

**FENOLİK MADDE TAYİNİ İÇİN PLAZMA
POLİMERİZASYON YÖNTEMİ İLE ELEKTROKİMYASAL
SENSÖR HAZIRLANMASI**

**PREPARATION OF ELECTROCHEMICAL SENSOR BY
PLAZMA POLYMERIZATION TECHNIQUE FOR PHENOLIC
COMPOUNDS**

BEYHAN GÜNAYDIN

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

GIDA Mühendisliği Anabilim Dalı İçin Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ

olarak hazırlanmıştır.

2009

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Bu çalışma jürimiz tarafından **GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI** 'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Başkan :
Prof. Dr. Vural Gökmen

Üye (Danışman) :
Prof. Dr. Mehmet Mutlu

Üye :
Doç. Dr. İsmail Hakkı Boyacı

Üye :
Prof. Dr. Mehmet Özkan

Üye :
Yrd. Doç. Dilek Çökeliler

ONAY

Bu tez/...../..... tarihinde Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

...../...../2009

Prof.Dr. Erdem YAZGAN
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

FENOLİK MADDE TAYİNİ İÇİN PLAZMA POLİMERİZASYON YÖNTEMİ İLE ELEKTROKİMYASAL SENSÖR HAZIRLANMASI

Beyhan Günaydın

ÖZ

Bu çalışmanın amacı, gıda endüstrisinde fenolik madde tayini için, plazma polimerizasyon yöntemi ile elektrokimyasal bir sensör hazırlanmasıdır. Fenolik maddeler, antioksidan özellik gösteren temel bileşiklerdendir. Aynı zamanda polifenoller şarap, zeytinyağı, çay, diğer meyve ve sebzelere burukluk, koku ve renk vermelerinden dolayı organoleptik özellikleri bakımından da önemlidir. Gıda sektöründe, fenolik madde içeriği ve diğer kalite indeksi olarak kabul edilen özelliklerin sürekli olarak izlenmesi gerekliliği, sensörler gibi otomasyona uygun ekipmanların tasarımını zorunlu kılmaktadır. Fenolik madde tayini için hazırlanan elektrokimyasal sensörler, seçilen çalışma elektrodu yüzeyinde fenol bileşiğinin belirli bir potansiyel aralıkta oksidasyonu ile değişen akımın ölçümü esasına dayanır. Sensörün tasarımında, düşük maliyet, hassasiyet, kullanım kolaylığı avantajlarından dolayı çalışma elektrotu (çevirici) olarak karbon uçlar tercih edilmiştir.

İletken özellikteki polivinilprolidon polimerinin (PVP) fenolik maddelere karşı güçlü adsorpsiyon karakteristiğinden yola çıkarak, vinilprolidon monomerinin (VP) plazma polimerizasyon sisteminde monomer olarak kullanılmasıyla, karbon elektrot yüzeyleri farklı işlem parametrelerinde (boşalım gücü: 5-60W, proses süresi: 5-60dk) plazma polimerizasyonu tekniği ile kaplanarak modifiye edilmiştir. İşlem sırasında, monomerin (VP) buharının kullanımı ile karbon elektrot yüzeylerinde farklı kimyasal yapıda, plazma polimerizasyonu yöntemi ile filmler (PlzP-film) oluşturulmuştur. Modifiye karbon elektrotlar, model fenolik madde olarak seçilen gallik asidin (GA) farklı konsantrasyonlardaki çözeltisi ile etkileştirilmiştir. Elektrotların fenolik madde adsorpsiyonu, buna bağlı olarak değişen elektrokimyasal davranışları diferansiyel puls voltametri (DPV) yöntemi ile ortaya konmuştur. Hazırlanan elektrokimyasal sensörlerin kalibre edilmesi ile plazma polimerizasyonu tekniğinde 15W boşalım gücü ve 60dk süre

uygulamasının en iyi sonuç verdiği saptanmıştır. Performans parametreleri hassasiyet 7.41 (nA / mg L⁻¹), doğrusal aralık 17-170 (mg L⁻¹), raf ömrü 60 (gün) olarak belirlenmiştir. Hazırlanan sensörün birden fazla kullanılabilirliği için geri kazanımı 0.1M NaOH çözeltisi içerisinde gerçekteştirilmiştir. En yüksek performansı sergileyen PlzP(VP) bazlı karbon elektrodun modifikasyon sonrası, yüzeyinde oluşan polimer film Atomik Kuvvet Mikroskopisi (AKM), Raman spektroskopisi (RS), Fourier Transform Infrared Spektrometresi (FTIR) ile karakterize edilmiştir.

Fenolik madde tayinine yönelik hazırlanan PlzP(VP) bazlı elektrokimyasal sensör, Öküzgözü, Boğazkere, Syrah, Cabernet-Sauvignon kırmızı şarap çeşitlerinde test edilmiştir. Kırmızı şarap örneklerinde spektrofotometrik yöntem ile elde edilen toplam fenolik madde içeriği gallik asit cinsinden sırasıyla 1688, 1825, 1494 ve 1489 mg/L olarak saptanmıştır. En yüksek performansı sergileyen elektrokimyasal sensör ile kırmızı şaraplarda gallik asit tayini gerçekteştirilmiştir ve sırasıyla 123, 184, 93, 110 mg/L olarak saptanmıştır. Çalışma, elde edilen değerlerin, literatürdeki veriler ile karşılaştırmasıyla sonlandırılmıştır.

Anahtar kelimeler: Fenolik madde, elektrokimyasal sensör, plazma polimerizasyonu, vinilprolidon, diferansiyel puls voltametri

Danışman: Prof. Dr. Mehmet Mutlu, Hacettepe Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü

PREPARATION OF ELECTROCHEMICAL SENSOR BY PLAZMA POLYMERIZATION TECHNIQUE FOR PHENOLIC COMPOUNDS

Beyhan Günaydın

ABSTRACT

The aim of this study is to improve an electrochemical sensor by plasma polymerization technique for detection of phenolic compounds. Phenolic compounds are plant secondary metabolites and show antioxidant activity. Polyphenols not only show antioxidant activity, they are also important for their organoleptic properties since they give astringency, odour, color and savour to wine, olive oil, tea, other fruits and vegetables. The requirement of continuously monitoring of quality indices (i.e. phenolic compounds, etc.) in food industry, entails equipments those fit to automation systems such as sensors. Electrochemical sensors prepared for the detection of phenolic compounds depend on the measurement of the current change occurring within a specific potential range when the phenolic compound oxidize on the working electrode. Carbon leads that are one of the most attractive transducers due to their low cost and sensitivity, easy procedures for detection units have been chosen for the design of the sensor.

