve elektroliz sonucu elektrot kütleindeki artıştan çözeltideki metalin derişimi belirlenir. Elektrogravimetrik yöntemler, potansiyelin kontrol edilmesine veya edilmemesine göre ikiye ayrılmaktadır.

Potansiyelin kontrol edilmediği yöntemlerde hücre yapısı basit ve ucuzdur. Devrede 6-12 Voltluk doğru akım kaynağı, ampermetre, voltmetre ve direnç bulunur. Hücreye uygulanan potansiyel kontrol devresindeki direnç ile değiştirilir. Hücre çözeltisinde ise anot elektrot ve katot elektrot bulunur. Pratik uygulamalarda hidrojen iyonu veya nitrat iyonundan daha kolay indirgenen metaller ile çalışılır. Bu durumun sebebi ise; katotta reaksiyon ilerledikçe derişim polarizasyonu sonucu iyonların elektrot yüzeyine gelmesi yavaşlar ve bunun sonucu akım giderek azalır. Hücreden geçen akım azalınca akımın potansiyelle doğru orantılı olmasından (ohm yasası) dolayı hücrenin potansiyel farkı da düşer. Oluşan fark kontrol devresinde oluşan potansiyel artışıyla karşılanır. Elektrotlar arasındaki potansiyelin artmasıyla

katot elektrotta hidrojen iyonlarının indirgenmesi gerçekleşir. Hidrojen gazı oluşur ve katot depolarize olur. Bu durumda potansiyel artışı oldukça yavaştır. Depolarize olmuş katot elektrotta bazı durumlarda bozucu etki görülür.

Kontrollü potansiyel elektrogravimetrik yöntemlerinde potansiyostat cihazı kullanılır (Şekil 1.5). Potansiyostat, çalışma elektrodunun potansiyelini sabit değerde tutan cihazdır. Bir voltun onda bir kaçı kadar aralarında fark olan metal karışımları birbirlerinde ayırmak ve analiz edebilmek için potansiyel zamanla değiştirilerek yapılır. Katottaki derişim potansiyelini kontrol edebilmek için elektrolizde üç elektrotlu hücreler kullanılır. Çalışma elektrodu ile referans elektrot arasında dijital voltmetre bulunur ve iç direnci oldukça yüksek olduğu için akım geçmez. Hücredeki akım karşıt elektrotla, çalışma elektrodu arasında olur. Dijital voltmetre yardımıyla çalışma elektrodu ve indikatör elektrot arasındaki potansiyel fark devamlı izlenir ve kontrollü değerde tutulur.



Şekil 1.5. Kontrollü-potansiyelde elektroliz düzeneği

Kulometrik yöntemlerle yapılan analizlerde ise katot elektrodu tartmaya gerek yoktur. Faraday kanunlarından uygulanan akım miktarı ve akımın süresi ölçülür ve çözeltiliye iletilen yük miktarı hesaplanır. Çözeltiliye aktarılan yük miktarından ve reaksiyon sonucu alınan verilen elektron sayısından analit için derişim miktarı hesaplanır. Hücreden geçen akım analiz boyunca sabit tutulabilir veya zamanla

değişebilir. Akım zamanla değişiyorsa akım-zaman grafiğinin integrali hesaplanarak uygulanan yük miktarı bulunur. Kulometrik yöntemlerde çoğu zaman yüzde yüz verim amaçlanmaktadır. Kulometrik yöntemler kontrollü potansiyel kulometrisi (potansiyostatik kulometri) ve kontrolü-akım kulometrisi (kulometrik titrimetri) olarak ikiye ayrılır. Kulometrik titrasyonlar, galvanostat veya amperostat adı verilen sabit akım kaynağı ile de yapılabilmektedir.

1.6.1. Potansiyometri

Potansiyometrik yöntemler akımın sifıra yakın veya polarizasyonun olmadığı hücre şartlarında potansiyelinin ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Potansiyometrik teknikler titrasyonların dönüm noktasını belirlemede veya iyon seçici membran elektrotların potansiyellerinden iyon derişimleri doğrudan ölçülür. pH ölçümleri klinik laboratuvarlarda kan gazları derişimleri ve K_a , K_b , $K_{çç}$ gibi termodinamik denge sabitlerini tayin etmek için yapılan temel araştırmalarda kullanılır (Skoog vd., 2004).

Potansiyometrik hücre şematik olarak aşağıdaki gibi gösterilir;

Referans elektrot/ tuz köprüsü / analit çözeltisi / indikatör elektrot

Referans elektrot: Çözeltiden bağımsız belli sıcaklıkta sabit elektrot potansiyeline sahip yarı hücredir. Genellikle standart elektrot olarak doygun kalomel elektrot veya gümüş-gümüş klorür elektrot kullanılabilir. Doygun kalomel elektrodun potansiyelinin sıcaklıkla değişimi gümüş-gümüş klorür elektrota göre fazladır.

İndikatör elektrot: Analit derişimine göre potansiyeli değişen elektrottur.

Tuz köprüsü: Çözelti içindeki iyonların difüzyon hızlarının farkından doğan sıvı temas potansiyelini azaltmak için kullanılır. Genellikle KCl tuzu kullanılır.

1.6.2. Voltametri

Voltametri, elektroaktif madde içeren çözeltilerde tam derişim polarizasyonuna ulaşıldığında yani sınır akıma ulaşıldığında hücrede oluşan akımın ölçülmesine dayanan elektro analitik yöntemdir. Başka bir ifadeyle uygulanan potansiyelin fonksiyonu olarak akımın ölçülmesine dayanan elektrokimyasal yöntemdir. Voltametricide polarizasyonun sağlanması için yüzey alanı küçük elektrotlar kullanılır.

Polarizasyon, akım geçen hücrenin potansiyelinin teorik olarak hesaplanan nerst eşitliğinden farklı olması durumudur. Polarizasyonu etkileyen çeşitli faktörler vardır. Bunlar elektrot boyutu, şekli ve bileşimi, elektrolit çözeltisinin bileşimi, sıcaklık ve karıştırma hızı, akım seviyesi ve hücre reaksiyonunda yer alan türlerin fiziksel halidir. Derişim polimerizasyonu elektroaktif maddenin katot yüzeyine ulaşmadığı, oluşan ürünlerin ise anot yüzeyinden ayrılmadığı zaman oluşmaktadır.

Dengede bulunan sisteme zamanla artan potansiyel uygulanarak sistemin dengesi bozulduğunda sistemin dengeye ulaşması için oluşan akım değişiminin incelendiği yöntemlere "voltametric yöntemler" denir (Ayrancı, 2013).

Voltametric yöntemler ve diğer elektrokimyasal yöntemler yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC), ve kapiler elektroforez tekniklerinde sensör olarak kullanımı vardır. Voltametric yöntemlerde elektrodun voltajı sistemli bir şekillerde değiştirilirken çalışma elektrodu ile karşıt elektrot arasından geçen akım ölçülür. Elektrota zamanla çok farklı voltajlar uygulanır. Bu uygulanan voltaj-zaman fonksiyonuna uyarma sinyali denilir.

Voltametric yöntemi uyarma sinyaline bağlı olarak dört grup altında incelenir: Doğrusal taramalı voltametric (LSV), Dönüşümlü voltametric (CV), Diferansiyel puls voltametrici (DPV), Kare dalga voltametrici (SWV)

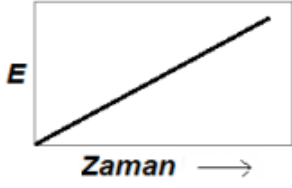
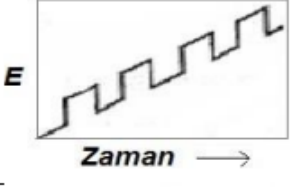
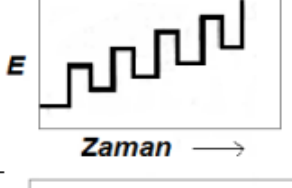
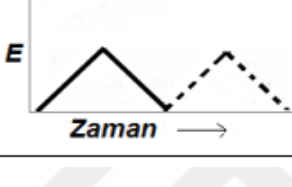
Doğrusal Taramalı Voltametric (LSV): En basit uyarma sinyaline sahip voltametric yöntemidir. Çalışma elektrodunun potansiyeli zamanla doğrusal olarak değiştirilir.

Uyarma sinyalinin grafiği doğrusal olarak artış gösterir. Doğrusal taramalı voltametrik yöntemle yapılan analizler yavaş, kullanımı zor ve tayin sınırları düşüktür.

Dönüşümlü Voltametri (CV): Doğrusal taramalı voltametriye benzemektedir. Her iki yöntemde de elektrotlar arasına doğrusal olarak artan ya da azalan potansiyel uygulanır. İki yöntem arasındaki fark; dönüşümlü voltametriye birden fazla tarama yapılırken (artan ve azalan şeklinde), doğrusal taramalı voltametriye tek tarama yapılır. Dönüşümlü voltametrenin uyarma sinyali üçgen şekildedir.

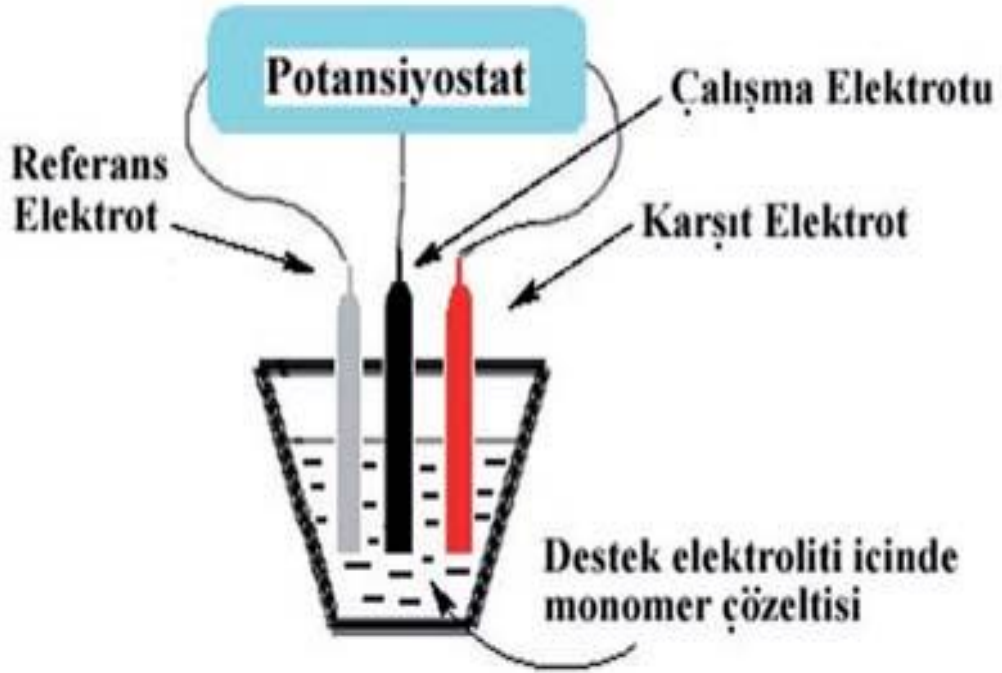
Diferansiyel Puls Voltametrisi (DPV): Diferansiyel puls voltametrisinde, uyarma sinyali boyunca belirlenen aralıklarda ve belirlenen süre boyunca farklı bir potansiyel uygulanır. Bu olaya puls denir. Pulsun başında ve sonunda olmak üzere iki tane akım ölçümü yapılır. Puls başına akımdaki fark doğrusal olarak değişen potansiyelin fonksiyonu yani voltomogramı olarak kaydedilir. Elde edilen diferansiyel eğride akım derişimle doğrudan orantılıdır. Diferansiyel pus teknikleriyle ile organik ve inorganik maddelerin genellikle eser miktarlardaki elektroaktif madde tayinleri yapılır.

Kare Dalga Voltametrisi (SWV): Uyarma sinyalindeki pulsların üst üste çakıştırılmasıyla gerçekleştirilir. Kare dalga voltametrisinin uyarma sinyali incelenirse bir pulsun bitişinin diğer pulsun başlangıcına denk geldiği görülür.

İsim	Dalga Şekli	Voltametrinin Tipi
(a) Doğrusal taramalı		Polarografik voltametri
(b) Diferansiyel puls		Diferansiyel puls
(c) Kare dalga		Kare dalga voltametrisi
(d) Üçgen		Dönüşümlü voltametri

Şekil 1.6. Voltametrizde kullanılan potansiyel uyarma sinyalleri (Skoog vd.,2007)

Bir elektrokimyasal sistemin tamamlanması için incelenen maddeyi içeren bir çözelti ortamı ve kimyasal tepkimelerin gerçekleştiği elektrot sistemi gereklidir. Voltametrik yöntemlerde bu elektrot sistemi; referans elektrot, çalışma elektrot, karşıt elektrottan oluşmaktadır. Ayrıca elektrokimyasal devrenin tamamlanması için çevirim sistemi gereklidir.



Şekil 1.7. Üç elektrotlu potansiyostat sistemi

Referans Elektrot: Potansiyeli deney süresince sabit kalan elektrot, referans elektrottur. Bu elektrot polarizlenmeyen elektrot olarak da tanımlanır. Çalışma elektrotta göre oluşan potansiyel fark görülür.

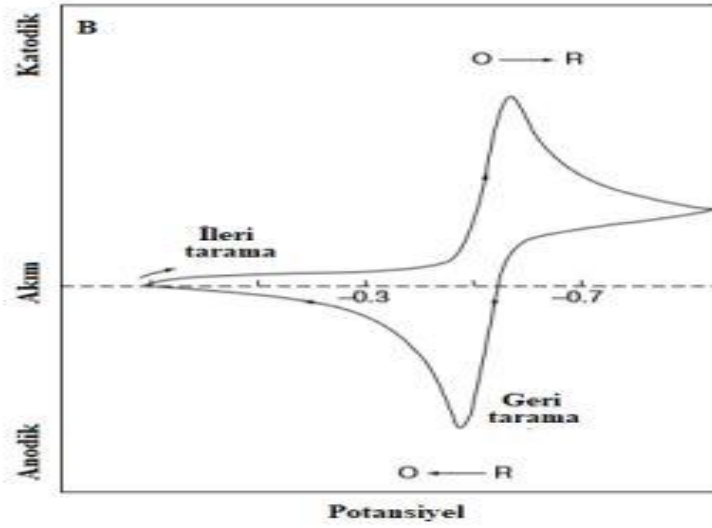
Karşıt elektrot: Elektron kaynağını oluşturur. Hücredeki akım karşıt elektrot ile çalışma elektrodu arasındadır. Potansiyeli ölçülmez ve bilinmez. Genellikle soy metallerden seçilir.

Çalışma Elektrodu: Sistemdeki ilgili reaksiyonların meydana geldiği elektrottur. Elektrottaki reaksiyonun indirgenme veya oksidasyon olmasına göre sırasıyla katodik veya anodik elektrotta denir. Altın veya platin gibi inert metallerden camı karbon, bor katkılı elmas, pirolitik karbon ve film elektrotları gibi birçok malzemeler çalışma elektrodu olarak kullanılabilir. Kimyasal olarak modifiye edilmiş elektrotlar, hem organik hem de inorganik numunelerin analizi için kullanılır.

Çözeltiye eklenen destek elektrolitler genellikle çalışılan aralıktan daha yüksek potansiyel aralığında reaksiyona girer. Çözücüye ilave edilmesinin iki önemli rolü

vardır. Bunlardan birincisi hücrenin iç direncini düşürür. İkincisi ise çalışma elektrodu ile karşıt elektrot arasındaki iyon göçünü düzenler ve analiz maddesinin iyon göçünün en az seviyede olmasını sağlar.

Voltametik yöntemlerde çalışma elektrodu ile karşıt arasında oluşan akımın; çalışma elektrodu ile referans elektrotlar arasındaki potansiyel farkın fonksiyonu olarak grafiğe geçirilmesi sonucu voltamogram oluşturulur. Voltamogramlarda katodik akımlar üst yarıya, anodik akımlar alt yarıya işaretlenir. Doğrusal taramalı voltamogramlar sigmoidal eğriler şeklinde oluşur. Kütle aktarım hızı maksimum noktaya ulaştığında yani tam derişim polarizasyonunda eğride keskin artış oluşur ve akım belli bir noktada sabitlenir. Bu akıma sınır akımı denilir. Başka bir değişle sınır akımı voltametik dalğanın tepesindeki akım platosudur.



Şekil 1.8. Dönüşümlü voltametriye ait voltamogram (Büyükkaya, 2011).

Şekil 1.7.'deki voltamogram için reaksiyon denklemi aşağıdaki şekilde gerçekleşir. O maddesi n mol elektron alarak R maddesine katodik reaksiyon sonucu indirgenir. Geri taramada potansiyeli yükselmesi sonucu R maddesi anodik reaksiyon sonucu tersinir olarak O maddesine geri yükseltgenir. İndirgenme ve yükseltgenme pikleri aynı potansiyelden başlar.



Voltametrik yöntemlerle gerçekleşen reaksiyon sistemleri tersinir, yarı-tersinir, tersinmez şekilde oluşabilir. Tersinir reaksiyonların potansiyeli nerst denklemine uyar. Yarı tersinir reaksiyonlarda ileri veya geri yöndeki reaksiyonun ihmal edilebilecek kadar yavaş olduğu sistemlerdir. Tam tersinmez reaksiyonlarda ise yarı dalga potansiyeli derişime bazı zamanlarda kısmen bağlı olabilir. Reaksiyonun tersinir ya da tersinmez oluşundan bağımsız bir şekilde difüzyon akımları derişime doğrusal olarak bağlıdır. Bu özelliklerinden dolayı akım pikleri nicel analizlerde kullanılmaktadır.

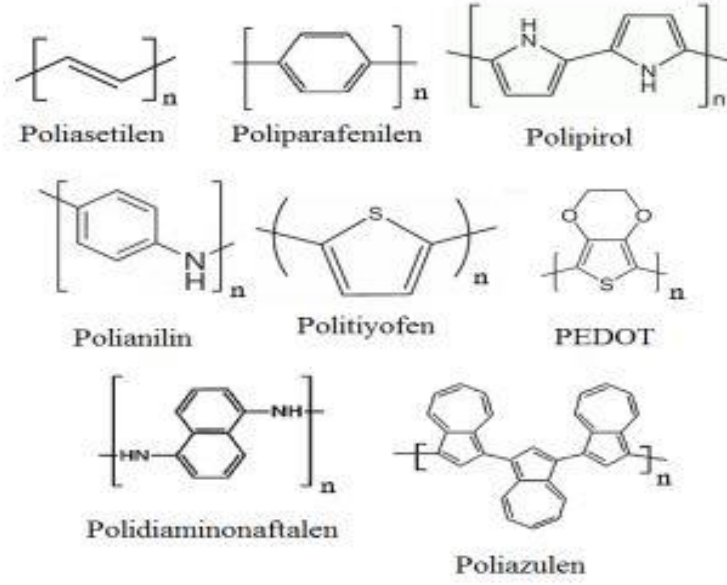
1.7. İletken Polimerler

İletken polimer, kendi bağ yapısındaki elektronlarla elektriksel iletimi sağlayan polimerlerdir. Günümüzde bilinen çok sayıda iletken polimer vardır ve iletken polimerleri geliştirmek üzere çalışmalar yoğun bir şekilde devam etmektedir. Polipirol, politiyofen, polifuran, polianilin en çok bilinenleridir.

Özellikle polipirol ve polianilin organik metal olarak adlandırılır (Saçak, 2015).

İletken polimerlerin metallerin aksine sıcaklıkları arttıkça iletkenliklerinin artması ve korozyona uğramamaları avantajları, bazı istisnalar hariç erime noktalarının olmaması (amorf özellik) ve çözücülerinin olmaması sonucu şekil verilememesi ise dezavantajlarıdır.

İletken polimerlerler kullanılarak gerçekleştirilen ilk çalışmalar; polimer yapısına metal tozları karştırmak veya tuz çözüp iyonik iletkenlik yaratmak üzerine yapılan çalışmalardır. Ancak her iki yöntemdeki çalışmalarda da polimer, iletken özellikteki maddeleri sabitleyici faz görevi yapar. Gerçek anlamda ilk iletken polimerler 1977 yılında H. Shirakawa ve çalışma arkadaşları tarafından Ziegler-Natta katalizörüyle ürettikleri gümüş rengindeki trans-poliasetileni, halojen buharına tutarak yükseltgediklerinde (katkılama işlemi), trans-poliasetilenin iletken maddeler gibi davrandığını görmüşlerdir (Saçak, 2015). Katkılanmamış cis-poliasetilen yalıtkan, trans-poliasetilen ise yarı iletken özellik gösterir.



