

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Derya AKIN

**KLORAMFENİKOL'ÜN TAYİNİ İÇİN ELEKTROKİMYASAL
SENSÖR GELİŞTİRİLMESİ**

KİMYA ANABİLİM DALI

ADANA-2017

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KLORAMFENİKOL'ÜN TAYİNİ İÇİN ELEKTROKİMYASAL SENSÖR
GELİŞTİRİLMESİ**

Derya AKIN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

Bu tez 22/12/2017 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından
Oybirliği/Oyçokluğu İle Kabul Edilmiştir.

.....
Prof. Dr. Tunç TÜKEN
DANIŞMAN

.....
Prof. Dr. İlyas DEHRİ
ÜYE

.....
Prof. Dr. Gülşen AVCI
ÜYE

Bu tez Enstitümüz Kimya Anabilim Dalında hazırlanmıştır.
Kod No

Prof. Dr. Mustafa GÖK
Enstitü Müdürü

Bu Çalışma Ç. Ü. Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: FYL-2014-3160

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**KLORAMFENİKOL'ÜN TAYİNİ İÇİN ELEKTROKİMYASAL SENSÖR
GELİŞTİRİLMESİ**

Derya AKIN

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI**

Danışman : Prof. Dr. Tunç TÜKEN
Yıl: 2017, Sayfa: 63
Jüri : Prof. Dr. Tunç TÜKEN
: Prof. Dr. İlyas DEHRİ
: Prof. Dr. Gülşen AVCI

Kullanımı AB ve ABD 'de yasaklanan antibiyotik türevlerinden biri de kloramfenikol'dür. Kloramfenikol'ün tayini için çeşitli kromatografik cihazlar (HPLC,LC-MS-MS) ya da tarama cihazları (ELISA) kullanılmaktadır. Ancak, bu yöntemler hem pahalı hem de analiz hazırlık sürecinin uzun olmasından dolayı bu yöntemlere alternatif yöntemler araştırılmaktadır. Bu çalışma ile kloramfenikole karşı duyarlılığı ve seçiciliği geliştirilmiş, hızlı ve güvenilir sonuç veren aynı zamanda da taşınabilir bir uygulamada pratik kullanılabilecek elektrokimyasal sensör geliştirmek amaçlanmıştır. Yapılan deneysel çalışmalarla, Dönüşümlü voltametri ve kare dalga voltametrisi tercih edilmiş olup bu yöntemlerde kullanılacak olan elektrotlar modifiye karbon pasta elektrotlar olarak tasarlanmıştır. Karbon pasta elektrotların temelinde grafit yer alırken modifikasyon işlemi ise modifiye Hummer metodu ile sentezlenen grafen oksit ve ardından hidrazinyum hidroksit ile indirgenmesiyle elde edilen, yüksek iletkenliğe sahip grafen kullanılmıştır. Sentezlenen örneklerin karakterizasyonu FTIR ve XRD analizleriyle ve sensör özelliğinin incelenmesinde ise voltametrik yöntemlerden yararlanılmıştır. Sonuç olarak, 16,15 ppm düzeyinde kloramfenikol tayin edilebilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kloramfenikol, Modifiye Karbon Pasta Elektrot, Grafen, Dönüşümlü Voltametri, Kare Dalga Voltametri

ABSTRACT

MSc THESIS

DEVELOPMENT OF AN ELECTROCHEMICAL SENSOR FOR DETERMINATION OF CHLORAMPHENICOL

Derya AKIN

ÇUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF CHEMISTRY

Supervisor : Prof. Dr. Tunç TÜKEN

Year: 2017, Page : 63

Jury : Prof. Dr. Tunç TÜKEN

: Prof. Dr. İlyas DEHRİ

: Prof. Dr. Gülşen AVCI

Chloramphenicol is one of the antibiotic derivatives that are restricted for being used in the EU and USA. There are various chromatographic devices (HPLC, LC-MS-MS) or screening devices (ELISA) are used for the determination of chloramphenicol. However, these methods are expensive and involves time consuming preparation procedures for analysis, it is frequently pronounced that alternative methods should be investigated. In this study, it was aimed to develop an electrochemical sensor equipped with high sensitivity and selectivity against chloramphenicol, which can be used practically in a portable application to yield fast and reliable results. For this purpose, cyclic voltammetry and square wave voltammetry techniques were employed for the assessment of success of newly designed modified carbon paste electrodes with various compositions. While the graphite the major component of these carbon paste electrodes, graphene oxide and graphene were utilized as additives. The synthesis of graphene oxide was realized by modified Hummer method and the graphene was prepared with reduction process by means of hydrazinium hydroxide. The characterization of the synthesized samples was carried out by FTIR and XRD analyzes, and the voltammetric methods were used for evaluation of the sensing capabilities of prepared electrodes. As a result, chloramphenicol at 16.15 ppm could be determined.

KeyWords: Chloramphenicol, Carbon Modified Carbon Paste Electrode, Graphene, Cyclic Voltammetry, Square Wave Voltammetry

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Avrupa ve Amerika'da hayvansal gıda matrisleri içerisinde bulunması yasaklanan antibiyotik etken maddelerinden biride Kloramfenikol'dür. Tayini için genel olarak kromatografik ve tarama yöntemleri kullanılırken, kromatografik cihazlar için ön deriştirme seyreltme gibi proseslerin uzun süreçler içermesi ve pahalı olması nedeniyle daha hızlı ve etkin bir yöntem olarak modifiye elektrotların kullanıldığı elektrokimyasal teknikler önemli avantajlar sağlamaktadır. Modifiye karbon pasta elektrotlardan farklı olarak özel geliştirilen karbon türevli çeşitli sensör elektrotlar ile kloramfenikol ile ilgili çalışmalar literatürde yer alsa da modifiye karbon türevli elektrotların gerek hazırlanması gerekse fiyat dezavantajından dolayı, bu çalışmada maliyeti düşük, kolay uygulanabilir, seçiciliği ve hassasiyeti yüksek, modifiye karbon pasta elektroda dayalı bir sensör geliştirilmeye çalışılmıştır.

Genel olarak, karbon pasta elektrotlar, grafit ve parafin kullanılarak hazırlanmaktadır. Seçiciliği arttırmak amacıyla bu tez çalışmasında grafitten yola çıkılarak ilk önce modifiye Hummer's metodu ile grafen oksit sentezlenmiş ve pasta modifikasyon materyali olarak farklı oranlarda denenmiştir ayrıca grafen oksit hidrazinyum hidroksit ile indirgenerek grafen elde edilmiştir. Bu sentezlerin başarısı yapı analizleri SEM ve FT-IR kullanılarak ortaya konmuştur. Daha sonra sentezlenen bu materyaller, karbon pasta modifikasyon ajanı olarak kullanılmıştır. Yapılan optimizasyon çalışmaları sonucunda grafen katkılı pasta elektrot ile dönüşümlü voltametri ve kare dalga voltametrisi tekniği kullanılarak pH 2,6 ±1 1M asetik asit çözeltisi içerisinde kloramfenikol tayin limiti 16,15 ppm olarak belirlenmiştir.



TEŞEKKÜR

Öncelikle ders ve tez çalışmamın her aşamasında desteğini gördüğüm, bilgi, öneri ve yardımlarıyla bana yol gösteren değerli danışmanım Prof. Dr. Tunç TÜKEN'e teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Lisans aşamasından bu yana her zaman desteğini gördüğüm, yetişmemde katkısı olan tüm Kimya Bölümü hocalarıma çok teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım boyunca desteklerini gördüğüm fizikokimya laboratuvarında ki çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

İyi ki var dediğim, her türlü sorunumda yanımda olan ve desteğini hiç esirgemeyip, yüzümü güldüren sevgili arkadaşım Bener BALTA'ya, tez dönemim süresince yanımda olan Cansu YILDIZ'a, Gizem GÜMÜŞGÖZ ÇELİK'e ve ismini yazamadığım tüm arkadaşlarıma sonsuz teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında bana destek olan, bu günlere gelmem için emek harcayan, her koşulda sırtımı dayadığım sevgili annem Selma AKIN'a, babam Adnan AKIN, ablam Deniz SOYDAN'a ve arada bu yoğunluktan dolayı ihmal etsem de beni her gördüklerinde koşarak sarılan kaybettiğimiz zamanı telafi etmemde bana her seferinde anlayış gösteren minicik yiğenlerim Işık Ulaş ve Rüzgar'a teşekkür ederim.

Birlikte bir hayatı paylaşmaya karar verdiğimiz andan itibaren ve tez aşamam süresince bana destek ve motivasyon kaynağı olan biricik eşim Mehmet Burak KOCA'ya sevgisinden ve gösterdiği üstün sabırdan dolayı teşekkür ederim.

| İÇİNDEKİLER | SAYFA |
|--|--------------|
| ÖZ..... | I |
| ABSTRACT | II |
| GENİŞLETİLMİŞ ÖZET | III |
| TEŞEKKÜR..... | V |
| İÇİNDEKİLER..... | VI |
| ÇİZELGELER..... | VIII |
| ŞEKİLLER DİZİNİ..... | VIII |
| SİMGELER VE KISALTMALAR..... | XIV |
| 1. GİRİŞ..... | 1 |
| 1.1. Kloramfenikol ve Genel Özellikleri | 2 |
| 1.2. Sensörler..... | 3 |
| 1.3. Voltametri..... | 4 |
| 1.3.1. Voltametri de Kullanılan Elektrotlar | 4 |
| 1.3.1.1 Karbon Pasta Elektrotlar | 5 |
| 1.3.1.2 Modifiye Karbon Pasta Elektrotlar..... | 5 |
| 1.3.2. Voltametri de Analizi Etkileyen Parametreler..... | 9 |
| 1.3.3. Voltametri de Uyarma Sinyalleri..... | 10 |
| 1.3.4. Voltametrik Yöntemler..... | 10 |
| 1.3.4.1. Diferansiyel Puls Voltametrisi | 11 |
| 1.3.4.2. Kare Dalga Voltametrisi | 12 |
| 1.3.4.3. Dönüşümlü Voltametri..... | 13 |
| 1.4. Elektrokimyasal Mekanizmalar..... | 14 |
| 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR | 17 |
| 3. MATERYAL VE METOD | 21 |
| 3.1. Materyal | 21 |
| 3.1.1. Kullanılan Elektrot Çeşitleri..... | 21 |
| 3.2. Gerçekleştirilen Analizler..... | 22 |

| | |
|---|----|
| 3.3. Metod | 22 |
| 3.3.1. Grafen Oksit Sentezi | 23 |
| 3.3.2. Grafen Sentezi | 23 |
| 3.3.3. Karbon Pasta Elektrotların Hazırlanması | 24 |
| 3.3.4. Destek Elektrolit Çözeltilerinin Hazırlanması..... | 24 |
| 3.3.5. Dönüşümlü Voltametri Tekniğinde Kullanılan Parametreler..... | 25 |
| 3.3.6. Kare Dalga Voltametri Tekniğinde Kullanılan Parametreler | 26 |
| 4. BULGULAR VE TARTIŞMA..... | 27 |
| 4.1. Deneylerde Kullanılan Elektrotların Elektrokimyasal Davranışları..... | 31 |
| 4.1.1. Platin Elektrot..... | 31 |
| 4.1.2. Farklı Bileşimlerde Hazırlanan Modifiye Karbon Pastalar ile pH Çalışmaları..... | 35 |
| 4.2. MCP 3 İçin Dönüşümlü Voltametri Bulguları | 42 |
| 4.2.1. MCP 3 - Tarama Hızına Bağlı Dönüşümlü Voltametri Bulguları.... | 42 |
| 4.2.2. MCP 3 - Derişime Bağlı Dönüşümlü Voltametri Bulguları | 45 |
| 4.3. MCP 3 Kloramfenikol İncelemesi Dönüşümlü Voltametri Bulguları..... | 47 |
| 4.4. MCP 3 Kloramfenikol İncelemesi Kare Dalga Voltametrisi Bulguları..... | 52 |
| 5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER | 57 |
| KAYNAKLAR..... | 59 |
| ÖZGEÇMİŞ..... | 63 |

ÇİZELGELER

SAYFA

| | | |
|--------------|---|----|
| Çizelge 1.1. | Kloramfenikol'ün kimyasal özellikleri | 3 |
| Çizelge 1.2. | Voltametrde en çok kullanılan 3 uyarma sinyali ve bu sinyallere bağlı olarak oluşan voltametrik yöntemler | 11 |
| Çizelge 1.3. | Tersinir, yarı tersinir ve tersinmez sistemlerin kriterleri | 16 |
| Çizelge 3.1. | Karbon pasta elektrotların hazırlanmasında kullanılan miktarlar | 21 |
| Çizelge 3.2. | Kare dalga voltametrisi için parametreler | 26 |
| Çizelge 4.1. | Organik Fonksiyonel Gruplara ait FT-IR frekans aralıkları..... | 29 |
| Çizelge 4.1. | MCP 3 EDX ölçümü verileri..... | 41 |



ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

| | | |
|------------|---|----|
| Şekil 1.1. | Karbon pasta elektrot gösterimi | 5 |
| Şekil 1.2. | Grafite ait bağ ve 3 boyutlu yapısı | 6 |
| Şekil 1.3. | Grafen oksite ait öngörülen yapı (Yeşil renk C=O, kırmızı renk C-O-C, mavi renk ise -OH 'a aittir | 8 |
| Şekil 1.4. | Grafen tabakasında düzlemsel σ bağları ve düzleme dik π orbitallerinin şematik gösterimi (Dubois vd. 2009) | 8 |
| Şekil 1.5. | Grafit 'in grafen oksite, grafen oksitin de grafene dönüşümünün 3 boyutlu gösterimi | 9 |
| Şekil 1.6. | Diferansiyel puls uyarma sinyali..... | 11 |
| Şekil 1.7. | Kare dalga uyarma sinyali | 12 |
| Şekil 1.8. | Doğrusal taramalı ve dönüşümlü voltametri de potansiyel taramasının zamanla değişimi | 13 |
| Şekil 4.1. | Grafit-Grafen oksit – Grafen XRD | 28 |
| Şekil 4.2. | a) grafen oksit b) grafen c) grafit 'e ait FT-IR analizleri | 30 |
| Şekil 4.3. | Pt elektrot a) 0,4 M KNO_3 b) 0,4 M $\text{KNO}_3 + 10^{-2}$ M $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ çözeltisinde 200 mV tarama hızında farklı pH denemeleri | 32 |
| Şekil 4.4. | Pt elektrot kullanılarak 0,4 M $\text{KNO}_3 + 10^{-2}$ M $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ çözeltisi içerisinde a) I_{pA}/I_{pK} - pH b) E_{hA}/E_{hK} -pH c) Q_A/Q_K - pH grafiği | 34 |
| Şekil 4.5. | Farklı modifiye karbon pasta elektrotların pH incelemesi a) pH 4, b) pH 7 c) pH 10 | 36 |
| Şekil 4.6. | Farklı modifiye karbon pasta elektrotların, 0,4M $\text{KNO}_3 + 10^{-2}$ M $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ çözeltisi içerisinde sırasıyla a)pH4, b) pH7, c)pH10 – I_{pA}/I_{pK} grafiği | 37 |
| Şekil 4.7. | Farklı modifiye karbon pasta elektrotların, 0,4M $\text{KNO}_3 + 10^{-2}$ M $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ çözeltisi içerisinde a) pH4..... | 38 |

| | | |
|-------------|--|----|
| Şekil 4.8. | Farklı modifiye karbon pasta elektrotların, 0.4 M KNO_3+10^{-2} M $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ çözeltisi içerisinde a) pH4, b) pH7, c) pH10 Q_A/Q_K grafiği | 39 |
| Şekil 4.9. | MCP 3'e ait SEM görüntüleri | 41 |
| Şekil 4.10. | MCP 3 0,4 M KNO_3+10^{-2} M $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ içerisinde 200mV tarama hızında, farklı pH grafiği..... | 42 |
| Şekil 4.11. | MCP 3 0,4 M KNO_3+10^{-2} M $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ içerisinde pH 7'de farklı tarama hızı grafiği | 43 |
| Şekil 4.12. | MCP 3 $I_{p_A}-I_{p_K}/A- (v^{1/2}) / \text{mV}$ grafiği..... | 44 |
| Şekil 4.13. | MCP 3 $E_{h_A}-E_{h_K} / V - v / \text{mV}$ grafiği | 44 |
| Şekil 4.14. | MCP 3 $Q_A- Q_K/ C - v / \text{mV}$ grafiği | 45 |
| Şekil 4.15. | MCP 3 pH 7 0.4 M $\text{KNO}_3 -$ farklı derişimlerde $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ içerisinde dönüşümlü voltamteri voltamogramları..... | 45 |
| Şekil 4.16. | MCP 3 pH 7 0.4 M $\text{KNO}_3 -$ farklı derişimler de $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ içerisinde $I_{p_A}-I_{p_K} / A-$ Derişim / molL^{-1} grafiği | 46 |
| Şekil 4.17. | MCP 3 pH 7 0.4 M $\text{KNO}_3 -$ farklı derişimler $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ içerisinde $E_{h_A}-E_{h_K} / V -$ Derişim/ molL^{-1} grafiği | 46 |
| Şekil 4.18. | MCP 3 pH 7 0.4 M $\text{KNO}_3 -$ farklı derişimler $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ içerisinde $Q_K/ C -$ Derişim/ molL^{-1} grafiği..... | 47 |
| Şekil 4.19. | Kloramfenikol'ün yükseltgenme ve indirgenme reaksiyonları..... | 48 |
| Şekil 4.20. | Kloramfenikol'ün 200mV'da 5×10^{-5} M 'da dönüşümlü voltamogramlar | 49 |
| Şekil 4.21. | pH 2,6±1 1M Asetatik asit içerisinde farklı derişimlerde kloramfenikol'ün dönüşümlü voltamogramı | 49 |
| Şekil 4.22. | 5×10^{-5} M CAP pH 2,6±1 1M Asetik asit farklı tarama hızı voltamogramları..... | 50 |
| Şekil 4.23. | MCP 3 5×10^{-5} M Kloramfenikol, $I_{p_K}/ A - v/ \text{mV}$ grafiği | 51 |
| Şekil 4.24. | MCP 3 5×10^{-5} M Kloramfenikol, $I_{p_K}/ A - v^{1/2}$ grafiği..... | 51 |
| Şekil 4.25. | MCP 3 5×10^{-5} M Kloramfenikol, $\log I_{p_K}/A - \log v$ grafiği..... | 51 |

| | |
|---|----|
| Şekil 4.26. MCP 3 5×10^{-5} M Kloramfenikol Ip K / A – Derişim / molL ⁻¹ grafiği..... | 52 |
| Şekil 4.27. 5×10^{-5} M Kloramfenikolün farklı frekans değerleri için kare dalga voltamogramı | 53 |
| Şekil 4.28. 5×10^{-5} M Kloramfenikol pH 2,6 ±1 Ip K / A – Frekans / Hz grafiği..... | 54 |
| Şekil 4.29. Kloramfenikol farklı derişimlerde alınan kare dalga voltamogramları..... | 54 |
| Şekil 4.30. 5×10^{-5} M Kloramfenikol pH 2,6±1 Ip K / A – Derişim / molL ⁻¹ | 55 |



SİMGELER VE KISALTMALAR

| | |
|-----------------|---|
| A | : Akım |
| Å | : Angstrom |
| °C | : Derece santigrat |
| C | : Coulomb |
| CAP | : Kloramfenikol |
| (CC α) | : Dedeksiyon limiti |
| (CC β) | : Dedeksiyon gücü |
| CV | : Dönüşümlü Voltametri |
| e | : Elektron |
| ELISA | : Enzime bağlı bağışıklık testi |
| EDX | : Enerji dağılımlı X- ışını spektroskopisi |
| Eh _A | : Anodik yarı dalga potansiyeli (V) |
| Eh _K | : Katodik yarı dalga potansiyeli (V) |
| f | : Frekans |
| FT-IR | : Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrofotometresi |
| GC | : Gaz kromatografisi |
| HPLC | :Yüksek performanslı Sıvı Kromatografisi |
| Hz | : Hertz |
| I _{pA} | : Anodik pik akımı / A |
| I _{pK} | : Katodik pik akımı / A |
| LC-MS-MS | : Sıvı kromatografisi-Kütle-Kütle Spektrometresi |
| MCP | : Modifiye karbon pasta elektrot |
| ppm | : mgL ⁻¹ |
| Pt | : Platin elektrot |
| SEM | : Taramalı Elektron Mikroskobu |
| Q _A | : Anodik yük miktarı /C |

Q_K : Katodik yük miktarı / C
 v : Tarama hızı / mV



1.GİRİŞ

Biyoteknoloji’de sağlanan gelişmelere ve bunların gıda sektöründe yaygın olarak kullanılması ile birlikte, bu sektörde üretim kolaylıkları, çeşitlilikler, daha uzun süreli ürünler gibi önemli değişimler gerçekleşmiştir. Bununla birlikte, hemen her gün tükettiğimiz gıdalarla ilgili spekülasyon bir haberle karşı karşıya kaldığımız gerçeği düşünülürken, bu konuda denetimlerin yaygınlaştırılması gerekli diğer yasal düzenlemelerle birlikte sağlanmalıdır. Gıdalarda, potansiyel toksite özelliğe sahip maddelerin tespiti bunların ilgili yasalarca belirtilen değerlere uygunluğuna yönelik denetim çalışmaları, hızlı ve güvenilir sonuç veren analitik cihaz ve yöntemlerin geliştirilmesini zorunlu kılmaktadır.