Polyvinylpyrrolidone (PVP) is a polymer that has conductive properties and shows strong adsorption to phenolic compounds. Carbon electrode surfaces were coated by plasma polymerization technique by different plasma parameters (discharge power: 5-60W, process time: 5-60min) by utilizing the monomer N-vinylpyrrolidone (VP) as precursor. During the process, by using monomer (VP) vapour, plasma polymerized films (PlzP-film) were deposited on carbon electrode surfaces with different chemical properties. The modified carbon electrodes were interacted with different concentrations of gallic acid solution which is selected as the model phenolic compound. Then, the phenolic compound concentration that was adsorbed by the PlzP(VP) based carbon electrodes was investigated by differential pulse voltammetry (DPV) with variable electrochemical characteristics. The prepared electrochemical sensors were calibrated and 15W discharge power

and 60 min time plasma polymerization parameters showed the best results. Performance parameters are; in sensivity: 7.41 (nA / mg L⁻¹), linear range: 17-170 (mg L⁻¹) and shelf-life: 60 (days). The recovery studies were performed in 0.1M NaOH solution for multiple use of the prepared sensor. After modification process, the polymer film composed on the surface of the PlzP(VP) based electrochemical sensor that showed the highest performance was characterized with Atomic Force Microscopy (AFM), Raman Spectroscopy (RS), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR).

The PlzP(VP) based electrochemical sensor prepared for the detection of phenolic compounds was tested in Öküzgözü, Boğazkere, Syrah and Cabernet-Sauvignon red wine samples. In red wine samples, the amount of total phenolic compounds were detected by spectrophotometric technique as 1688, 1825, 1494 and 1489 gallic acid equivalent mg/L, respectively. The amount of gallic acid in red wine samples were detected as 123, 184, 93 and 110 mg/L, respectively, by the electrochemical sensor that showed the highest performance. The values were compared with the literature and study was completed.

Keywords: Phenolic compound, electrochemical sensor, plasma polymerization, vinylpyrrolidone, differential pulse voltammetry

Advisor: Prof.Dr. Mehmet Mutlu, Hacettepe University, Engineering Faculty, Department of Food Engineering

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın oluőumundan sonuçlanmasına kadar her aşamasında, ilgi, destek ve bilgisini esirgemeyen, tez danıőmanım ve değerli hocam sayın Prof. Dr. Mehmet Mutlu' ya,

Bilgi ve desteğini esirgemeyen sayın, Prof. Dr. Selma Mutlu, Prof. Dr. Vural Gökmen, Prof. Dr. Ali Güner ve Lale Öztürk'e,

Çalıőmam süresince gösterdikleri sabır ve destekleri için Plazma Destekli Biyomühendislik ve Biyoteknoloji Araştırma Grubu'na, Yük. Müh. Nesrin Şir'e, Dr. Hacı Ali Güleç'e, Yük. Müh. Ebru Akdoğan'a, Yük. Müh. Evrim Tanrıverdi'ye,

Tez çalıőmam boyunca, yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen sevgili dostlarım Gıda Müh. Zeynep Damla Güder, Gıda Müh. Tuğba Bulat, Gıda Müh. Burçe Ata, Gıda Müh. Seda Kılmanoğlu ve Müh. İlhan Emre Daőan'a ve en önemlisi hayatım boyunca attığım her adımda destekleriyle yanımda olan, en zor şartlarda bile her türlü fedakârlığı gösteren sevgili aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
ÖZ.....	i
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiii
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1. Fenolik Maddeler	4
2.1.1. Fenolik asitler.....	6
2.1.2. Flavonoidler	6
2.1.2.1. Flavonoidlerin yapı özellikleri ve sınıflandırılması	7
2.1.2.2. Antosiyaninler	9
2.1.2.3. Flavonoidlerin antioksidan aktivitesi	13
2.1.2.4. Flavonoidlerin gıdalarda dağılımı	14
2.1.3. Şarabın fenolik bileşmi ve fenolik bileşenlerin önemi	14
2.1.4. Fenolik madde tayininde kullanılan analiz yöntemleri	17
2.1.4.1. Flavonoidlerin ekstraksiyon yöntemleri	17
2.1.4.2. Spektrofotometrik yöntemler	18
2.1.4.3. Kromatografik yöntemler.....	19
2.1.4.4. Sensör uygulamaları	20
2.2. Kimyasal Sensör	21
2.2.1. Kimyasal sensör tanımı.....	21

2.2.2. Tarihçe.....	22
2.2.3. Kimyasal sensörlerin genel tasarım prensibi.....	23
2.2.4. Kimyasal sensörlerin performans parametreleri.....	25
2.2.5. Elektrokimyasal sensörler	26
2.3. Elektrokimya.....	27
2.3.1. Elektrokimyasal–spektrofotometrik tayin yöntemlerinin karşılaştırılması	27
2.3.2. Elektroanalitik yöntemler	28
2.3.2.1. Voltametri ve esasları	29
2.3.2.1.1. Voltametrik cihazlar	29
2.3.2.1.2. Voltametrik teknikler	36
2.4. Plazma Polimerizasyon Tekniği	40
2.4.1. Plazmanın yapısı	41
2.4.2. Plazma polimerizasyonu hızını etkileyen parametreler	42
2.4.3. Plazma polimerizasyonun mekanizması	44
2.4.4. Plazma polimerizasyon tekniğinin avantajları	45
2.5. Yüzey Analiz Teknikleri	46
2.5.1. Atomik kuvvet mikroskopisi (AKM).....	46
2.5.2. Raman spektroskopisi	47
2.5.2. Fourier transform infrared spektroskopisi (FTIR)	49
3. MATERYAL ve METOT	50
3.1. Materyal	52
3.1.1. Kullanılan kimyasal malzemeler ve deney sistemleri	52
3.2. Metot	54
3.2.1. Elektrot hazırlanması	54
3.2.1.1. Plazma polimerizasyon düzeneği ve kaplama yöntemi	54
3.2.2. Elektrot performansının belirlenmesi	57