Şekil 1.9. Bazı iletken polimerlerin moleküler yapısı (Gürsoy ve Gürsoy, 2017)

Bir polimerin iletken özellik gösterebilmesi için yapısında konjuge çift bağların bulunması gerekir. Ancak poliasetilende görüldüğü gibi konjuge yapı iletkenlik için yeterli değildir. Bu yüzden polimerlere doplama (doping) denilen işlem yapılır. Doplama (doping) denilen işlemde polimer yapısına elektronlar alınarak veya verilerek polimer zincirinde yük farkı oluşturulur. Böylece polimere iletkenlik özelliği kazandırılır. Ayrıca polimerin anizotropik özellikleride iletkenliği etkileyen diğer bir faktördür.

İletken polimerlerin çoğu hem kimyasal yollarla hem de elektrokimyasal yöntemlerle sentezlenebilir. Polianilin elektrokimyasal sentezinde elektrot yüzeyine iyi tutunmaz ve toz halinde dökülebilir bu durum çalışmaları olumsuz etkileyebilir. Politiyofen ise elektrokimyasal olarak sentezlendiğinde iletkenliği düşüktür (yarı-iletken özelliğindedir) ayrıca atmosfer koşullarında kararsızdır. Kimyasal yollarla sentezde pirol monomerleri yükseltgen maddelerle tepkimeye sokulduğunda radikal katılma reaksiyonlarıyla toz halinde polipirol elde edilir. Polimerlere şekil vermedeki zorluklardan dolayı çalışmalar için kullanışsızdır. Elektrokimyasal sentezinde ise elektroliz hücresinde uygun çözücüde çözünmüş pirol monomerleri önce katodik reaksiyonla radikalik pirol monomerine indirgenir daha sonra anodik reaksiyonlarla yükseltgenerek radikalik-katyonların birleşmesi sonucu elektrot

yüzeyine film şeklinde kaplanabilir. Bu işlem sırasında kullanılan destek elektrolit ile katkılama işleme gerçekleştirilir.

Polipirolün elektrokimyasal yolla sentezlenme işleminde elektroliz hücresi, elektrot, uygun bir çözücü ve destek elektrolit kullanılmaktadır. Bu çözücü-destek elektrolit sistemlerinden bazıları şunlardır; H₂O – 1 M H₂SO₄, H₂O - 1 M NaOH, CH₃CN – 0.1 M TBABF₄, NH₃(sıvı)- 0.1M KI, BN- 0.1M TBABF₄, SO₂ – 0.1M TEACIO₄, SO₂(sıvı)-0.1M TBACIO₄ (Coşkun, 2009).

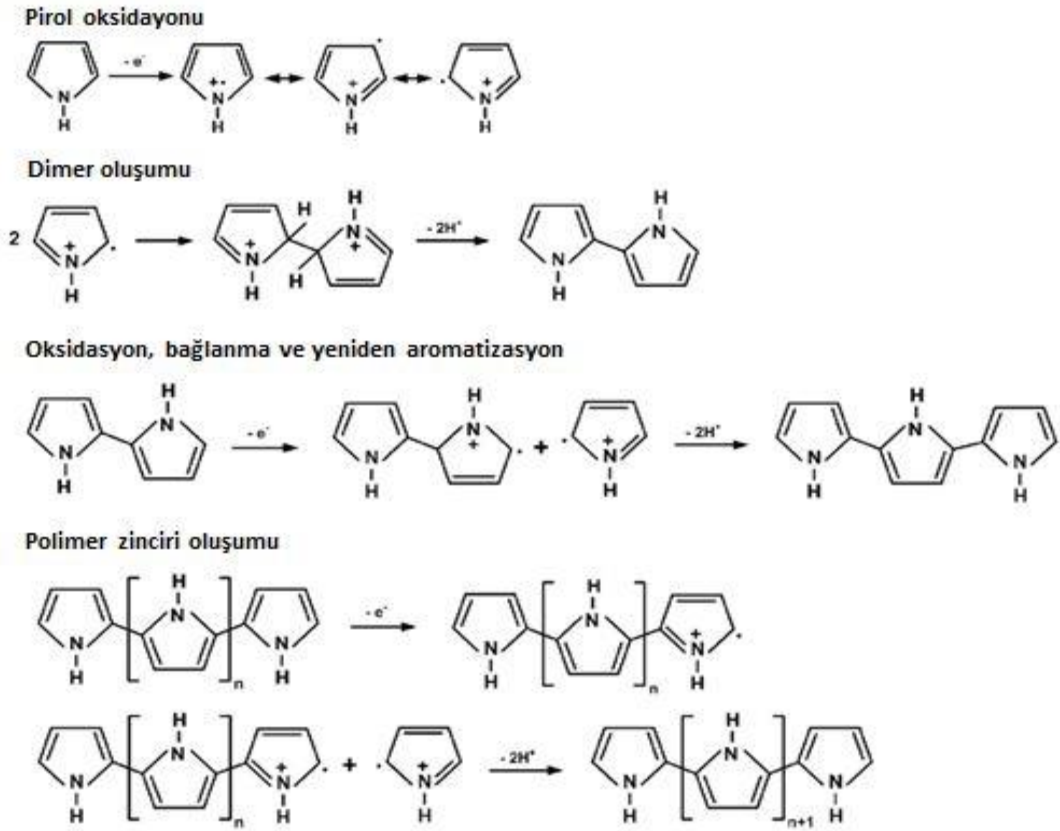
Polipirolün elektrokimyasal olarak sentezlenmesi sonucu yüksek iletkenlik göstermesi ve atmosfer koşullarında kararlı olma avantajlarından dolayı çalışmamızda iletken polimer olarak polipirol kullanılmıştır.

1.7.1. Polipirolün Elektrokimyasal Sentezi

Polianilinın yanı sıra, polipirol kesinlikle en kapsamlı şekilde araştırılan elektroiletken polimerlerden biridir. Polipirolün hem elektriksel iletkenliği hem de kimyasal kararlılığı, heteroatomik yapıda olmasından ve uzun π -konjuge bağ yapısı bulundurmasından kaynaklanır. Bu yapı tek başına iletkenlik için yeterli değildir. Bununla birlikte, doping işlemi sonucu elde edilen iletkenlik, pratik uygulama için iyi bir ön koşuldur ve diğer iletken polimerlerin iletkenliğinden büyük ölçüde fazladır. Anilinın polimerizasyonundan farklı olarak, pirolün polimerizasyonu nötr sulu ortamda başarılı bir şekilde gerçekleştirilebilir veya çeşitli organik çözücüler de kullanılabilir (Vernitskaya ve Efimov, 1997).

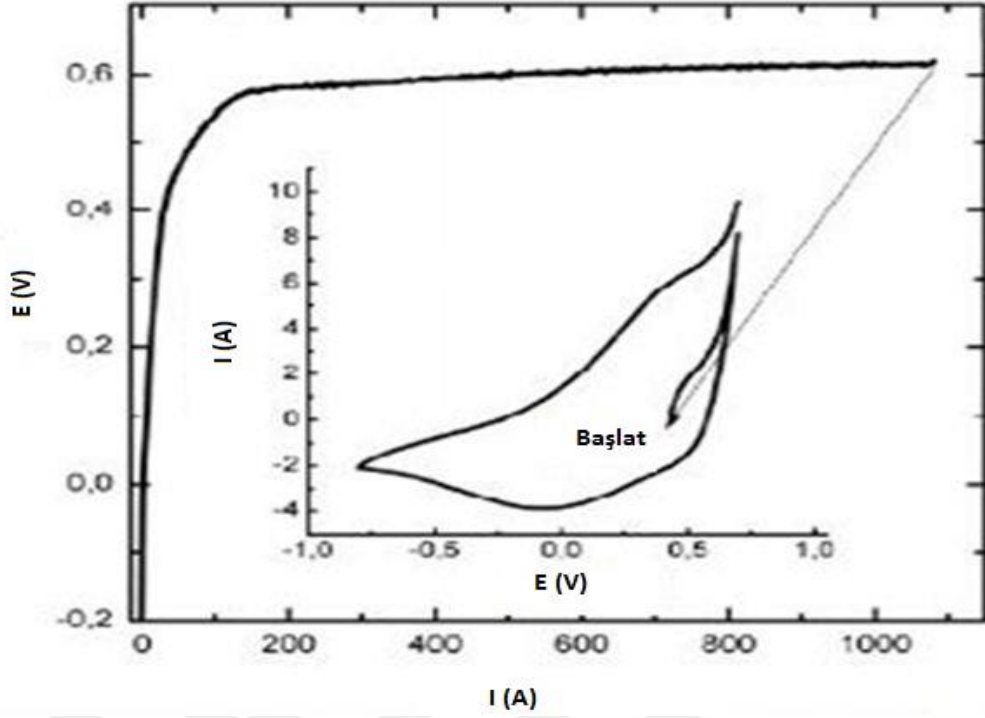
Polipirolün genel olarak kabul gören elektrokimyasal sentezinde ilk basamakta radikalik pirol molekülü sentezlenir. Eşlenmemiş elektron ve pozitif yük delokalizedir. Kuantum mekaniksel hesaplamalar, elektron spin yoğunluğunun orto konumlarında en büyük değerde olduğunu, dolayısıyla en reaktif olduklarını ve bu konumlarda radikal eşleşmenin gerçekleştiğini ortaya koymaktadır (Kankare, 1998).

İki birincil radikal katyonun birleşmesi ile pozitif yüklü dimer oluşur. Pozitif yüklü ve iki protonlu dimerin bağ yapısı konjugasyonu bozduğundan, düşük enerjili nötr dimerin aromatisasyonu, deprotonasyon yoluyla gerçekleştiği düşünülmektedir. Nötr dimer, bir sonraki adımda, anodik reaksiyon sonucunda yükseltgenerek radikalik dimer molekülü oluşturur. Beklendiği gibi, dimerin oksidasyonu nötr pirole kıyasla daha kolaydır, bu nedenle daha düşük potansiyelde meydana gelir. Sonraki adımlarda, dimer radikal katyonlarının (reaksiyon ilerledikçe, oligomerik radikal katyonlarının) ve birincil radikal katyonların birleşmesi meydana gelir. Ardından protonların salınması ve yeniden aromatisasyon gerçekleşir. Oksidasyon, birleştirme ve yeniden düzenlemenin tekrarlanması polipirol oluşumuna yol açar. Elektron spin yoğunluğu orto pozisyonunda en büyük olmasına rağmen, konjugasyon uzunluğunun gelişmesiyle spin yoğunluğu konjugasyon sistemi üzerine yayılır, bu nedenle radikaller diğer pozisyonlarda birleşebilir, bu da lineerliğin bozulmasına ve dallanmaya neden olabilir (Gvozdenović vd., 2014).



Şekil 1.10. Polipirolün elektrokimyasal sentez mekanizması (Gvozdenović vd., 2014)

Pirol, Şekil 1.10'da verilen mekanizmaya göre, grafit, altın veya platin dahil, inert anotlar üzerinde pirol içeren hem sulu hem de organik bazlı elektrolitlerde kolayca elektrokimyasal olarak polimerize edilir. Şekil 1.10.'da, sulu çözelti ortamında potansiyodinamik sentez sırasında meydana gelen karakteristik doping/dedoping işlemleri gösterilmiştir. Şekil 1.11'de aynı elektrolitte galvanostatik sentezden sonra elde edilen döngüsel voltamogramı ve pirolün galvanostatik polimerizasyonunu göstermektedir. Kronoamperometrik eğri, elektrodun bir polipirol tabakası ile kaplandığı potansiyelin hızlı bir şekilde artması ile karakterize edilir ve derişim polarizasyonun oluştuğunu gösterir. Galvanostatik sentezde, polipirol, potansiyelinin hızlı artışı doping işlemini göstermektedir. Voltamogramın katodik kısmı, iyonların polipirolde dedopingine (uzaklaştırılmasına) atfedilen geniş tepe noktası ile karakterize edilir. Voltamogramın anodik kısmı, monomerlerin elektrot üzerindeki oksidasyonunu gösterir. Sulu elektrolitlerde polimerizasyon yapıldığında, polimerizasyon prosesinde suyun rolü olduğu varsayılmıştır. Sulu ortamda deneysel olarak, polipirolün, çıkarılması imkansız olan % 2-4'lük suyu muhafaza ettiği doğrulanmıştır. Pirolün elektrokimyasal polimerizasyonu için çözücü olarak asetonitril kullanıldığında, elde edilen polipirolün artan gözenekliliği ile sonuçlanan dopantların (karşı iyonlar) hidrate edildiği sulu çözeltilerin aksine, dopantların hidratasyonunun olmadığından elde edilen polipirol daha düşük gözenekliliğe sahiptir. Öte yandan, asetonitril veya propilen karbonat gibi organik çözücü ortamında elektrokimyasal olarak sentezlenen polipirolün, sulu elektrolitlerden elde edilenlere göre daha yüksek iletkenlik gösterdiği de gözlenmiştir. Son zamanlarda iyonik sıvılar, iletken polimerlerin elektrokimyasal sentezinde hem çözücü hem de katkı kaynağı olarak kullanılmıştır. Farklı iyonik sıvılardan sentezlenen polipirolün farklı morfoloji ve iletkenliğe sahip olduğu gösterilmiştir. Dopantların kimyasal özellikleri ve konsantrasyonu, pirolün iletkenliği ve polimerizasyon hızı üzerinde etkilidir, bu etki hem sulu hem de susuz çözücülerde gözlenmiştir. Pirolün elektrokimyasal polimerizasyonu, başta asetonitril olmak üzere susuz çözeltilerde yoğun bir şekilde incelenmiştir (Gvozdenović vd., 2014).



Şekil 1.11. Sulu ortamda pirolün polimerizasyonu (Gvozdenović vd., 2014).

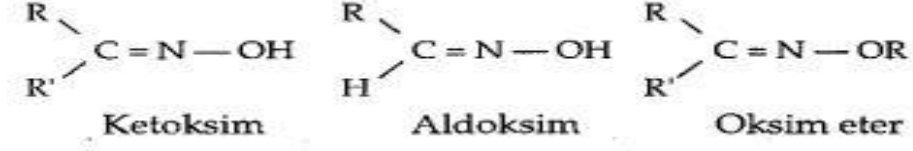
Şekil 1.11 Pirolün grafit elektrotta ($i = 2.0 \text{ mA cm}^{-2}$) 0.1 M HCl ve 0.2 M pirolden elektrokimyasal polimerizasyonunun kaydedilen döngüsel voltamogramdır ($v = 20 \text{ mV/s}$). Ek olarak, aynı elektrolitte 1100 saniyede galvanostatik polipirol sentezinden sonra kronoamperometrik eğrisidir.

1.8. Oksim Yapısı

Amonyak, aminler ve benzer diğer bileşikler azot atomu üzerinde ortaklaşmamış elektron çiftleri bulundurlar. Karbonillerdeki karbon atomuna karşı nükleofil gibi davranırlar. Birincil aminlerle olan ürünlere genel olarak iminler ($>C=N-R$) denilir (Hart vd., 2011).

Oksimler aldehit veya ketonların hidroksilaminle reaksiyonları sonunda oluşan, yapısında karbon-azot çifte bağı taşıyan bileşiklerdir. Oksim ismi, oksi-iminin ($C=NOH$) kısaltmasıdır ve eğer aldehitten elde edilmişlerse aldoksim, ketondan elde ketoksim olarak isimlendirilirler. Hidroksil grubundaki hidrojen yerine bir alkil

grubunun gelmesiyle oluşturulan türevlere ise oksim eter verilir (Karakurt ve Dalkara, 1999)



Şekil 1.12. Çeşitli oksim yapıları (Karakurt ve Dalkara, 1999)

Homodinükleer iminoksim Cu(II) kompleks üzerine daha önce yapılan çalışmalarda bakır iyonlarının çeşitli yapılarla koordinasyon kovalent bağı oluşturduğu bulunmuştur.

Metal komplekslerin elementel analiz, stokiyometrik ve spektroskopik verileri, dinükleer bakır(II) komplekslerde metal:ligand oranının 2:1 olduğunu ve bu komplekslerde bakır(II) iyonlarının Schiff bazları ve oksimlerdeki azot atomlarıyla koordinasyona girdiğini göstermiştir (Dede ve Karıpcin, 2008).

Bu tez çalışmasında polipiroldeki ve üre molekülündeki azotlu yapıların homodinükleer iminoksim Cu(II) ile yapabileceği olası etkileşimlerin elektrokimyasal olarak belirlenmesi ve üre molekülü tayini için sensör olarak geliştirilmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Üre tayini için literatürde voltametrik, potansiyometrik, amperometrik, kondüktometrik, optik, manometrik, termal gibi çeşitli yöntemlerle kullanılarak geliştirilen çok sayıda sensör ve biyosensörler bulunmaktadır. Bir kısmı aşağıda özetlenmiştir.

Manea vd.'nin yapmış olduğu çalışmada, gümüş (EG-Ag-Z-Epoxy) ve doğal zeolitik volkanik tüf bazı modifiye edilerek genişletilmiş grafit kompozit elektrot geliştirilmiştir. Döngüsel voltametri ölçümleri, oldukça hızlı bir elektron transferini ve 0.1 M NaOH destekleyici elektrolitte elektrodun iyi bir stabilitesini ortaya çıkarmıştır. Bu modifiye elektrot, üre oksidasyonuna karşı orta düzeyde elektrokatalitik etki göstererek sulu çözeltide tayinine izin vermiştir. Akımın üre konsantrasyonuna karşı lineer bağımlılığına, 0.2 ila 1.4 mM arasındaki üre konsantrasyonları aralığında kare dalga voltametrisi kullanılarak ve nispeten düşük bir tespit limiti olan 0.05 mM ile ulaşılmıştır. EG-Ag-Z-Epoksi elektrodunda üre tayini için elektroanalitik hassasiyete (orta düzeyde bir artışa) voltametrik/amperometrik incelemeden önce kimyasal bir ön zenginleştirme adımı uygulandıktan sonra ulaşılmıştır (Manea vd., 2008).

Üre tayini için altın nanoparçacık gömülü poli(propilen-ko-imidazol) bazlı yeni bir amperometrik üre biyosensörü geliştirilmiştir. Polimerik film üzerine adsorbe edilen üreaz, ürenin amonyum ve bikarbonat iyonlarına hidrolizini katalize etmiştir ve amonyum daha sonra diferansiyel puls voltametrisi kullanılarak altın nanoparçacıkların yardımıyla Ag/AgCl'ye karşı + 0.2 V'de altın elektrot üzerinde okside edilmiştir. Biyosensör, 0.1 ile 30 mM arasındaki üre konsantrasyonuna doğrusal bir akım tepkisi vermiştir, 36 µM'lik bir saptama sınırı, % 2.43'lük bir nispi standart sapma (n=18) ve mükemmel depolama kararlılığı sağlamış, çünkü akım düşüşü 75 gün sonrasında yalnızca % 3 olarak ölçülmüştür. Biyosensörün çalışması, Türkiye'de Zonguldak ili arıtma tesisinin giriş borusundan toplanan belediye kanalizasyon atık sularının analizi ile değerlendirilmiştir. Olası interferantların etkileri de karakterize edilmiştir (Korkut vd., 2018).

Yapılan bu çalışmada, yeni bir potansiyometrik üre biyosensörü, indiyum kalay oksit (ITO) kaplı cam plakanın yüzeyinde biriken silika matrisine tutturulmuş ve üreaz immobilize edilerek çok duvarlı karbon nanotüpler (MWCNT'ler) ile hazırlanmıştır. Üreaz enzimi, sol-jel metodu ile silis matrisi içine dahil edilerek serbest bırakılmış fonksiyonel-COOH grupları MWCNT'lerle (F-MWCNT'ler) kovalent olarak bağlanmıştır. Elde edilen biyosensör iyi bir performans göstererek geniş bir lineer aralıkta 2.18×10^{-5} ila 1.07×10^{-3} M üre tayinine imkan sağlamıştır. Biyosensör, 10–25 s gibi kısa bir tepki süresi ve $23 \text{ mV/on yıl/cm}^2$ bir hassasiyet göstermiştir (Ahuja vd., 2011).