Hayvansal gıdalarda sıkça gündeme gelen, besicilikte antibiyotiklerin kullanımına yasalarla düzenleme getirilmiş olmasına rağmen, üreticilerin yüksek verim ve hızlı büyüme amaçlı kullandıklarına sıkça rastlanmaktadır. Kullanımı AB ve ABD ‘de yasaklanan antibiyotik türevlerinden biri de Kloramfenikol’ dür. AB, Kloramfenikol için maksimum kalıntı limitini (MKL) 0.3 ng/g olarak belirlemiştir. Kloramfenikol’ün tayinine yönelik pahalı cihazlara (HPLC, LC-MS-MS) veya tarama cihazlarına (ELISA) alternatif cihazların geliştirilmesi gerekmektedir (Kara ve Kolaylı, 2010).

Analiz edilecek olan bileşenin türüne uygun, yüksek duyarlılık ve seçiciliğe sahip elektrokimyasal sensörler bu tür analizlerde umut vadetmektedir. Bir elektrokimyasal sensörün çalışma prensibi temel olarak, analitin elektrot yüzeyinde adsorpsiyonu ve elektron transferine dayalı bir dönüşüme uğraması sırasında elektrottan bir elektriksel sinyal alınmasına dayanır. Bu nedenle çoğunlukla sensörün, analite karşı seçiciliğinin artırılması ve elektron transferini kolaylaştırarak, alınacak sinyalin güçlendirilmesi üzerinde durulur.

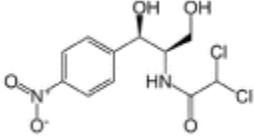
Çalışmamızda, kloramfenikol bileşiğine karşı duyarlılığı ve seçiciliği geliştirilmiş, hızlı ve güvenilir sonuç veren, aynı zamanda taşınabilir bir

uygulamada pratik olarak kullanabilecek elektrokimyasal sensör geliştirilmeye çalışılacaktır.

1.1. Kloramfenikol ve Genel Özellikleri

Kimyasal yapısı, D-(-) thereo 2 adichloroacetamido-1-p-nitrophenyl-1,3-propandiol 'dür. Kloramfenikol (CAP), beyazdan grimsi beyaza ya da sarımsı beyaza değişen renklere ince kristal toz formdadır. CAP'ın kimyasal özellikleri Çizelge 1'de verilmiştir. CAP, geniş spektrumlu bir antibiyotik olup doğal yollarla *Streptomyces venezuelae*' dan ve ciddi enfeksiyonların tedavisinde diğer antibiyotiklerin etkisiz kaldığı ya da yan etkilere sebep olduğu durumlarda sentetik olarak elde edilmektedir. Aerobik ve anaerobik mikroorganizmalara karşı aktivite göstermektedir. 1950'lerden beri tifo, menenjit ve bazı merkezi sinir sistemi enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmaktadır. Şimdilerde ise göz merhemlerinde enfeksiyonların tedavisinde, dış kulak ya da derinin tedavisinde lokal merhem olarak ve iç enfeksiyonlarda damar içi süspansiyonların bileşiminde kullanılmaktadır. İnsanlarda, kloramfenikolün kullanılması, çoğunlukla ilacın dozuna bağlı olmayan, ilaç kullanımından haftalar ya da aylar sonra ortaya çıkabilen, dönüşümsüz aplastik anemiye yol açtığı tespit edilmiştir. Bu nedenle, günlük kullanım miktarı limitleri doğrultusunda kloramfenikol'ün tespiti için yöntemler geliştirilmiştir. Bu çalışmada da kloramfenikol için hassas, duyarlılığı yüksek ve kolay temin edilebilen bir sensör tasarlanması amaçlanmıştır (Şener, 1993).

Çizelge 1.1. Kloramfenikol'ün kimyasal özellikleri

| | |
|------------------|---|
| Molekül Adı | Kloramfenikol |
| Kapalı Formülü | $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$ |
| Açık Formülü |  |
| Molekül Ağırlığı | 323,132 g/mol |
| Çözünürlük | Su (2.5 g/L) Propilen Glikol, Kloroform- Eter Metanol, Etanol, Etil asetat ve aseton Benzen, petrol eteri çözünmemektedir. |
| Erime Noktası | 150,5-151,5 °C |

1.2. Sensörler

Son yıllarda, sensör alanında ki gelişmelerin önemli ölçüde arttığı göz önüne alındığında, her bir sensör için kullanılan yöntemin farklı olmasına karşılık (Biyosensör- Elektrokimyasal sensörler. vb) çalışma prensipleri ortaktır. Temel olarak, belirli bir analite veya analit türüne karşı sensörlerin seçici davranmasını sağlayan bir tanıma birimi ve bu analit veya analit türünün ölçülebilir bir elektronik sinyale dönüşümünü sağlayan bir transduser içerdiği belirtilebilir. Çıkan sinyal örnekte ki analit miktarı hakkında bilgi verir ve bu sinyal optik, termal ve elektrokimyasal olmak üzere birçok yöntemle sağlanabilir. Ancak son dönemlerde ucuz, yapımının kolay olması yüksek duyarlılık ve seçiciliğe sahip olması

faktörleri göz önüne alındığında elektrokimyasal sensörler daha çok tercih edilmektedir.

Bir elektrokimyasal sensörün temel çalışma prensibi ise; elektrot çözücü sistemine elektriksel bir etki uygulanarak sistemin, verdiği cevaba göre sistem hakkında bilgi alma esasına dayanır. Maddelerin elektrokimyasal özelliklerinden yararlanılarak farklı yükseltgenme basamağında bulunan türlerin akım, potansiyel, yük gibi elektrokimyasal özelliklerini ölçer, kimyasal parametreler ile aralarında ki ilişkileri araştırarak kimya ile elektriğin etkileşimini inceler. Ölçülen parametreler, genel olarak teknik ile ilgili bilgi verir. En çok kullanılan yöntemlerden biriside voltametridir (Çekirdek, 2005).

1.3. Voltametri

Voltametri, bir indikatör veya çalışma elektrodunun polarize olduğu şartlar altında akımın, uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak ölçülmesinden faydalanarak, analit hakkında bilgi edinilen bir grup elektroanalitik yöntemi kapsar. Voltametrimin çalışma prensibi ise; elektrokimyasal hücrede, polarize olabilen bir çalışma elektrodu ile referans elektrot arasına değeri zamanla değiştirilen potansiyel uygulaması sonucu ortaya çıkan akımın, üç elektrotlu hücrelerde çalışma elektrodu ile yardımcı (referans) elektrot, arasından ölçülmesi ilkesine dayanır (Gökçe, 2004).

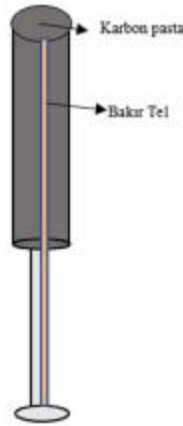
1.3.1. Voltametricide Kullanılan Elektrotlar

Voltametricide deneyler üçlü elektrot sisteminde gerçekleştirilmektedir. Üç elektrottan birisi, potansiyeli deney süresince sabit kalan referans elektrottur. Referans elektrot genellikle Ag/AgCl veya doymuş kalomel elektrottur. Elektrot sistemindeki ikinci elektrot ise karşıt veya yardımcı elektrottur. Karşıt elektrot olarak ise genellikle Pt elektrot kullanılır. Elektrot sistemindeki bir diğer elektrot ise, potansiyeli değiştirilen çalışma elektrodudur. Üçüncüsü ise, çalışma elektrodu olarak, civa, platin, altın, paladyum, karbon elektrot (grafit, camsı karbon, elektrot

karbon pasta elektrot, modifiye karbon pasta elektrotlar) gibi elektrotlar yaygın olarak kullanılmaktadır (Çekirdek, 2005).

1.3.1.1 Karbon Pasta Elektrotlar

Grafit ve bağlayıcı (parafin, iyonik sıvı, organofosfatlı bileşikler vb.) ile hazırlanırlar. Grafit tozunda bulunan karbon moleküllerinin düzlemsel ve aromatik halkalar halinde dizilimi görülmektedir. Zayıf p bağları ile birbirine bağlanmış olan bu tabakalar arasında hızlı bir elektron alışverişi olabilmektedir. CPE, ucuz olması, yüzey yenilenmesinin kolay olması, düşük artık akımlar oluşturması nedeniyle tercih edilmektedir. Ancak analizi yapılacak analite göre seçiciliğin artırılması adına karbon pasta elektrotlarda modifikasyon işlemleri de yaygın olarak çalışılmaktadır Karadeniz, 2008). Şekil1.1’de kullanılan karbon pasta elektrodun görseli verilmiştir.

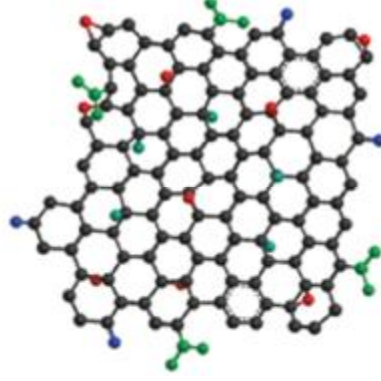


Şekil 1.1. Karbon pasta elektrot gösterimi

1.3.1.2 Modifiye Karbon Pasta Elektrotlar

Yalın elektrot yüzeyleri modifiye edilerek, çalışma elektrodunun analite karşı etkinliği artırılıp, seçimli artan katalitik etkinlik sonucu nicel tayinler için çok duyarlı elektrotlar geliştirilmektedir. Gümüş, TiO₂, kil, zeolit, altın kullanılarak

Grafen Oksit: Grafit- Grafen arasında ki dönüşümde yer almasından ve grafen esaslı malzemelerin yüksek miktarda ve maliyet verimli üretimi için bir öncül olmasından dolayı yoğun ilgi çekmektedir. Mermoux ve arkadaşları, Ruess tarafından önerilen model ile spektrumu açıklamaya çalışmışlardır. Bu modele göre, 1,3-eter ve C-OH fonksiyonel gruplarını içeren ve koltuk konformasyonlu bir yapıda C'ların dizildiği öne sürülmektedir. Oysa grafen oksit neredeyse amorf ve kullanılan grafitin çeşidine ve hazırlama yöntemine bağlı olarak stokiyometrisi değişmektedir. Fakat Grafen oksit temel fonksiyonel gruplar olarak; epoksit, hidroksit (-OH) ve karboksilik asit (-COOH) grupları gibi oksijenli fonksiyonel grupları içermektedir. GO'in epoksitlerindeki oksijen ile hidrojen arasındaki bağ sayesinde GO'in bazal düzlemi su ile güçlü bir bağlanma sağladığı nötron saçılması ile karakterize edilmiştir (Dreyer *et al.* 2009). Şekil 1.3'de grafen oksite ait öngörülen yapı gösterilmiştir. Grafen oksit (GO)'in en ilgi çekici özelliği oksijen içeren grupların uzaklaştırılmasıyla birlikte birleşik yapının onarılması ile kısmen grafen benzeri tabakalara indirgenbilmesidir. Grafen oksidin, grafene indirgenmesinde çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bunlar, foto katalitik indirgeme, elektrokimyasal indirgeme, solvotermal indirgeme, çok adımlı indirgeme, kimyasal indirgeme gibi birçok yöntem kullanılmaktadır. Her uygulamanın kendine göre bir avantajı mevcuttur. Hidrazin gibi tehlikeli kimyasal ajanlarla indirgenme sağlanması kimyasal indirgenmenin dezavantajı olmasına rağmen grafen oksidin yüzeyinde ki epoksi grupların düşük ya da orta sıcaklıklarda bertaraf edilmesinden dolayı tercih edilmektedir. Bu çalışmada da iyileştirilmiş Hummer's metodu ile sentezlenen grafen oksitin, grafene indirgenmesi için hidrazinyum hidroksit kullanılmıştır (Demir, 2014).



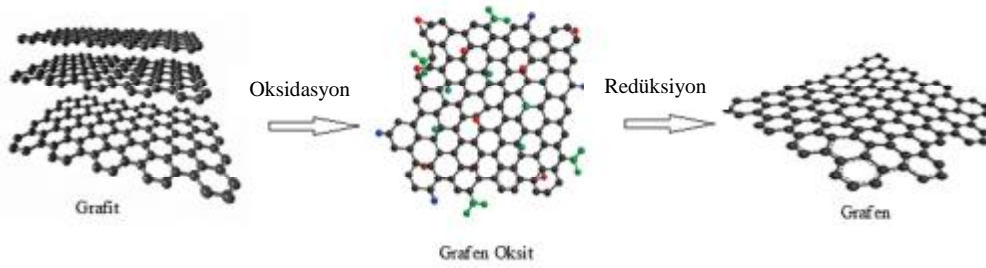
Şekil 1.3. Grafen oksite ait öngörülen yapı (Yeşil renk C=O, kırmızı renk C-O-C, mavi renk ise -OH 'a aittir.

Grafen; hibritleşmiş sp^2 bağlarına sahiptir. Grafen yapısındaki karbon atomları düzlemde üç σ bağı ve bu düzleme dik olarak uzanan bir π orbitaline sahiptir. Şekil 4 'de Grafen tabakasında düzlemsel σ bağları ve düzleme dik π orbitallerinin şematik gösterimi yer almaktadır (Dubois vd. 2009). Grafen, çok geniş yüzey alanına sahip olmasıyla birlikte kimyasal ve termal olarak da kararlı olmasına ek çok iyi bir iletkendir. Her karbon atomu 3 komşu karbon atomu ile σ bağı yaparken, p orbitallerinden $2p_z$ orbitali ile π bağı yapmaktadır. P_z orbitalinde ki elektronlar sistemde ki delokalizasyonu sağlayarak grafene elektriksel iletkenlik sağlamaktadır. Düzleme dik haldeki π bağı ise farklı grafen tabakaları ile etkileşimi ve grafenin iletkenliğini kontrol eder. İçerdiği güçlü σ bağları ise, hegzagonal yapının katı omurgasını oluşturmaktadır buda grafenin mekanik özellikleri ve esnekliği üzerinde etkilidir.



Şekil 1.4. Grafen tabakasında düzlemsel σ bağları ve düzleme dik π orbitallerinin şematik gösterimi (Dubois vd. 2009)

Grafen oksitin kimyasal olarak indirgenmesi yöntemi yüksek sıcaklıklarda ısıtma, özel makine-teçhizat ya da indirgenme ortamı gerektirmeyen bir yöntem olmasından dolayı düşük maliyetli bir yöntemdir. Bu yöntem basit, hızlı ve büyük ölçekte ürün elde edilebilmesi gibi avantajlara da sahip olması nedeniyle en çok tercih edilir (Pumera 2009, Soldano vd. 2010, Pei ve Cheng 2012). Şekil 1.5’de grafit ‘in grafen oksite, grafen oksitin de grafene dönüşümünün 3 boyutlu gösterimi verilmiştir. Kimyasal sentez sonucunda, nano boyutlardan mikro boyutlara kadar grafen elde etmek mümkün olmaktadır ancak grafenin tabaka kalınlığının kontrol edilememesi yöntemin dezavantajlarından biridir. Sentez sonucunda ayrılmamış grafit tabakaları, indirgenmemiş grafen oksit tabakaları ve katlanmış grafen tabakalarından dolayı grafen tabaka kalınlığının 1 nm’ye kadar çıktığı bilinmektedir. Normal şartlarda ise tek grafen tabakasının kalınlığı: 0,34 nm’dir.)



Şekil 1.5. Grafit ‘in grafen oksite, grafen oksitin de grafene dönüşümünün 3 boyutlu gösterimi

Şekil 1.5’de gösterilen yapılar literatürde farklılık göstermektedir. Bunun nedeni ise temel olarak grafen oksitin sentez metodu ve grafene indirgenmek için kullanılan yöntemlerin farklı olmasından kaynaklanmaktadır (Er,2013).

1.3.2 Voltametri Analizi Etkileyen Parametreler

Analizi etkileyen parametreler; destek elektrolit, pH, sıcaklık, tarama hızı ve derişimdir. Elektrokimyasal ölçümler, destek elektrolit çözeltiler içerisinde

gerçekleşmektedir. Bu nedenle ölçümü yapılacak analitin çözünürlüğünün destek elektrolit içerisinde çözünürlüğünün iyi olması istenir (Öztürk, 2016). Destek elektrolit, iyonik şiddeti sabit tutması farklı potansiyel aralıklarında ki uygulamalarda çözeltinin direncini düşürmek için gereklidir. Ayrıca analite karşı inert olmasına istenen özellikler arasındadır. Organik moleküllerin çoğunun elektrot tepkimelerinde protonun yer alması, akım-potansiyel ilişkileri pH'a bağımlı kılar. Tarama hızı ise, sistemin tersinir ya da tersinmez olduğu hakkında bilgi vermektedir. Tarama hızlarının değiştirilmesi ile gerçekleşen reaksiyonun adsorpsiyon veya difüzyon olduğu, aktarılan elektron sayısı, sistemin tersinir olup olmadığı ve elektron aktarım basamağı öncesinde veya sonrasında kimyasal tepkimenin gerçekleşip gerçekleşmediği belirlenebilir (Er, 2013).