3.2.2.1. Fenolik madde- elektrot etkileşimi	57
3.2.2.2. Voltametrik ölçüm yöntemi	57
3.2.3. Elektrot yüzeyinin karakterizasyonu	59
3.2.3.1. Atomik kuvvet mikroskopisi (AKM).....	59
3.2.3.2. Raman spektroskopisi	59
3.2.3.2. Fourier transform kızılötesi spektroskopisi (FTIR) analizi	60
3.2.4. Kırmızı şarap örneklerinde fenolik madde analizi	60
4. DENEYSEL SONUÇLAR ve TARTIŞMA	61
4.1. Ön Çalışmalar: Plazma Polimerizasyonu İşlem Parametrelerinin Belirlenmesi	62
4.2. PlzP(VP) Bazlı Elektrokimyasal Sensör Performansının İncelenmesi	70
4.2.1. Fenolik madde-elektrot etkileşim süresinin optimizasyonu	70
4.2.2. Elektrokimyasal sensörün kalibrasyonu	74
4.2.3. Elektrokimyasal sensörün raf ömrü	79
4.2.4. Elektrokimyasal sensörün tekrar kullanılabilirliği	81
4.3. PlzP(VP) Bazlı Karbon Elektrodun Yüzey Karakterizasyonu	83
4.3.1. Atomik kuvvet mikroskopu (AKM) analizi	85
4.3.2. Raman spektroskopisi analizi.....	86
4.3.3. Fourier transform kızılötesi spektroskopisi (FTIR) analizi	88
4.4. Kırmızı Şarap Örneklerinde Fenolik Madde Tayini	90
5. GENEL SONUÇLAR	99
6. KAYNAKLAR.....	101
ÖZGEÇMİŞ	112

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. Fenolik asitlerin temel kimyasal yapısı.....	6
Şekil 2.2. Flavonoidlerin C6-C3-C6 iskelet yapısı.....	7
Şekil 2.3. Flavonoid alt gruplarının temel yapısı	8
Şekil 2.4. Altı temel antosiyaninin kimyasal yapısı	9
Şekil 2.5. Vinilprolidon ve polivinilprolidonun molekül yapıları	20
Şekil 2.6. Kimyasal sensörlerin gelişimindeki iki temel kaynak.....	22
Şekil 2.7. Kimyasal sensör sisteminin genel gösterimi	23
Şekil 2.8. Analitik tayin sistemlerinde genel görüş ve spektrofotometrik/ elektrokimyasal yöntemlerin karşılaştırılması	27
Şekil 2.9. Diferansiyel puls voltametrisinde akım ölçümü	29
Şekil 2.10. Voltametrik ölçümlerde kullanılan modern bir cihazın elektriksel yapısı	30
Şekil 2.11. Grafit tozunda bulunan karbon moleküllerinin dizilimi	35
Şekil 2.12. Karbon pastası elektrodu.....	35
Şekil 2.13. Altın elektrot.....	35
Şekil 2.14. (a) Dönüşümlü voltametride elektroda uygulanan gerilimin zamana karşı grafiği; (b) Dönüşümlü voltametride elde edilen akım-gerilim eğrisi.	36
Şekil 2.15. Diferansiyel puls polagrafisi için uyarma sinyalleri; (a) Analog cihazlarda diferansiyel puls voltametrisi için kullanılan uyarma sinyali; (b) Diferansiyel puls voltametrisinde elde edilen bir voltamogram	38
Şekil 2.16. Dijital cihazlarda diferansiyel puls voltametrisi için kullanılan uyarma sinyali.....	39
Şekil 2.17. AKM yüzey analizinin şematik gösterimi.....	47
Şekil 3.1. Elektrokimyasal yolla fenolik madde tayininde izlenen yol	51
Şekil 3.2. Plazma polimerizasyon düzeneğinin şematik gösterimi.....	56
Şekil 3.3. Gallik asit molekül yapısı	57
Şekil 3.4. Elektrokimyasal çalışma istasyonuna bağlı üçlü elektrot sistemi	58

- Şekil 4.1. Farklı plazma polimerizasyon parametreleri ile modifiye edilen karbon elektrotların DPV yöntemi ile alınan elektrokimyasal sinyallerindeki değişiminin 3 boyutlu gösterimi a) gallik asit ile etkileşimden önce b) gallik asit ile etkileşimden sonra.....64
- Şekil 4.2. Karbon elektrotların diferansiyel puls voltamogramları i) PlzP(VP) ile modifiye edilmiş karbon elektrot, (15W 60dk) (b), ii) 0.1M gallik asit ile 1 sa etkileştirilmiş PlzP(VP)- karbon elektrot (15W 60dk) (d), iii) a) İşlem görmemiş karbon elektrot, b) PlzP(VP) ile modifiye edilmiş karbon elektrot, (15W 60dk) c) 0.1M gallik asit ile 1 sa etkileştirilmiş işlem görmemiş karbon elektrot d) 0.1M gallik asit ile 1 sa etkileştirilmiş PlzP(VP)- karbon elektrot (15W 60dk)66
- Şekil 4.3. Karbon elektrotların diferansiyel puls voltamogramları i) PlzP(VP) ile modifiye edilmiş karbon elektrot, (45W 60dk) (b), ii) 0.1M gallik asit ile 1 sa etkileştirilmiş PlzP(VP)- karbon elektrot (45W 60dk) (d), iii) a) İşlem görmemiş karbon elektrot, b) PlzP(VP) ile modifiye edilmiş karbon elektrot, (45W 60dk) c) 0.1M gallik asit ile 1 sa etkileştirilmiş işlem görmemiş karbon elektrot d) 0.1M gallik asit ile 1 sa etkileştirilmiş PlzP(VP)- karbon elektrot (45W 60dk)68
- Şekil 4.4. Karbon elektrotların diferansiyel puls voltamogramları i) PlzP(VP) ile modifiye edilmiş karbon elektrot, (60W 60dk) (b), ii) 0.1M gallik asit ile 1 sa etkileştirilmiş PlzP(VP)- karbon elektrot (60W 60dk) (d), iii) a) İşlem görmemiş karbon elektrot, b) PlzP(VP) ile modifiye edilmiş karbon elektrot, (60W 60dk) c) 0.1M gallik asit ile 1 sa etkileştirilmiş işlem görmemiş karbon elektrot d) 0.1M gallik asit ile 1 sa etkileştirilmiş PlzP(VP)- karbon elektrot (60W 60dk)69
- Şekil 4.5. PlzP(VP) bazlı karbon elektrotların 0.1M gallik asit ile farklı etkileşim süreleri sonunda elde edilen DPV sinyalleri a) 15W 60dk, b) 45W 60dk ve c) 60W 60dk71
- Şekil 4.6. PlzP(VP) bazlı karbon elektrotların 0.1M gallik asit ile farklı etkileşim süreleri sonunda elde edilen gallik asit yükseltgenme sinyalleri a) 15W 60dk, b) 45W 60dk ve c) 60W 60dk73
- Şekil 4.7. Farklı plazma polimerizasyon işlem parametreleri ile hazırlanan elektrokimyasal sensörlerin kalibrasyon eğrileri, (farklı konsantrasyonlardaki gallik asit çözeltileri ile etkileşim süresi 5dk) a) 15W 60 dk ($R^2= 0.9330$), b) 45W 60dk ($R^2= 0.9171$) ve c) 60W 60dk ($R^2= 0.8848$)75
- Şekil 4.8. Farklı plazma polimerizasyon işlem parametreleri ile hazırlanan elektrokimyasal sensörlerin kalibrasyon eğrileri, (farklı konsantrasyonlardaki gallik asit çözeltileri ile etkileşim süresi 30dk) a) 15W 60 dk ($R^2= 0.9698$), b) 45W 60dk ($R^2= 0.9312$) ve c) 60W 60dk ($R^2= 0.8919$)76