Hao vd, üreaz ve metal katalizörlere (Pt ve Rh) dayanan amperometrik bir üre biyosensörü geliştirmişlerdir. Bu amaçla, çok duvarlı bir karbon nanotüp (MWCNT) ve modifiye edilmiş ITO camı kullanmışlardır. Metal katalizörlerin ve üreazın sıralı bir şekilde MWCNT ile modifiye edilmiş ITO camının yüzeyine tutunması bir polion kompleksi (PIC) ile sağlanmıştır. Üre hidrolizi için immobilize edilmiş enzimin ve enzimatik reaksiyon sırasında üretilen amonyağın elektrokimyasal oksidasyonu için metal katalizörlerin etkinliği araştırılmış ve Biyoelektrodun elektrokimyasal performansı ise dönüşümlü voltammetri tekniği ile karakterize edilmiştir. Sensörün sergilediği doğrusal amperometrik cevap 0.05 mM ila 20 mM arasında değişen üre konsantrasyonunda 0.995 doğrusal kolerasyon katsayısı ile elde edilmiştir. Hibrid elektrot için $1.7 \mu\text{AmM}^{-1} \text{ cm}^{-2}$ hassasiyet ve yaklaşık 10 sn'lik bir yanıt süresi elde edilmiş ve biyosensör, ortam koşullarında 20 günlük saklamadan sonra ilk aktivitesinin yarısını korumuştur (Hao vd., 2015).

Bu çalışmada, hidrolaz bazlı biyosensörler için transdüser olarak yeni bir amonyum-spesifik bakır-polianiline nano-kompozit kullanılmıştır. Çalışmada, üre ve kreatin biyosensörlerinin yapısını göstermek için bir kreatinin deaminaz ve üreaz kombinasyonu birlikte seçilmiştir. Enzimlerin immobilizasyonunun, biyosensörlerin gelişiminde çok önemli bir adım olduğu gösterilmiştir; stabilizatör olarak gliserol ve laktitol kullanımı belirgin bir iyileşme sağlamış ve özellikle kreatinin varlığında biyosensörlerin operasyonel stabilitesi (birkaç saatten en az 3 güne kadar) artmıştır. Geliştirilen biyosensörler kreatinin ve üreye karşı yüksek seçicilik göstermiştir.

Kreatin biyosensörü için $85 \pm 3.4 \text{ mAM}^{-1}\text{cm}^2$ hassasiyet ve üre biyosensörü için de $112 \pm 3.36 \text{ mAM}^{-1}\text{cm}^2$ olarak bulunmuştur. Kreatinin ve üreden elde edilen Michaelis-Menten sabiti de ($K_{M, \text{app}}$) kreatin için 0.163 mM ve üreaz için de 0.139 mM değerleri kreatin ve üre kalibrasyon eğrilerinden elde edilmiştir. Biyosensörler, 1-125 mM kalibrasyon aralığında 0.5 mM tayin limiti ve 15 saniyelik bir yanıt süresi ile doğrusal bir aralık göstermiştir. Biyosensörlerin gerçek bir örnek matrisi olan serumdaki performansı değerlendirilmiş ve standart spektrofotometrik klinik laboratuvar teknikleriyle iyi bir korelasyon göstermiştir (Zhybak vd., 2016).

Au elektrot üzerinde üreaz enziminin kendiliğinden bağlandığı poliamidoamin aşılınmış çok duvarlı karbon nanotüp (MWCNT-PAMAM) dendrimerlerinin (G1'den ilk nesile G5'e kadar) immobilizasyonuna dayanan yeni tür amperometrik üre biyosensörleri geliştirilmiştir. Biyo-algılayıcı elektrodun optimum pH'ı, sıcaklık ve tekrarlanabilirlik ile birlikte uygulama potansiyeli gibi performans parametreleri incelenmiştir. Beşinci nesil MWCNT-PAMAM ve üreaz enzimine dayanan elektrot, üre tespitinde 0.45 V uygulanan bir potansiyelde 3 s gibi bir kısa tepki süresi, 1-20 mM arasında geniş bir doğrusal aralık, 0.4 mM tayin limiti ve 6.6 nA/mM duyarlılığı ile mükemmel performans özellikleri göstermiştir. Olası interferon moleküllerinin varlığında anlamlı bir cevap tespit edilmemiştir. Seyreltilmemiş insan kan plazması kullanılan gerçek örnekte ise hazırlanan elektrot üre tayininde mükemmel performans göstermiştir (Dervisevic vd., 2017).

Mudilla vd.'nin kare dalga voltametriyle yaptıkları çalışmada, modifiye edilmiş bir polipirol-grafen oksitin (PPy-GO, GO % 20 w/w PPy) nanokompozit elektrodunu geliştirmişlerdir. Redoksik dönüşümlü voltametrik analizle üre miktarı etkili bir şekilde belirlenmiştir. Döngüsel voltametri ölçümleri, 0 ila 0.6 V potansiyel pencere aralığında 0.1 M KOH elektrolitik çözeltisinde etkili bir elektron transferini ortaya koymuştur. Akımın üre konsantrasyonuna karşı lineer aralığına, 0.5 ila 3.0 μM arasındaki üre konsantrasyon aralığında ve 0.27 μM 'lik nispeten düşük bir tayin sınırı ile kare dalga voltametri kullanılarak ulaşılmıştır. Taramalı elektron mikroskobu ve Fourier dönüşümlü infrared spektroskopisi yöntemleri nanokompozit tabakanın morfolojilerini ve özelliklerini karakterize etmek için kullanılmıştır. Sonuçlar,

nanokompozit film modifiyeli elektrodun, yüksek iletkenlik, hızlı bir elektron aktarım hızı ve doğal bir katalitik etki de dahil olmak üzere sinerjistik bir etki sergilediğini göstermiştir (Mudilla vd., 2017).

Jack fasülyelerden (*Canavalia ensiformis*) elde edilen ticari üreazın nanopartikül (NP'ler) agregatları desolvasyon ve glutaraldehid çapraz bağlaması ile hazırlanmış ve sistemin dihidroklorür ile fonksiyonelleştirilmiştir. Enzim nanopartikülleri (ENP'ler) geçirimli elektron mikroskopisi (TEM), UV ve Fourier transform kızılötesi (FTIR) spektroskopisi ile karakterize edilmiştir. Üreaz NP'lerinin TEM görüntüleri, ortalama 51.2 nm ile 18-100 nm aralığında boyutları olduğunu göstermiştir. ENP'ler doğal enzim moleküllerinden daha uzun raf ömrüyle daha aktif ve kararlılık sağlamıştır. ENP'ler kitosan (CHIT) ile aktive edilen nitroselüloz (NC) üzerine sabitlenmiştir. Glutaraldehid kaplı ile membran ile 1.63 mg/cm² konjugasyon verimi ve serbest üreaz NP'lerinin başlangıç aktivitesinin % 32.22 koruması gözlenmiştir. Bu NC membranı, cihazın alt hassas ucuna monte edilmiştir. O-halkalı amonyum iyon seçici elektrot (AISE) ve daha sonra elektrot, bir potansiyometrik üre biyosensörü oluşturmak için dijital bir pH metreyle bağlanmıştır. Biyosensör, pH 5.5 ve 40 °C'de 10 saniye içerisinde optimum tepki göstermiştir. Biyosensör, görünüşte sağlıklı ve böbrek rahatsızlıkları olan kişilerde serumdaki üre miktarının potansiyometrik tayini için kullanılmıştır. Biyosensör düşük bir tayin limiti göstermiştir. 1 µM/L, geniş çalışma aralığı 2–80 µM/L (0.002-0.08 mM) ve duyarlılığı 23 mV/on yıl olarak bulunmuştur. Serum içine eklenen ürenin analitik olarak geri kazanımı da % 106.33 olarak bulunmuştur. Mevcut biyosensörün parti içi ve gruplar arası varyasyon katsayısı (CV) sırasıyla % 0.18 ve % 0.32'dir. Referans yöntem(Enzimik kolorimetrik kit yöntemi) ve mevcut biyosensör ile elde edilen serum üre değerleri arasında da iyi bir korelasyon bulunmuştur (r=0.99). Biyosensörün Na⁺, K⁺, NH₄⁺ ve Ca²⁺ 'dan gelen ihmal edilebilir bir girişimi vardır, ancak spesifik iyon seçici elektrot ile Mg²⁺, Cu²⁺ ve askorbik asit'ten gelen hafif girişim etkilerine de sahiptir. ENP'lere bağlı NC membranı 4 °C'de 0.01 M sodyum asetat tamponu pH 5.5'te saklandığında 180 günlük bir süre boyunca günde maksimum 8-9 kez kullanılabilmiştir (Jackar ve Pundir, 2018).

Üre, insanlarda azot metabolizmasının ana son ürünüdür, bu da vücuttan esas olarak idrar yoluyla böbrekler tarafından elimine edilir, aynı zamanda kan ve tükürük gibi vücut sıvılarında salgılanır. İdrardaki seviyesi 7 ila 20 mg/dL arasında değişir. Bu durum pato-fizyolojik koşullar altında büyük ölçüde artar ve böylece böbrek fonksiyonu ve çeşitli böbrek ve karaciğer bozukluklarının teşhisi hakkında önemli bilgiler sağlar. Azotemi veya üremi olarak da adlandırılan kandaki üre düzeylerinde artış, kronik böbrek hastalığı (KBH) veya son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) genellikle böbrek fonksiyonlarının ilerlemiş bozukluğundan kaynaklanır. Bu nedenle, bu hastalıkları erken evrelerinde teşhis etmek için biyolojik sıvılarda üre tayini acil bir ihtiyaçtır. Üre tespiti için mevcut çeşitli yöntemler arasında, çoğu karmaşıktır ve özellikle kromatografik yöntemler için, zaman alıcı numune ön işleme, pahalı enstrümantal kurulum ve eğitimli kişilerin çalışması gerekir. Biyo algılama yöntemleri bu dezavantajların üstesinden gelir, çünkü bunlar basit, hızlı, spesifik ve son derece hassastır ve ayrıca ürenin in-vivo tespiti için de uygulanabilir. Bu derleme, biyosensörlere özel vurgu ile üre tayini için çeşitli analitik yöntemlerin ilkelerini sunmaktadır. Üre biyosensörlerinin daha da geliştirilmesi için çeşitli nano yapılar ve elektrokimyasal mikro akışkan kağıt bazlı analitik cihaz (EµPAD) kullanılması önerilmektedir (Pundir vd., 2018).

Polipirol-ürez biyosensörü ile puls-amperometrik algılamaya dayalı olarak ürenin güvenilir akış enjeksiyon analizi için hızlı ve oldukça hassas bir yöntem açıklanmıştır. Optimum koşullar, 0.05 M fosfat tamponu (pH 7.0), -70 mV (E_1) ve -400 mV (E_2) arasında negatif bir potansiyel darbe, Ag/AgCl'ye karşı, 120 mS darbe genişliği ve 0.1 ml dk⁻¹ akış hızıdır. Bu yöntemle 60 µg L⁻¹ ürelik bir saptama sınırı (3σ) elde edildi ve tepki 100-4500 µg L⁻¹ aralığında doğrusaldı. Biyosensör, iki haftalık sürekli kullanımdan sonra bile akış sisteminde çok kararlıydı. Çalışılan numunelerde bu yöntem kullanılarak mükemmel üre geri kazanımı (% 95-% 112) sağlanmıştır. Kan plazmasındaki üre tayininde yöntemin başarılı bir şekilde uygulandığı rapor edilmiştir (Adeloju vd., 1996).

Protonlanmamış amonyak moleküllerinin polipirol (PPy) ile etkileşimi, çalışma elektrodu olarak PPy ile modifiye edilmiş bir anodik olarak polarize platin elektrot

kullanılarak amonyağın amperometrik tespiti için kullanılmıştır. Polimer, sulu çözeltilerden potansiyostatik koşullarda elektropolimerizasyon yoluyla elde edilmiştir. Çalışılan çeşitli katkı maddelerinden PPy için en uygun katkı maddesinin klorür olduğu bulunmuştur. Tespitin tatmin edici dinamik özellikleri, 0.6 µM tespit limiti ile 100 µM analite kadar bir akış enjeksiyon sisteminde amonyak tayini için uygulanmasına izin verilmiştir. Böyle bir amonyak detektörü, sırasıyla üreaz ve kreatinin iminohidrolazın PPy yüzeyinde farklı bir şekilde hareketsizleştirme yoluyla üre ve kreatinin için amperometrik biyosensörlerde dahili detektör olarak kullanılmıştır. Elektropolimerizasyon sırasında PPy tabakasında üreaz tutulmasıyla çok düşük duyarlılığa sahip bir amperometrik biyosensör elde edilmiştir. Üre membran biyosensörü, insan kan örneklerinde üre tayininde başarıyla uygulanmıştır. Elementel analiz, UV ve IR spektroskopisinin sonuçlarına dayanarak, PPy ve amonyak arasındaki etkileşimin mekanizması ve amonyağın amperometrik tespitinde meydana gelen anodik elektrot süreci hakkında bazı öneriler sunulmuştur (Trojanowicz vd., 1995).

Das ve Sarkar'ın çalışmasında, iletken polimer hidrojel (CPH) ler kullanılmıştır. CPH' lar; hem hidrojel hem de organik iletkenlerin avantajlı özelliklerine sahip benzersiz bir malzeme sınıfıdır. Bu makalede; mevcut çalışma elektrodunun CPH ile modifiye edildiği yeni bir üre biyosensörü rapor edilmektedir. Üreaz enziminin immobilizasyonu sağlamak için poliakrilamid ve polivinil alkolün iletken olmayan hidrojelinde iletken elektro-polimerize anilin kullanılmıştır. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve atomik kuvvet mikroskobu (AFM) çalışmaları, hidrojin gözenekli yapısını ve enzimin yüksek yoğunluklu olarak immobilize olduğunu göstermiştir. Fourier transform infrared spektroskopisi (FTIR) çalışmaları da matris içinde polianilin varlığını doğrulamıştır. Elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS), diferansiyel puls voltametri (DPV) ve döngüsel voltametri (CV) teknikleri ile hidrojelde yüksek enzim yüklemesinin sonuçları incelenmiştir. $[FeCN_6]^{3-/4-}$ redoks çifti ile Bode çizim analizi, 102-103 Hz frekans aralığında biyoelektrodun kısmi kapasitif davranışını göstermiştir. Tarama hızı ve elektrolitin pH'ı gibi faktörler en iyi sonuçları verecek şekilde optimize edilmiştir. DPV, en düşük tespit limiti (LOD) 60 nM ve hassasiyet $878 \mu AmM^{-1}cm^{-2}$ ile 1.5-1000 µM aralığındaki üreyi tespit

edebilmektedir. 113 μM 'lik nispeten düşük bir Michaelis-Menten sabiti (K_m) değeri, enzimin üre için yüksek afinitesini göstermiştir. EIS, üre konsantrasyonundaki artışla ($\text{LOD}=14 \mu\text{M}$) yük transfer direncinin (RCT) artışıını sağlamıştır. Önerilen sensör tespit limiti, hassasiyet, K_m değeri, hazırlama yöntemi, maliyet, numune hazırlama, stabilite, seçicilik ve tekrarlanabilirlik açısından çok iyi performans sergilemiştir. Bu sensör, süt, şişmiş pirinç, toprak ve insan kanındaki üre tespiti için başarıyla uygulanmış ve elde edilen sonuçların istatistiksel analizi ile spektrofotometrik analiz sonuçları iyi bir uyum göstermiştir (Das ve Sarkar, 2016).



3. MATERYAL VE METOT

Bu bölümde üre molekülünün voltametrik yöntemlerle tayini için geliştirilen elektrodun modifikasyonunda ve çalışmasında kullanılan bileşikler, materyaller, cihazlar, kimyasallar ve yöntemler açıklanmıştır.

Tez kapsamında laboratuvar ortamında reseptör olarak sentezlenen homodinükleer iminoksim Cu(II) kompleks (Dede, 2007) kullanılarak üre molekülüne duyarlı polipirol bazlı modifiye elektrotlar hazırlanmıştır. Elektroanalitik teknik olarak voltametri yöntemi seçilmiştir. Madde miktarına bağlı olarak voltamogramlardaki pik akımının artışının lineer doğru şeklinde gerçekleşmesi için optimum değerleri; tarama hızı, döngü sayısı, pH ve madde miktarı gibi parametreleri belirlenmiştir. Ayrıca optimum şartlarda modifiye edilen elektroda girişim yapan türlerin etkisi belirlenmiş ve gerçek numune koşullarındaki durumu da incelenmiştir. Çalışma elektrodu olarak seçtiğimiz kalem grafit elektrodun (KGE) polimer madde ve homodinükleer iminoksim Cu(II) kompleksi ile modifiye edilmesinde dönüşümlü voltametri (CV) yöntemi ve ürenin elektrokimyasal tayininde ise diferansiyel puls voltametri (DPV) yöntemi kullanılmıştır.

3.1. Kullanılan Cihazlar

3.1.1. Potentiostat/Galvonostat cihazı

Çalışmamızda, Nova 1.11 yazılım programlı Autolab Potentiostat/Galvonostat PGSTAT-302N cihazı elektrokimyasal tüm aşamalarda kullanılmıştır. Kalem grafit elektrotların modifikasyonu CV yöntemi ile ve üre molekülünün tayini ise DPV yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Elektrokimyasal aşamalarda üç elektrotlu hücre sistemi kullanılabilir. Bu sistem istenilen çalışma koşulları süresince sabit potansiyel (potansiyostat) veya sabit akım (galvanostat) kaynağı olarak kullanılmaktadır. Şekil 3.1.'de Autolab Potentiostat/Galvonostat PGSTAT-302N cihazı görülmektedir.



Şekil 3.1. Autolab Potentiostat/ Galvonostat PGSTAT-302N cihazı

3.1.2. Analitik terazi

Çözeltilerin hazırlanmasında Shimadzu AX200 adlı analitik terazi kullanılmıştır.

3.1.3. pH metre cihazı

Modifiye elektrodun optimum çalışma şartlarındaki pH değerinin belirlenmesi için Mettler Toledo pH metre cihazı kullanılmıştır.

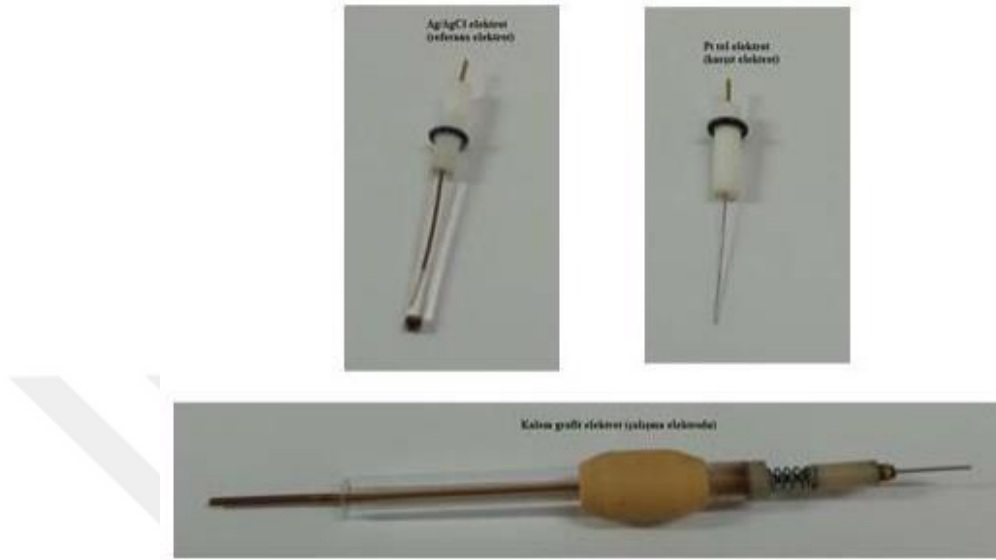
3.1.4. Taramalı elektron mikroskobu (SEM)

Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM), FEI Qunta FEG 250 model kullanılarak geliştirilen modifiye elektrotların yüzey yapıları incelenmiş ve görüntülenmiştir.

3.2. Kullanılan Elektrotlar

Deney süresince kullanılan elektrotlar çözelti fazının durumuna göre seçilmiştir. Referans elektrot olarak elektropolimerizasyon işlemi için asetonitril çözeltisinde çalıştırdığımızdan dolayı susuz Ag/AgCl elektrot, suda çözünen üre miktarının tayininde ise sulu Ag/AgCl elektrot kullanılmıştır. Karşıt elektrot olarak her iki işlemde de Pt tel elektrot kullanılmıştır. Çalışma elektrodu olarak da 0.7 mm 2B Faber-Castell kalem

grafit (kurşun kalem ucu) seçilmiştir. Çalışma elektrodunun modifiye edilmesinde de pirol ve homodinükleer iminoksim Cu(II) kompleksi kullanılmıştır. Deneylerde kullanılan elektrotlar Şekil 3.2.'de verilmiştir.