1.3.3 Voltametri de Uyarma Sinyalleri

Elektrokimyasal sistemlerde, elektrot yüzeyine madde aktarımı 3 şekilde gerçekleştirilebilir. Bunlar; difüzyon, konveksiyon, elektriksel göç şeklindedir. Elektrokimyasal sistemde anot ile katot arasında oluşan potansiyel farkı nedeniyle bir elektriksel alan oluşur böylece pozitif ve negatif iyonların elektrotlara yönelmesi elektriksel göç ile meydana gelmektedir. Elektrot yüzeyinde tüketilen elektroaktif maddenin ara yüzeyde azalan derişimini arttırmak için çözeltilen elektrot yüzeyine madde aktarımı olayı ise difüzyon olarak adlandırılır. Her maddeye özgü difüzyon hızını belirten bir difüzyon katsayısı vardır. Çözeltinin karıştırılmasıyla elektrot ara yüzeyine konveksiyon yolu ile madde aktarımı sağlanır (Öztürk, 2016).

1.3.4 Voltametrik Yöntemler

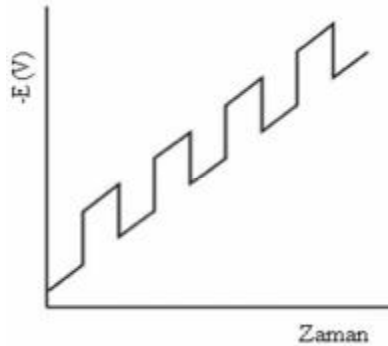
Voltametride en çok kullanılan uyarma sinyali ve bu sinyallere bağlı olarak oluşan voltametrik yöntemler Çizelge 1.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 1.2. Voltametrde en çok kullanılan 3 uyarma sinyali ve bu sinyallere bağı olarak oluşan voltametrik yöntemler

| | |
|-------------------|------------------------------|
| Üçgen Dalga | Dönüşümlü Voltametri |
| Diferansiyel Puls | Diferansiyel Puls Voltametri |
| Kare Dalga | Kare Dalga Voltametri |

1.3.4.1 Diferansiyel Puls Voltametrisi

1952 yılında Barker ve Jenkin isimli iki araştırmacı tarafından, voltametrik çalışmalarda gözlenebilme sınırını düşürmek için, puls voltametri teknikleri önerilmiştir. Bu düşünce ile faradayik ve faradayik olmayan akım arasındaki oranı arttırarak gözlenebilme sınırını 10^{-8} mol/L'ye kadar düşürülmüştür. Bu teknik ayrıca organik ve inorganik türlerin miktarlarının belirlenmesinde kullanılmaktadır. Diferansiyel puls voltametrisinde, doğrusal potansiyel artışına ayarlanmış sabit büyüklükte pulslar (dE/dt) belirli bir süre çalışma elektrotuna uygulanır ve iki kere akım ölçümü yapılır. İlk akım ölçümünde tam potansiyel artışı olmadan pulsun başladığı anda, ikinci akım ölçümde pulsun bitmesine yakın bir bölgeden alınır. Ölçülen iki akım arasındaki fark ΔI puls olarak ifade edilir. Son olarak uygulanan potansiyele karşı akım farkının grafiğe geçirilmesiyle diferansiyel puls voltamogramı oluşturulur (Monk 2001, Wang 2000) Şekil 6'da diferansiyel puls uyarma sinyali gösterimi verilmiştir.



Şekil 1.6. Diferansiyel puls uyarma sinyali

Diferansiyel puls yöntemi en yaygın kullanılan elektroanalitik yöntemlerden biridir. Normal puls voltametriyle karşılaştırıldığında iki üstün özelliği vardır. Birincisi, her bir analitin analitik pikleri birbirinden kolayca ayırt edilebildiği için birçok analitin belirlenmesini tek bir voltamogramda sağlamaktadır. İkinci özelliği ise, diferansiyel akımla çalışılması ile voltametrik bir pik oluşturularak analitik duyarlılığın $5,0 \times 10^{-8}$ M'dan $1,0 \times 10^{-8}$ M 'a kadar düşmesini sağlamaktadır.

1.3.4.2.Kare Dalga Voltametri

Çalışma elektrotuna uygulanan potansiyel, büyük genişlikli bir diferansiyel teknik olmasını sağlayan simetrik kare dalgalar şeklindedir. Her bir kare dalga döngüsü boyunca, akım iki kez ölçülür. Birincisi, ileri yöndeki pulsun sonunda (t_1) ikincisi ise geri yöndeki pulsun sonundadır (t_2). Şekil 7' de görüldüğü ölçülen iki akım arasındaki fark, uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak grafiğe geçirilerek kare dalga voltamogramları elde edilir (Öztürk, 2016).



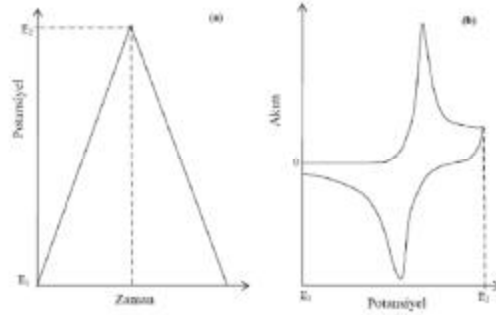
Şekil 1.7. Kare dalga uyarma sinyali

Kare dalga yönteminin üstün özelliklerinden biri de hızlı olmasıdır. Kare dalganın frekansı (f) ve basamak yüksekliği (ΔE_s) değiştirilerek etkin tarama hızı, belirlenir ve birkaç saniye içinde voltamogramlar kaydedilebilir. Kare dalganın, ölçüm süresi yaklaşık iki üç dakika olan diferansiyel voltamogramının tamamlanmasına ile karşılaştırıldığında, kare dalganın ölçüm süresini göstergesidir.

(Wang 2000). Kare dalga yönteminin ikinci büyük üstünlüğü de kare dalga yoluyla toplam akıma kapasitif katkıların minimuma indirilmiş olmasıdır. Böylece, tarama hızı etkili bir şekilde artırılabilir, 1 Vs¹ 'lik tarama hızına kolaylıkla ulaşılabilir. Net akım (ΔI) hem ileri hem de geri puls akımlarından daha büyüktür. Bu sebeple, elde edilen voltametrik pik oldukça kolay okunulabilir. Böylece kare dalganın doğruluğu artırılarak, diferansiyel puls voltametrisinden daha yüksek duyarlılıkta elde edilmesi sağlamaktadır (Monk 2001). Yaklaşık $1,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ a olan çok düşük tayin sınırlarına inilmektedir. Tersinir ve tersinmez sistemler için yöntemleri kıyaslanırsa, kare dalga akımlarının diferansiyel puls akım cevaplarından, sırasıyla 4 ve 3,3 kat daha yüksek olduğu söylenebilir (Borman 1982).

1.3.4.3. Dönüşümlü Voltametri

Dönüşümlü voltametri (CV), karıştırılmayan bir çözeltildeki, küçük bir durgun elektrodun akım cevabının, Şekil 1.8'de gösterildiği gibi üçgen dalga şekilli potansiyel ile uyarılması ile akımın ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Potansiyelin zamanla değişme hızına tarama hızı adı verilmektedir.



Şekil 1.8. Doğrusal taramalı ve dönüşümlü voltametri potansiyel taramasının zamanla değişimi

Potansiyel taramasının E1 ve E2 potansiyel değerleri arasında yapılması durumunda metod, doğrusal taramalı voltametri; E2 potansiyeline ulaşıldıktan sonra, aynı tarama hızıyla, ilk tarama yönüne göre ters yönde tarama yapılması

durumunda ise, dönüşümlü voltametri (CV) olarak adlandırılır. İleri tarama esnasında oluşan ürün, ters taramada tekrar reaktife dönüştürülebilir. İleri taramada indirgenme olmuşsa, ters taramada yükseltgenme meydana gelir. CV’de akım, potansiyele karşı grafiğe geçirilir. Her reaksiyonun kendine özgü hızı ve tersinirlikleri vardır.

Potansiyel aralığı, tarama hızı, destek elektrolit cinsi, kullanılan çalışma elektrodunun cinsi değiştirilerek, elektrot reaksiyonunun dönüşümlü voltametri tekniği ile ölçümleri alınır ve çıkan sonuçlara göre reaksiyon hakkında yorumlar yapılabilir (Öztürk, 2016).

1.4. Elektrokimyasal Mekanizmalar

Dönüşümlü voltametride, elektrot yüzeyinde ki elektrokimyasal tepkimenin davranışları tersinir, yarı tersinir, tersinmez olmak üzere 3 kısımda incelenir.

Tersinir sistemlerde, dönüşümlü voltametride olduğu gibi kütle aktarımı sadece difüzyon kontrollü olarak kabul edildiğinde ortamdaki türler için Fick yasaları geçerlidir. Bu durumda pik akımı Eşitlik 1.1’de ki Randles- Sevcik eşitliğinden yola çıkılarak belirlenir.

$$I_p = (2.69 \times 10^5) n^{3/2} A C_0 D^{1/2} v^{1/2} \quad (1.1)$$

Bağıntıda yer alan

n, aktarılan elektron sayısı

A, elektrodun yüzey alanı (cm²)

C₀ elektroaktif türün başlangıç derişimi

D, difüzyon katsayısı (cm²/s) ve v, tarama hızıdır (V/s).

Fick yasalarından türetilen Randles-Sevcik eşitliğinin en önemli göstergelerinden biri, pik akımının tarama hızının kareköküyle doğru orantılı

olarak değişim göstermesidir. Bir dönüşümlü voltamogram, aşağıdaki parametreleri sağlıyorsa tersinir demektir (Bard ve Faulker, 2001).

Yarı tersinir tepkimelerde, akım hem yük transferi hem de kütle aktarımı ile kontrol edilmektedir ayrıca elektron transferi yavaş olur bununla birlikte pik boyutları tersinir sistemdekine göre daha azdır ve pikler arasında mesafe vardır. Tersinir sistemlerde pik potansiyeli tarama hızından bağımsızken, yarı tersinir sistemlerde ise bağımlıdır. Yarı tersinir sistemlerde Eşitlik 1.2'den pik akımı hesaplanmaktadır.

$$i_p = (2,99 \times 10^5) n (\alpha n_a)^{1/2} A C_0 D^{1/2} v^{1/2} \quad (1.2)$$

Eşitlik 1.1'e ek olarak α , transfer katsayısı $n\alpha$ ise yük transfer basamağında yer alan elektron sayısıdır. Pik yüksekliğinin tersinir sistemlerdekine oranla düşük olmasının sebebi transfer katsayısı ile ilişkilidir.

Tersinmez sistemlerde ise; alınan ölçümlerde anodik pik akımı gözlenmez. Tersinmez sistemler için Fick yasalarından türetilen pik akımına ait Eşitlik 1.3 olarak verilmiştir.

$$i_p = (2,99 \times 10^5) \alpha^{1/2} A C_0 D^{1/2} v^{1/2} \quad (1.3)$$

Tersinmez sistemlerde, Nerst eşitliği elektron aktarım hızının yeterince büyük olmamasından dolayı geçersizdir. Düşük tarama hızlarında elektron aktarım hızı, kütle aktarım hızından fazla olduğu için sistem tersinir gibi görünebilir ancak tarama hızı arttıkça anodik ve katodik pik potansiyelleri birbirlerinden uzaklaşırlar. Çizelge 1.3'de tersinir, yarı tersinir ve tersinmez sistemlerin kriterleri verilmiştir.

Çizelge 1.3. Tersinir, yarı tersinir ve tersinmez sistemlerin kriterleri

| Tersinir Sistemler | Yarı Tersinir Sistemler | Tersinmez Sistemler |
|---|---|---|
| <p>1. $E_{pk}-E_{pa}= 59/n$ mV veya $E_{pk}-E_{pa}/2 = 59/n$ mV tur.</p> <p>2. E_p, tarama hızı ile değişmez.</p> <p>3. $I_{pa} / I_{pk} =1$ dir ve bu oran tarama hızıyla değişmez</p> <p>4. $I_p / v^{1/2}$, tarama hızıyla değişmez.</p> <p>5. Dalga şekli tarama hızıyla değişmez.</p> | <p>1. $I_p / v^{1/2}$ tarama hızına kısmen bağlıdır.</p> <p>2. $I_{pa} / I_{pk}= 0.5$ tir. ($\alpha=0.5$ ise)</p> <p>3. E_{pk}, tarama hızı ile değişir. Tarama hızının artmasıyla genellikle negatif değerlere doğru kayar.</p> <p>4. Tarama hızı arttıkça pikte genişleme olmaktadır.</p> | <p>1. $I_p / v^{1/2}$ tarama hızına bağlı değildir.</p> <p>2. $I_{pa} / I_{pk} <1$ dir.</p> <p>3. E_{pk}, tarama hızı ile değişir. Bu değişim genellikle tarama hızının artmasıyla negatif yönlüdür.</p> <p>4. $E_{pk}-E_{pa}$ farkı tarama hızına bağlıdır. Tarama hızı arttıkça bu fark artar.</p> |

Çizelge 3'de yer alan kriterlerde dikkate alınarak bu tez çalışmasında, elektrot seçimleri yapılacaktır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Rønning ve arkadaşları, çeşitli yiyecek materyallerinde basit ve hızlı bir şekilde kloramfenikolün tayini ve doğrulamasını LS-MS/MS aracılığıyla yapmışlardır. Et, deniz ürünleri, yumurta, bal ve süt numuneleri önce asetonitril ile ekstrakte edilmiş daha sonrasında içerisine d5-kloramfenikol standartı eklemiştirler. Kloroform ve su ilavesi yapmışlardır. Buharlaştırma sonrasında, artıkları enjeksiyondan önce metanol/su (3:4) ortamında geri oluşturmuşlardır. Geri kazanım sonrasında iyon transferine göre çizilen kalibrasyon eğrisi ile karmaşık matris yapılarında farklı iyon geçişleri söz konusu olduğu için, matrise bakılmaksızın kloramfenikol için pozitif sonuç veren numunelerin incelenebilmesi için farklı yollardan dedeksiyon limiti ($CC\alpha$) ve dedeksiyon gücü ($CC\beta$) değerlerini hesaplamışlardır. Tüm matrislerde bu değerler 0,02 ile 0,04 $\mu\text{g}/\text{kg}$ değerleri arasında belirlemiş olup ayrıca standart ekleme seviyesi 0,1 g/kg da laboratuvar içi tekrarlanabilirlik seviyesini %25'in altında tespit etmişlerdir.

Wang ve arkadaşları, kloramfenikol ve onun hidrolitik ürünü olan 2-amino-1-(4-nitrofenil)-propan-1, 3-diolün amperometrik olarak tespiti için bir karbon disk elektrodu kullanarak kapiler elektroforez tekniği ile çalışmalar yapmışlardır. İki analit için kullanılan çalışma elektrodu +1,175 V'da (Ag / AgCl referans elektroda karşı iyi bir sonuç sergilemiştir. Yöntem ile ilgili doğrulama ve her iki bileşen için tekrarlanabilirlik, doğrusallık ve iyileşme gibi özellikleri incelemiş olup tayin limitlerini kloramfenikol ve hidrolizati için sırasıyla 0,5 ve 0,2 mg/ml olarak belirlemişlerdir (Wang ve ark,1999).

Kara ve Kolaylı'ya ait literatür araştırma çalışmasında, Yuan ve ark, kloramfenikol antibiyotiğinin tespiti amacıyla yüzey plazmon rezonans ve moleküler baskılama tekniği üzerine önerilerde bulunmuşlardır. Karides, bal, inek sütü gibi gıdasal ürünlerde yüzey rejenerasyonuna gereksinim göstermeyen yüzey plazmon rezonans çalışmalarında 32-42 pg/ml duyarlılık tespit etmişlerdir. Ancak doğrulama ve tarama metodları için LC/MS-MS cihazından da yararlanmışlardır

(Yuan ve ark, 2009). Aynı çalışmaya ek olarak (Widstrand ve ark, 2006) moleküler baskılama tekniğini HPLC'ye numune enjeksiyonu yapılmadan önce gıda matrisinin temizlenmesinde ve ön deriştirme aşamasında kullanmışlardır. Bu teknik kullanılarak elde edilen kloramfenikol numunesini LS/MS-MS kullanılarak incelediklerinde tayin limiti olarak 0.3ng/g'ın altında bir değer elde ettiklerini belirtmişlerdir.

Alemu ve Hlalele, kloramfenikol tayini için camı karbon elektrot kullanarak (EPGCE), kare dalga voltametri ve dönüşümlü voltametri metoduyla çalışmalar yapmışlardır. Yaptıkları çalışmada kloramfenikole ait indirgenme pikini -0,646 V 'da Ag/ AgCl referans elektrot kullanarak pH 5,3 olan 0,05 M asetik asit, sodyum asetat tamponu içerisinde dönüşümlü voltametri tekniği ile elde etmişlerdir. Lineer derişim aralığı olarak 2 aralıkta çalışmışlardır. Bunlardan ilki 5×10^{-6} M ile 1×10^{-7} M ($r=0,999$) kloramfenikol iken diğer aralık ise $7,00 \times 10^{-5}$ ile $5,00 \times 10^{-6}$ ($r=0,999$) 'dir. Bu çalışma aralıklarına ait standart sapma değerleri sırasıyla %2,2 ve 3,7 olarak verilmiştir. Belirledikleri dedeksiyon limiti sinyal gürültü oranı 3 iken $6,0 \times 10^{-9}$ M'dır. Bu metodu daha sonrasında kloramfenikol içeren göz damlasında da test etmişlerdir (Alemu ve Hlalele, 2006).

Agui ve arkadaşları, silindirik karbon fiber mikro çalışma elektrodunu, 0,0 ve +2,6 V arasında katodik artış gösteren kloramfenikol pikini 0,05 M $H_2PO_4^-/HPO_4^{2-}$ pH'ı 7,8 olan tampon çözeltisinde kare dalga voltametri kullanılarak genlik 50 mV frekans değeri ise 25 Hz parametrelerinde aktive ettikten sonra süt numunesi içerisine, 5×10^{-5} M'lık CAP çözeltisinden 64 ve 320 ng ml⁻¹ ilave ederek tayin etmişlerdir. Pikte meydana gelen artışın sebebi olarak ise karbon fiber yüzey alanının kırılması ve yüzey üzerinde derin çatlaklar oluşmasına bağlı olduğunu belirtmişlerdir. Yüzey aktivasyonu yapılmayan deneylerde başarılı olmamışlardır (Agüi ve arkadaşları, 2002).

Xiao ve arkadaşları, kloramfenikol tayini için tek duvarlı karbon nanotüpü, altın nanopartikül ve 1-oktil-3-metil imidazolyum hekzaflorofosfat iyonik sıvısı ile modifiye etmişlerdir. Klormafenikol'e ait katodik piki ise pH 7 fosfat tampon

çözeltisinde -0,66 V 'da gözlemlenmiştir. Voltametrik çalışma koşulları optimize edildikten sonra, $6,0 \times 10^{-6}$ M ve $1,0 \times 10^{-8}$ M derişim aralığında kloramfenikole ait lineer pik akımı verileri elde etmişlerdir. Standart ekleme metodu ile süt numunesinde kloramfenikol tayini gerçekleştirmişlerdir (Xiao ve arkadaşları, 2007).