Şekil 4.9. PlzP(VP) bazlı elektrokimyasal sensörlerin gallik asit ile farklı etkileşim sürelerinde gösterdikleri hassasiyet.....	77
Şekil 4.10. Hazırlanan elektrokimyasal sensörlerin raf ömrü süresince 0.1M gallik asit çözeltisi ile 30 dk etkileşimleri sonucu alınan gallik asit yükseltgenme sinyalleri a) 15W 60dk, b) 45W 60dk ve c) 60W 60dk	80
Şekil 4.11. Hazırlanan PlzP(VP) bazlı karbon elektrotların 0.1M gallik asit çözeltisi ile 30dk etkileştirilmesinden sonra elde edilen gallik asit yükseltgenme sinyalleri a) ilk kullanımda ve b) 30dk 0.1M NaOH uygulamasından sonra	82
Şekil 4.12. Vinilprolidon monomerinin molekül yapısı.....	84
Şekil 4.13. Karbon elektrot yüzeylerinin 3 boyutlu AKM görüntüleri (a) işlem görmemiş karbon elektrot yüzey morfolojisi (b) PlzP(VP) bazlı karbon elektrot yüzey morfolojisi	85
Şekil 4.14. N-vinil-2-prolidon monomeri emdirilmiş karbon elektrodun Raman spektrumunu (60dk)	87
Şekil 4.15. PlzP(VP) bazlı karbon elektrodun Raman spektrumu (PlzP(VP) işlem parametresi: 15W 60dk)	87
Şekil 4.16. Karbon elektrot yüzeylerine ait FTIR spektrumları a) işlem görmemiş karbon elektrot b) PlzP(VP) bazlı karbon elektrot	89
Şekil 4.17. Gallik asit kalibrasyon eğrisi	91
Şekil 4.18. Kırmızı şarap örneğinin RP-HPLC'de farklı dalga boylarında elde edilen kromatogramları. Pik tanımlamaları: 270 nm: (1) gallik asit, (4) vanilik asit, (6) şirincik asit, (8) (-)-epikateşin; 307 nm: (5) kafeik asit, (10) p- kumarik asit, (11) ferulik asit, (13) trans-resveratrol; 360 nm: (15) mirsetin, (17) kuersetin	93
Şekil 4.19. PlzP(VP)-15W 60dk karbon elektrotların kırmızı şarap örnekleri ile farklı etkileşim sürelerinde elde edilen voltamogramları. Ortam pH 3.0; i) 5 dk ve ii) 30 dk ; a) Öküzgözü, b) Boğazkere, c) Syrah ve d) Cabernet Sauvignon	96
Şekil 4.20. PlzP(VP)-15W 60dk karbon elektrotların kırmızı şarap örnekleri ile farklı etkileşim sürelerinde elde edilen voltamogramları. Ortam pH 6.5; iii) 5dk iv) 30 dk a) Öküzgözü, b) Boğazkere, c) Syrah ve d) Cabernet Sauvignon	97

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 2.1. Bazı meyve ve sebzelerin başlıca fenolik madde içerikleri.	5
Çizelge 2.2. Bazı fenolik maddelerin kimyasal yapısı	12
Çizelge 2.3. Başlıca çevirici türleri	24
Çizelge 2.4. Elektrokimyasal sensörlerin çevirici prensipleri ve ölçüm teknikleri ...	26
Çizelge 3.1. Plazma polimerizasyon tekniğinde çalışılan parametreler	56
Çizelge 4.1. Farklı plazma polimerizasyon parametreleri ile hazırlanan PlzP(VP) bazlı karbon elektrotların ve bunların gallik asit ile etkileşimi sonrasında DPV yöntemi ile elde edilen oksidasyon pik yükseklikleri	63
Çizelge 4.2. PlzP(VP) bazlı elektrokimyasal sensörlerin performans paramtereleri	77
Çizelge 4.3. Vinilprolidon molekülü bağ enerjileri ve bağ uzunlukları	84
Çizelge 4.4. Kırmızı şarap örneklerinde FC metodu ile saptanan toplam fenolik madde miktarı	91
Çizelge 4.5. Kırmızı şarap örneğinde bulunan fenolik madde miktarları	93
Çizelge 4.6. Fenolik bileşiklerin oksidasyon potansiyelleri	94
Çizelge 4.7. Kırmızı şarap örneklerinde PlzP(VP) bazlı elektrokimyasal sensör ile saptanan gallik asit miktarları	95

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

VP	: Vinilprolidon
PVP	: Polivinilprolidon
DPV	: Diferansiyel Puls Voltametri Tekniği
RF	: Radyo frekansı
AKM	: Atomik Kuvvet Mikroskopisi
FTIR	: Fourier Transform Infrared Spektroskopisi
RS	: Raman Spektroskopisi
PlzP(VP)	: Plazma polimerizasyon yöntemi ve vinilprolidon monomeri ile oluşturulan kaplama tabakası
PlzP	: Plazma polimerizasyonu
PlzP-film	: Plazma polimerizasyon yöntemi ile oluşturulan kaplama tabakası
PlzP-PVP	: Plazma polimerizasyon yöntemi ile oluşturulan PVP tabakası
CDC	: Yük-eşleşmiş dedektör
FC	:Folin-Ciocalteau

I	: Akım (A)
V	: Potansiyel (V)
mbar	: Basınç, milibar
dak	: Süre, dakika
W	: Güç, watt
A	: Akım, amper
μ A	: Akım, mikroamper
nA	: Akım, nanoamper
pm	: Uzunluk, pikometre

1. GİRİŞ

Gıda sektöründe üretim sistemleri büyük oranda otomasyona dayanmaktadır. Otomasyonun gerektirdiği sürekli izleme ve kontrol sistemlerinde sensörler özellikle kullanım kolaylıkları ve cevap hızlarıyla büyük ölçüde avantaj sağlamaktadırlar. Endüstride de fenolik madde içeriği ve diğer kalite indeksi olarak kabul edilen özelliklerin sürekli olarak izlenmesi gerekliliği, sensörler gibi otomasyona uygun ekipmanların tasarımını zorunlu kılmaktadır.