Şekil 3.2. Çalışma hücrelerinde kullanılan elektrotlar

3.3. Hücreler

Elektrokimyasal çalışmaların tamamında bütün reaksiyonlar inert malzeme olan cam hücrelerde gerçekleştirilmiştir. Üçlü elektrotlu sistemde çalışılabilen düzenekte çalışma elektrodu, karşıt elektrot ve referans elektrot için giriş delikleri bulunmaktadır. Şekil 3.3'de deneysel çalışmalarda kullanılan hücreler gösterilmiştir.

Çalışmamız boyunca gerçekleştirilen tüm elektrokimyasal reaksiyonlar aşağıda açıklayacağımız sebeplerden dolayı su-buz banyosunda soğuk ortamda gerçekleştirilmiştir.

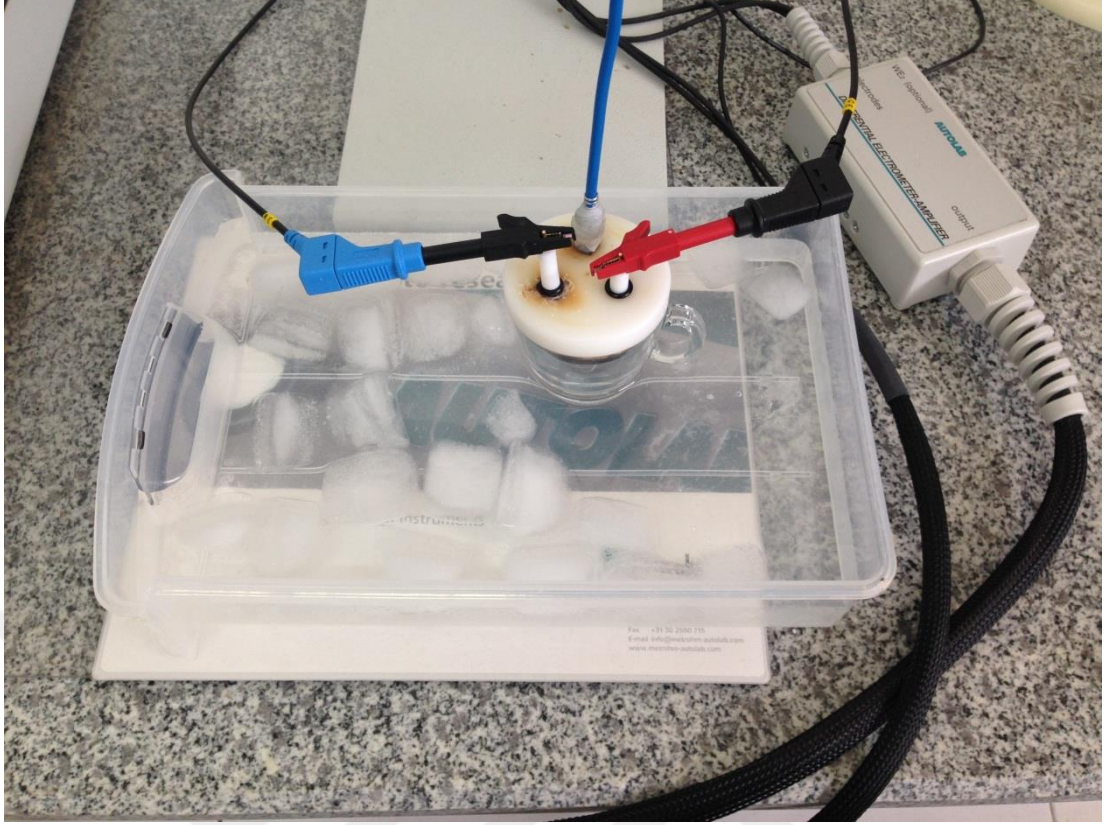
Homodinükleer iminoksim Cu(II) kompleks çözeltisi ve bu çözeltiden modifiye edilmiş elektrotlar oda sıcaklığında hızla bozulma reaksiyonu göstermektedir. Kompleksin bozulması elektrokimyasal çalışmaları olumsuz olarak etkilemektedir. Modifiye elektrodun bozulma kinetiğini geciktirebilmek için çalışma hücrelerinin sıcaklığı düşürülmüştür. Bu amaçla çalışma hücreleri su-buz banyosuna

yerleştirilmiştir. Sıcaklığın doğrusal voltametri (LSV) ve döngüsel voltametri (CV) çalışmalarında pik tepe akımlarını etkileyeceği Randles-Sevcik eşitliğinden bilinmektedir (Eşitlik 3.1., 3.2.). Su-buz banyosu içinde 0 °C'ye yakın gerçekleşen reaksiyonlardaki voltamogramlar oda sıcaklığındaki reaksiyon voltamogramları ile karşılaştırıldığında pik tepe akımlarının daha düşük olduğu görülmüştür. Denklemden sıcaklığın etkilediği iki değişken vardır biri doğrudan sıcaklıkla diğeri difüzyon katsayısıdır. Denklemden sıcaklıkla pik tepe akımı ters orantılıdır ve sıcaklık düşerken pik tepe akımının artması beklenir. Ancak difüzyon katsayısı pik tepe akımıyla doğru orantılıdır ve difüzyon katsayısı sıcaklığa üstel olarak bağlıdır. Sıcaklığın düşüşü difüzyon katsayısını ve dolayısıyla pik tepe akımını üstel olarak düşürmektedir. Bu durum bizim bulduğumuz sonuçlarla uyum içindedir. Bu şartlar altında modifiye elektrot için lineer bir çalışma aralığı bulunmuş ve elektrodun üre molekülüne ilgisi etkilenmemiştir. Randles-Sevcik denklemi aşağıda verilmiştir (Eşitlik 3.1., 3.2.).

$$i_T = 0.446 \left(\frac{F^3}{RT} \right)^{\frac{1}{2}} n^{\frac{3}{2}} A D^{\frac{1}{2}} c v^{\frac{1}{2}} \quad (\text{Eşitlik 3.1.})$$

25 °C'de Randles-Sevcik denklemi aşağıdaki şekildedir.

$$i_T = 2.686 \cdot 10^5 n^{\frac{3}{2}} A D^{\frac{1}{2}} c v^{\frac{1}{2}} \quad (\text{Eşitlik 3.2.})$$



Şekil 3.3. Voltametrik çalışma düzeneği

3.3.1. Susuz Ortam Hücresi

Susuz ortam hücremizdeki ölçümler için CV yöntemi kullanılmıştır. Susuz ortam hücresinde çalışırken çözücümüz asetonitrildir. Prol monomeri ve TBAP destek elektroliti bulunan asetonitril çözeltilerinde polipirol elektrot, kontrol elektrodu olarak hazırlanmıştır.

Modifiye elektrodumuzu hazırladığımız çözeltilerde de yine aynı şekilde çözücü olarak asetonitril kullanılmıştır. Asetonitril içinde prol monomeri ve TBAP destek elektrolitine ilave olarak modifiye elektrodu hazırlamak için ortama belli miktarda homodinökleer iminoksim Cu(II) kompleksi ilave edilmiştir.

Homodinökleer iminoksim Cu(II) kompleksinin asetonitril ortamında homojen olarak çözünmesi sağlandıktan sonra hazırlanan çözelti deneylerde kullanılmıştır. Bölüm 3.3.'de de bahsedildiği gibi homodinökleer iminoksim Cu(II) kompleks çözeltisi oda

sıcaklığında hızla bozulma reaksiyonu gösterdiği için deneyler su-buz banyosunda gerçekleştirilmiştir. Çözücü ortamında bekleyen homodinükleer kompleks çözeltilisindeki renk değişimi Şekil 3.4. de görülmektedir. Bu durum kendiliğinden kimyasal reaksiyonların gerçekleştiğini ve çözücü ortamında kompleksin kararsız olduğunu göstermektedir. Bu kararsızlığın sebebi çözücü asetonitrilden kaynaklı serbest radikaller olabileceği gibi çözeltilideki çözünen oksijenden kaynaklı veya başka bir durumdan kaynaklı da olabilir. Bozulmanın nedeni çalışmamızda tam olarak açıklanamamıştır. Çözünen kompleks bir gün veya daha uzun süre beklediğinde homodinükleer kompleksin pirol ile elektropolimerizasyon reaksiyonları gerçekleşmemektedir. Bu durum Şekil 3.4.'te gösterilen 1 günlük çözelti renginin değişmesinden de görülmektedir.



Şekil 3.4. Homodinükleer iminoksim Cu(II) kompleks çözeltilisinin renginin zamanla değişimi

3.3.2. Sulu Ortam Hücresi

Sulu ortam hücresinde çalışırken çözücümüz Britton-Robinson tampon çözeltilisidir. Destek elektrolit olarak LiClO_4 ilave edilmiştir. Üre molekülünün bu çözelti ortamında farklı derişimlerdeki elektrokimyasal cevabı hazırlanan modifiye elektrot kullanılarak diferansiyel puls voltametriyle incelenmiştir.

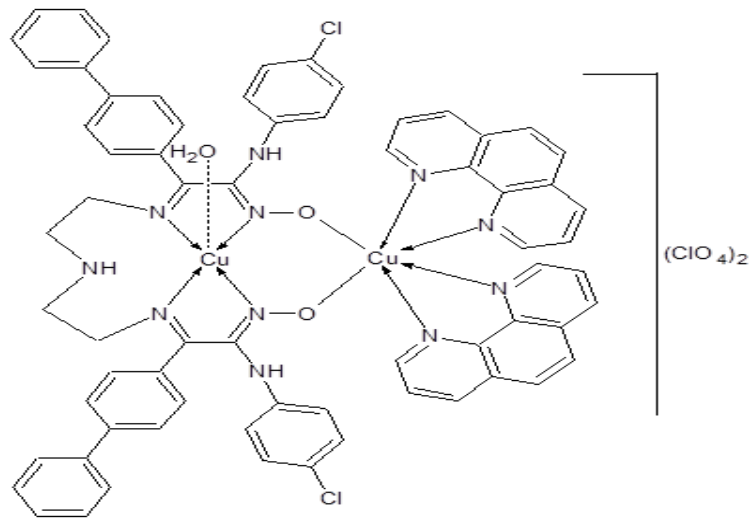
3.4. Deney Süresince Kullanılan Kimyasal Maddeler

Kalem grafit elektrot üzerine polimerizasyon aşamasında monomer olarak pirol molekülü kullanılmıştır. Polimerizasyonda destek elektrolit olarak tetrabutil amonyum perklorat kullanılarak polipirol elektrotlar hazırlanmıştır. Bu hazırlanan polipirol elektrot, homodinükleer iminoksim Cu(II) kompleksi ile modifiye edilmiş polipirol elektrota karşı kontrol elektrodu olarak kullanılmıştır.

Homodinükleer iminoksim Cu(II) kompleksi; modifiye elektrot hazırlanırken kullanılmıştır. Pirol monomeri ve TBAP destek elektroliti bulunan çözeltide, kompleks düşük miktarlarda (molekülün ağırlığı ve yapısı büyük olmasından dolayı) kullanılmıştır. Homodinükleer iminoksim Cu(II) kompleksi pirolün polimerizasyonuna katılmış ve polipirol elektrodu farklılaştırmıştır.

Çalışmada kullanılan kompleks molekül N,N''-bis[1-(4-fenilfenil)-2-hidroksiimino-2-(4-kloroanilino)-1-etiliden]- dietilentriaminin, H₂KD, [C₄₄H₃₉N₇O₂Cl₂] homodinükleer Cu(II) kompleksidir (Dede, 2007).

Çalışmamızda kullanılan kompleks molekülün açık yapısı Şekil 3.5'te gösterilmiştir [C₇₇H₈₂Cl₂Cu₂N₁₁O₃, M_A=1407,545 g / mol] .



Şekil 3.5. Homodinükleer iminoksim Cu(II) kompleksi

Sulu çözeltilerdeki hücre direncini düşürmek ve akım geçişini arttırmak için destek elektrolit olarak lityum perklorat kullanılmıştır. Üre derişimini voltametik yöntemlerle tayin etmek amacıyla üre sulu ortamda çözülmüştür. Ürenin standart çözeltileri 100 ppm'lik ürenin sulu ortam stok çözeltilisinden hazırlanmıştır. Standart üre çözeltileri kalibrasyon grafiği hazırlanırken kullanılmıştır. Çizelge 3.1 de deneylerde kullanılan kimyasal maddeler ve kullanım amaçları özetlenmektedir.

Çizelge 3.1. Deneyde Kullanılan Kimyasal Maddeler

Kimyasalın Adı	Kullanım amacı	Kapalı formülü	molekül ağırlığı
Pirol	Elektrot hazırlanmasında kullanılan monomer	C ₄ H ₅ N	67.09 g/mol
Tetrabütülamonyum perklorat(TBAP)	Destek elektroliti	C ₁₆ H ₃₆ ClO ₄	341.92 g/mol
Asetonitril	Elektrot polimerizasyon çözücüsü	CH ₃ CN	41.05 g/mol
Üre	Analit	CH ₄ N ₂ O	60.06 g/mol
Lityum Perklorat	Destek elektrolit	LiClO ₄	106.39 g/mol
Orto-fosforik asit	Britton-Robinson tamponu	H ₃ PO ₄	98.00 g/mol
Asetik asit	Britton-Robinson tamponu	CH ₃ COOH	60.05 g/mol
Borik asit	Britton-Robinson tamponu	H ₃ BO ₃	61.83 g/mol
Gümüş nitrat	Referans elektrot iç dolgu çözeltilisi	AgNO ₃	169.88 g/mol
Amonyum klorür	Girişim etkisi	NH ₄ Cl	53.49 g/mol
Demir (III) nitrat	Girişim etkisi	Fe(NO ₃) ₃ .9H ₂ O	404.02 g/mol
Potasyum klorür	Girişim etkisi	KCl	74.55 g/mol
Sodyum klorür	Girişim etkisi	NaCl	58.44 g/mol
Kalsiyum klorür	Girişim etkisi	CaCl ₂	110.98 g/mol
Homodinökleer iminoksim Cu(II)	Modifiye elektrot hazırlanmasında kullanılan iyonofor	C ₇₇ H ₈₂ Cl ₂ Cu ₂ N ₁₁ O ₃	1407.545 g / mol
Sodyum Hidroksit	pH ayarlama	NaOH	39.99 g / mol

3.5. Kullanılan Çözeltiler

Polipirol elektrodun hazırlanmasında; 0.1 M (107 µL) pirol monomeri, 0.1 M (0.513 g) TBAP destek elektrolit içeren 15 mL asetonitril çözeltisi kullanılmıştır.

Homodinükleer iminoksim Cu(II) kompleks-polipirol elektrodun hazırlanmasında; 0.1 M (107µL) pirol monomeri, 0.1 M (0.513 g) TBAP destek elektrolit ve farklı molaritelerde olacak şekilde homodinükleer iminoksim Cu(II) kompleksi 15 mL asetonitril çözeltisinde çözdürülerek hazırlanmıştır. Homodinükleer iminooksimin optimum madde miktarı tayini için 0.05 g (2.37×10^{-3} M) , 0.01 g (4.74×10^{-4} M) ve 0.005 g (2.37×10^{-4} M) çözeltileri hazırlanmıştır.

Britton-Robinson Tamponu (0.04 M) hazırlanmasında; 1L saf su içinde 2.7 mL H₃PO₄ (% 85'lik, 1.7 g/mL), 2.3 mL CH₃COOH (% 100'lük, 1.05 g/mL) ve 2.45 mL H₃BO₃ (61.83 g/mol) çözülmüştür.

100 ppm'lik stok üre çözeltisi, 0.1 g üre 100 mL saf suda çözülerek hazırlanmıştır. Bu stok çözeltide çeşitli derişimlerdeki üre çözeltisi kalibrasyon grafiğinin hazırlanmasında kullanılmıştır.

0.1 M Sodyum hidroksit, 0.4 g NaOH 100 mL balon joje içinde saf suda çözülerek hazırlanmıştır. Hazırlanan 0.1 M'lık NaOH sulu ortam çözücümüz olan Britton-Robinson tampon çözeltisinin çeşitli pH değerlerinde sulu ortam çözeltisini hazırlamak için kullanılmıştır. Hazırlanan bu çözeltiler modifiye elektrodun optimum şartlarda çalışan pH değerini belirlemek için kullanılmıştır.

Gerçek numune çözeltisi olarak idrar numunesi kullanılmıştır. İdrar numunesi analiz işlemi için ön hazırlık işlemlerinden geçirilmiştir. Bunun için 1 mL idrar saf su ile 20 ml ye seyreltilmiştir. Seyreltilen çözeltiden 2 mL alınarak üzerine 3 mL asetonitril çözeltisi proteinlerin bozucu etkisinden kurtulmak amacıyla ilave edilmiştir. Daha sonra optimum pH koşullarında hazırlanan çözelti ile 15 mL ye tamamlanmıştır. Gerçek numunede analiz işlemi tamamlandıktan sonra sırasıyla gerçek numune

çözeltine 0.2 ppm, 0.5 ppm üre ilavesi yapılmıştır. Böylece gerçek numune ortamındaki geri kazanım miktarı belirlenmiştir.

Girişim yapabileceğini düşündüğümüz maddeler amonyum, Demir (III), Potasyum, Sodyum ve Kalsiyum olarak düşünülmüştür. Girişim maddelerinin stok çözeltileri 10 ppm olarak hazırlanmıştır.

10 ppm Amonyum çözeltisi, 0.0015 g NH_4Cl tuzu 50 mL saf suda çözülerek hazırlanmıştır.

10 ppm Demir (III) çözeltisi, 0.0036 g $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ maddesi 50 mL saf suda çözülerek hazırlanmıştır.

10 ppm Potasyum çözeltisi, 0.001 g KCl tuzu 50 mL saf suda çözülerek hazırlanmıştır.

10 ppm Sodyum çözeltisi, 0.0013 g NaCl tuzu 50 mL saf suda çözülerek hazırlanmıştır.

10 ppm Kalsiyum çözeltisi, 0.0014 g CaCl_2 tuzu 50 mL saf suda çözülerek hazırlanmıştır.

Çizelge 3.2. Deneyde kullanılan çözeltilerin hazırlanışı

Kullanılan Çözelti	Hazırlanışı
PPy elektrot hazırlama çözeltisi	0.1 M (107 µL) pirol monomeri ve 0.1 M (0.513 g) TBAP destek elektrolit 15 mL ACN içinde çözüldü.
PPy–homodinükleer iminoksim Cu(II) elektrot hazırlama çözeltisi	0.1 M (107 µL) pirol monomeri, 0.1 M (0.513 g) TBAP destek elektrolit ve 0.05 g (2.37×10^{-3} M) homodinükleer iminoksim Cu(II) kompleks 15 mL ACN içinde çözüldü.
0.04 M Britton Robinson Çözeltisi	2,7 ml H ₃ PO ₄ , 2,3 mL CH ₃ COOH, 2,45 mL H ₃ BO ₃ 1 Litre saf suda çözüldü.
100 ppm'lik Üre Çözeltisi	0.1 g üre 100 mL saf suda çözülerek hazırlandı.
0.1 M NaOH Çözeltisi	0.4 g NaOH maddesi 100 mL saf suda çözülerek hazırlandı.
İdrar Numunesi	1 mL idrar saf su ile 20 ml ye seyreltilmiştir. Seyreltilen çözeltiden 2 mL alınarak üzerine 3 mL asetonitril ilave edilmiştir. Daha sonra optimum pH koşullarında hazırlanan çözelti ile 15 ml ye tamamlanmıştır.
10 ppm Amonyum çözeltisi	0.0015 g NH ₄ Cl tuzu 50 mL saf suda çözülerek hazırlanmıştır.
10 ppm Demir (III) çözeltisi	0.0036 g Fe(NO ₃) ₃ maddesi 50 mL saf suda çözülerek hazırlanmıştır.
10 ppm Potasyum çözeltisi	0.001 g KCl tuzu 50 mL saf suda çözülerek hazırlanmıştır.
10 ppm Sodyum çözeltisi	0.0013 g NaCl tuzu 50 mL saf suda çözülerek hazırlanmıştır.
10 ppm Kalsiyum çözeltisi	0.0014 g CaCl ₂ tuzu 50 mL saf suda çözülerek hazırlanmıştır.

3.6. Araştırmada Kullanılan Metot ve Prensipler

Bu bölümde üre molekülünün tayini için yapılan çalışmada PPy elektrot ve OME elektrotlarının hazırlanmasında, optimizasyonunda, gerçek numune üzerindeki çalışmada ve olası girişim etkilerinin belirlenmesinde uygulanan elektrokimyasal metotlar açıklanmıştır.