Borowiec ve arkadaşları, kloramfenikol tayini için altın nanopartiküller (Au/N-G) ile katılanmış azotla kaplanmış grafen nanotabakalı elektrodu, indirgeyici ajan olarak etilen glikol kullanarak ve N-Grafen yüzeyine H₂AuCl₄'ün indirgenmesi ile sentezlemişlerdir. 0,2 M sülfürik asit çözeltisi içerisinde $1,0 \times 10^{-3}$ M kloramfenikol -0,627 V 'da katodik pik göstermiştir (Borowiec ve arkadaşları, 2013).

Min ve arkadaşları, nikel ile modifiye edilmiş camı karbon elektrot kullanarak doğrusal tarama voltametri yöntemiyle kloramfenikol tayini yapmışlardır. 0,1 M sodyum hidroksit içeren ortamda kloramfenikole ait katodik pik potansiyelini 1×10^{-3} M ile 1×10^{-5} M derişim aralığında -0,80 V olarak göz damlası içerisinde belirlemişlerdir (Min ve arkadaşları, 1998).

Demet ve arkadaşları, Konya'da satışa sunulmak üzere satış noktalarına getirilmiş 50 adet yumurta numunesinde HPLC yöntemi ile kloramfenikol ve furazolidon antibiyotik kalıntıları araştırmışlardır. Homojen hale getirilen yumurtalar pH 6 'da ki fosfatlı tampon çözeltisi ve asetonitril ortamında santrifüj edildikten sonra ekstrakte etmişler ve sonrasında süzme işlemine tabii tutmuşlardır. Süzme sonrasında ki kalıntı 1ml metanol / 0.5 ml n-hekzan kullanmışlardır. Yumurtalarda kloramfenikol ve furazolidon kalıntı tayini için kullanılan petz metodunu esas alarak çalışma yapmışlardır. Çalışma sonucunda yumurtalarda kloramfenikole rastlanmazken, 17 tanesinde ortalama 7,74 ug/kg furazolidona rastlamışlardır (Demet ve arkadaşları, Eurasian J Vet Sci, 1990, 6-7, 1, 061-063)

Şener, tavukların sularına 75 ve 100 ppm dozlarında kloramfenikol verilmesi sonucu, antibiyotik kalıntısının yumurtalara hangi miktarlarda geçtiğini tespit etmek amacıyla çalışmalar yapmıştır. Yumurtalara geçen kloramfenikol

miktarını gaz kromatografisi yöntemi kullanılmıştır. Numunenin ekstraksiyonu için n-hekzan, su ve etil asetat tercih etmişlerdir. Çeşitli yıkama ve santrifüj işlemlerinden sonra kuru olan kısmın üzerine kromatografik işlem için hekzametildisilazan, clorotrimetilsilan ve pridin (3:1:9) oranında ekleyip azot altında kurutmuş ve üzerine 1 ml n-hekzan ilave ederek GC 'de analizi gerçekleştirmiştir. Deneysel çalışma sonucunda antibiyotiğin geri kazanımı %85 olarak belirlenmiş ve metodun duyarlılığı 1ppb olarak tespit edilmiştir. İlacın tavukların sularına düzenli olarak katılması sonucunda en yüksek kloramfenikol artığı 3-7 günler arasında 200 ppb'yi aştığı gözlenmiştir. İlaç kesildiğinde ise antibiyotik atığının saptanabilir limitlerin altına düştüğünü en geç 13 gün sonra gözlemlenmişler (Şener, 1993).



3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

Elektrokimyasal Analiz Cihazı: Elektrokimyasal ölçümler CHI 660 D (Seri No. F1070) cihazı ile 3 elektrot tekniği kullanılarak oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir.

3.1.1. Kullanılan Elektrot Çeşitleri

Çalışma elektrotları: MCP 1, MCP 2, MCP 3, MCP 4, MCP 5 olarak grafit- grafen oksit- grafen ile modifiye edilerek hazırlanan karbon elektrotlar çalışma elektrodu olarak kullanılmıştır. Çizelge 3.1 'de hazırlanan karbon pasta elektrotları için kullanılan kimyasalların miktarları verilmiştir.

Çizelge 3.1 Karbon pasta elektrotların hazırlanmasında kullanılan miktarlar

| | Grafit (g) | Grafen Oksit (g) | Grafen (g) | Parafin (g) | İyonik sıvı (1-etil-3-metil imidazolyum etil sülfat (g) |
|-------|---------------|---------------------|---------------|----------------|--|
| MCP 1 | 4.5 | - | - | 0.8 | 0.125 |
| MCP 2 | 4.5 | 1 | - | 1.2 | 0.2 |
| MCP 3 | 4.5 | - | 1 | 1.6 | - |
| MCP 4 | 4.5 | 0.5 | - | 1.2 | 0.2 |
| MCP 5 | 4.5 | - | 0.5 | 1.6 | - |

Karşı elektrot: Platin levha (yüzey alanı 2 cm²) elektrot kullanılmıştır.

Referans elektrot: Üç elektrot tekniğinin uygulanması sırasında potansiyelin kontrol edilmesi amacıyla Ag, AgCl(k)|Cl⁻ (3M KCl) referans elektrotu kullanılmıştır.

Çalışma Elektrotları: Çizelge 3.1 'de verilen tüm MCP'ler ile, öncelik olarak hangisinin başarılı olduğuna karar verilmesi amacıyla denemeler yapılmıştır. Daha sonra içlerinden en uygun sonucun MCP 3 ile alınması sonucu kloramfenikol denemeleri bu pasta üzerinden devam etmiştir.

Kimyasallar: Kloramfenikol (Acros Organics), hariç kullanılan tüm kimyasallar Merck ve Sigma Aldrich'ten temin edilmiştir.

3.2. Gerçekleştirilen Analizler

Fourier Dönüştümlü Infrerad Spektroskopisi: Perkin Elmer marka Fourier Dönüştümlü Infrared Spektrofotometresi (FTIR) cihazı ile $365-4000\text{ cm}^{-1}$ dalga boyu aralığında alınan spektrumları incelenmiştir.

Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM): Hazırlanan MCP 3 yüzey morfolojisi incelenmiştir.

X- ışını Kırınım Analizi (XRD): Grafit, Grafen oksit ve Grafen için kristal yapılarında ki dönüşümlerin ne kadar gerçekleştiğinin tespiti için kullanılmıştır.

Enerji Dağılımlı X ışını Spektroskopisi (EDX): Hazırlanan MCP 3'ün hangi oranda karbon ve oksijen içerdiğini kalitatif ve kantitatif olarak belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir.

3.3. Metod

Öncelikle, karbon pasta yapımında kullanılmak üzere grafen oksit ve grafen sentezi gerçekleştirilmiştir. Sonrasında ise, karbon pasta elektrotlar Çizelge 3.1 'de ki oranlarda hazırlanmıştır. Uygun çözelti ortamında voltametrik analizler yapılmıştır.

3.3.1 Grafen Oksit Sentezi

Bu çalışmada Grafen oksit sentezlenirken modifiye Hummer metodu fosforik asit yerine nitrik asit kullanılarak uygulanmıştır. Nitrik asit, fosforik asitten daha iyi oksijen sağlayıcı bir ajan olduğu için bu çalışmada tercih edilmiştir.

3 g grafit üzerine flake 9:1 oranında H_2SO_4 : HNO_3 eklenmiş olup ani sıcaklık değişimlerinden dolayı buz banyosu ortamında çalışılmıştır. Bu karışımın üzerine 18 g $KMnO_4$ sıcaklık artışı göz önüne alınarak yavaş yavaş eklenmiştir. Karışım yaklaşık 19-20 saat $50^\circ C$ 'de karıştırıldıktan sonra içerisine 400 ml buz ve yaklaşık 10 ml H_2O_2 eklenmiştir. Pembe – mor rengin sarıya dönmesi beklendikten sonra ortamda ki asidi uzaklaştırmak için, ardışık 2 seri yıkama işlemi yapılmıştır. Yıkama yapılırken öncelik olarak 200 ml saf su 100 ml HCl- 200 ml etanol kullanılırken ikinci olarak 100 ml HCl, 200 ml Etanol- 200 ml dietiler – 200 ml saf su kullanılmıştır. Her yıkama sonrasında santrifüj işlemi uygulanmış olup santrifüjlenen çözeltinin sıvı kısmının pH değeri kontrol edilerek yıkama işlemine devam edilmiştir. Son yapılan 200 ml saf su ile yıkama sonrası çözelti pH'ının 7 olması için 0.1M NaOH çözeltisi kullanılmıştır. Süzme işlemi sonrasında kurutma yapılmıştır. Elde edilen grafen oksit numunesinin FT-IR ve XRD ölçümleri alınmış olup bir sonra ki aşama olan grafen sentezi için kullanılmıştır.

3.3.2 Grafen Sentezi

Grafen sentezi için birçok metod olmasına karşılık, bu çalışmada grafen oksit yüzeyinde bulunan karbonil, eterik ve hidroksil gruplarının indirgenmesinde en çok tercih edilen kimyasal olarak hidrazinyum hidroksit tercih edilmiştir. Grafen oksit / Hidrazinyum hidroksit 3:1 olacak şekilde tartım yapılmış olup ortama yaklaşık 30 ml kadar saf su eklenmiştir. Kapalı sistemde ve geri soğutucu altında yaklaşık 4 saat $80^\circ C$ de karıştırılıp süzme işlemi sonrasında $60^\circ C$ 'de kurutulmuştur. Sonrasında dönüşümü incelemek için FT-IR ve XRD ölçümleri alınmıştır.

3.3.3. Karbon Pasta Elektrotların Hazırlanması

Grafit, grafen oksit, grafen içerikli pastalar belirli oranlarda hazırlanmıştır. Oranlar belirlenirken, pastanın homojenize olma koşulları ve elektrokimyasal deney düzeneğinde çözelti içerisinde dağılmaması dikkate alınmıştır. Çizelge 3.1'de verilen oranlar dikkate alınarak hazırlanan pastalar 30 dakika homojen görünüm elde edilene kadar karıştırılarak hazırlanıp sonrasında şırınga içerisine doldurulmuştur. İletkenlik bakır tel yardımıyla sağlanırken, her ölçüm sonrasında yüzey, parlak bir kâğıt üzerinde dairesel hareketlerle pürüzsüz ve homojen hale getirilmiştir.

3.3.4. Destek Elektrolit Çözeltilerinin Hazırlanması

Çalışma elektrotları olarak kullanılan MCP'lerin, destek elektrolit çözeltiler içerisinde 3 elektrot düzeneği kullanılarak dönüşümlü voltametri ve kare dalga voltametriyle elektrokimyasal özellikleri incelenmiştir.

- 1. Potasyum Nitrat Çözeltisi:** 0,4 M KNO_3 çözeltisi, 40,44 g potasyum nitrat 1000 ml suda çözülerek hazırlanmıştır.
- 2. Potasyum Nitrat içerisinde farklı derişimlerde Potasyum Ferrosiyandır Çözeltisi:** 0,4 M potasyum nitrat çözeltisi içerecek şekilde, 40,44 g potasyum nitrat ile birlikte 10^{-2} M potasyum ferrosiyandır'den 36,835 g 1000 ml içerisinde çözülerek stok çözelti hazırlanmıştır. Çalışmada kullanılan diğer derişimler bu çözeltilerden seyreltilerek hazırlanmıştır. Bu çözeltilerde pH çalışmasında ise 1M NaOH ve 1 M HNO_3 kullanılmıştır.
- 3. Nitrik Asit Çözeltisi:** 1M HNO_3 hazırlamak üzere %65'lik HNO_3 çözeltisinden 17,33 ml alınarak, üzeri son hacim 250 ml olacak şekilde saf su ile tamamlanmıştır.
- 4. Sodyum Hidroksit Çözeltisi :** 1 M NaOH çözeltisi hazırlamak için 10 g NaOH 250 ml saf su içerisinde çözülmüştür. 5 M NaOH çözeltisi hazırlamak için 50 g NaOH 250 ml saf su içerisinde çözülmüştür.

5. **Asetik Asit Çözeltisi:** 1 M Asetik asit hazırlanırken; glacial asetik asitten 57,19 g alınarak son hacim 1000 ml olacak şekilde saf su ile tamamlanmıştır.
6. **Metanol Çözeltisi:** %10'luk metanol çözeltisi hazırlamak için, %99'luk metanol'den 25 ml alınarak, 250 ml'ye saf su ile tamamlanmıştır.
7. **Farklı derişimlerde Kloramfenikol Çözeltisi:** Bu çalışmada kloramfenikol çözeltisi farklı iki derişimde stok olarak hazırlanmıştır. Daha sonrasında diğer derişimler bu çözeltilerden seyreltilerek hazırlanmıştır. 10^{-2} M kloramfenikol çözeltisi hazırlamak için, 16,16 g kloramfenikol 500 ml saf su içerisinde çözümlenerek hazırlanmıştır.

3.3.5. Dönüşümlü Voltametri Tekniğinde Kullanılan Parametreler

Bu tez çalışması kapsamında, 5 farklı modifiye pasta için tarama hızı, pH ve derişim çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Dönüşümlü voltametri tekniği kullanılarak yapılan çalışmalarda aşağıda aktarılan parametreler uygulanmıştır.

0,4 M potasyum nitrat, 4 farklı derişimde ferrosiyaniür ile hazırlanan elektrolitik çözeltilerde pH 4,7 ve 10 için tarama hızı ve derişim çalışması yapılmıştır. Ferrosiyaniür içeren elektrolit ortamında tarama hızı 25,50,100,150 ve 200 mV olarak incelenmiştir. Derişim çalışmaları ise 5×10^{-4} , 1×10^{-3} , 5×10^{-3} , 1×10^{-2} M arasında -0,8 ile 0,2 V arasında çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

En uygun elektroaktif elektrot olarak seçilen MCP 3 ile Kloramfenikol tayini için yapılan dönüşümlü voltametri tekniğinde ise, pH $2,6 \pm 1$ asetik asit ve %10'luk metanol içeren elektrolit ortamında 5 farklı tarama hızında 100, 150, 200, 250, 300 mV çalışmalar yapılırken derişim incelemeleri ise 5×10^{-5} , 1×10^{-4} , 2×10^{-4} , 4×10^{-4} , 1×10^{-3} M kloramfenikol çözeltisi içerisinde +0,9 ile -0,9 V tarama yönünde gerçekleştirilmiştir.

3.3.6. Kare Dalga Voltmetri Tekniğinde Kullanılan Parametreler

Dönüştürümlü voltmetri tekniği ile tayini gerçekleştirilen kloramfenikol'ün duyarlılığı daha yüksek olan kare dalga voltmetrisi ile pH 2,6±1 asetik asit ve %10'luk metanol içeren elektrolit ortamında 5 farklı frekans değerinde 15, 25, 35, 50, 75, 100 Hz değerlerinde çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Derişim incelemeleri ise 5×10^{-5} , 1×10^{-4} , 2×10^{-4} , 4×10^{-4} , 1×10^{-3} M kloramfenikol çözeltisi içerisinde incelenmiştir. Çizelge 3.2 'de yer alan parametreler kare dalga voltmetrisi için kullanılmıştır.

Çizelge 3.2 Kare dalga voltmetrisi için parametreler

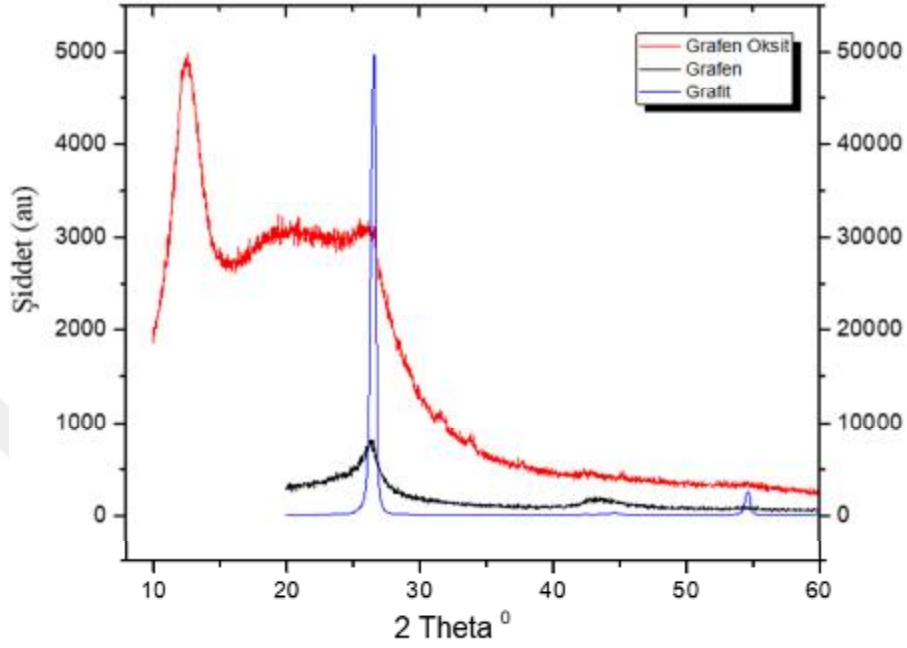
| Başlangıç Potansiyeli (V) | Final Potansiyeli (V) | Puls Basamağı (V) | Genlik (V) | Frekans (Hz) |
|---------------------------|-----------------------|-------------------|------------|--------------|
| 0 | -0,8 | 0,004 | 0,025 | 15 |
| 0 | -0,8 | 0,004 | 0,025 | 25 |
| 0 | -0,8 | 0,004 | 0,05 | 35 |
| 0 | -0,8 | 0,004 | 0,05 | 50 |
| 0 | -0,8 | 0,004 | 0,05 | 75 |
| 0 | -0,8 | 0,004 | 0,05 | 100 |

Bu çalışma parametreleri uygulandığında elde edilen sonuçlar, bulgular ve tartışma kısmında değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada deneysel bulgular ve değerlendirmeler başlıca 3 ana başlık altında toparlanabilir. İlk aşamada; pastaların hazırlanması için gerekli olan grafen oksit, grafitten yola çıkılarak modifiye Hummer's metodu ile sentezlenmiştir. Sonrasında sentezlenen grafen oksit, hidrazinyum hidroksit ile indirgenerek grafen sentezi gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen maddelerin yapıları XRD, FTIR analizleri ile gerçekleştirilerek, sentezin başarısı değerlendirilmiştir. İkinci aşamada ise; grafit, grafen oksit ve grafen kullanılarak farklı oranlarda parafin, parafin/iyonik sıvı ile modifiye edilmiş pasta elektrotlar hazırlanmıştır. Grafenin yapısında sp^2 hibritleşmesi ve delokalize π bağları bulundurması grafene olağanüstü iletkenlik özelliği kazandırmasından dolayı grafitle birlikte olarak kullanılmıştır. Bu yolla hazırlanan pasta elektrotların, sulu çözeltideki davranışlarını karakterize etmek amacıyla, genel elektrokimyasal özellikleri ve kararlılıkları dönüşümlü voltametri tekniği ile incelenmiştir. Hazırlanan modifiye karbon pasta elektrotlar içerisinde, farklı pH, derişim ve tarama hızlarında elde edilen voltamogramlar değerlendirildiğinde, en ideal elektroaktivite sergileyen MCP elektrot, yükseltgenme-indirgenme pik akımları, yarı dalga pik potansiyelleri ve geçen yük miktarları karşılaştırılarak belirlenmiştir.