Fenolik maddeler, antioksidan özellik gösteren temel bileşiklerdendir. Antioksidan bileşikler serbest radikalleri, oksijen yakalama, serbest radikallere hidrojen iyonu verme veya metal bağlama mekanizmalarıyla etkisizleştirerek, hücrelerin tümör oluşturma risklerini azaltırlar. Aynı zamanda polifenoller şarap, meyve suyu, çay vb. ürünlere burukluk, koku ve renk vermelerinden dolayı organoleptik özellikleri bakımından da önemlidir (Romani et al., 2000).

Günümüzde fenolik madde içeriğinin belirlenmesinde kullanılan tipik metotlar arasında ekstraksiyon yöntemleri, spektrofotometrik yöntemler ile gaz ve sıvı kromatografisi sayılabilir (Dao and Takeoka,2002; Naczka and Shahidi, 2004; Prior et al., 2005). Bu metotlar, karmaşık örnek hazırlama prosedürleri gerektirdiğinden, uzun işlem basamağı nedeniyle yerinde analiz için uygun değildir. Buna karşın, günümüzde, sensörler; kompleks ortamdaki analitlerin güvenilir bir şekilde analizi, tespit maliyetinin düşük olması, yüksek duyarlılık ve çeşitlilik nedeniyle cazip analitik yöntemlerin başında gelmektedir.

Bu çalışmada, literatürde elektrokimyasal sensörlerin hazırlanma yöntemlerinden farklı olarak, elektrodun yüzey modifikasyonunda plazma polimerizasyon (PlzP) tekniği kullanılmıştır. Son yıllarda, düşük basınç plazması, diğer bir deyişle 'yük boşalımı' tekniği, çeşitli maddelerin yüzeylerini, hedeflenen amaca uygun olarak değiştirmek amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. Yüzey enerjisinin artırılması veya düşürülmesi, biyolojik uygunluğun artırılması, yapışma özelliğinin değiştirilmesi, hidrofilik ya da hidrofobik karakter kazandırmak bu teknikle mümkün olmaktadır (Mc

Guire and Kirtley, 1988; Mutlu et al., 1997; Dhadwar et al., 2003). Kimyasal yüzey kaplama yöntemlerine göre, plazma polimerizasyon yöntemi çok daha basittir, tek basamakta yüzeye istenilen özellik homojen olarak kazandırılabilir. Kimyasal atık içermez ve malzemenin yığın yapısı değiştirilmeden yüzeyin fiziksel ve kimyasal yapısı değiştirilebilir.

Bu çalışmanın temel amacı, gıda endüstrisinde kalite indeksi olarak kabul edilen fenolik madde tayini için, plazma polimerizasyon tekniği kullanılarak elektrokimyasal sensör hazırlanmak ve performans parametrelerini belirlemektir. Literatürde yoğun olarak elektrokimyasal sensör çalışmalarında kullanılan iletken özellikteki karbon elektrotların yüzeyleri, yine iletken özelliğe sahip monomerlerden biri olan N-Vinil-2-prolidon (VP) kullanılarak plazma polimerizasyonu tekniği ile farklı PlzP parametreleri (boşalım gücü ve proses süresi) uygulanarak modifiye edilmiş ve fenolik madde adsorpsiyonuna uygun olabileceği düşünülen özelliklerde, diğer bir deyişle fenolik maddelere karşı güçlü bir adsorpsiyon karakteristiğine sahip, polivinilprolidon (PVP) benzeri yüzey hazırlanmıştır. Hazırlanan PlzP(VP) bazlı modifiye karbon elektrotlar model fenolik madde olarak seçilen gallik asit ile değişen parametrelerde (farklı konsantrasyonlarda ve sürelerde) etkileştirilmiştir. Her iki basamak sonrasında elde edilen karbon elektrotların elektrokimyasal davranışları diferansiyel puls voltametri (DPV) yöntemi ile ortaya konarak, karbon elektrot yüzeylerinde adsorplanan fenolik madde konsantrasyonu, elde edilen diferansiyel puls voltamogramlarındaki yükseltgenme pik yüksekliklerinin değerlendirilmesiyle saptanmıştır. Hazırlanan PlzP(VP) bazlı elektrokimyasal sensör, kalibre edilerek performans parametreleri belirlenmiştir. En yüksek performansı gösteren PlzP(VP) bazlı karbon elektrodun yüzeyi fiziksel (AKM) ve kimyasal (FTIR, RS) yöntemlerle karakterize edilmiştir. Son olarak, hazırlanan elektrokimyasal sensör kullanılarak kırmızı şarap örneklerinde bulunan fenolik maddelerin nicel olarak belirlenmesi ile çalışmalar tamamlanmıştır.

Hazırlanan elektrokimyasal sensörün sağladığı avantajları, pratik ve uygulanabilirliğinin kolay olmasının yanı sıra en önemlisi yerinde analiz için uygun olmasıdır. Ayrıca, sensörün hazırlanması aşamasında kullanılan plazma

polimerizasyon yöntemi büyük ölçüde maliyeti düşürdüğünden, ekonomik olarak da oldukça kazanım sağlamaktadır. Gıda sanayinde, fenolik madde miktarının kalite indeksi olarak kabul gördüğü özellikle şarap, meyve suyu gibi endüstri kollarında sürekli izlenebilirlik sağlanması açısından hazırlanan elektrokimyasal sensör büyük kolaylık sağlayacaktır. Hazırlanan sensörün performansının geliştirilmesi ve sanayiye yönelik çalışmalar devam edecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Fenolik Maddeler

Fenolik bileşikler bitkinin normal gelişimi sırasında sentez edilen ikincil metabolitlerdir. Fenolik maddeler; genellikle bir veya birden fazla hidroksil grup içeren bir aromatik halkaya sahip, farklı yapı ve fonksiyonlardaki metabolitlerdir (Robards et al., 1999; Naczk and Shahidi, 2004). Gıdalarda bulunan fenolik bileşikler en sıklıkla meyvelerde gözükmeyle birlikte meyvenin çeşidine bağlı olarak farklılıklar söz konusudur. Ayrıca aynı meyve türünde; büyüme mevsimi, cins, çevresel ve iklimsel koşullar, bitki hastalıkları, toprak çeşidi, coğrafik bölge, olgunluk gibi etkenler fenolik bileşik içeriğini etkilemektedir (Sellapan et al., 2002).