Elektrotların hazırlanmasında dönüşümlü voltametri (CV) yöntemi kullanılmıştır. Hazırlanan elektrotların üre molekülüne karşı elektrokimyasal ilgisinin incelenmesinde diferansiyel puls voltametrisinden (DPV) yararlanılmıştır. Analize

başlamadan önce hazırlanan elektrotların matrix çözeltisinden gelen bozucu etkileri azaltmak, elektrokimyasal ilgilerini azaltmak ve sadece analit maddesine cevap vermesini sağlamak amacıyla elektrotların 0,1 M LiClO₄ içeren pH= 5 BR tampon çözeltisi içerisinde 0 V ile 1.0 V arasında 5'er kez boş olarak diferansiyel puls voltamogramları alınmıştır.

3.6.1. PPy elektrodun hazırlanması

0.1 M pirol ve 0.1 M TBAP destek elektroliti içeren polimerizasyon çözeltisinde, CV yönteminde -0.6 V ile +1.2 V gerilim değerleri arasında 80 mV/s tarama hızında ve 8 döngülü gerilim taraması uygulandığında, kalem ucu elektrot yüzeyinde polipirol film tabakasının oluştuğu gözlenmiştir.

3.6.2. OME elektrodun hazırlanması

0.1 M pirol, 0.1 M TBAP destek elektroliti ve 4.74×10^{-4} M homodinükleer iminoksim Cu(II) kompleks içeren polimerizasyon çözeltisinde, CV yönteminde -0,6 V ile +1,2 V gerilim değerleri arasında 60 mV/s tarama hızı ve 6 döngülü gerilim taraması uygulandığında, kalem ucu elektrot yüzeyinde polipirol zincir tabakasının oluştuğu ve homodinükleer imionkism Cu(II) kompleksinin polimerizasyona katıldığı gözlenmiştir.

3.7. Elektrotların Optimizasyonu

Üre molekülüne en iyi koşullarda cevap veren elektrotlar hazırlayabilmek için elektrotlar bazı açılardan incelenmiştir. Bu incelenen parametreler sırasıyla şu şekilde belirlenmiştir: Döngü sayısı, tarama hızı, optimum madde miktarı, optimum pH ve girişim etkisidir.

Kalem grafit elektrodun polipirol ve polipirol-homodininükleer iminoksim Cu(II) kompleks ile modifiye edilmesinde dönüşümlü voltametri (CV) yöntemi kullanılmıştır.

Üre molekülünün elektrokimyasal tayininde ise eser miktardaki organik analizlerde yaygın biçimde kullanılan diferansiyel puls voltametri (DPV) tekniği kullanılmıştır. Analize başlamadan önce modifiye edilen elektrotların 0.1 M LiClO₄ çözeltisi içerisinde 0 V ile 1.0 V arasında üre olmayan çözeltide 5'er kez diferansiyel puls voltamogramları alınmıştır.

Optimum şartlarda hazırlanacak elektrot parametrelerinin belirlenmesinde sulu ortamda 10 ppm üre çözeltisine karşı verilen elektrokimyasal cevap üç tekrarlı olarak DPV yöntemiyle incelenmiştir. Voltamogramlarda bulunan en yüksek pik akımlarına karşılık gelen parametre değeri elektrotlar için optimum çalışma koşullarını göstermektedir.

3.7.1. Döngü sayısının belirlenmesi

CV yöntemi kullanılarak 2, 4, 6, 8, 10 ve 12 döngü sayısında hazırlanan PPy ve OME elektrotlarının elektropolimerizasyonu gerçekleştirilmiştir.

3.7.2. Tarama hızının belirlenmesi

Tarama hızının optimizasyonu için dönüşümlü voltametri kullanılarak PPy ve OME elektrotlarının 20 mV/s ile 120 mV/s arasında 20 mV/s aralıklarla elektropolimerizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

3.7.3. Optimum madde miktarının belirlenmesi

Homodinükleer iminoksim Cu(II) kompleksinin optimum madde miktarının tayini için 2.37×10^{-3} M (0.05 g) , 4.74×10^{-4} M (0.01 g) ve 2.37×10^{-4} M (0.005 g) kompleks bileşiği bulunan çözeltiler hazırlanmıştır. Bu çözeltilerden dönüşümlü voltametri yardımıyla OME elektrodunun optimum madde miktarı belirlenmiştir.

3.7.4. Optimum çalışma pH değerinin belirlenmesi

Optimum çalışma pH değerinin belirlenmesi amacıyla optimum koşullarda hazırlanan OME elektrot ile farklı pH değerlerinde hazırlanmış BR tamponunda DPV analizleri alınmıştır. OME elektrodun üre analizinde verdiği DP voltamogramlarında maksimum pik verdiği çalışma aralığının belirlenmesi için pH 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ve 11 olan Britton-Robinson sulu ortam çözeltileri hazırlanmıştır. Bu pH aralıklarında çalışma elektrodunun sırasıyla yapılan analizler sonucunda optimum çalışma pH'ı belirlenmiştir.

3.7.5. Kalibrasyon aralığının belirlenmesi

Optimum çalışma şartları belirlenen ve bu şartlarda hazırlanan OME ve PPy elektrodun üre analizinde verdiği DP voltamogramlarındaki maksimum pik akımlarında doğrusal artış aralığının bulunması için çeşitli derişimlerde (0.1 – 20 ppm) üre çözeltileri hazırlanmıştır. Bu derişimler incelenerek kalibrasyon aralığı bulunmuştur.

Çizelge 3.3. lineer aralığın bulunması için incelenen derişimler

KALİBRASYON ARALIĞI İÇİN HAZIRLANAN ÜRE DERİŞİMLERİ (ppm)			
0.1	0.7	2.0	5.0
0.2	0.8	2.5	7.5
0.3	0.9	3.0	10.0
0.4	1.0	3.5	12.5
0.5	1.2	4.0	17.5
0.6	1.5	4.5	20.0

3.8. Analiz İşleminin Yapılması

Optimum koşullarda hazırlanan ve lineer çalışma aralığı bulunan OME elektrot ile gerçek numunede üre tayini işlemi yapılmıştır. Gerçek numune olarak insan idrarı kullanılmıştır ve geri kazanım oranı belirlenmiştir.

3.8.1. İdrar numunesinde analiz

Tez kapsamında hazırlanan elektrotlar kullanılarak idrar numunesinde ürenin tayini yapılmıştır. Bu analizler için standart katma yöntemi kullanılmıştır. İdrar numunesi içine kalibrasyon aralığına giren derişimlerde üre ilave edilerek OME elektrot ile DPV analizi yapılmış ve geri kazanım değerleri hesaplanmıştır.

İdrar numunesinde çalışırken analizden önce ön işlemler gerçekleştirilmiştir. Ön işlemleri yapmamızın nedeni idrarda bulunan proteinlerin bozucu etkisinden kurtulmak ve idrar numunesindeki üre derişimini modifiye elektrodun çalıştığı kalibrasyon aralığına seyreltmek amacıyla yapılmıştır.

Bu ön işlem şu şekilde yapılmıştır; 1 mL idrar alınıp 19 mL saf su ile 20 mL ye tamamlanmıştır. Bu seyreltilen çözeltiden 2 mL alınır üzerine 3 mL asetonitril çözeltisi ilave edilmiştir. Daha sonra pH=5 Britton-Robinson tampon çözeltisinden 10 mL eklenmiş ve 15 mL'lik hücre hacmine ulaşılmıştır. Ön işlemde geçirilerek hazırlanan idrar numunesi içine 0.2 ppm ve 0.5 ppm üre ilave edilerek OME ile DPV yönteminde üre tayini yapılmış ve geri kazanım oranları belirlenmiştir.

3.8.2. Olası girişim maddeleri

Üre tayini sırasında çeşitli iyonların girişim etkileri de değerlendirilmiştir. Modifiye ettiğimiz elektrot için olası girişim maddeleri; dopamin, ürikasit, glikoz, askorbik asit, kreatin, kolestrol, kafein, sistin (amino asitler), aminoasit şelatları, sitrik asit, glutamin, Na⁺, K⁺, NH₄⁺, HCO₃⁻, Mg²⁺, Ca²⁺, Fe³⁺ gibi maddelerdir.

Yukarıda sayılan tüm maddelerin girişim etkilerini incelemek daha ileri çalışma konusu olabilir. Girişim maddelerinin saf olarak bulunması ve hepsinin incelenmesi çalışma süresini ve maliyetini artıracığı için standart laboratuvarlarda bulunan maddelerde olası girişim etkileri incelenmiştir. Deney süresince girişim etkisi incelenen iyonlar; Na^+ , K^+ , NH_4^+ , Ca^{2+} ve Fe^{3+} iyonlarıdır.

Optimum şartlarda hazırlanan OME elektrodun girişim maddelerine karşı verdiği cevap ölçülürken, $\text{pH} = 5$ 'deki BR tamponu içerisine 0.5 ppm üre ilave edilmiştir ve çözelti içerisine değişen derişimlerde (0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5 ppm) Na^+ , K^+ , NH_4^+ , Ca^{2+} ve Fe^{3+} iyonları eklenmiştir. Girişim etkisi incelenen iyonlar varlığında OME elektrodun verdiği elektrokimyasal cevaplar araştırılmıştır.

3.8.2.1. Sodyum katyonu

Sodyum katyonunun girişim etkisi incelenirken sulu çözeltideki 0.5 ppm üre molekülünün voltamogramındaki pik akımları incelenmiştir. Sonra sırasıyla çözeltiye 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5 ppm Na^+ ilave edilip pik akımları incelenmiştir.

3.8.2.2. Potasyum katyonu

Potasyum katyonunun girişim etkisi incelenirken sulu çözeltideki 0.5 ppm üre molekülünün voltamogramındaki pik akımları incelenmiştir. Sonra sırasıyla çözeltiye 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5 ppm K^+ ilave edilip pik akımları incelenmiştir.

3.8.2.3. Amonyum katyonu

Amonyum katyonunun girişim etkisi incelenirken sulu çözeltideki 0.5 ppm üre molekülünün voltamogramındaki pik akımları incelenmiştir. Sonra sırasıyla çözeltiye 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5 ppm Na^+ ilave edilip pik akımları incelenmiştir.

3.8.2.4. Kalsiyum katyonu

Kalsiyum katyonunun girişim etkisi incelenirken sulu çözeltideki 0.5 ppm üre molekülünün voltamogramındaki pik akımları incelenmiştir. Sonra sırasıyla çözeltiliye 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5 ppm Ca^{2+} ilave edilip pik akımları incelenmiştir.

3.8.2.5. Demir (III) katyonu

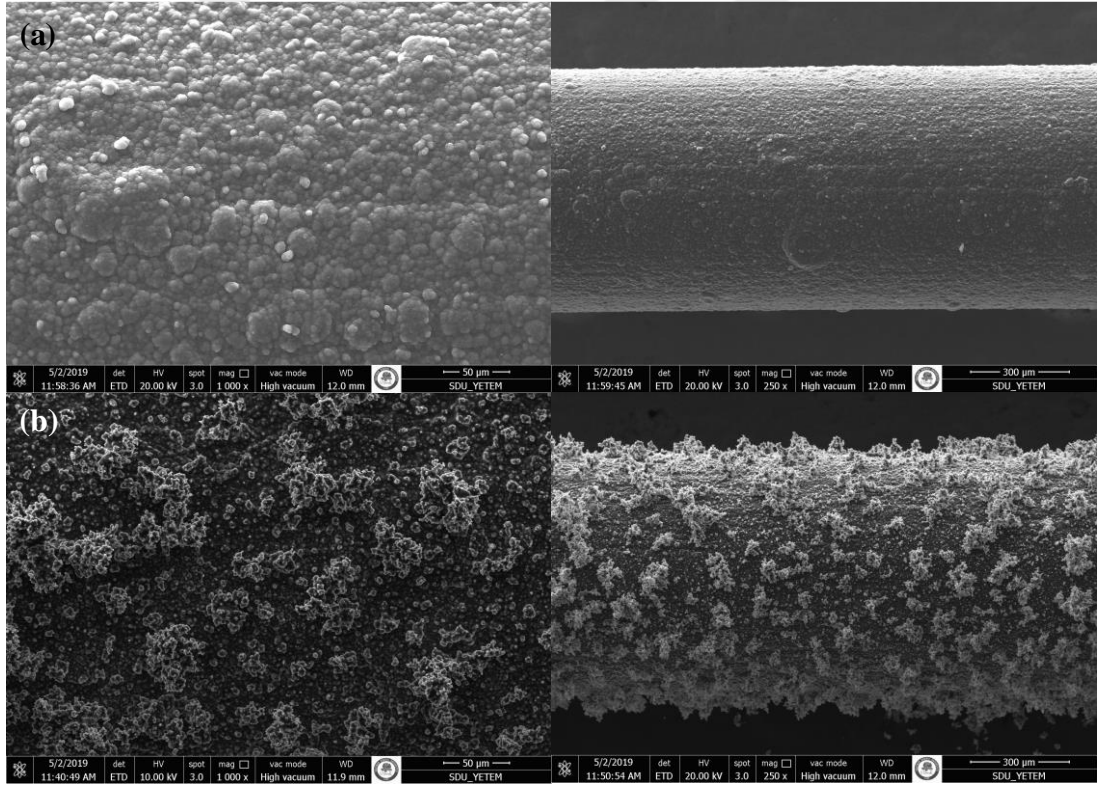
Demir (III) katyonunun girişim etkisi incelenirken sulu çözeltideki 0.5 ppm üre molekülünün voltamogramındaki pik akımları incelenmiştir. Sonra sırasıyla çözeltiliye 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5 ppm Fe^{3+} ilave edilip pik akımları incelenmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Üre tayinini için hazırlanan modifiye elektrot ile elde edilen elektrokimyasal cevaplar ve deneysel veriler bu bölümde tartışılmıştır.

4.1. Taramalı Elektron Mikroskop Analizi

Optimum koşullar altında hazırlanan PPy ve OME [homodinükleer iminoksim Cu(II) kompleks-PPy] elektrotların yüzey karakterizasyonunun belirlenmesi için SEM görüntülerinden yararlanılmıştır. Elektrotların SEM görüntüleri Şekil 4.1'de verilmiştir.



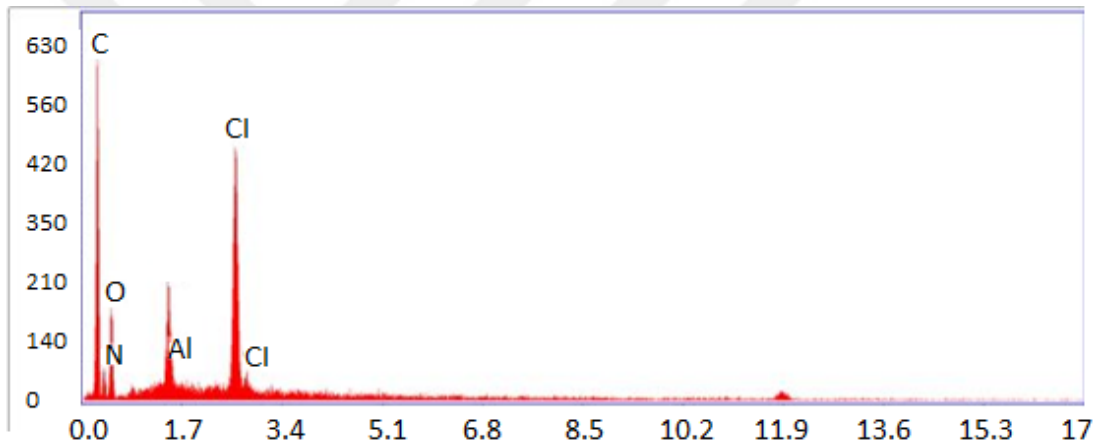
Şekil 4.1. SEM görüntüleri (a) PPy elektrot, (b) OME elektrot

Şekil 4.1.'de SEM görüntülerinde görüldüğü gibi her iki elektrodun SEM görüntülerinin farklı olması homodinükleer kompleks bileşiğinin polimerizasyon boyunca yapı içine girdiğini göstermektedir. Bu bağlamda, OME elektrodun yüzeyinde PPy elektrodun yüzeyine kıyasla daha fazla gözenekli yapılar

gözlemlenmiştir. Bu SEM görüntüleri ile modifikasyon işleminin tam anlamıyla gerçekleştiği söylenebilir.

4.1.1. SEM-EDS analizi

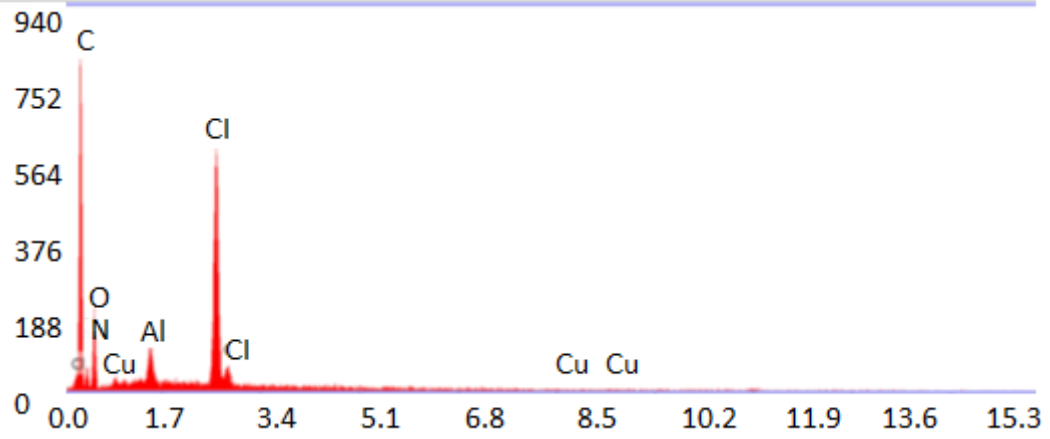
Şekil 4.2 ve 4.3’de PPy ve OME elektrotların SEM-EDS grafikleri verilmiştir. Ayrıca, Çizelge 4.1’de ve Çizelge 4.2’de bu elektrotların atom miktarları verilmiştir. Homodinükleer iminoksim Cu(II) kompleksin yapısında bulunan atomların elektrotta katıldığı görülmektedir. Bu duruma örnek olarak Şekil 4.3’te ve Çizelge 4.2’deki bakır elementinin kaynağı doğrudan homodinükleer iminoksim kompleksten geldiği söylenebilir.



Şekil 4.2. PPy elektrodun SEM-EDS grafiği

Çizelge 4.1. Orijinal PPy elektrodun atom miktarları

Element	% Ağırlık	% Atomik
C	52.01	59.29
N	19.34	18.91
O	22.27	19.07
Al	2.22	1.13
Cl	4.16	1.61



Şekil 4.3. OME elektrodun SEM-EDS grafiği

Çizelge 4.2. OME elektrodun atom miktarları

Element	% Ağırlık	% Atomik
C	57.32	66.25
N	15.70	15.47
O	16.62	14.33
Cu	0.42	0.09
Al	1.13	0.58
Cl	8.81	3.28

PPy elektrodun SEM-EDS grafiğinde karbon ve azot atomlarının pirolden kaynaklandığı, klor ve oksijen atomlarının ise elektropolimerizasyon aşamasında kullanılan TBAP molekülünden kaynaklandığı düşünülmektedir. Alimünyumun ise grafitten safsızlık sonucu geldiği düşünülmektedir.

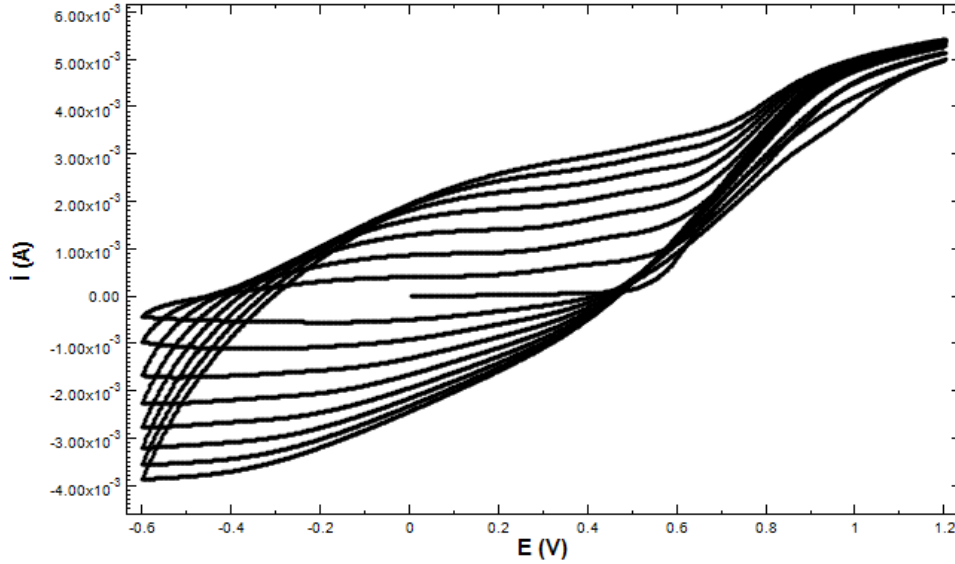
OME elektrodun SEM-EDS grafiğinde karbon ve azot atomlarının hem pirolden hem homodinükleer iminoksim Cu(II) kompleksten kaynaklandığı düşünülmektedir. Klor ve oksijen atomlarının ise elektropolimerizasyon aşamasında kullanılan TBAP molekülünden ve homodinükleer iminoksim Cu(II) kompleksten kaynaklandığı düşünülmektedir. Alimünyumun ise grafitten safsızlık olarak geldiği düşünülmektedir.