Seçilen MCP çalışma elektrodu için öncelikle, yüzey morfolojisi ve hangi oranda karbon ve oksijen içerdiğini kalitatif ve kantitatif olarak belirlenmesi için SEM ve EDX analizleri yapılmıştır. Üçüncü aşamada ise kloramfenikol tayini için optimum çalışma koşulları belirlendikten sonra, dönüşümlü voltametri ve kare dalga voltametri tekniği uygulanmıştır. Şekil 4.1'de grafit ve sentezlenen grafen oksit ve grafene ait XRD analiz sonucu verilmiştir.



Şekil 4.1. Grafite-Grafen oksit – Grafen XRD analizi

Şekil 4.1’de grafit, grafen oksit, grafene ait XRD analiz sonuçları ile literatürde yer alan (002) düzleminde ki XRD ölçüm değerleri arasında paralellik görülmektedir (Krishnamoorthy ve ark, 2012).

Grafit, $2\theta = 26,62^\circ$ de tabaklar arası mesafesi $3,34 \text{ \AA}$ olan keskin bir pik vermektedir. Grafit, grafenoksit yükseltgenmesi aşamasında, grafitte ait tabakalar arasına çok fazla oksijen içeren fonksiyonel gruplar yerleşmesiyle, tabakalar arası mesafenin artması ve 2θ açısında da azalma meydana gelmesi beklenen bir sonuçtur.

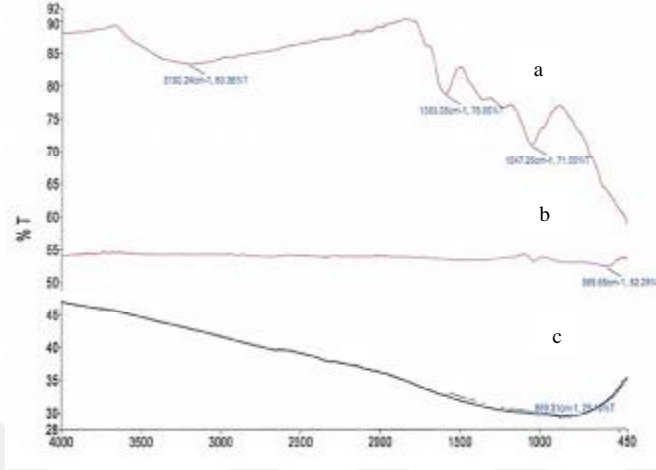
Grafit’in modifiye Hummer’s metodu ile yükseltgenmesinden sonra (002) düzleminde elde edilen XRD sonucuna göre $2\theta = 12,52^\circ$ grafen oksitin kırınım desenine karşılık gelen artan yükseltgenme seviyeleri ile birlikte daha düşük bir kırınım açısına karşılık gelmesi ayrıca grafen oksite ait atomik tabakalar arası mesafenin grafit ile kıyaslandığında $3,34 \text{ \AA}$ ‘den $7,06 \text{ \AA}$ çıkması grafit dönüşümünün gerçekleştiğini göstermektedir. Grafen oksitten hidrazinyum

hidroksit aracılığıyla kimyasal yolla grafene dönüşümünde ise grafene ait XRD sonuçlarında grafen oksit yüzeyinde ki, oksijen içeren fonksiyonel grupların indirgenmesiyle tabakalar arası mesafenin azalacağı ön görülmektedir. Grafene ait X-ışını kırınımında tabaka aralığı 3,375 Å iken kırılma açısı ise $2\theta=26,38^\circ$ de yayvan bir pik göstermiştir. Grafen ile grafen oksit karşılaştırıldığında grafen oksite ait tabakalar arası mesafe, oksijen içeren fonksiyonel grupların indirgenmesiyle 7,06'dan 3,375 Å'a düşmüş böylece uygun dönüşümün gerçekleştiği görülmüştür.

Ek olarak grafit, grafen oksit ve grafene ait dönüşümlerin hangi fonksiyonel gruplar üzerinden ilerlediğini görmek amacıyla FT-IR analizleri yapılmıştır. Şekil 4.2'de Grafit, grafen oksit ve grafene ait FT-IR spektrumu yer almaktadır. Literatürde yer alan organik fonksiyonel gruplara ait frekans aralıkları Çizelge 4.1'de verilmektedir.

Çizelge 4.1 Organik Fonksiyonel Gruplara ait FT-IR frekans aralıkları

| | |
|---|----------------------------|
| C=O (aldehit, keton, karboksilik asit, ester) | 1760-1690 cm^{-1} |
| O-H (hidroksil) | 3600-3200 cm^{-1} |
| C=C (alken) | 1610-1680 cm^{-1} |
| C=C (aromatik halka) | 1600-1500 cm^{-1} |
| C-O (alkoksi) | 1300-1050 cm^{-1} |



Şekil 4.2. a) grafen oksit b) grafen c) grafit 'e ait FT-IR analizleri

Şekil 4.2'de grafit, grafen oksit ve grafen için verilen FT-IR analiz sonuçları incelendiğinde 1583 cm^{-1} de C=C titreşim piki, O-H gruplarının titreşim piki 3190 cm^{-1} , C-O alkoksi gerilme titreşim piki 1047 cm^{-1} görülmektedir.

XRD ve FT-IR analizleri ile incelenen grafit, grafen oksit ve grafen için dönüşümlerin uygunluğu literatürle ile karşılaştırılmış olup, modifiye karbon pasta elektrotların hazırlanmasında katkı malzemeleri olarak kullanılacak olan grafen oksit, grafenin başarı ile sentezlendiğini göstermektedir.

Çalışma elektrotlarının, elektrokimyasal özelliklerini incelemek amacıyla voltametrik ölçümler alınmıştır. Bu doğrultuda pH, tarama hızı ve analit derişiminin etkileri ayrı ayrı ele alınmıştır. Elde edilen sonuçların karşılaştırılmasında, pik akımları, yarı dalga potansiyelleri ve yükseltgenme/indirgenme sırasında geçen yük miktarları değerlendirme kriterleri olarak kullanılmıştır.

İlk olarak, platin (Pt) çalışma elektrodu kullanılarak, $0,4\text{ M KNO}_3$ ve $0,4\text{ M KNO}_3 + 10^{-2}\text{ M K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ içeren elektrolit ortamlarında, farklı pH'larda voltametri çalışmaları yapılmıştır. Böylece, modifiye karbon pasta elektrotlarda meydana gelen piklerin pastadan kaynaklı olup olmayacağını tespit edilmesi amaçlanmıştır. Sonrasında ise, aynı elektrolitik ortamlarda farklı bileşimlerde

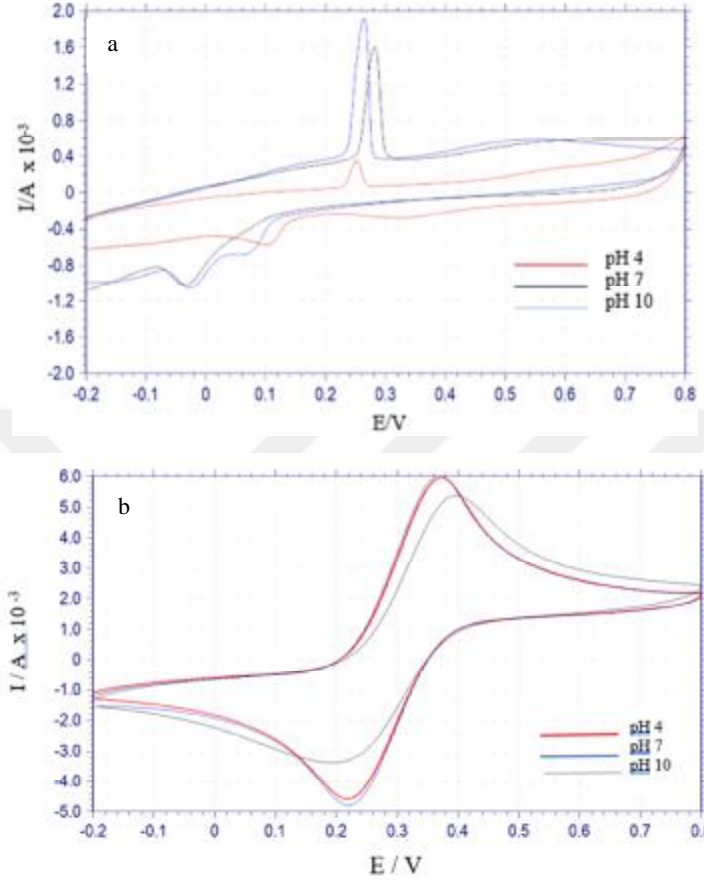
hazırlanmış 5 farklı modifiye karbon pasta elektrodunun voltametrik analizleri, farklı pH'larda gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar üzerinden, yükseltgenme/indirgenme pik akımının, yarı dalga potansiyelinin ve geçen yük miktarının ne kadar etkilendiği belirlenmiştir. En yüksek elektrokatalitik etkinliğe sahip elektrot bileşimi belirlendikten sonra, bu modifiye karbon pasta için, tarama hızı ve derişim çalışmaları yapılmıştır. Devamında ise, kloramfenikol'e ait çalışmalar dönüşümlü voltametri ve kare dalga voltametrisi tekniği ile incelenmiştir.

4.1. Deneylerde Kullanılan Elektrotların Elektrokimyasal Davranışları

4.1.1. Platin Elektrot

Platin elektrotlar ile yapılan çalışmalarda, elde edilen piklerin modifiye karbon pasta içeriğinden kaynaklı olup olmayacağını tespit edilmesi amaçlanmıştır. Bu nedenle, platin ile çalışılan elektrolit çözeltileri ve pH aralıkları modifiye karbon pasta elektrotlarla çalışılan değerlerle aynıdır.

Farklı pH'larda çalışıldığında, platin çalışma elektrodunun 0,4 M KNO₃ ve 0,4 M KNO₃+10⁻²M K₄[Fe(CN)₆]•3H₂O çözeltisinde farklı pH'larda alınmış dönüşümlü voltamogramı Şekil 4.3'de verilmiştir.



Şekil 4.3. Pt elektrot a) 0,4 M KNO₃ b) 0,4 M KNO₃+10⁻²M K₄[Fe(CN)₆]•3H₂O çözeltilisinde 200 mV tarama hızında farklı pH denemeleri

Şekil 4.3 a'da 0,4 M KNO₃ çözeltilisi içerisinde elde edilen dönüşümlü voltamogramlarda, 0,3V'da görülen oksidasyon pikine karşılık platin oksit oluşumunun artan pH ile giderek arttığı görülmektedir. Geri yöndeki tarama sırasında da buna bağlı olarak indirgeme piklerinin de büyüdüğü görülmektedir. Platinin elektrokimyasal davranışı, 25°C'de platin-su sisteminde yürüeyebilecek reaksiyonlar ve bunların denge koşullarındaki potansiyel- pH ilişkileri aşağıda verilmiştir. Pt için olası elektrokimyasal dönüşüm tepkimeleri Eşitlik 4.1-4.3'de aşağıda verilmiştir.

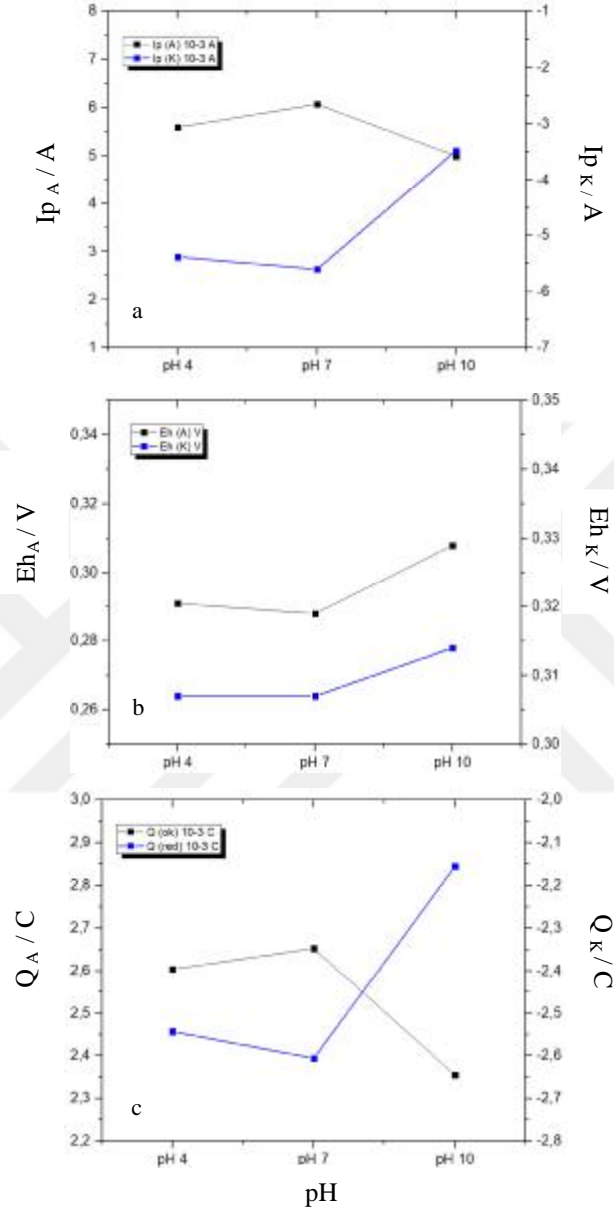


Şekil 4.3'de ki b grafiğinde ortama $10^{-2}\text{M K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ eklendikten sonra elde edilen voltamogramlar görülmektedir. İleri yöndeki tarama sırasında, +0,2 ile +0,4 V potansiyel aralığında, gözlenen yükseltgenme piki, ferrosiyanın ferrisiyanüre yükseltgenmesine karşılıktır ve bu tersinir reaksiyon Eşitlik 4.5'de verildiği gibidir.



pH 4 ve 7'de elde edilen sonuçlar oldukça benzer olmakla birlikte, pH 10'a çıkartıldığında pik akımlarında hafif bir düşüş gerçekleşirken, pik potansiyellerinde de bir miktar kayma söz konusudur.

Şekil 4.4'de ise Pt elektrot kullanılarak 0,4 M KNO_3 ve 0,4 M $\text{KNO}_3 + 10^{-2}\text{M K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{HO}$ çözeltisi içerisinde pH'a karşı, yükseltgenme/indirgenme tepkimelerine karşılık pik akımları (I_{pA} ve I_{pK}), yarı dalga potansiyeli (E_{hA} ve E_{hK}) ve yük (Q_A ve Q_K) grafikleri verilmiştir.



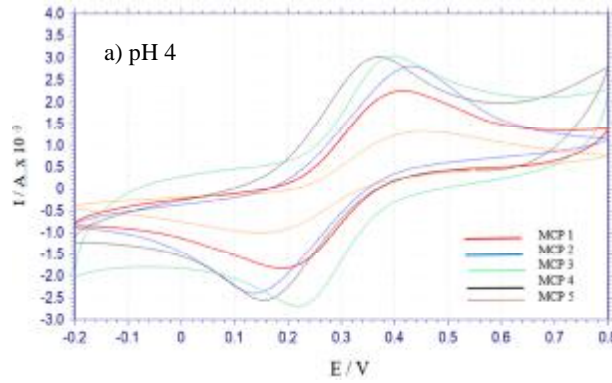
Şekil 4.4. Pt elektrot kullanılarak 0,4 M KNO₃+10⁻²M K₄[Fe(CN)₆]·3H₂O çözeltisi içerisinde a) Ip_A/ Ip_K- pH b) Eh_A/ Eh_K -pH c) Q_A/ Q_K- pH grafiği

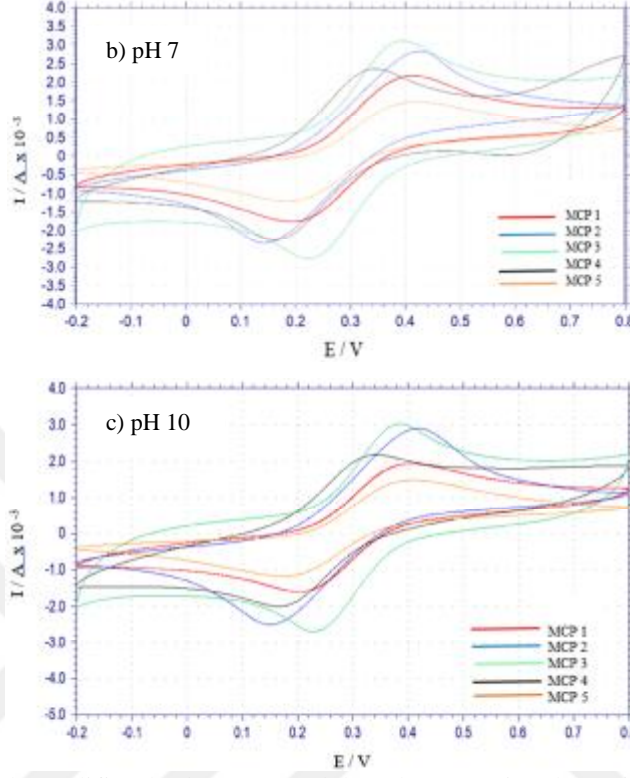
pH 4 ve 7'de yarı dalga potansiyellerinde farklılık gözlenmemişken, pH 10'a çıkarıldığında pik akım şiddetinde meydana gelen azalmayla birlikte geçen

yük miktarlarının da azaldığı görülmektedir. Bu durum artan pH ile birlikte Pt yüzeyinde daha fazla oksit oluşmasına bağlı etkinliğin azalması ve artan OH⁻ iyonu derişimine bağlı olarak ferrosiyanür ile OH⁻ arasında yarışmalı adsorpsiyon ile ilişkilendirilmiştir.

4.1.2. Farklı Bileşimlerde Hazırlanan Modifiye Karbon Pastalar ile pH Çalışmaları

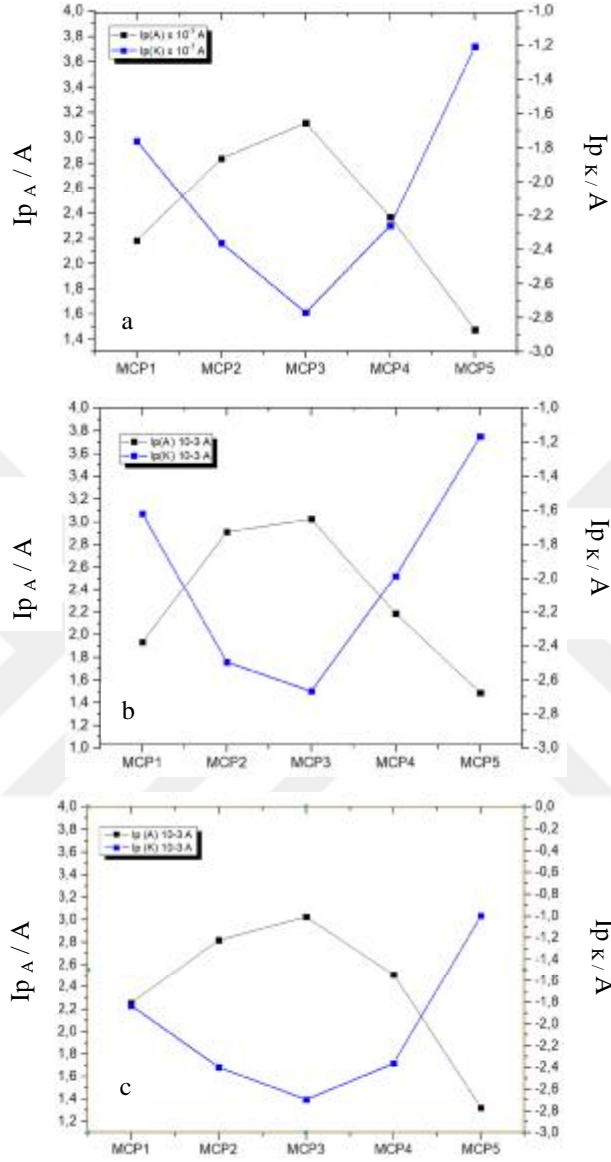
Şekil 4.5’de farklı modifiye karbon pasta elektrotların, 0,4 M KNO₃ + 10⁻² M K₄[Fe(CN)₆] • 3H₂O çözeltisi içerisinde, 200 mV tarama hızı sırasıyla pH 4,7 ve 10’da dönüşümlü voltametri (CV) tekniğiyle elektrokimyasal davranışları incelenmiştir. [Fe(CN)₆]^{3-/4-} dönüşümüne ait piklerde, pastaların içeriklerinden kaynaklı akım ve potansiyel parametrelerinde önemli değişiklikler meydana gelmektedir. Şekil 4.6-4.8 arasında ki grafiklerde, aynı elektrotlar için yükseltgenme/indirgenme pik akımı, yarı dalga potansiyel grafiği ve yük grafikleri verilmektedir.