Gıdalarda bulunan fenolik maddeler; renk, acılık, burukluk, tat, koku ve ürünün oksidatif stabilitesine etki edebilmektedir (Naczk and Shahidi, 2004). Besinsel fonksiyonu olmamasına rağmen gıdalardaki fenoliklerin sağlık üzerine olumlu etkileri vardır. Flavonoidler ve diğer bitki polifenollerini yüksek redoks potansiyelleri ile önemli antioksidanlardır. Fenolik bileşiklerin antioksidan etkileri serbest radikalleri bağlamaları, metallerle kelat oluşturmaları, bazı enzimleri inaktive etmeleriyle açıklanmaktadır (Yang and Tsao, 2003).

Doğal olarak oluşan fenolik maddelerin en yaygın grubu flavonoidlerdir. Flavonoidlerin dışında bitki fenollerini; basit fenollerini, fenolik asitleri (benzoik ve sinnamik asitler), kumarinleri, stilbenleri, hidrolize ve kondense tanenleri, lignan ve ligninleri içermektedir (Naczk and Shahidi, 2004). Fenolik maddeler, bitkilerde homojen olarak dağılmamaktadır. Suda çözünmeyen fenolikler hücre duvarının bileşeni iken, suda çözünenler bitki hücrelerinin içinde yer alırlar. Bitkisel dokuda bitkinin dış tabakası iç tabakadan daha fazla fenolik madde içermektedir. Lignin ve hidroksi sinnamik asitler gibi hücre duvarında bulunanlar, çeşitli hücre sel bileşenlerle bağlantılıdır. Bu maddeler; hücre duvarının mekanik gücüne katkıda bulunur ve bitki gelişiminde düzenleyici rol oynarlar (Naczk and Shahidi, 2004).

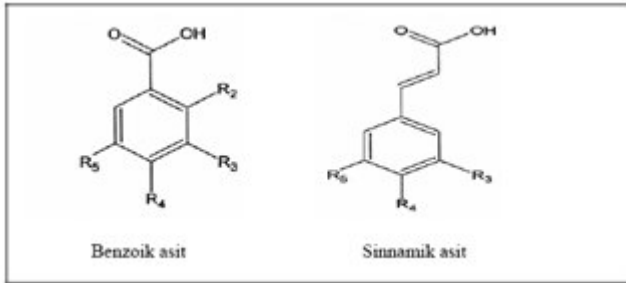
Çizelge 2.1: Bazı meyve ve sebzelerin başlıca fenolik madde içerikleri

Meyve	Fenolik madde	Kaynak
Turunçgiller	Sinamik asit, kumarin, hesperidin, naringin, neohesperitin, eriositrin	(Ortuno et al., 1997; Naidu et al., 2000)
Elma	Kafeik asit, p-kumarik asit, kuersetin, klorojenik asit, dihidrokalkonlar, floretin, epikateşin	(Karadeniz, 1994; Naidu et al., 2000; Salces et al., 2001; Uzelac et al., 2005)
Armut	p-kumarik asit, kuersetin, lökoantosyanidin, proantosyanidin, klorojenik asit, epikateşin	(Tanrıöven, 1997; Schieber et al., 2001)
Böğürtlen	Elajik asit, gallik asit, kafeik asit, ferulik asit, p-kumarik asit, siyanidin-3-glikozit	(Sellappan et al., 2002)
Üzüm	Mirisetin, kuersetin, kaempferol, isohamretinin, siyanidin, delphinidin, petunudin, malvidin, rutin, gallik asit, epikateşin, kumarik asit, ferulik asit	(Naidu et al., 2000; Espada et al., 2004; Lee et al., 2004)
Çilek	Elajik asit, siyanidin-3-glikozit, pelargonidin-3-glikozit, hidroksisinnamik asit, hidroksibenzoik asit, klorojenik asit, kuersetin, kaempferol	(Hakinken and Törrönen, 2000; Seram et al., 2004)
Kiraz	Neoklorojenik asit, hidroksisinnamik asit, hidroksibenzoik asit, p-kumarilkuinik asit, klorojenik asit	(Gonçalves et al., 2004)
Erik	Hidroksisinnamik asit, neoklorojenik asit, klorojenik asit, rutinozit glikozitleri	(Kim et al., 2003)
Nar	Elajik asit, delphinidin, pelargonin, siyanidin, hidrolize taninler, punicalagin, kateşin, epikateşin, gallokateşin	(Amakura et al., 2000; Gil et al., 2000; de Pascual- Teresa et al., 2000; Noda et al., 2002)
Havuç	Hidroksisinnamik asit türevleri, p-hidroksibenzoik asit-şirinjik asit, kafeik asit, isoklorojenik asit, klorojenik asit	(Babic et al., 1993; Alasalvar et al., 2001)
Domates	Kuersetin	(Dewanto et al., 2002; et al., 2004)

2.1.1. Fenolik asitler

Fenolik asitler; sinamik ve benzoik asitler olmak üzere iki gruptan oluşmaktadır. Fenol karbon asitleri ile de anılan fenolik asitlerden sinamik asitlerin yapısı C6-C3 iskeletine dayanmaktadır. Meyvelerde en fazla görülen sinamik asitler, kafeik asit, kumarik asit ve ferulik asittir. Sinamik asitler meyvelerde esterleşmiş halde de bulunabilmektedir.

Kafeik asitin kuinik asit ile yaptığı ester olan klorojenik asit en yaygın görülen sinamik asit türevidir (Belitz et al., 2002; Naczki and Shahidi, 2004). Benzoik asitler ise C6-C1 iskeletine dayalı bileşiklerdir. Meyvelerde benzoik asit türevleri genellikle ester halinde bulunur. En önemli benzoik asit türevleri, salisilik asit (2-hidroksibenzoik asit), p-hidroksibenzoik asit (4-hidroksibenzoik asit), protokateşik asit (3,4-dihidroksibenzoik asit), vanilik asit (3-metoksi-4-hidroksibenzoik asit), gallik asit (3-4-5-trihidroksibenzoik asit) tir. Şekil 2.1'de benzoik asit ve sinamik asit iskelet yapısı gösteren fenolik maddelerin temel kimyasal yapısı gösterilmiştir (Belitz et al., 2002; Naczki and Shaidi, 2004).