4.2. Elektrotların Hazırlanması

Kontrol elektrodumuz olan PPy elektrodun ve modifiye elektrodumuz olan OME elektrodun CV voltamogramları bu başlık altında incelenmiştir.

4.2.1. PPy elektrodun hazırlanması

Kontrol elektrodu olarak kullanılan polipirol elektrodun hazırlanışı 0.1 M pirol ve 0.1 M TBAP destek elektrolit içeren asetonitril çözücü ortamında gerçekleştirilmiştir. Döngü sayısı 8 ve tarama hızı 80 mV/s olacak şekilde -0.6 V katodik gerilim ile +1,2 V anodik gerilim taraması arasında CV yöntemi ile elektrotlar hazırlanmıştır.

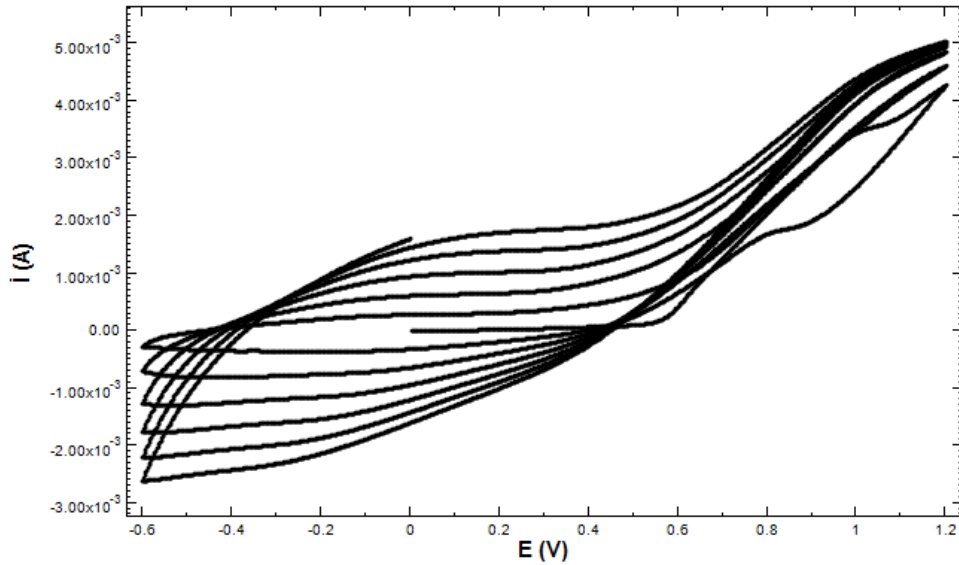


Şekil 4.4. Polipirol elektrodun CV voltomogramı

PPy elektrot 0.1 M pirol monomeri, ve 0.1 M TBAP destek elektroliti içeren ACN ortamında - 0.6 V ile + 1.2 V gerilim aralığında ve 80 mV/s tarama hızında 8 döngülü gerilim taraması uygulanarak hazırlanmıştır. Pirole ait olan yükseltgenme piki (0.989 V) giderek azalırken; polipirol filmine ait pik akımları filmin büyümesi ile giderek artmaktadır. Polimerizasyon işleminde polipirole ait yükseltgenme pikinin +0.235 V civarında, indirgenme piki ise - 0.186 V civarındadır. Bu işlem uygulandıktan sonra kurşun kalem yüzeyinde bir film tabakasının oluştuğu ve polipirole ait pik akımlarının giderek arttığı gözlenmiştir.

4.2.2. OME elektrodun hazırlanması

OME elektrot 0.1 M pirol monomeri, 4.74×10^{-4} M homodinükleer iminoksim Cu(II) kompleks ve 0.1 M TBAP destek elektroliti içeren ACN ortamında -0.6 V ile $+1.2$ V gerilim aralığında ve 60 mV/s tarama hızında 6 döngülü gerilim taraması uygulanarak hazırlanmıştır. Pirole ait yükseltgenme piki 0.989 V civarı giderek azalırken; polipirol filmine ait pik akımları filmin büyümesi ile giderek artmaktadır. Kompleks varlığında yapılan polimerizasyon işleminde polipirole ait yükseltgenme pikinin $+0.127$ V civarında görülmesi, yapıya kompleksin katıldığını ve bunun sonucu olarak yükseltgenme pikinin yaklaşık $0,108$ V kadar daha negatif (katodik) bölgeye kaydığını göstermektedir. Bu kayma elektropolimerizasyon çözeltisine ilave edilen ve pirolün yapısına giren ve homodinükleer imionkism Cu(II) kompleksten dolayı oluşmaktadır. Elde edilen polipirol filmine ait indirgenme piki ise $-0,173$ V civarında gözlenmiştir. Ayrıca, kaplanan filmin büyümesi ile polipirol filme ait pik akımları giderek artmaktadır.

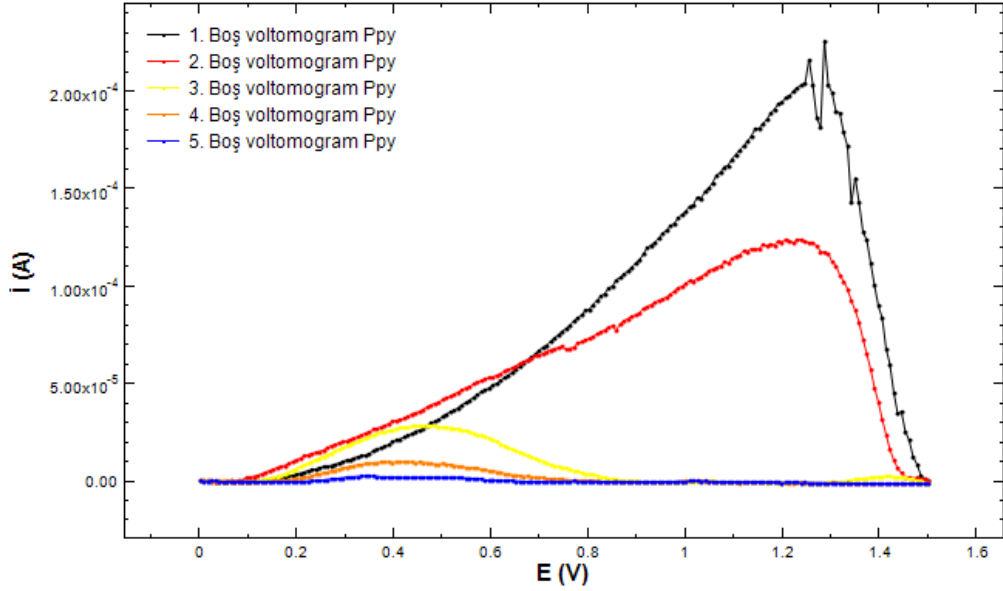


Şekil 4.5. OME elektrodun CV voltomogramı

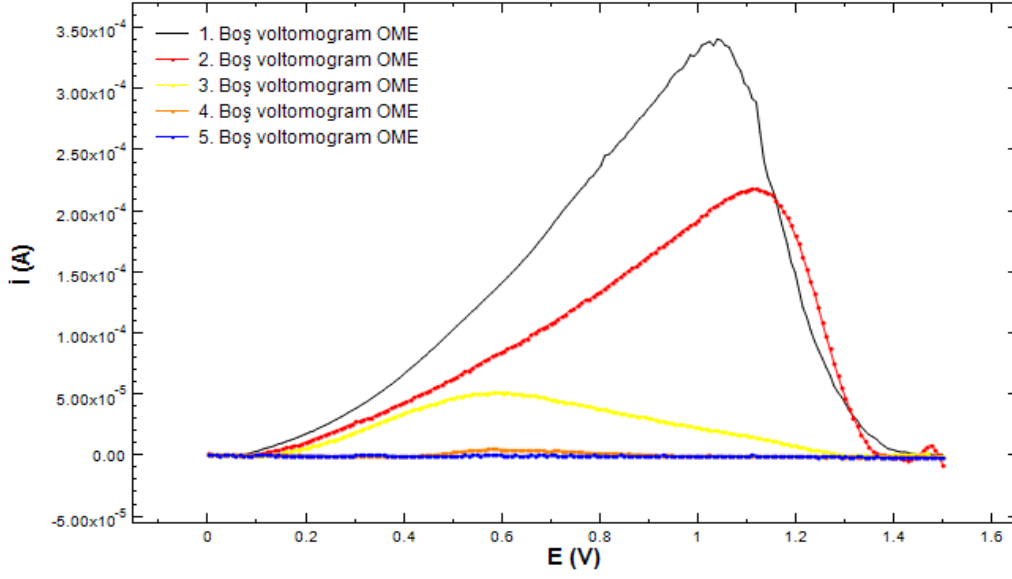
Pirole ait yükseltgenme piki giderek azalırken; polipirol filmine ait pik akımları filmin büyümesi ile giderek artmakta, hatta pirolün yanında homodinükleer iminoksim Cu(II) kompleksi olduğundan pik akımlarının genişlikleri daha da artmaktadır.

4.3. PPy ve OME Elektrotların Boş DP Voltomogramları

Analiz işlemine geçmeden önce pH=5 değerine ayarlanmış sulu çözelti ortamındaki Britton-Robinson tampon çözeltisine destek elektrolit olarak 0.1 M LiClO₄ ilave edilmiştir. Üre analizine geçmeden önce 0 V ve 1.0 V arasında 5 kez DPV ölçümü yapılmıştır. Boş ölçümler elektrotlardaki polipirolün elektroaktivitesini azaltmak amacıyla yapılmıştır. Böylece matrix ortamından gelebilecek bozucu etkilerde uzaklaştırılır. Aşağıdaki şekillerde her ölçümle beraber elektroaktivitenin düşüşü görülmektedir. Polipirol filmi için ard arda alınan 5 DPV voltomogramı Şekil 4.6 ve Şekil 4.7’de verilmiştir.



Şekil 4.6. Polipirol elektrot ile alınan 5 DP voltamogramı



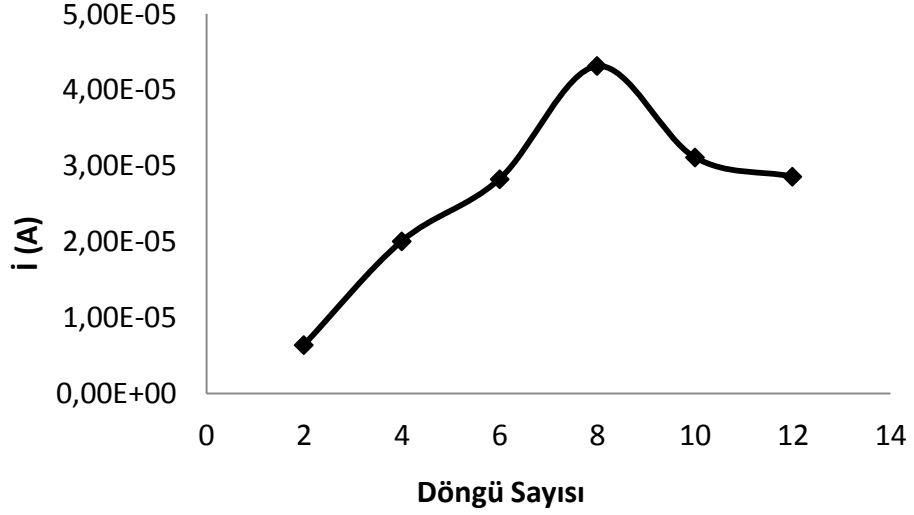
Şekil 4.7. OME elektrot ile alınan 5 DP voltomogramı

4.4. Elektrot Hazırlama Parametrelerinin Optimizasyonu

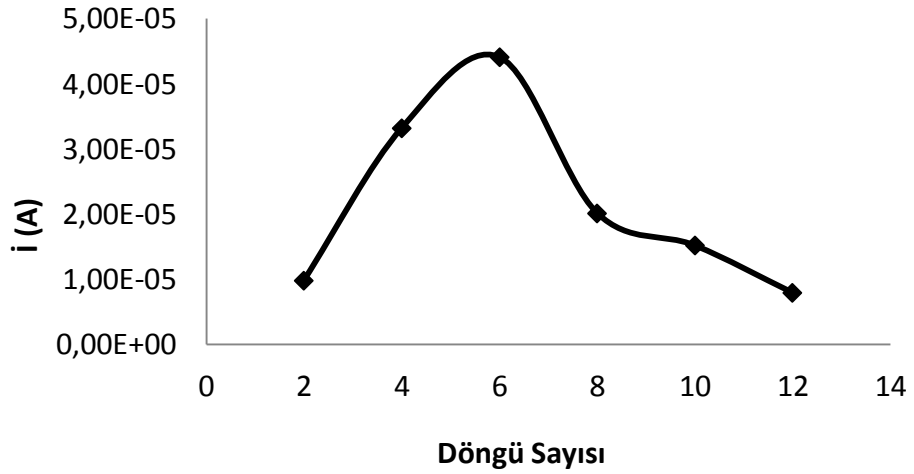
Sulu çözeltilerdeki üre tayinine yönelik yüksek duyarlılık ve hassasiyetle elektrokimyasal cevap alabilmek amacıyla elektrotların hazırlanmasında bazı parametreler optimize edilip uygun hazırlama koşulları belirlenmiştir.

4.4.1. Döngü sayılarının elektrotların pik akımlarına etkisi

Elektrotların optimum döngü sayısının belirlenmesi amacıyla 2, 4, 6, 8, 10 ve 12 döngü sayılarında pirolün dönüşümlü voltametri yöntemi kullanılarak elektropolimerizasyonu gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan elektrotların DPV yöntemi ile 10 ppm derişimdeki ürenin sulu çözeltisine karşı elde edilen akım değerleri ile döngü sayısı arasındaki ilişkiler Şekil 4.8 ve Şekil 4.9'da verilmiştir.



Şekil 4.8. PPy elektrot için döngü sayıları ile akım ilişkisi



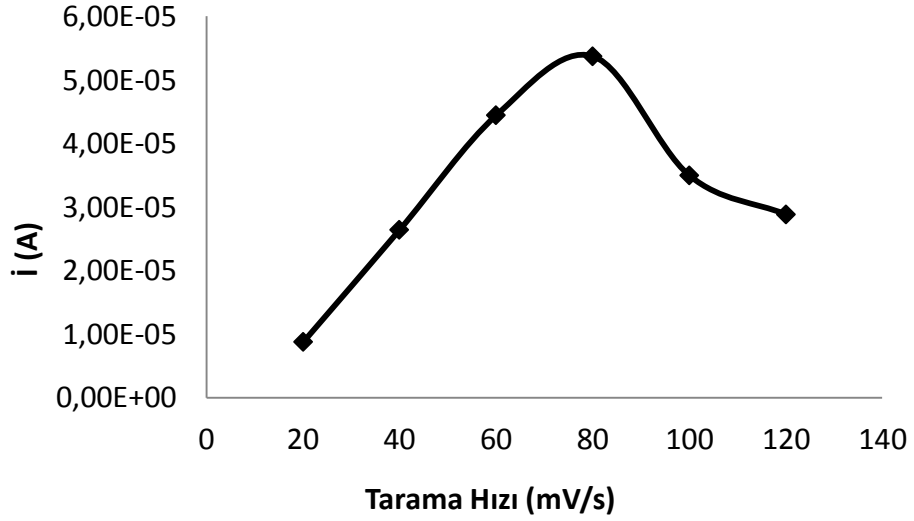
Şekil 4.9. OME elektrot için döngü sayıları ile akım ilişkisi

PPy elektrot ve OME elektrot için farklı döngü sayısında yapılan ölçümler sonucunda PPy elektrot için optimum döngü sayısının 8, OME elektrot için optimum döngü sayısının 6 olduğu bulunmuştur.

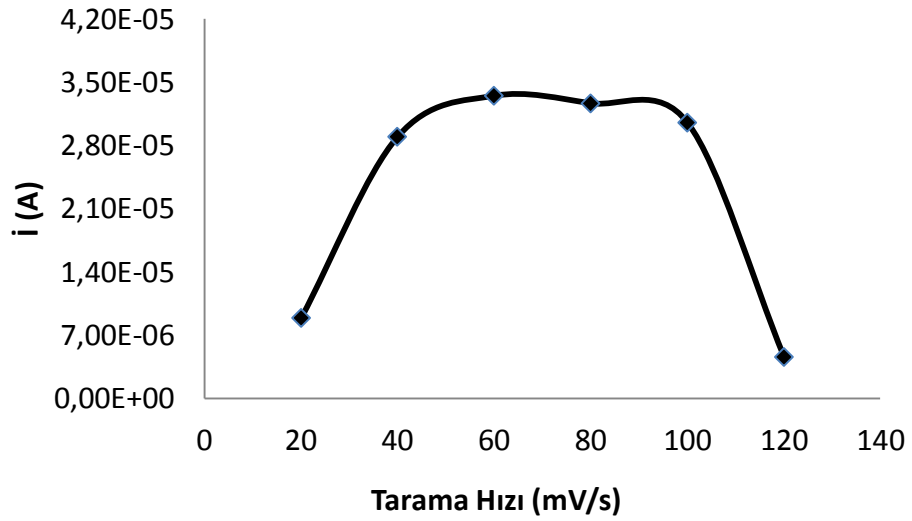
4.4.2. Tarama hızlarının elektrotların pik akımlarına etkisi

Tarama hızının optimizasyonu için PPy elektrot ve OME elektrot için dönüşümlü voltametri yöntemiyle 20 mV/s tarama hızından başlanarak 20 mV/s artış ile 120 mV/s tarama hızına kadar elektropolimerizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Çeşitli

tarama hızlarında hazırlanan elektrotlar sabit derişimdeki üre sulu çözeltilisine karşı DPV yöntemiyle alınan cevaplar grafiklere geçilmiştir. PPy elektrot için optimum tarama hızı 80mV/s (Şekil 4.10), OME için 60mV/s (Şekil 4.11) olarak bulunmuştur.



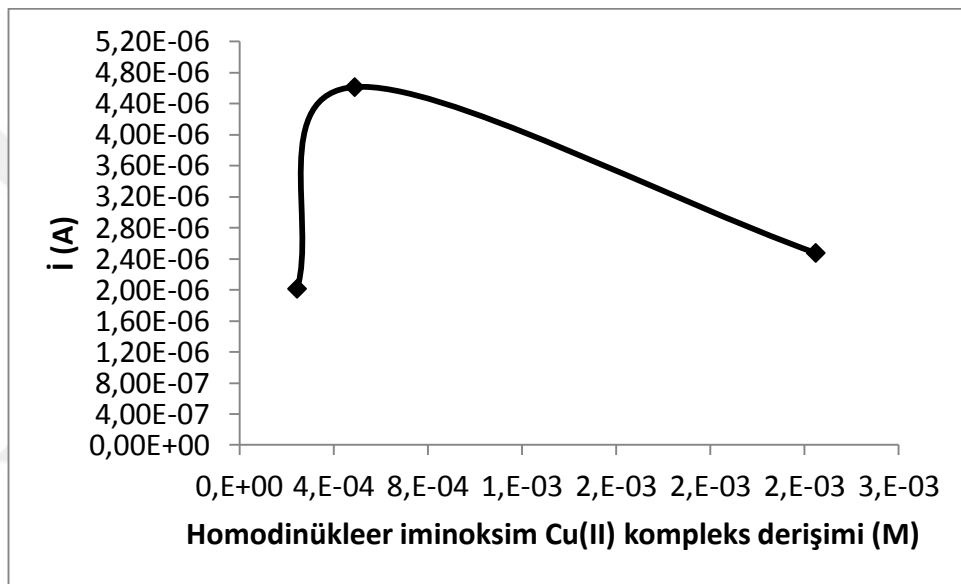
Şekil 4.10. Polipirol elektrot için optimum tarama hızı



Şekil 4.11. OME elektrot için optimum tarama hızı

4.4.3. Modifiyer madde derişiminin elektrot pik akımına etkisi

Susuz ortamda çözünen homodinökleer iminoksim Cu(II) kompleks derişiminin OME elektrodun üre cevabına etkisini belirlenmiştir. Bunun için kompleks farklı derişim miktarlarında 2.37×10^{-4} M, 4.74×10^{-4} M ve 2.37×10^{-3} M hazırlanmıştır, OME elektrot için maksimum akım değerleri incelenmiştir. 10 ppm üre içeren 0.1 M LiClO₄ çözeltisinde elde edilen akım değerleri Şekil 4.12' de verilmiştir. OME elektrot için optimum madde miktarı 4.74×10^{-4} M olarak bulunmuştur.