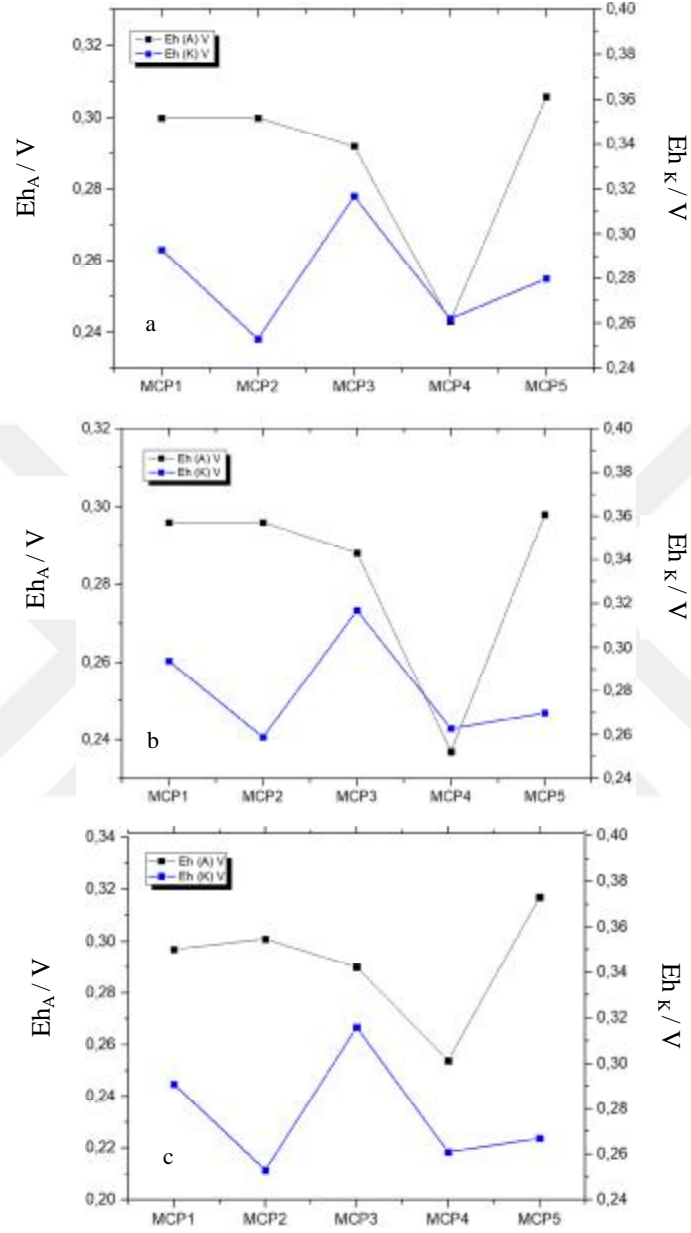


Şekil 4.5. Farklı modifiye karbon pasta elektrotların pH incelemesi a) pH 4, b) pH 7 c) pH 10

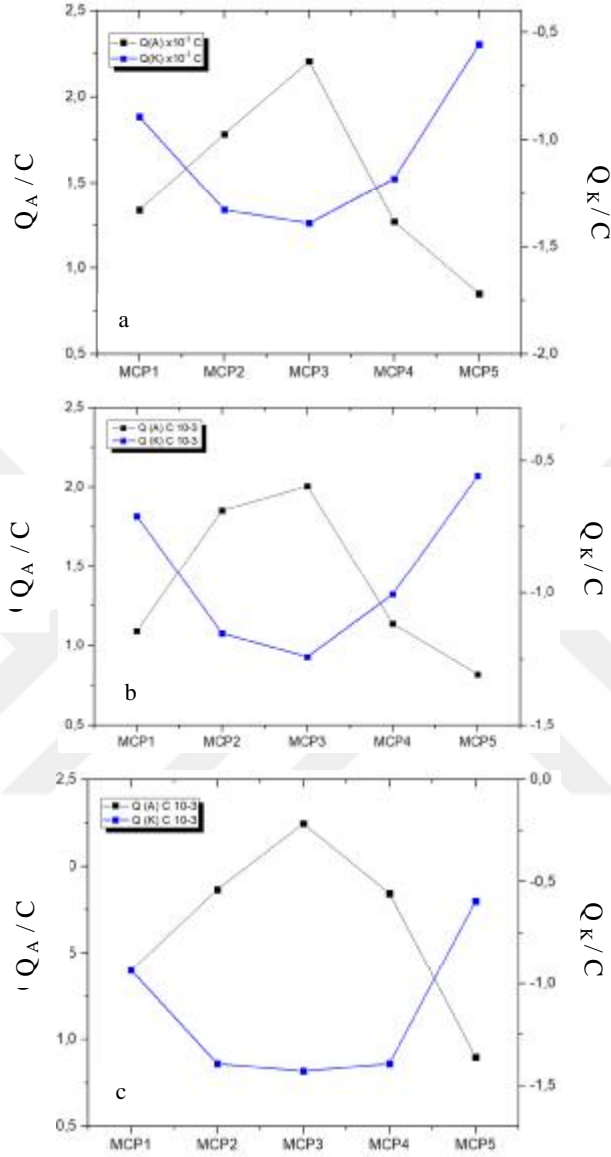
Şekil 4.5'te verilen dönüşümlü voltamogramlarda, grafen oksit içeren MCP 2 ve MCP 4 'e ait CV'ler de incelenen her pH değerinde, ferrosiyanür- ferrisiyanür dönüşümüne ait oksidasyon redüksiyon pik potansiyellerinde ki kaymaların, platin ile yapılan çalışmalarla kıyaslandığında, pasta bileşiminden kaynaklı olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca grafit içeren MCP 1 ve MCP 3'e göre kütlece düşük oranda grafen içeren MCP 5 incelendiğinde pik potansiyellerinde kayma gözlenmezken, pik akımlarında düşmeler ve pikin altında kalan alanda azalmalar olduğu görülmüştür. Bu yorumlamalar Şekil4.6-4.8'de ki pik akımı, yarı dalga potansiyeli ve yük grafiklerinde değerlendirilmiştir.



Şekil 4.6. Farklı modifiye karbon pasta elektrotların, 0,4M $KNO_3 + 10^{-2}$ M $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$ çözeltisi içerisinde sırasıyla a) pH4, b) pH7, c) pH10 – I_{pA} / I_{pK} grafiği



Şekil 4.7. Farklı modifiye karbon pasta elektrotların, 0.4M KNO₃+10-2 M K₄[Fe(CN)₆]•3H₂O çözeltisi içerisinde a) pH4, b) pH7, c) pH10 Eh_A/ Eh_K



Şekil 4.8. Farklı modifiye karbon pasta elektrotların, $0.4 \text{ M KNO}_3 + 10^{-2} \text{ M K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ çözeltisi içerisinde a) pH4, b) pH7, c) pH10 Q_A/Q_K grafiği

Bu tez kapsamında mevcut karbon pasta elektroda seçicilik ve etkin elektroaktif özellik kazandırmak amacıyla içerisine farklı oranlarda grafen oksit / iyonik sıvı ve grafen katkılması yapılmıştır. Böylece elde edilen

yükseltgenme/indirgenme pik akımları ve bu dönüşümlere karşılık geçen yük değerlerinde iyileşmeler sağlanarak analite karşı seçiciliğinin, duyarlılığının artırılması amaçlanmıştır.

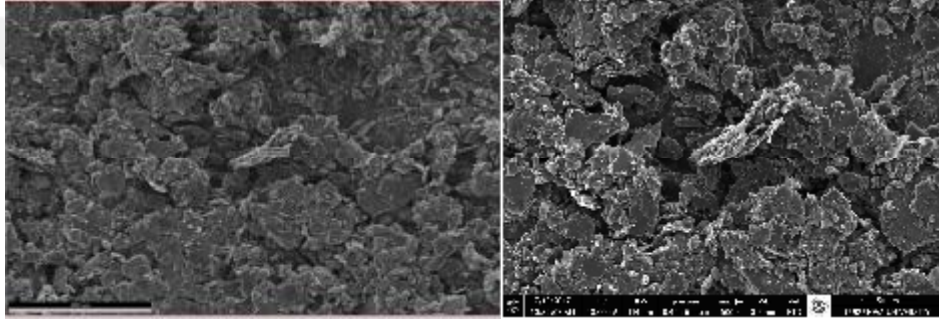
MCP 3 elektroduna ait, 0,4 M $KNO_3 + 10^{-2}$ M $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$ çözeltisi içerisinde ileri ve geri yöndeki pik akım değerleri incelendiğinde pH değişimden en az etkilenen pasta olduğu görülmektedir. Yük miktarı incelendiğinde ise, pik akımıyla paralel sonuçlar verirken özellikle geri yönde ki taramalarda pH 4' te az da olsa diğer pastalara göre artış olduğu özellikle MCP 2 ve MCP 4 'te görülmektedir. Bu değerler göz önüne alındığında yarı dalga potansiyel değerlerinin diğerlerine kıyasla yüksek olması nedeniyle kloramfenikol ile çalışmada kullanılmamıştır. MCP 4'ten sonra ileri yönde en düşük yarı dalga pik potansiyeline sahip olan MCP 3 kloramfenikol çalışmaları için en uygun özellikteki pasta olarak belirlenmiştir. Diğer modifiye karbon pasta elektrotlar incelendiğinde, pasta bileşimlerinin doğrudan pik akımlarını ve geçen yük miktarlarını etkilediğini söyleyebiliriz.

MCP 5 ile MCP 3 karşılaştırıldığında, içerikleri aynı olmasına rağmen, farklı oranlarda grafen içermeleri sebebiyle meydana elektriksel iletkenlik farkı ve elektrik sinyalinin iletme yeteneği değişiklik göstermektedir. Buna bağlı olarak da MCP 5'e ait pik akımlarında azalma meydana gelmesi grafen içeriği ile açıklanabilir. Ayrıca MCP1, MCP 3 ve MCP 5, grafit ve grafen temelli pastalar oldukları için yapıda az sayıda C=O grubu ihtiva ettiği düşünüldüğünde ve buna bağlı olarak yapıda sp^2 hibritleşmesi göz önüne alındığında, elektron aktarımı sırasında, elektronun herhangi bir oksijen içeren fonksiyonel grupla karşılaşmaması ve iletkenliğinin yüksek olmasıyla, ileri ve geri yönde ki taramalarda geçen akım ve yük miktarının MCP 2 ve MCP 4 'e göre fazla olması beklenen bir durumdur.

Kütlece farklı oranlarda grafen oksit ile hazırlanan MCP 2 ve MCP 4, MCP 3 ile kıyaslandığında, pasta içeriğinde ilave iyonik sıvı (1-etil-3-metil imidazolyum etil sülfat) bulunmasına rağmen pik akımlarında azalmalar meydana gelmesinin sebebi; grafen oksite ait oksijen içeren fonksiyonel grupların elektrotların iletkenlik

değerini azaltmasıdır. Ancak bu pastalara ait özelliklerin, grafit içeren MCP 1 ile kıyaslanmasında MCP 1'e göre iyileştiği görülmüştür.

Tüm bu değerlendirmeler sonucunda, MCP 3 çalışma elektrodunun pH hassasiyetinin minimum olması ve diğer kriterlerin uygun olması sebebiyle, kloramfenikol tayini için kullanılmasına karar verilmiştir. Tercih edilen MCP 3 için yüzey morfolojisi Şekil 4.9 'da SEM görüntüsü ve Şekil 10'da MCP3'ün yapısında ki içerik ile ilgili bilgiler EDX ile incelenmiştir.



Şekil 4.9. MCP 3'e ait SEM görüntüleri

Şekil 4.10'da MCP 3 elektrodunun yüzey morfolojisi SEM ile incelenmiştir. Farklı piksellerde yüzeyin oldukça gözenekli olduğu gözlenmiştir buna bağlı olarak elektrot yüzey alanının geniş olması, pik akımlarında meydana gelen artış ile ilişkilendirilmiştir. Çizelge 4.1'de MCP 3'e ait EDX ölçümünün verileri verilmektedir.

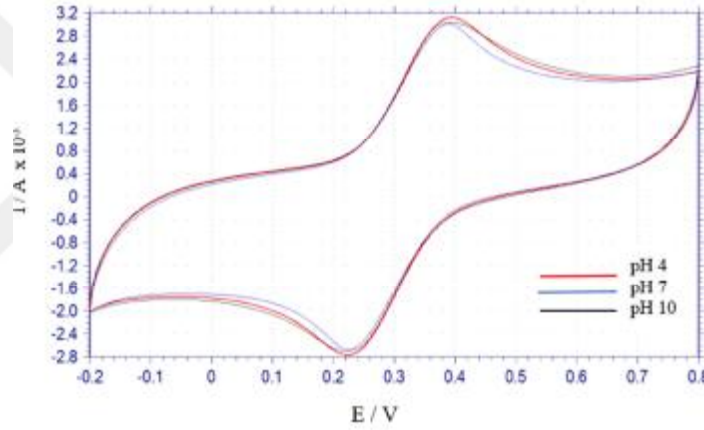
Çizelge 4.1. MCP 3 EDX ölçümü verileri

| Element | Ağırlık % | Atom % |
|---------|-----------|--------|
| C | 97.63 | 98.21 |
| O | 2.37 | 1.79 |

Çizelge 4.1' EDX ölçüm sonucuna göre MCP 3'ün içerik olarak sadece grafit ve grafen 'den oluşması bu nedenle pasta içeriğinde oksijen içermemesi durumu, %2,37 olarak oksijen bulunmasıyla doğrulanmıştır.

4.2. MCP 3 İçin Dönüşümlü Voltametri Bulguları

Çalışma elektrodu olarak tercih edilen MCP 3 ile yapılan 0.4 M $\text{KNO}_3 + 10^{-2}$ M $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ çözeltisi içerisinde farklı tarama hızlarında, derişimlerde ve pH'larda akım- yarı dalga potansiyelleri ve yük miktarı değerlendirilmiştir. Şekil 4.11'de farklı pH'lar daki dönüşümlü voltamogramları yer almaktadır.

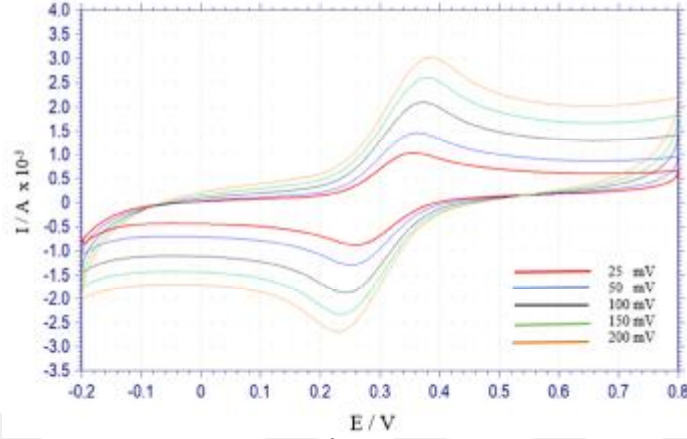


Şekil 4.10. MCP 3 0,4 M $\text{KNO}_3 + 10^{-2}$ M $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ içerisinde 200mV tarama hızında, farklı pH grafiği

MCP 3 için Şekil 4.11'de verilen akım/potansiyel voltamogramlarında pH kontrollü olmadığı yorumunu yapabiliriz. pH hassasiyetinin yüksek olmaması sebebiyle optimum pH 7'de, diğer parametrelerin değerlendirilmesi yapılmıştır.

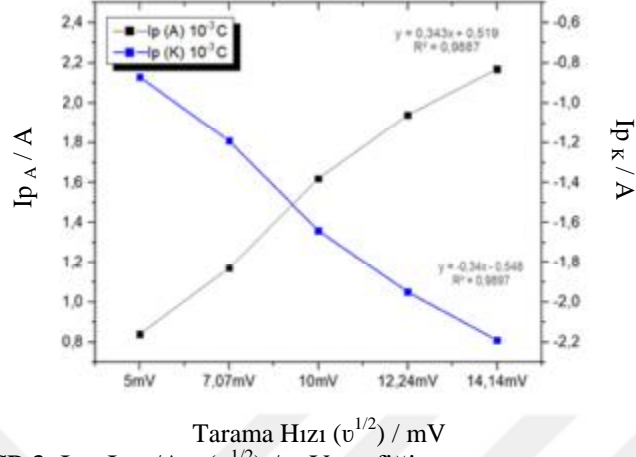
4.2.1. MCP 3 - Tarama Hızına Bağlı Dönüşümlü Voltametri Bulguları

Optimum pH koşulu belirlendikten sonra Şekil 4.12'de verilen MCP 3 0,4 M $\text{KNO}_3 + 10^{-2}$ M $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ içerisinde farklı tarama hızlarında dönüşümlü voltametri tekniği uygulanmaktadır.



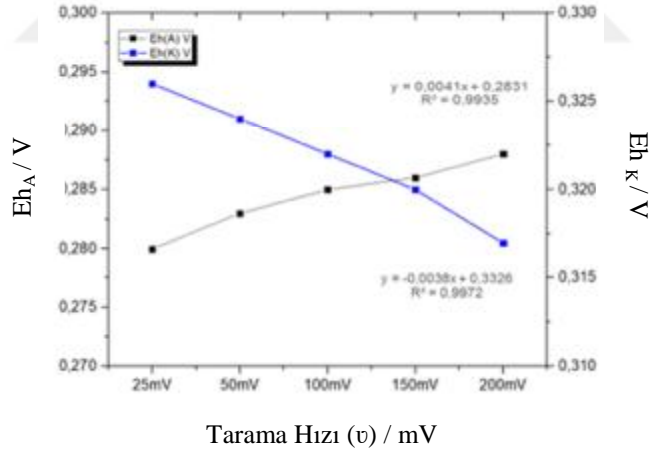
Şekil 4.11. MCP 3 0,4 M $\text{KNO}_3 + 10^{-2}$ M $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ içerisinde pH 7’de farklı tarama hızı grafiği

Şekil 4.12’ de pH 7’de 0,4 M $\text{KNO}_3 + 10^{-2}$ M $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ içerisinde yükseltgenme ve indirgenme akımlarının, tarama hızının artmasıyla arttığı görülmüştür. Aynı zamanda tersinir bir dönüşümde, tarama hızının değişmesiyle ile pik potansiyelinin değişmemesi gerektiği için MCP 3 ile yapılan bu çalışmada da pik potansiyellerinin yakın olduğu görülmektedir. Randles- Sevcik eşitliğinden yola çıkılarak tersinir bir dönüşümde, pik akım değerleri tarama hızının karekökü ile orantılı olarak değişmelidir ayrıca yarı dalga potansiyeli tarama hızından bağımsız olmalıdır. Şekil 4.13’de yükseltgenme ve indirgenme pik akımına karşılık tarama hızının karekökü grafiğe geçirilmiştir. Aynı şekilde yarı dalga potansiyeline karşı tarama hızı grafiği de Şekil 4.14’ de verilmiştir. Şekil 4.15’te ise indirgenme yükseltgenme yük değerine karşı tarama hızı incelenmiştir.