Şekil 2.1: Fenolik asitlerin temel kimyasal yapısı

Lifli materyaller zengin bir flavon ve fenolik asit kaynağıdır. Kumarik asit ve ferulik asit gibi bazı yaygın fenolikler düşük antioksidan aktivitesi göstermelerine rağmen kafeik asit ve klorojenik asit gibi moleküllerinde daha fazla fenolik hidroksil taşıyan maddelerde antioksidan aktivitesi daha yüksektir. Gallik asit ve esterleri ise bilinen en iyi güçlü antioksidanlardandır (Hudson, 1990).

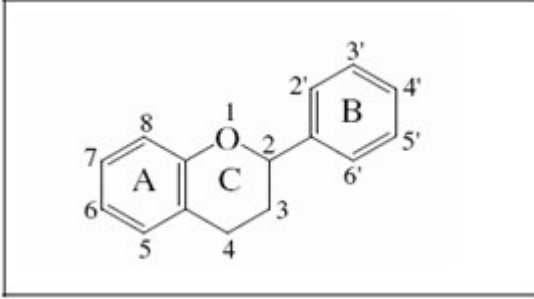
2.1.2. Flavonoidler

Flavon ismi Latince flavus (sarı) kelimesinden gelmektedir. Bitkilerden elde edilen ve genellikle sarı renkli olan bu bileşikler “flavonoid” olarak isimlendirilmiştir. Günümüze kadar yapılan çalışmaların sonucunda bitkilerden 4000’den fazla flavonoid izole edilmiş ve yapıları aydınlatılmıştır. Hepsi antioksidan aktivite göstermekte ve bunlardan yaklaşık 50 tanesi gıdalarda bulunmaktadır. Çoğu flavonoid polifenolik bitki pigmentidir ve meyve ve sebzelere kırmızı, turuncu, sarı, mavi ve mor renk verirler.

Bilinen flavonoidlerden yeşil çayda bulunan EGCG (epigallokateşin gallat) en umut vaad edici antikanserojen maddelerden biridir (Naczki and Shahidi, 2004).

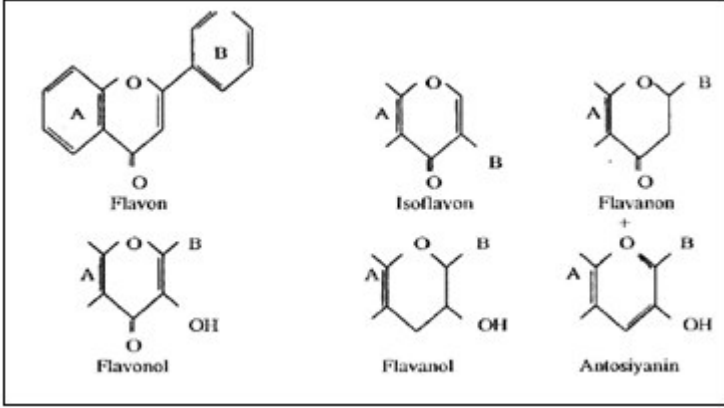
2.1.2.1. Flavonoidlerin yapı özellikleri ve sınıflandırılması

Genellikle tüm flavonoidler; üç fenolik halkaya sahip ve hidroksil ile metil grubuna göre değişen 2-fenilkromonun türevleridirler. Kimyasal yapıları (C6-C3-C6) iskelet yapısına dayanır (Şekil 2.2). (Madhavi, 1996; Shahidi, 1997).



Şekil 2.2: Flavonoidlerin C6-C3-C6 iskelet yapısı

C halkasındaki sübsitüye gruplara ve B halkasının pozisyonuna bağlı olarak flavonoidler çeşitli alt gruplara sınıflandırılmıştır. Doğal olarak meydana gelen flavonoidler, kimyasal yapılarına göre altı gruba ayrılabilirler; flavanon, flavonlar, izoflavonoidler, flavanlar (flavanoller), antosiyaninler ve flavonoller (Şekil 2.3) (Madhavi, 1996; Peterson and Dwyer, 1998).



Şekil 2.3: Flavonoid alt gruplarının temel yapısı

Pratt ve Hudson bu bileşenlerin genel mekanizmalarını incelemiş ve yapı ve antioksidan aktivitesi arasındaki ilişkiyi gözlemişlerdir. Flavonoidlerin antioksidan aktivitesi genellikle üç türlü olmaktadır. Flavonoidler ya birincil antioksidan olarak, ya da kelat oluşturarak ya da süperoksit anyon yakalayıcısı olarak serbest radikallerin etkisini giderirler. B halkasındaki 3'-4'-5' pozisyonlarındaki hidroksil grupların varlığı tek hidroksil içeren gruplara kıyasla antioksidan aktiviteyi arttırmaktadır. Aynı zamanda C halkasındaki 3- hidroksil grupları ve 2-3 çift bağlar antioksidan özellik üzerinde etki yapmaktadır (Madhavi, 1996).

Flavonoidlerin yapı çeşitliliği, difenilpropan iskeletinin (C6-C3-C6) farklı yapılarda düzenlenme özelliğinin yanı sıra, her sınıf içinde, molekülün aromatik halkalarına bağlanan sübsitüent sayısı, özelliği ve bağlanma pozisyonlarına göre ortaya çıkar. Hidroksil grupları, flavonoid yapılarında bulunan en yaygın sübsitüentlerdir. Doğal flavonoidlerin yapısında en fazla yedi hidroksil grubunun bulunduğu bilinmektedir. Flavonoidlerin yapısındaki hidroksil grupları, reaktif özelliklerinden dolayı kolaylıkla alkilenir veya glikozillenirler. Bu nedenle, flavonoidlerin metoksi ve glikozil türevlerine bitkilerde sıkça rastlanır (Çıkrıkçı, 2005).

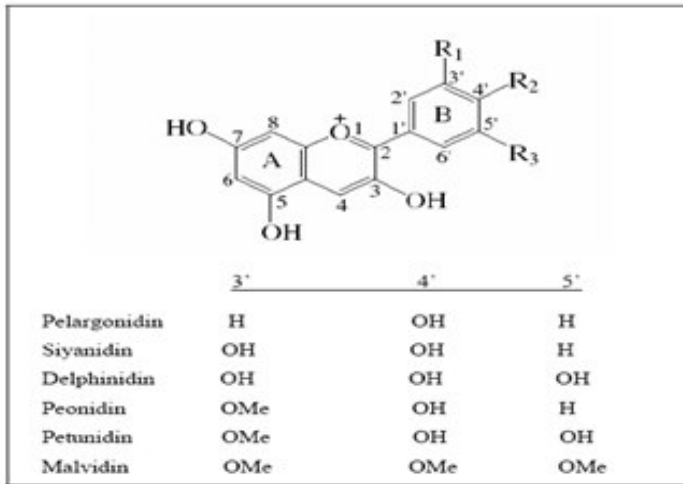
2.1.2.2. Antosiyaninler

Antosiyaninler üzüm, çilek, kiraz, vişne, nar gibi meyvelere rengini veren (kırmızı, mor, pembe, mavi) ayrıca çeşitli çiçekler ve bitki köklerinde de bulunan, en iyi doğal renklendiricilerdir (Çalıklı, 2003; Villers et al., 2004).