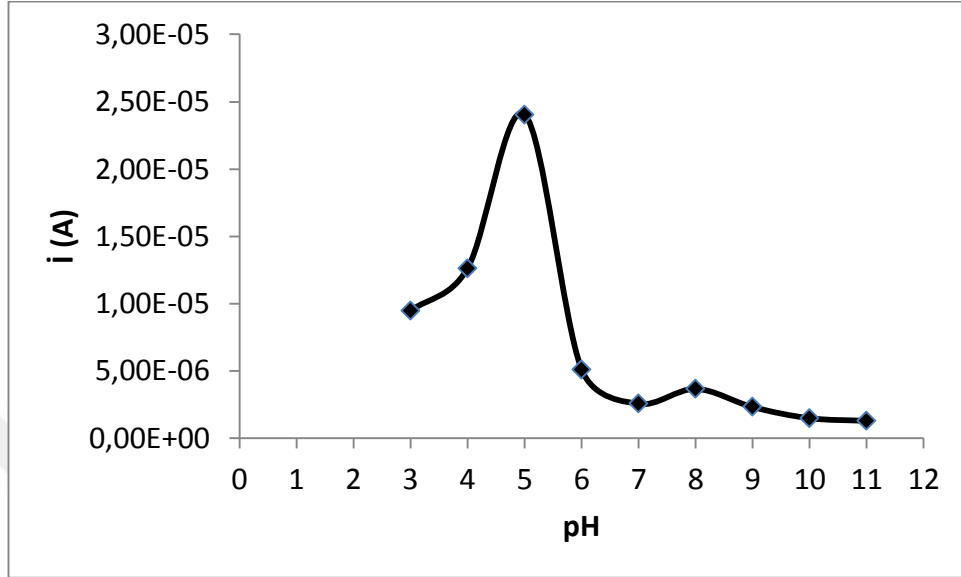
Şekil 4.12. Homodinökleer iminoksim kompleks derişiminin akıma etkisi

4.4.4. Optimum pH değerinin belirlenmesi

CV ve DPV yöntemleriyle PPy ve OME elektrotlar için optimum döngü sayısı, tarama hızı ve madde konsantrasyonu belirlendikten sonra optimum koşullarda elektrotlar hazırlanmıştır.

Asidik özellik gösteren sulu ortam çözeltisi BR tamponundan farklı pH değerlerinde (pH 3-11 aralığında) çözeltiler hazırlanmıştır. pH ayarı 0.1 M NaOH çözeltisiyle yapılmıştır. BR tamponu için çeşitli pH değerlerinde çözeltiler hazırlandıktan sonra hücrelere 0.1 M LiClO₄ destek elektrolit ve 10 ppm üre ilavesi yapılmıştır. DPV yöntemiyle analizler yapılmış ve elde edilen maksimum akım değerleri incelenmiştir.

OME elektrot için pH analizi sonucunda voltamogramlardan elde edilen akım değerleri grafiğe geçirilmiştir. OME elektrot için optimum çalışma pH değeri 5 olarak bulunmuştur (Şekil 4.13).



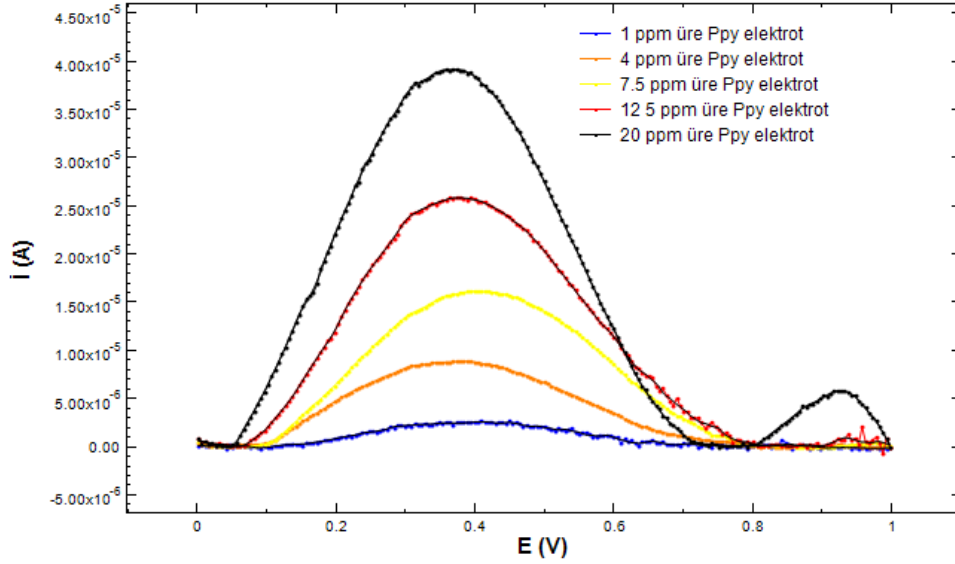
Şekil 4.13. OME elektrot için optimum pH değeri

Literatürde indirekt yöntemler ile geliştiren amonyum seçici elektrotlarla üre tayininde genellikle fosfat tamponu kullanılmıştır ve bu çalışmalarda bulunan optimum pH 7-8 civarındadır (Adejou vd.,1997; Atikoğlu vd., 2012; Hao vd., 2015). Jackar ve Pundirin geliştirmiş olduğu biyosensör asetat tamponu pH 5.5'te saklandığında 180 günlük bir süre boyunca günde maksimum 8-9 kez kullanılabilmiştir (Jackar ve Pundir, 2018). Mudilla ve arkadaşlarının da 2018'de kare dalga voltametriyle yaptıkları doğrudan üre tayinine yönelik çalışmada 0.1 M'lık potasyum fosfat tamponunda optimum pH değerini yaklaşık 5.8 olarak bulmuşlardır (Mudilla vd., 2018). Yukarıda verilen literatür verilerine göre bizim çalışmamızda bulduğumuz optimum pH verisi uyum içindedir.

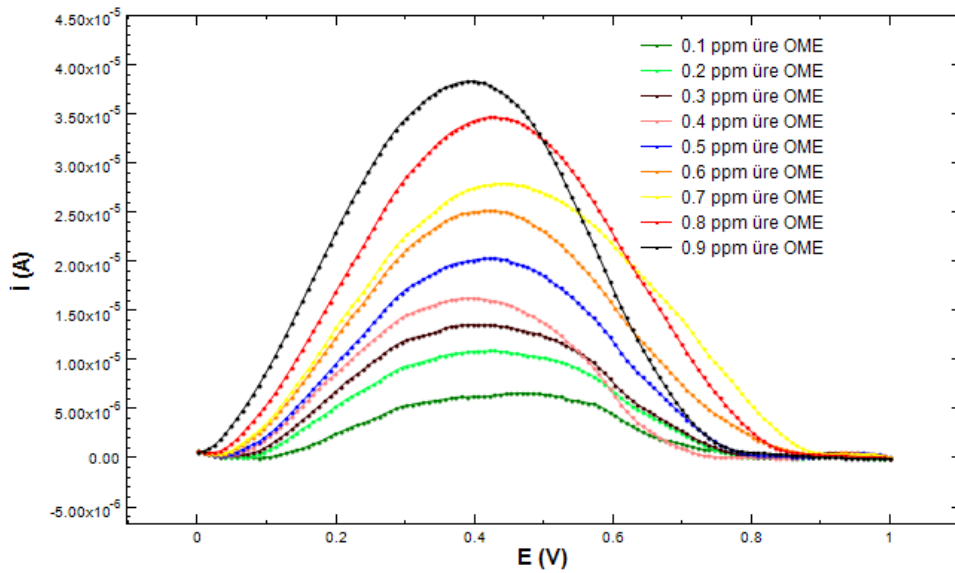
4.4.5. Üre Analizi

Optimum çalışma koşulları belirlenen PPy ve OME elektrotların üre derişimine seçiciliği Şekil 4.14 ve Şekil 4.15'teki voltomogramlarda karşılaştırılmalı olarak verilmiştir. Değişen üre derişimine karşı alınan DPV analizlerinden de görüldüğü gibi

üenin verdiği yükseltgenme piki 0.4 V civarındadır. Bu durum literatür ile uyum halindedir. SWV yöntemiyle üre tayininde üre derişimine cevap 0.4 V civarındadır (Manea vd. 2008). Amperometrik yöntemlerle yapılan amonyum seçici elektrotlarda ise cevap 0.45 V civarındadır (Dervisevic vd., 2017).



Şekil 4.14. PPy elektrot farklı üre derişimindeki voltomogramlar



Şekil 4.15. OME elektrodun üre derişimine duyarlılığı

PPy ve OME elektrotlar için üre molekülüne duyarlılığın farklı olduğu belirlenmiştir. PPy elektrot için 0.5 ppm ve altında üre molekülüne anlamlı cevap alınamamıştır.

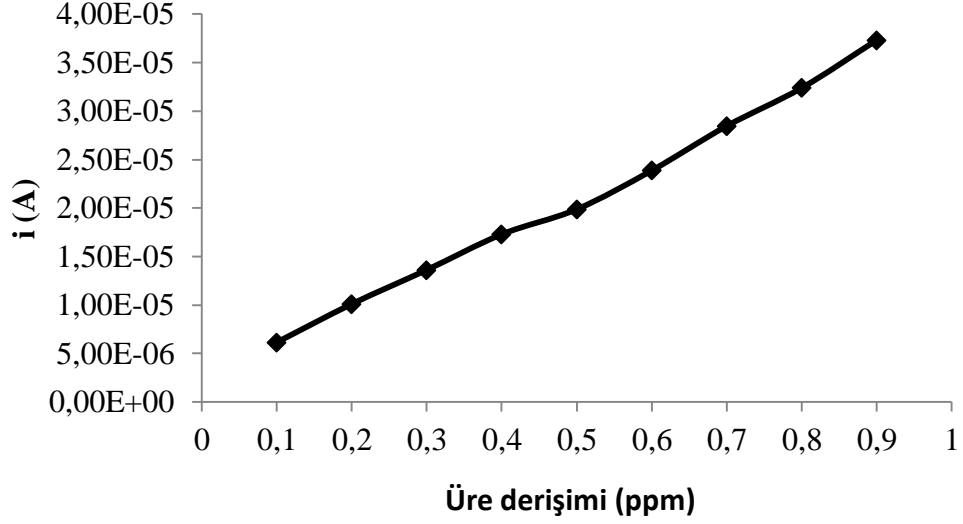
Ayrıca daha yüksek üre derişimlerinde alınan pik akımlarındaki artış rastgele şekilde olmakta ve bazı durumlarda üre derişimin de artış olmasına karşın pik akımlarında düşüş görülmektedir. OME elektrot ile yapılan ölçümlerde PPy elektrota göre daha düşük derişimlerde de anlamlı pik akımları alınmış ve sonuçlar tekrarladığında üre derişimine karşı artış aralığı düzenlidir. OME ve PPy elektrotlar için voltomogramlar karşılaştırıldığında OME elektrodun üre molekülüne daha seçici olduğu görülmektedir. OME elektrodun, PPy elektroda göre daha geniş bir çalışma aralığında üre tayinine cevap verdiği görülmüştür. Üre derişiminin artması ile birlikte DPV analizi ile elde edilen maksimum akım değerinin de arttığı görülmüştür.

4.4.6. Doğrusal çalışma aralığının belirlenmesi

Çalışmada kullanılan elektrotların analizler sonucu elde edilen optimum parametre değerleri Çizelge 4.3'te verilmiştir.

Çizelge 4.3. PPy ve OME elektrotların optimum çalışma şartları

Parametre	PPy elektrot	OME elektrot
Döngü sayısı	8	6
Tarama hızı(mV/s)	80	60
pH	5	5
Derişim (M)	0.1 M	4.74×10^{-4} M – 0.1 M



Şekil 4.16. OME elektrot ile 0.1-0.9 ppm üre derişim aralığında elde edilen kalibrasyon eğrisi

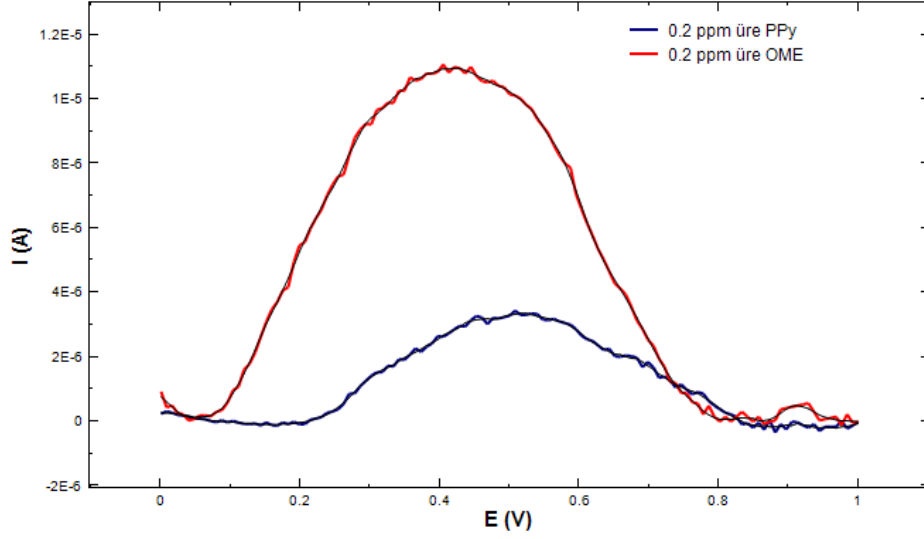
OME elektrot kalibrasyon grafiği ile ilgili bazı parametre değerleri Çizelge 4.4'te verilmiştir. Yapılan çalışmalarda tekrarlı değerler sonucunda OME elektrot için doğrusal çalışma aralığının 0.1 ppm ile 0.9 ppm (1.67 μ M ile 15 μ M) aralığında olduğu bulunmuştur. Tayin limiti ve kantitatif tayin limiti değerleride sırasıyla 0.0425 ppm (0.71 μ M) ve 0.142 ppm (2.36 μ M)'dir. LOD ve LOQ değerleri sırası ile 3 s/m, 10 s/m denklemlerine göre hesaplanmıştır. Korelasyon katsayısı (R^2) 0.9978 olarak elde edilmiştir.

Çizelge 4.4. OME elektrot kalibrasyon grafiği ile ilgili bazı parametre değerleri

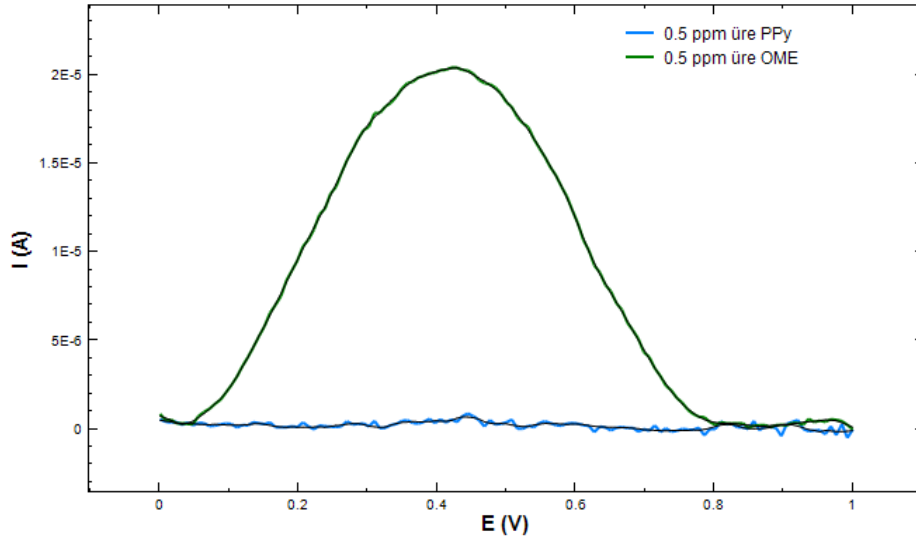
Lineer çalışma aralığı (ppm)	0.1-0.9
Eğim	$3.797 \cdot 10^{-5}$
Kesim	$2.048 \cdot 10^{-6}$
Korelasyon katsayısı (R^2)	0.9978
LOD (ppm)	0.0425
LOQ (ppm)	0.142

4.4.7. Aynı üre derişiminde OME ve PPy elektrotların karşılaştırılması

OME ve PPy elektrotların 0.2 ppm üre derişimine DPV yöntemiyle verdikleri elektrokimyasal cevaplar Şekil 4.17 ve Şekil 4.18'de karşılaştırılmıştır.



Şekil 4.17. OME ve PPy elektrotların 0.2 ppm üreye verdikleri DP voltomogramı



Şekil 4.18. OME ve PPy elektrotların 0.5 ppm üreye verdikleri DP voltomogramı

PPy elektrot için 0.2 ppm üre derişimi için yüksek bir pik akımı elde edilirken 0.5 ppm üre derişiminde daha düşük bir pik akımı elde edilmektedir. PPy elektrodun bu derişimlerde verdiği cevabın rastgele olduğu görülmektedir. OME elektrot da üre derişimi ile doğrusal olarak artan pik akımları görülmektedir.

4.4.8. İdrar numunesinde üre tayini ve geri kazanımın belirlenmesi

Tez kapsamında hazırlanan elektrotlar kullanılarak idrar numunesinde ürenin tayini yapılmıştır. Bu analizler için standart katma yöntemi kullanılmıştır. İdrar numunesine doğrusal çalışma aralığına giren derişimlerde üre ilave edilerek geri kazanım değerleri hesaplanmıştır. İdrar numunesine ilave edilen ve voltametrik olarak tayin edilen üre miktarları ve geri kazanım değerleri Çizelge 4.5'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.5. İdrar numunesinde üre tayini ve geri kazanım sonuçları

	İdrar Numunesi	
Eklene Üre (ppm)	0.200	0.500
Tayin edilen Üre (ppm)	0.186	0.495
R.S.D. % (n=3)	0.537	0.617
Geri kazanım (%)	93.0	99.0

İdrar numunesinden, ürenin tayin ve geri kazanım analiz sonuçları Çizelge 4.5.'te verilmiştir. Çizelgede de görüldüğü gibi OME elektrot ile üre tayini için elde edilen geri kazanım değerleri tatmin edici düzeydedir. Sonuçlar, önerilen elektrodun ve yöntemin gerçek numunelerde yüksek hassasiyetle ürenin tayini için kullanılabilir olduğunu göstermektedir.

4.4.9. Girişim etkisi

Üre tayini sırasında çeşitli iyonların girişim etkileri değerlendirilmiştir. Girişim etkisi belirlenirken optimum şartlarda OME elektrot hazırlanmıştır. DPV tekniği ile 0.5 ppm sulu üre çözeltisindeki voltomogramlar ve çözeltiliye eklenen değişen derişimlerde (0.25 ppm-1.5 ppm aralığında) Na⁺, K⁺, NH₄⁺, Ca²⁺, Fe³⁺ katyonlarının voltomogramları incelenmiştir. Amonyum seçici elektrotlarda üreaz varlığında ürenin parçalanması sonucu elde edilen NH₄⁺ analizi üzerinden analiz yapılırken doğrudan yöntemle yapılan bu çalışmada amonyum katyonunda girişim etkisi incelenmiştir. Kullanılan katyonlar moleküler yapıdaki maddelere karşın çok daha

küçüktür ve sterik engelleme ile karşılaşmadan elektrot yüzeyine ulaşabileceği bunun sonucunda bozucu etki yapabileceği düşünülür. Katyonların OME elektrotta verdiği elektrokimyasal girişim etkileri Çizelge 4.6.'da verilmiştir.