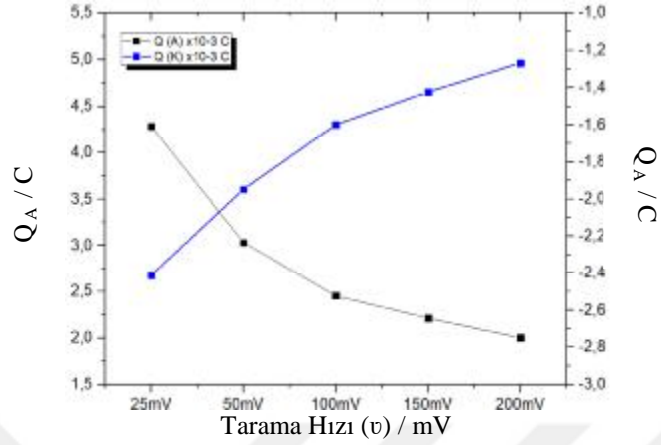


Şekil 4.12. MCP 3 $I_{pA}-I_{pK}/A- (v^{1/2}) / mV$ grafiği

Şekil 4.13'de pik akımlarının tarama hızının kareköküne karşılık çizilmiş grafikleri incelendiğinde grafiğin doğrusal olması ve eğimin 0,34 olması incelenen dönüşümün difüzyon kontrollü olduğunu göstermektedir.



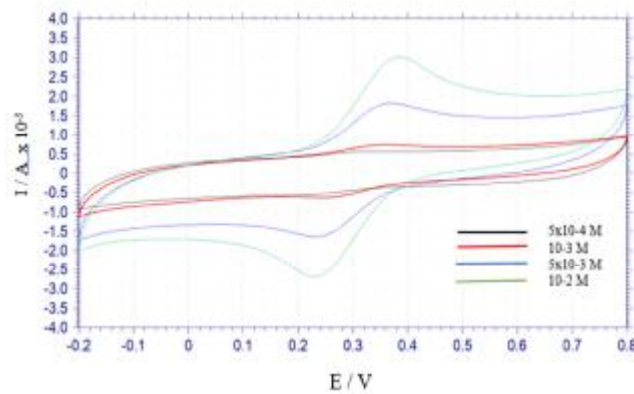
Şekil 4.13. MCP 3 $E_{hA}-E_{hK} / V - v / mV$ grafiği

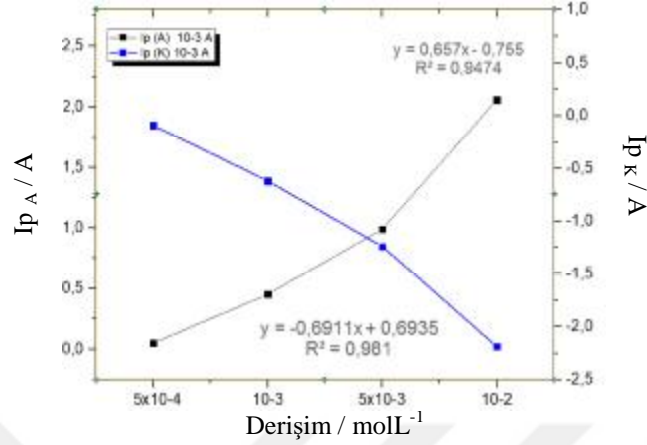
Şekil 4.14. MCP 3 Q_A - Q_K / C – v / mV grafiği

Yükseltgenme ve indirgenme yük miktarı ise, pik akımları ile bağlantılı olarak paralellik göstermiştir

4.2.2. MCP 3 - Derişime Bağlı Dönüşümlü Voltametri Bulguları

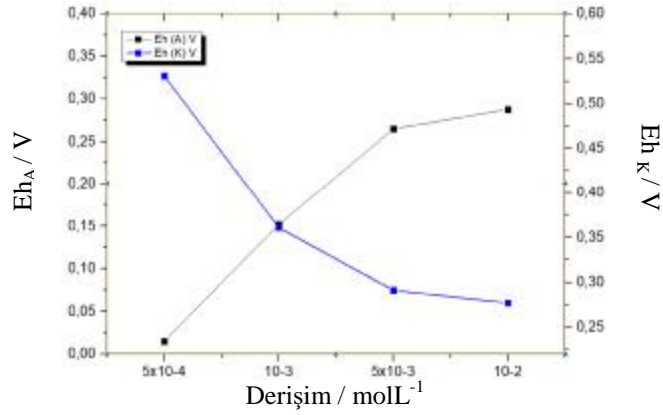
Çalışma elektrodu olarak tercih edilen MCP 3 ile yapılan 0,4 M KNO_3 ve farklı derişimler de ki $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$ çözeltisi içerisinde farklı tarama hızlarında akım- yarı dalga potansiyelleri ve yük miktarı bulguları değerlendirilmiştir.

Şekil 4.15. MCP 3 pH 7 0.4 M KNO_3 – farklı derişimlerde $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$ içerisinde dönüşümlü voltametri voltamogramları

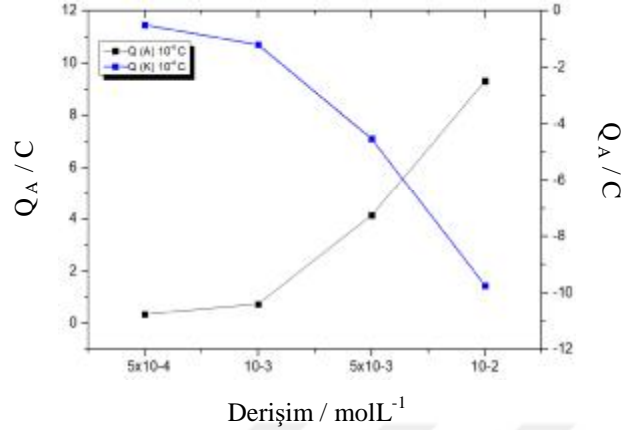


Şekil 4.16. MCP 3 pH 7 0.4 M KNO₃ – farklı derişimler de K₄[Fe(CN)₆] • 3H₂O içerisinde Ip_A-Ip_K / A- Derişim / molL⁻¹ grafiği

Derişime karşı pik akımı grafiğinin lineere yakın olması, MCP 3 yüzeyinde gerçekleşen olayın difüzyon kontrollü olduğunu gösterirken, eğim değerinin ise 0,65 civarında olması da adsorpsiyon kontrolü etkisi altında kaldığını göstermektedir (Çorbacıoğlu, 2013).



Şekil 4.17. MCP 3 pH 7 0.4 M KNO₃ – farklı derişimler K₄[Fe(CN)₆] • 3H₂O içerisinde Eh_A-Eh_K / V - Derişim/ molL⁻¹ grafiği



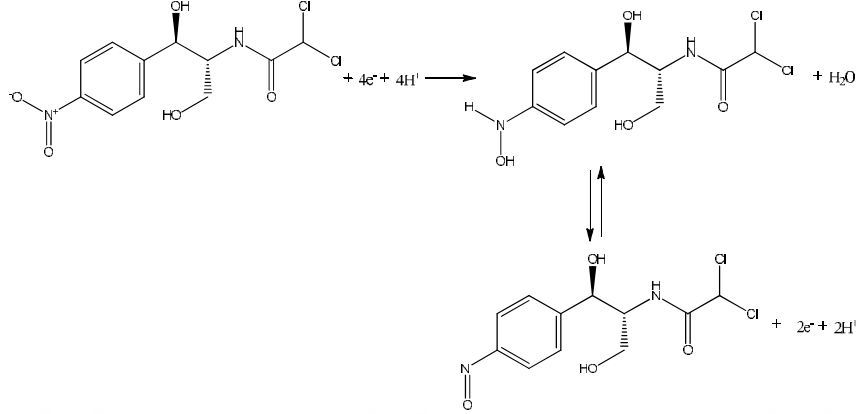
Şekil 4.18. MCP 3 pH 7 0.4 M KNO₃ – farklı derişimler K₄[Fe(CN)₆]•3H₂O içerisinde Q_K/ C – Derişim/ molL⁻¹ grafiği

Şekil 4.18 'de verilen yarı dalga pik potansiyellerine karşı derişim grafiğinde, derişim arttıkça ileri yönde ki yarı dalga potansiyelinin artması konsantrasyon aşırı gerilim potansiyeli ile ilişkilidir.

Şekil 4.19'da verilen yüke karşı derişim grafiğinde ise derişim arttıkça geçen yük miktarında artmalar gözlenmiştir.

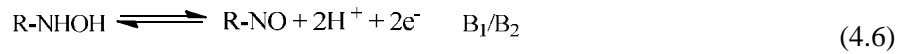
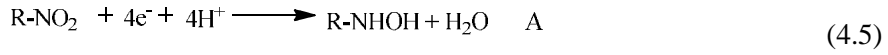
4.3. MCP 3 Kloramfenikol İncelemesi Dönüşümlü Voltametri Bulguları

Çalışmanın bu aşamasında, kloramfenikol 'ün farklı derişimlerde, farklı tarama hızlarındaki deneysel çalışmaları, pH 2.6±1 arasında ölçülen 1 M asetik asit çözeltisine, sabit oranda %10 'luk metanol çözeltisi ilave edilerek hazırlanan elektrolitik ortamda gerçekleştirilmiştir. Yapılan voltametrik çalışmalar ve teorik hesaplamalar sonucunda, kloramfenikolün adsorpsiyon özellikleri incelenerek aktarılan elektron sayısı hesaplanmış ve yapısında bulunan yükseltgenme ve indirgenme tepkimeleri için uygun olan fonksiyonel gruplardan yola çıkılarak olası tepkime mekanizması Şekil 4.31 'de verilmiştir.

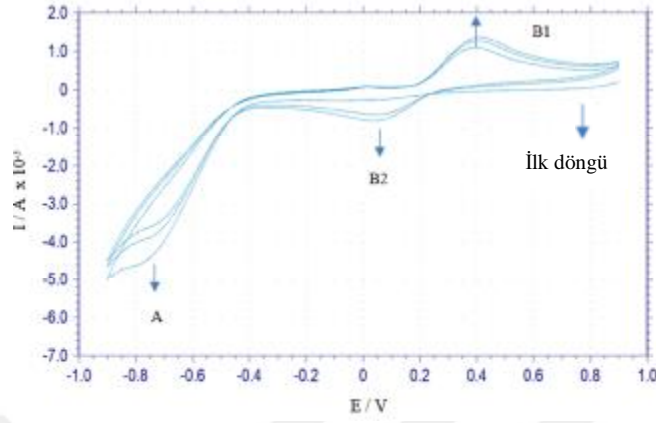


Şekil 4.19. Kloramfenikol'ün yükseltgenme ve indirgenme reaksiyonları

Kloramfenikol'ün yapısında ki nitro fenil grubu üzerinden elektrokimyasal süreç ilerlemektedir. Asidik ortamda 4 elektron alarak, hızlı gerçekleşen reaksiyonda nitro fenil grubu N-fenilhidroksil amine indirgenmesi daha sonrasında ise bu reaksiyonu yavaş basamakta ise hidroksil amin grubu ile nitrozo grubu arasında yükseltgenme ve indirgenme reaksiyonları birbirini izlemektedir. Eşitlik 4.5 ve 4.6 'da kloramfenikol yapısında ki fonksiyonel grupların kimyasal reaksiyonları verilmektedir.

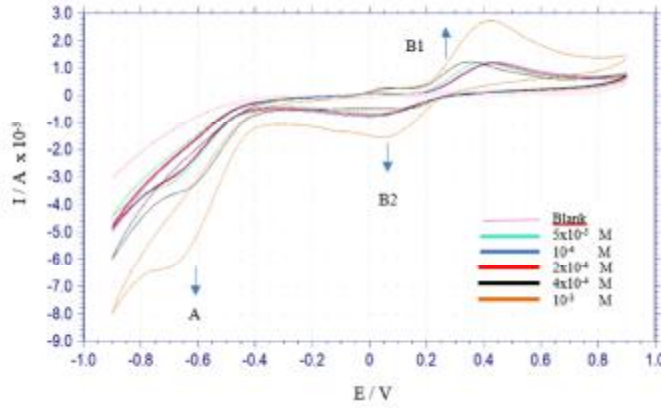


Ön görülen bu kimyasal reaksiyonların doğruluğunun desteklenmesi için Şekil 4.21'de kloramfenikol'ün 200mV'da 5×10^{-5} M 'da 3 CV çalışması yapılmıştır.



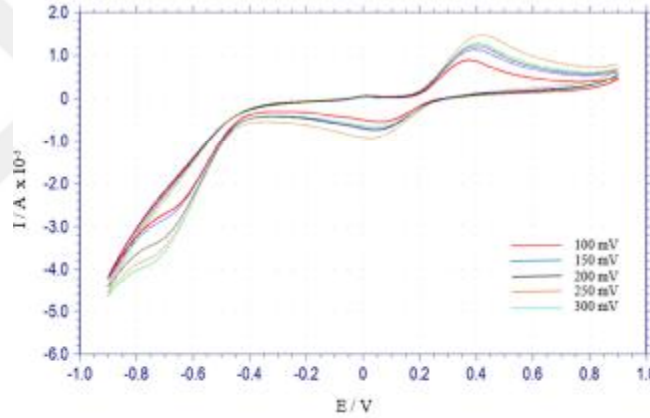
Şekil 4.20. Kloramfenikol'ün 200mV'da 5×10^{-5} M 'da dönüşümlü voltamogramlar

Kloramfenikol dönüşümlerinde ilk döngüde B1 ve B2 pikleri oluşumu gözlenmezken, sadece katodik yönde -0,678 V'da pik elde edilmiş olması nedeniyle kloramfenikol'ün MCP 3 çalışma elektrodu yüzeyinde A piki ile belirtilen indirgenmenin tersinmez olduğu söylenebilir. İkinci döngüde ise oluşan hidroksil amin piki 0,4 V'da meydana gelen B1 pikine karşılık 0,05V'da meydana gelen nitro grubu B2 piki ile tersinir bir dönüşüm sergilemektedir.



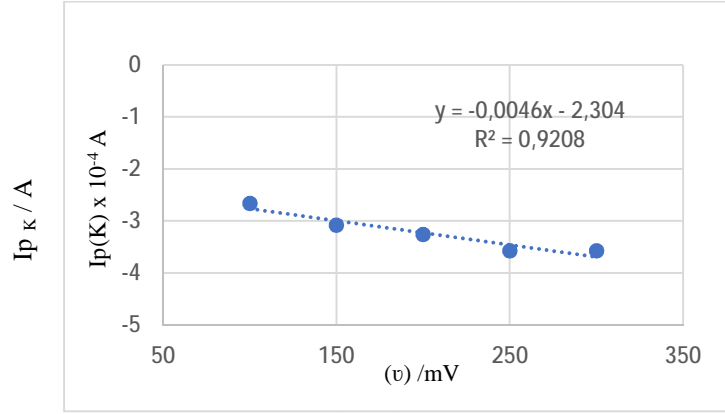
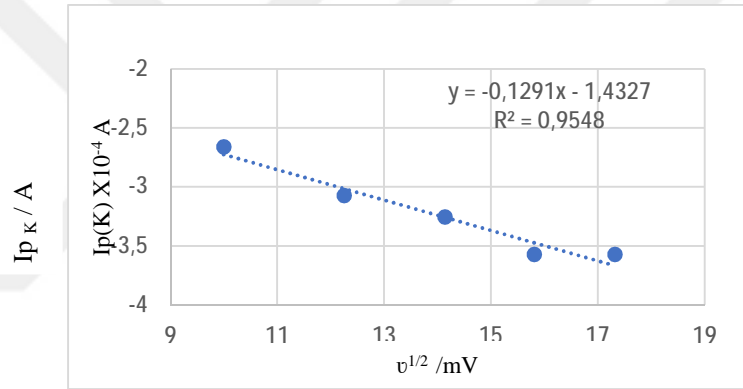
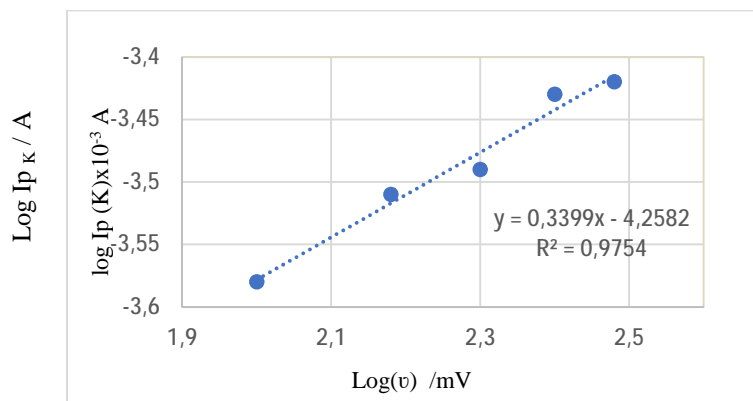
Şekil 4.21. pH 2,6±1 1M Asetatik asit içerisinde farklı derişimlerde kloramfenikol'ün dönüşümlü voltamogramı

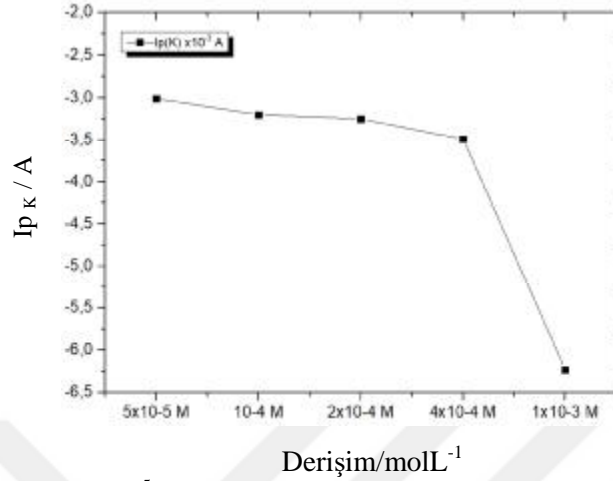
Artan derişim ile pik akımlarında ki artış Şekil 4.22’de verilen voltamogram da görölmektedir. Kloramfenikol içermeyen çözeltide elde edilen voltamogram da (0-0,2) V, (0,2-0,4) V ve (-0,8,-0,6) V arasında herhangi bir pik gözlenmemektedir. Tarama alanının bu reaksiyon için oldukça önemli olduğu çalışmalar sırasında ayrıca tespit edilmiştir. Tarama aralığı 0,2 ile -0,8 V aralığında bırakıldığında A pik çok küçük ve belirsiz bir pik olarak gözleniyorken, alınan dönüşümlü voltamogram da B2’ ye ait bir pik gözlenmiyordu. Tarama aralığı geniş tutulup -0,9 ile 0,9V arasında ölçümler alındığında ise A piki belirginleşirken B1 ve B2 ‘ye ait piklerin şiddetlerinin arttığı görölmüştür. Seçilen herhangi bir derişimde tarama hızı incelendiğinde voltamogramlar Şekil 4.23’te verilmiştir.