Çizelge 4.6. OME elektrot için 0.5 ppm üre varlığında bazı girişim yapan türlerin etkisi

Girişim Yapan Türler	Derişim (ppm)	Akım Cevabındaki Değişim (μA)
NH_4^+	0.25	0.24
	0.5	0.57
	0.75	0.67
	1	1.08
	1.5	1.86
Fe^{3+}	0.25	-0.87
	0.5	0.55
	0.75	-1.93
	1	-2.2
	1.5	-2.22
K^+	0.25	-0.81
	0.5	-1.68
	0.75	-2.3
	1	-2.46
	1.5	-2.1
Na^+	0.25	0.28
	0.5	0.61
	0.75	0.99
	1	1.38
	1.5	1.62
Ca^{2+}	0.25	0.07
	0.5	0.12
	0.75	0.5
	1	4.69
	1.5	6.38

Üre tayini sırasında çeşitli iyonların girişim etkileri de değerlendirilmiştir. Optimum şartlarda hazırlanan OME elektrot ile 0.5 ppm üre bulunduran pH=5 BR tampon

çözeltide değişen derişimlerde (0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5 ppm) NH_4^+ , Fe^{3+} , K^+ , Na^+ ve Ca^{2+} iyonları eklenmiştir. Girişim etkisi incelenen iyonlar varlığında ürenin verdiği elektrokimyasal cevaplar araştırılmıştır. Çizelge 4.6'da OME elektrot ile üre tayinindeki girişim etkisinin deney sonuçları verilmiştir. Diğer iyonların derişimi 0-1.5 ppm aralığında arttırılmış ve alınan sinyaller eşit koşullarda DPV tekniği ile araştırılmıştır. İyonlarının derişimleri, üre derişimi ile eşit olduğunda hatta 3 katı olduğunda bile üre tayininde önemli bir etkiye sahip olmadıkları saptanmıştır. Girişim etkisi sonuçlarına göre; geliştirilen sensörün, girişim yapabilecek elektroaktif türlerin varlığında üreye karşı yüksek seçicilik ve hassasiyet gösterdiği sonucuna varılmıştır.

Das ve Sarkar, geliştirdikleri biyosensör için Na^+ ve K^+ katyonları için girişim etkisini incelemişlerdir. Na^+ ve K^+ 'dan gelen girişimin sırasıyla % 1.65 ve % 2.48 olarak bulmuşlardır (Das ve Sarkar, 2016). Bu sonuç çalışmamızda geliştirilen OME elektrot ile elde edilen sonuçlar ile uyumludur.

5. SONUÇ

Jaroslav Heyrovský tarafından 1922 yılında polarografik yöntemlerin keşfedilmesi ile birlikte ilk voltametrik yöntemlerle çalışmalar da başlamıştır. Metal tayinlerinde yüksek doğrulukla sonuçların alındığı polarografik yöntemlerin dezavantajları; yavaş, kullanımı zor ve tayin sınırının düşük olmasıydı ve zamanla çok daha kullanışlı spektroskopik yöntemlerin gelişmesi sonucu önemini kaybetmiştir. Son zamanlarda puls tekniklerindeki gelişmeler doğrultusunda voltametrik yöntemler de yeniden önem kazanmıştır. Özellikle Diferansiyel puls yöntemleriyle eser miktarlardaki analit tayinleri hızlı bir şekilde gerçekleştirilebilmektedir. Son yıllarda birçok organik ve anorganik maddelerin tayini için elektrokimyasal sensör ve biyosensör çalışmaları hız kazanmıştır.

İnsan metabolizmasında karaciğer ve böbreklerin sağlıklı çalışıp çalışmadığını kontrol etmek için üre tayini sıklıkla yapılmaktadır. Özellikle kan ve idrar konsantrasyon seviyesindeki düşüklük veya yükseklik çeşitli hastalıkların göstergesidir. Üre tayini hastanelerde kan üre azotunu (BUN) belirlemek için kullanılırken, endüstride de üre tayininin önemi fazladır. Literatürde üre tayini için sabit potansiyele karşı akımın ölçüldüğü sensör ve biyosensör geliştirme üzerine yapılan birçok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmaların çoğunda genellikle amonyum seçici elektrotlar kullanılarak dolaylı yoldan üre tayini gerçekleştirilmektedir. Bu tez çalışması sonucu geliştirilen OME elektrotla doğrudan üre molekülüne duyarlı sensör geliştirilmiştir. Maliyeti ucuz, kolay kullanılan ve doğru sonuç veren tekniklerin çoğalması standart laboratuvar uygulamalarında yapılan çalışmalara büyük kolaylıklar sağlayacağı kesindir.

Bu tez çalışmasında laboratuvar ortamında sentezlenen homodinükleer iminoksim Cu(II) kompleksi kullanılmıştır. Bu kompleks pirolün polimerizasyonuna katılmış ve üre seçici kalem grafit modifiye elektrot hazırlanmıştır. Aynı zamanda yalın polipirol elektrotlarda hazırlanarak üre tayinindeki seçicilik karşılaştırması yapılmıştır. Modifiye edilerek hazırlanan OME elektrotla sulu ortamda ve idrar çözeltisinde analizler yapılmış ve üre seçici modifiye elektrot geliştirilmiştir.

Tez çalışmasının ilk değerlendirme aşamasında elektrotların SEM görüntüleri gösterilmiş ve yüzey karakterizasyonları incelenmiştir (Şekil 4.1). SEM görüntüleri karşılaştırıldığında OME elektrodun yüzey görüntülerinin PPy elektrodun yüzeyine göre daha gözenekli bir yapıya sahip olduğu ve farklılaşması görülmektedir. İlk kez modifiyer olarak kullanılan homodinükleer iminoksim Cu(II) kompleks bileşiğinin SEM görüntülerindeki farklılığın yapılarında bulunan farklı substitue gruplardan olduğu SEM-EDS analizinde de belirlenmiştir. Bu SEM görüntüleri ve SEM-EDS sonucu modifikasyon işleminin tam anlamıyla gerçekleştiğini göstermiştir. Bu çalışma sonucunda elde edilen üre seçici modifiye elektrotlar özellikle klinik laboratuvarlarda analiz yapma imkânı sağlayacağı için çalışmayı daha önemli bir hale getirmektedir.

Çalışmanın önemini göstermesi amacıyla aşağıdaki Çizelge 5.1’de literatürdeki üre sensör ve biyosensörlerin karşılaştırılması yapılmıştır.

Çizelge 5.1. Bazı üre sensör ve biyosensörlerin karşılaştırılması

Elektrot Matriksi	Yöntem	Doğrusal aralık	LOD	Üre tayini yöntemi	Referans
Grafit-Di nükleer iminoksim kompleks-polipirol	Voltametrik DPV	1.67 μ M ile 15 μ M arasında	0.71 μ M	Direkt üre tayini	Bu çalışma
Grafit-Ag-modifiye zeolit-epoksi kompozit	Voltametrik SWV	0.2 mM ile 1.4 mM arasında	0.05 mM	Direkt üre tayini	Manea vd., 2008
Altın bazlı poli(propilen-ko-imidazol)	Amperometrik	0.1 mM ile 30 mM arasında	36 μ M	İndirekt amonyum seçici elektrot	Korkut vd., 2018
Urs/MWCNTs/S iO ₂ /ITO ⁻	Potansiyometrik	2.18 $\times 10^{-5}$ M ile 1.07 $\times 10^{-3}$ M arasında	-	İndirekt Nessler reaktifiyle spektroskopik amonyum tayini	Ahuja vd., 2010

(MWCNT)- modifiye ITO	Amperometrik	0,05 mM ile 20 mM arasında	50 μ M	İndirekt amonyum seçici elektrot	Hao vd., 2015
bakır-polianilin nano-kompozit	Amperometrik	1 mM ile 125 mM arasında	0.5 mM	İndirekt amonyum seçici elektrot	Zhybak vd., 2015
Au elektrotta ürez enziminin poliamidoamin aşılınmış (MWCNT- PAMAM) dendrimerleri	Amperometrik	1 mM ile 20 mM arasında	0.4 mM	İndirekt amonyum seçici elektrot	Dervisevi c vd., 2017
Polipirol-grafen oksitin	Voltametrik SWV	0.5 μ M ile 3.0 μ M arasında	0.27 μ M	Direkt üre tayini	Mudilla vd., 2017
Üreazın nanopartikülleri	Potansiyometrik	2 μ M ile 80 μ M arasında	1 μ M	İndirekt amonyum seçici elektrot	Jackar ve Pundir, 2018
Polipirol-ürez	Amperometrik	100 μ g /L ile 4500 μ g /L	60 μ g / L	ICI HPLC pompasında Akış enjeksiyon analizi	Adeloju vd., 1996
İletken polimer hidrojel membran (CPHM)	Voltametrik DPV	1.5 μ M ile 1000 μ M arasında	60 nM	İndirekt amonyum seçici elektrot	Das ve Sarkar, 2016

Literatürde oldukça fazla sayıda üre tayini amacıyla elektrokimyasal çalışmalar bulunmaktadır. Her bir çalışmanın ayrı ayrı avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Bu tez çalışması kapsamında yapılan işlemler sonucunda oldukça kolay, ucuz maliyetli ve doğrudan üre tayini yapılabilecek sensör geliştirilmiştir. En büyük avantajı yöntemin direkt üre tayini yapabilmesi ve kolaylığıdır. Çizelge 4.7.'de bazı sensör ve biyosensörlerin doğrusal aralıkları ve tayin sınırı incelendiğinde, OME elektrot çoğu elektrottan düşük üre konsantrasyonlarını tayin edebilmekte ve geniş bir doğrusal çalışma aralığında çalışmaktadır. Mikromolar (μ M) seviyede çalışma aralığının olması kan ve üre konsantrasyon aralığındaki analizlere olanak sağlamaktadır. Manea ve arkadaşlarının 2018 yılında kare dalga voltametriyle yaptığı çalışmada doğrusal aralık ve tayin limiti milimolar (mM) seviyesinde olduğu

görülmektedir. Aynı şekilde literatürdeki çoğu çalışmanın tayin limiti milimolar (mM) civarındadır. Mudilla ve arkadaşlarının 2017'deki kare dalga voltametri çalışmasında doğrudan mikromolar seviyede üre tayini yapmışlardır. Ancak doğrusal çalışma aralığı nisbeten dardır. Adeloju ve arkadaşlarının 1996 yılındaki amperometrik çalışmasında ve Das ve Sarkarın 2016 yılındaki voltametik çalışmalarında mikromolar seviyede üre tayini yapılmıştır. Bu yöntemlerin dezavantajları ise amonyum seçici elektrot kullanmaları ve çalışmalarında başka yöntemleride kullanmalarıdır.

Geliştirilen elektrodun kullanımının pratik olması, tayin limitinin düşük ve kalibrasyon aralığının geniş olması, ölçüm süresinin kısa sürmesi ve daha az ön işlem gerektirdiğinden dolayı ekonomik olması ve seri üretime yatkın olması gibi avantajları mevcuttur. OME elektrodun dezavantajı ise homodinükleer iminoksim Cu(II) kompleksinin asetonitril ortamında ve elektrot üzerinde kararsız olmasıdır. Homodinükleer iminoksim kompleksinin kararlı olacak bir şekilde elektrot modifikasyonunun gerçekleştirilmesi ile üre sensörü ticari olarak üretilebilir ve piyasada kullanılabilir. Kararlı modifiye elektrotların geliştirilmesi durumunda eğitimli personele fazla ihtiyaç duyulmadan hızlı ve kolay bir şekilde analiz gerçekleştirilebilir. Böyle bir sensörün geliştirilmesi ile en çok fayda görecektir kesim, şüphesiz böbrek ve karaciğer hastalarıdır. Kan ve idrar üre seviyelerinin kolay bir şekilde (şeker hastalarının kan şekeri seviyesini ölçebilmesi gibi) ölçülebilmeleri sağlanabilir. Ayrıca voltametik yöntemlerle üre tayini konusunda literatüre de katkı vereceği düşünülmektedir. Bu tez çalışması sonucu geliştirilen üre duyarlı elektrot, diferansiyel puls voltametri yöntemi kullanılarak üre molekülünün farklı çözelti ortamlarında güvenilir tayinine de olanak sağlamıştır.

KAYNAKLAR

- Adeloju, S.B., Shaw, S.J., Wallace, G.G., 1996. Pulsed-Amperometric Detection of Urea in Blood Samples on a Conducting Polypyrrole-Urease Biosensor. *Analytica Chimica Acta*, 341, 155
- Ahuja, T., Kumar, D., Singh, N., Biradar, A.M., Rajesh, 2011. Potentiometric Urea Biosensor Based on Multi-Walled Carbon Nanotubes (Mwcnts)/Silica Composite Material. *Materials Science and Engineering, C* 31, 90–94.
- Atikoğlu, M., Karakuş, E., Erci, V., Pekyardımcı, Ş., Işıldak, İ., 2013. Novel Creatine Biosensors Based on All Solidstate Contact Ammonium-Selective Membrane Electrodes. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology an International Journal*, 41:2, 132-135.
- Ayrancı, R., 2013. Organik- İnorganik Hibrit İletken Polimerlerin Sentezi, Elektrokromik ve Biyosensör Uygulamaları. Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 11s, Denizli
- Bulut, Y., 2011. Biyosensörlerin Tanımı ve Biyosensörlere Genel Bakış. 6th International Advanced Technologies Symposium (IATS'11), 16-18 Mayıs, Elazığ, 8.
- Büyükkaya, F., 2011. Ferrosenli Fosfazen Bileşiklerinin Elektrokimyasal Davranışları. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 106s, Ankara.
- Coşkun, K., 2009. Kimyasal ve Elektrokimyasal Yöntemlerle İletken Polimerlerin Sentezi ve Membran Uygulamaları. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 22-23s, Isparta
- Çekirdek, P., 2005. Voltametik Metotlarla Ditiyofosfonat Anyonlarının Elektrokimyasal Davranışlarının İncelenmesi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 7s, Ankara
- Das, J., Sarkar, P., 2016. Enzymatic Electrochemical Biosensor For Urea with Polyaniline Grafted Conducting Hydrogel Composite Modified Electrode. *RSC Advances*, 95, 2-19.
- Dede, B., Karıpcin F., 2008. Bazı Yeni Dinükleer Bakır(II) Schiff Bazı Komplekslerinin Sentezi ve Karakterizasyonu. *Sdü Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi*, 3, 44.
- Dede, B., 2007. Çok Dişli Dioksimler Ve Bunların Bazı Komplekslerinin Sentezi Ve Karakterizasyonu. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 83, Isparta

- Dervisevic, M., Dervisevic, E., Senel, M., 2017. Design of Amperometric Urea Biosensor Based On Self-Assembled monolayer of Cystamine/PAMAM-Grafted MWCNT/Urease. *Sensors and Actuators, B* 254, 93–101.
- Dindar, B., 2010. Üre Tayinine Yönelik Biyosensör Geliştirilmesi ve Karakterizasyonu. Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi , 3s , İstanbul.
- Durst, R.A., Baumner, A.J., Murray, R.W., Buck, R.P., Andrieux, C.P., 1997. Chemically Modified Electrodes Recommended Terminology And Definitions. *Pure Applied Chemistry*, 69, 1317-1319.
- Erdik, E., Sarıkaya, Y., 2009. Temel Üniversite Kimyası. Gazi Kitabevi, 643s, Ankara
- Gürsoy, S.Ş., Gürsoy O., 2017. Pestisit Analizlerinde Asetilkolinesteraz İnhibisyonuna Dayalı İletken Polimer Esaslı Biyosensörler. *Akademik Gıda*, 15, 432.
- Gvozdrenović, M.M., Jugović, B.Z., Stevanović, J.S., Grgur, B.N., 2014. Electrochemical Synthesis of Electroconducting Polymers. *Hemijaska Industrija*, 68, 678-680.
- Hao, W., Das, G., Yoon, H.H., 2015. Fabrication of an Amperometric Urea Biosensor Using Urease and Metal Catalysts Immobilized by a Polyion Complex. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 747, 143-148.
- Hart, H., Craine, L., Hart, D., Hadad, C., 2011. Organik Kimya. Çev. Uyar, T., İnam, R. Palme Yayıncılık, 269s, Ankara.
- Jackar, S., Pundir, C.S., 2018. Preparation, Characterization and Application of Urease Nanoparticles for Construction of an Improved Potentiometric Urea Biosensor. *Biosensors And Bioelectronics*, 100, 242–250.
- Kankare, J., 1998. Conducting Polymers: Basic Methods of Synthesis and Characterization, in: *Electrical and Optical Polymer Systems: Fundamentals, Methods and Applications*. CRC Press, 167–199, New York.
- Karakurt, A., Dalkara, S., 1999. Oksim ve Oksim Eterler : I. Sentezleri ve Farmakolojik Özellikleri. *FABADJ. Pharm. Sci*, 24, 153.
- Korkut, S., Uzuncar, S., Kilic, M.S., Hazer, B., 2018. Electrochemical Determination of Urea Using a Gold Nanoparticle-Copolymer Coated-Enzyme Modified Gold Electrode. *Instrumentation Science & Technology*, 47:1, 1.
- Kurzer, F., Senderson, P.M., 1956. Urea in the History of Organic Chemistry: Isolation from Natural Sources. *Journal Of Chemical Education*, 33, 452–459.
- Lubert, K.H., Kalcher K., 2010. History of Electroanalytical Methods. *Electroanalysis*, 22, 1937.

- Manea, F., Pop, A., Radovan, C., Malchev, P., Bebeselea, A., Burtica, G., Picken, S., Schoonman, J., 2008. Voltammetric Detection of Urea on an Ag-Modified Zeolite Expanded Graphite-Epoxy Composite Electrode. *Sensors*, 8, 5806-5813.
- Mudilla, H., Prasher, P., Rana, S., Khati, B., Zaidi, M.G.H., 2018. Electrochemical Oxidation-Reduction and Determination of Urea at Enzyme Free PPY-GO Electrode. *Carbon Letters*, 26, 88-94.
- Nichelsen, K., Graßhoff, G., Concepts From The Bench: Hans Krebs, Kurt Henseleit and the Urea Cycle. *Going Amiss in Experimental Research*, 267, 92.
- Pundir, C.S., Jackar, S., Narwal, N., 2018. Determination of Urea with Special Emphasis on Biosensors: A Review. *Biosensors and Bioelectronics*, 123, 36–50.
- Ronkainen, N. J., Halsall, H.B., Heineman W.R., 2008. Electrochemical Biosensors. *Chemical Society Reviews*, 39, 1747-1748.
- Saçak, M., 2015. *Polimer Kimyası*. Gazi Kitapevi, 438s, Ankara.
- Shirakawa, H., Edwin, J.L., Macdiarmid, A.G., Chiang, C.K., Heeger, A.J., 1977. Synthesis of Electrically Conducting Organic Polymers : Halogen Derivatives of Polyacetylene, (CH)_x. *Journal of the Chemical Society*, 16, 578.
- Simões, F.R., Xavier, M.G. 2017. *Electrochemical Sensors*, 155-156p, São Paulo.
- Skoog, D.A., West, M.D., Holler, F.J., 2004. Crouch R.S., *Analitik Kimya Temel İlkeler*. Çev. Kılıç, E., Çev. Yılmaz, H., Bilim Yayın Evi, 588s-589s, Ankara.
- Skoog, D. A., Holler, F. J., Nieman, T. A., 2007. *Enstrümantal Analiz İlkeleri*. Çev. Kılıç, E., Çev. Köseoğlu, F., Çev. Yılmaz, H., Bilim Yayın Evi, 639s-640s, Ankara.
- Taylor, A.J., Vadgama, P., 1992. Analytical Reviews in Clinical Biochemistry: The estimation of Urea. *Annals of Clinical Biochemistry*, 29, 245–264.
- Trojanowicz, M., Lewenstam, A., Krawczyk, T.K.V., Lahdesmaki, I., Szczepek, W., 1995. Flow Injection Amperometric Detection of Ammonia Using a Polypyrrole-Modified Electrode and Its Application in Urea and Creatinine Biosensors. *Electroanalysis*, 8, 233.
- Vernitskaya, T., Efimov, T., 1997. Polypyrrole: A Conducting Polymer; Its Synthesis, Properties and Applications, *Russ. Chem. Rev*, 66, 443–457.
- Yaldız, Ç., 2019. Modifiye Ditiyofosfat Elektrotlar İle Nikel(II) İyonunun Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 18s, Isparta.

Zhybak, M., Beni, V., Vagin, M.Y., Dempsey, E., Turner, A.P.F., Korpan, Y., 2016. Creatinine and Urea Biosensors Based on a Novel Ammonium Ion-Selective Copper-Polyaniline Nano-Composite. *Biosensors and Bioelectronics*, 77, 505–511.