Şekil 4.22. 5×10^{-5} M CAP pH $2,6 \pm 1$ 1M Asetik asit farklı tarama hızı voltamogramları

Şekil 4.23’te verilen voltamogramda tarama hızı arttıkça pik akımlarında artış meydana gelmektedir. Tarama hızı 100 mV’ un altına düşürüldüğü zaman -0,8 ile -0,6 arasında ki pikin yük miktarının oldukça düşük olduğu pik belirginliğinin azaldığı görüldüğünden tarama hızı 100 ile 300 mV arasında tutulmuştur.

Şekil 4.23. MCP 3 5x10⁻⁵ M Kloramfenikol, IpK/ A - v/ mV grafiğiŞekil 4.24. MCP 3 5x10⁻⁵ M Kloramfenikol, Ip_K/ A - v^{1/2} grafiğiŞekil 4.25. MCP 3 5x10⁻⁵ M Kloramfenikol, log Ip_K/A- log v grafiği



Şekil 4.26. MCP 3 5x10⁻⁵ M Kloramfenikol Ip K / A – Derişim / molL⁻¹ grafiği

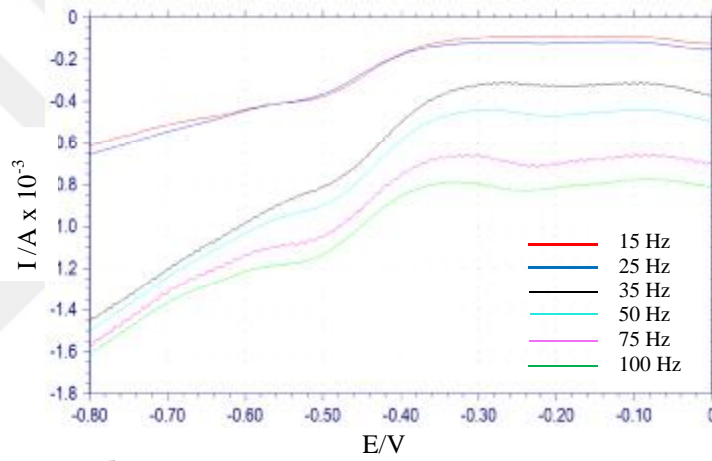
Şekil 4.24-4.27 arasında ki grafikler incelendiğinde pik akımına karşı – tarama hızı grafiğinin lineere yakın olmasıyla beraber log Ip_K değerine karşı log v'nın eğimi 0,33'tür. Eğimin 0,5'e yakın olması elektrokimyasal sürecin toplamda difüzyon kontrollü olduğunu göstermektedir (Çorbacıoğlu, 2013). Ayrıca pik akımının tarama hızının kareköküne karşı geçirildiği grafik Şekil 4.26'da da lineerlik gözlenmiştir akım değişiminin tarama hızına bağlı olması sistemin tersinir olmadığını göstermektedir. Kloramfenikole ait katodik pike karşılık herhangi yükseltgenme olmaması da bize MCP 3 üzerinde gerçekteşen bu pike karşılık reaksiyonun tersinir olmadığını göstermektedir. Şekil 4.27 'de ise, pik akımının derişime karşı grafiğinde, 4x10⁻⁴ M derişime kadar pik akım değerlerinde değişim düzenli iken, çalışmada ki en yüksek derişime 10⁻³ M 'a çıkıldığında pik akımında keskin bir artış gözlenmiştir.

4.4. MCP 3 Kloramfenikol İncelemesi Kare Dalga Voltametri Bulguları

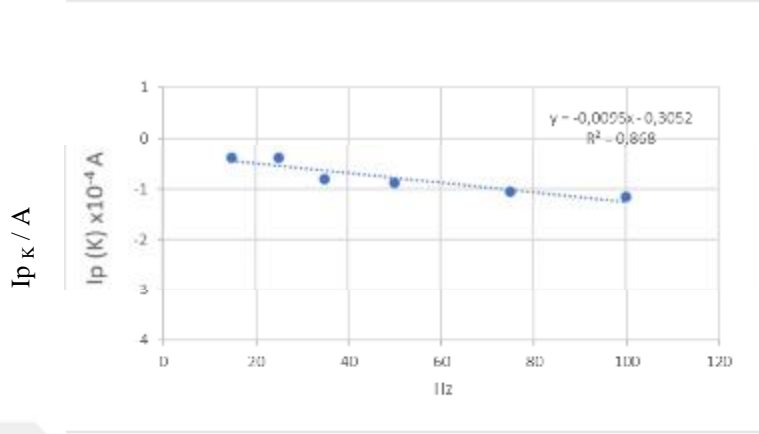
Dönüşümlü voltametri ile elde edilen bulgulardan yola çıkılarak, duyarlılığı daha da arttırmak amacıyla kare dalga voltametri yöntemiyle de çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmalarda pH 2.6±1 arasında ölçülen 1 M asetatik asit

çözeltisine, sabit oranda %10 'luk metanol çözeltisi ilave edilerek hazırlanan 5×10^{-5} M ile 1×10^{-3} M arasında 5 farklı derişimde hazırlanan elektrolitik ortamda gerçekleştirilmiştir. Kare dalga voltametri için, yapılan çok sayıda deneme sonucunda en ideal olduğu belirlenen parametreler Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Kloramfenikol'ün MCP 3 elektrodu üzerindeki indirgenme davranışının araştırılması amacıyla artan frekans değerine göre, genlik değerini de arttırarak uygun piklerin elde edilmesine çalışılmıştır. Şekil 4.28'de 5×10^{-5} M Kloramfenikol farklı tarama hızında ki kare dalga voltamogramı verilmiştir.

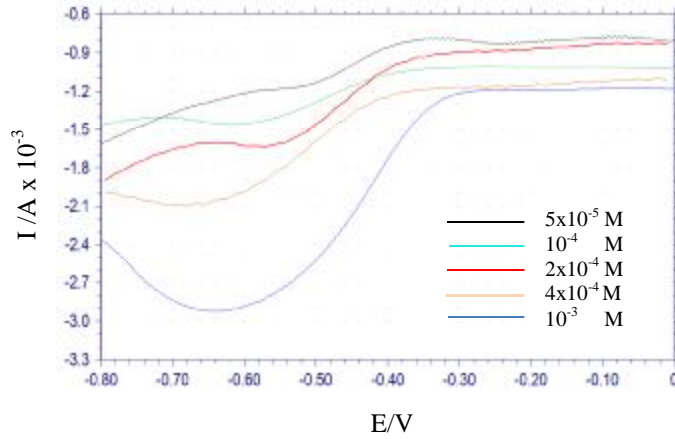


Şekil 4.27. 5×10^{-5} M Kloramfenikolün farklı frekans değerleri için kare dalga voltamogramı

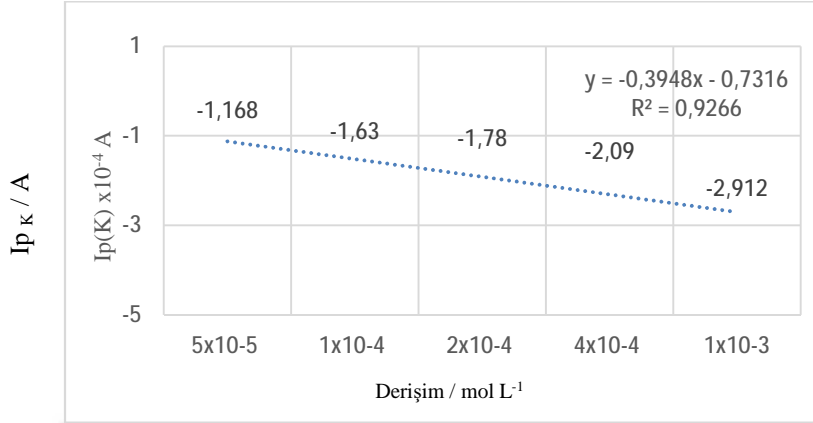


Şekil 4.28. 5×10^{-5} M Kloramfenikol pH $2,6 \pm 1$ Ip K / A – Frekans / Hz grafiği

Şekil 4.28’de görülen voltamogram da artan frekans değeriyle pik akımlarında artış görülmektedir. Dönüşümlü voltametri metoduyla elde edilen-0,674 V potansiyelindeki kloramfenikol ün tersinmez indirgenme tepkimesine ait pik esas alınmıştır. Bu pikin kare dalga metodunda -0,6 ile -0,5 V arasına kaydıği gözlenmiştir. Şekil 4.28 ‘de tek tarama hızında farklı derişimler de ölçümleri alınmıştır.



Şekil 4.29. Kloramfenikol farklı derişimlerde alınan kare dalga voltamogramları



Şekil 4.30. 5×10^{-5} M Kloramfenikol pH $2,6 \pm 1$ Ip K / A – Derişim / mol L⁻¹

Voltamogram da artan derişimle pik akımlarında artış görülürken ayrıca yük miktarında da artış gözlenmiştir. Negatif tarama yapılan ölçümlerde dönüşümlü voltametrde ki gibi aralık geniş tutulduğunda çok anlamlı pikler elde edilmediği için tarama aralığı küçültülmüştür.



5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Hayvansal gıda materyalleri içerisinde bulunması ile çok fazla spekülasyona sebep olan antibiyotik kalıntıları arasında yer alan ve yasaklı bir madde olan kloramfenikol tayini genel olarak kromatografik yöntemlerle yapılmaktadır. Ancak kromatografik cihazlarda analiz yapılması için ön deriştirme seyreltme gibi proseslerin uzun süreçler içermesi ve pahalı enstrümanların kullanılması dezavantaj olarak görülmektedir. Daha hızlı ve etkin bir yöntem olarak modifiye elektrotların kullanıldığı elektrokimyasal teknikler önemli avantajlar sağlamaktadır. Modifiye karbon pasta elektrotlardan farklı olarak özel geliştirilen karbon türevli çeşitli sensör elektrotlar üzerinde çok çalışılmıştır. Bu çalışmada maliyeti düşük, kolay uygulanabilir, seçiciliği ve hassasiyeti yüksek, modifiye karbon pasta elektroda dayalı bir sensör geliştirilmeye çalışılmıştır ve aşağıda ki sonuçlar elde edilmiştir.

Karbon pasta elektrotlar, grafit, parafin kullanılarak hazırlanmaktadır. Seçiciliği arttırmak amacıyla bu tez çalışmasında grafitten yola çıkılarak ilk önce modifiye Hummer's metodu ile grafen oksit sentezlenmiş ve pasta modifikasyon materyali olarak farklı oranlarda denenmiştir ancak istenilen seçicilik ve duyarlılık elde edilememiştir. Grafen oksit hidrazinyum hidroksit içeren bir ortamda 80 °C'de yaklaşık 3 saat işleme tabi tutularak grafen elde edilmiştir. Bu sentezlerin başarısı yapı analizleri SEM ve FT-IR kullanılarak ortaya konmuştur.

Grafitle birlikte grafen kullanılarak hazırlanan modifiye pasta elektrotlarla yapılan dönüşümlü voltametri çalışmaları, 4,5/1/1,6 sırasıyla grafit, grafen ve parafin kullanılarak hazırlanan modifiye pasta ile başarılı sonuçlar gösterdiği ortaya konmuştur. Kloramfenikol'ün suda çözünürlüğünün az olması nedeniyle, analiz sırasında %10'luk metanol çözeltisi eklenmiş böylece alınan elektrokimyasal sinyallerin çözünürlüğü ve duyarlılığı artırılmıştır. pH 2,6 ±1 arasında tutulan asetik asit içerisinde gerçekleştirilen analizlerde 5×10^{-5} ile 10^{-3} M arasında 5 farklı derişimde çalışmalar gerçekleştirilmiştir. En düşük derişimde bile kloramfenikole

ait pik $-0,678V$ 'da elde edilmiştir. Bu tez kapsamında kloramfenikol için elde edilen tayin limiti $16,15$ ppm olarak belirlenmiştir. Tayin edilebilir limit değeri altında olan numunelerde, standart ekleme metodu kullanılarak daha alt derişim değerlerine karşı da duyarlılık sağlanabileceği öngörülmektedir.

Tez çalışması sonuçlarına göre ileriye dönük aşağıda yapılabilecek çalışmalar önerilebilir:

1. Modifiye karbon pasta elektrotlar hazırlanırken, katkı malzemesi olarak nano metal (Au, Ag) gibi parçacıklarının ilaveleri yapılarak, elektrodun duyarlılığı iyileştirilebilir.
2. Modifiye pastalar hazırlanırken parafin yerine farklı iyonik sıvıların denenmesi, kloramfenikol'e karşı pastanın seçiciliğini arttıracak türden çeşitli organik katkıları üzerinde çalışmalar yapılabilir.

KAYNAKLAR

- Agui, L., Guzman, A., Yanez-Senedo, P., Pingarron, J.M., 2002. Voltammetric determination of chloramphenicol in milk at electrochemically activated carbon fibre microelectrodes. *Analytica Chimica Acta*, Spain, 461, 65–73.
- Alemayehu, T., Sergawie, A., 2014. Electrochemical Behavior Of Chloramphenicol And Its Determination Using Cyclic Voltametry. *International Journal of Innovation and Scientific Research ISSN*, Ethiopia, 2351-8014 Vol. 8 No. 159-171
- Alemu, H., Hlalele L., 2007. Voltammetric Determination Of Chloramphenicol At Electrochemically Pretreated Glassy Carbon Electrode. *Bull. Chem. Soc. Ethiop*, 21(1), 1-12.
- Bard, A.J. and Faulkner, L.R. 2001. *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*. John Wiley and Sons. Inc. New York.
- Borowiec, J., Wang, R., Zhu, L., Zhang, J., 2013. Synthesis of nitrogen-doped graphene nanosheets decorated with gold nanoparticles as an improved sensor for electrochemical determination of chloramphenicol. *Electrochimica Acta* 99, 138– 144. PR China.
- Çekirdek, P., 2005. Voltametric Metotlarla Ditiyofosfonat Anyonlarının Elektrokimyasal Davranışlarının İncelenmesi, Doktora Tezi, Ankara Ü. Fen Bil. Ens. Ankara.
- Çorbacıoğlu, F., 2013. Kondanse 1,4-Dihidropiridin Türevlerinin Antioksidan Kapasitelerinin Elektrokimyasal Yöntemle İncelenmesi, Yüksek lisans tezi. Hacettepe Ü. Fen. Bil. Ens.
- Demet, Ö., Acet, A., Traş, B., Eğilmez, İ., 1990. Konya 'da Tüketime Sunulan Yumurtalarda Kloramfenikol Ve Furazolidon İlaç Kalıntılarının Araştırılması. *S.Ü Vet.Fak. Derg.*, 6-1, 061-063.
- Dreyer, D.R., Park, S., Bielawski, C.W and Ruoff, R.S., 2009. The chemistry of graphene oxide, *Chem.Soc.Rev.*, 39, 228-240.

- Gökçe, G., 2004. Trifenilformazan Ve Bazı Türevlerinin Elektrokimyasal Davranışlarına Kompleks Oluşumunun Etkisinin İncelenmesi, Doktora Tezi, Ankara Ü. Fen Bil. Ens.
- Kaçar, C., 2010. Trazodon'un Elektrokimyasal Davranışı ve Adsorptif Sıyırma Yöntemleriyle Tayini. Yüksek lisans tezi. Ankara Ü. Fen Bil. Ens. Ankara
- Kara, M., Kolaylı, S., 2010. Kloramfenikolün Gıda Güvenliği Amaçlı Tayininde Yüzey Plazmon Rezonans ve Moleküler Baskılama Tekniklerinin Kullanımı. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, Türkiye, 5, 2, 35-47.
- Karadeniz, H., 2008. Biyomoleküler Algılamaya Yönelik Elektrokimyasal Sensörlerin Tasarımı ve Uygulaması, Doktora Tezi, Ege Ü. Sağlık Bil. Ens.
- Krishnamoorthy, K., Veerapandian, M., Yun, K., Kim, S-J., (2013). The chemical and structural analysis of graphene oxide with different degrees of oxidation. Carbon , South Korea, 53, 38-49.
- Mermoux, M., Chabre, Y. and Rousseau, A., 1991. FTIR and ¹³C NMR study of graphite oxide, Carbon, 29 (3), 469-474
- Min, Z., Jingbo, H., Yongchun L., Qilong, L., Zhongda W., (1998). Study of the Voltammetric Behavior of Chloramphenicol and Its Determination At a Ni/C Modified Electrode. Analytical Letters, Beijing. 31:2, 237-249
- Öztürk Doğan, H., 2014. Grafit Oksitin Elektrokimyasal İndirgenmesi İle Grafen Ve Metal-Grafen Kompozit Sentezi, Doktora Tezi, Atatürk Ü. Fen Bil. Ens.
- Öztürk, F., 2016. Askorbik Asit Varlığında Alüminyum Oksit Nanopartikülleri İle Modifiye Edilmiş Karbon Pasta Elektrotta Ürik Asit Tayini, Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Ü. Fen Bil. Ens.
- Rønning, H., Einarsen, K., Asp T., 2006. Determination Of Chloramphenicol Residues İn Meat, Seafood, Egg, Honey, Milk, Plasma And Urine With Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry, And The Validation Of The Method Based On 2002/657/EC. Journal of Chromatography A, Norway, 1118, 226–233.

- Şener, S., 1993. Kanatlılarda Kollektif Uygulamadan Sonra Kloramfenikol'ün Yumurtaya Transferi Ve İstanbul'da Tüketilen Yumurtalarda Kloramfenikol Rezidüleri Üzerine Araştırmalar, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Ü. Sağlık Bil. Ens.
- Wang, J. 2000. Analytical Electrochemistry. 2nd edition. John Wiley and Sons. Inc. NewYork
- Wang., A., Zhang, L., Fang, Y., 1997. Determination and separation of chloramphenicol and its hydrolysate in eye-drops by capillary zone electrophoresis with amperometric detection. Analytica Chimica Acta, China, 394, 309-316.
- Xiao, F., Zhao F., Li, J., Yan, R., Yu, J., Zeng, B., 2007. Sensitive voltammetric determination of chloramphenicol by using single-wall carbon nanotube-gold nanoparticle-ionic liquid composite film modified glassy carbon electrodes. Analytica Chimica Acta, PR China, 596, 79-85.



ÖZGEÇMİŞ

9 Eylül 1989 tarihinde Adana'da doğdu. İlkokul ve lise eğitimini Adana'da tamamladı. 2008 yılında Çukurova Üniversitesi Kimya Bölümünde başladığı akademik eğitimini 2013 yılında tamamlayarak, 2013-2014 eğitim döneminde yine Çukurova Üniversitesinde yüksek lisans eğitimine başladı. Yüksek lisans eğitimi devam ederken, Kasım 2014- Temmuz 2017'de Tekstil kimyasalları üreten özel bir şirkette Ar-Ge uzmanı olarak görev yaptı. Ekim 2017 itibariyle yapı kimyasalları üreten bir firmada çalışmaya başladı ve hala devam etmektedir.