Antosiyaninlerin yapısında heterosiklik bir halka olan pirilyum katyonu bulunmaktadır. Pirilyum ise yapısında pozitif yüklü bir oksijen bulunan bir oksonyum iyonudur. Antosiyaninler bu eksik elektrondan ötürü oldukça aktif niteliktedir. Antosiyaninler kimyasal olarak 2-fenilbenzopiridin'in polihidroksi ve polimetoksi türevlerinden oluşan glikozitlerdir. Bu yapı, şeker gruplarının (mono-ditri sakkaritler), şeker olmayan (aglikon) maddelerle birleşmesi ile oluşmaktadır.

Antosiyaninlerin şeker olmayan kısmı, fenolik maddelerden antosiyanidinler (C6- C3- C6) olarak adlandırılmaktadır. Her bir antosiyanidin farklı şeker ya da asitlerle, farklı pozisyonlarda bağlanması ile çok sayıda antosiyanin oluşabilmektedir (Jamet and Ebeling, 2002; Çalıklı, 2003).

Dephinidin, siyanidin, pelargonidin, malvidin, peonidin ve petunidin bilinen en yaygın antosiyanidin türleridir. Şekil 2.4'te 6 temel antosiyaninin kimyasal yapısı gösterilmiştir (Nacz and Shahidi, 2004).



Şekil 2.4: Altı temel antosiyaninin kimyasal yapısı

Doğada antosiyaninler antosiyanidinlerin glikozitleri halinde bulunmaktadır ve bu glikozit yapıya bağlı aromatik veya alifatik asitler bulunabilir. P-kumarik asit, kafeik asit, ferulik, sinapik asit, gallik veya p-hidroksibenzoik asitler gibi asitler ile açillenme antosiyaninlerin stabilitesi açısından oldukça önemli etkiye sahiptir (Türker et al., 2004).

Antosiyanin flavonoidleri, pigment olarak rengin oluşumunda önemli etkiye sahiptirler. Bu bileşenler, taze yapraklarda ultraviyole ışınlarının neden olduğu zarara karşı koruyucu etki göstermekte, patojenlere direnci artırmaktadırlar. Ayrıca antosiyaninler antioksidan enzim inhibitörü olarak da rol oynayabilmektedirler. Buna ilaveten flavonoidler fotosentez ve enerji transfer bileşenleri olarak da fonksiyon gösterebilir ve bitkinin gelişiminde etkili olabilirler (Naidu et al., 2000).

Antosiyaninlerin renkleri moleküler yapılarına ve buldukları ortamın pH derecesine göre değişim göstermektedir. Örneğin hidroksil gruplarının sayısı arttıkça renk pembeden maviye dönüşür. Metoksil gruplar ise bu dönüşümü tersine çevirir.

Asidik sulu çözeltilerde kırmızı renge sahip olan bu renk maddeleri pH > 4,5 olduğunda tamamen renksizleşir. Bu maddelerin renklendirici olarak kullanımında gıdanın ve ürünün pH < 3,5 değerinde olması gerekmektedir. Antosiyaninler düşük pH da kararlıdır ve etkin bir kırmızı renk oluştururlar (Çalimli, 2003).

Antosiyaninlerin stabilitesini etkileyen faktörler; pH, sıcaklık, ışık, kopigmentler, metalik iyonlar, oksijen, askorbik asit, şeker, degradasyon ürünleri şeklinde sıralanabilir. Bu faktörlerin yanı sıra açillenme gibi antosiyanin yapısını etkileyen durumlar da stabilizeyi etkilemektedir (Türker et al., 2004). En önemli antosiyanin kaynakları, üzüm suyu ve şarap yapımında atık olarak ele geçen posalar, bazı üzüm çeşitleri, kuşburnu (0.6-0.8 mg/g meyve), mürver ağacı meyvesi (2-10 mg/g meyve), kiraz (43,6 mg/100 g) ve vişne (35-82 mg/100 g meyve) şeklinde belirtilmiştir (Çalimli, 2003).

Genel olarak antosiyaninler doğal renklendirici olarak kullanılmaktadırlar. Üzümden elde edilen antosiyanin ticari amaçlı mor ve kırmızı renklendiriciler olarak alkolsüz

içecekler, meyve Őurupları, konserve meyveler, Şarap, alkollü içecekler, tatlı ve yoğurtlarda kullanılmaktadır (alımlı, 2003).

Antosiyaninlerin özücü yöntemiyle ekstraksiyonu ile ilgili yapılan araŐtırmalarda, kuşburnu ve üzüm suyu ya da Şarap üretiminde atık olan posalardan antosiyaninlerin elde edilmesinde asit-alkol ekstraksiyonu uygulanmıŐtır. Bu amaçla genelde etanol-0.1 N HCl kullanılırken, kuşburnu posasında metanol- %0,03 HCl ile ekstraksiyon yapılmıştır (alımlı, 2003).

Çizelge 2.2: Bazı fenolik maddelerin kimyasal yapısı

Fenolik madde	Kimyasal yapısı
(-)- Epigallokateşin gallat	
(-)- Epigallokateşin	
(-)- Gallokateşin	
(-)- Epikateşin	
(+)- Kateşin hidrat	
Rutin hidrat	
3,4- Dihidroksibenzoik asit	
Kafeik asit	
Klorojenik asit	
Gallik asit	
Ferulik asit	
P-Kumarik asit	
Şirinjik asit	

2.1.2.3. Flavonoidlerin antioksidan aktivitesi

Flavonoidlerin yapısı; fizyolojik aktivitelerine dair birçok hipotezin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Flavonoidler içerdikleri hidroksil yapılarına göre güçlü zincir kıran antioksidanlar olarak hareket edebilmektedirler. Kimyasal olarak flavonoidlerin güçlü antioksidan özellikleri üç özellikten kaynaklanır; hidrojen vererek redoks reaksiyonlarına girebilirler. Flavonoidlerin yapısında bulunan, B halkasındaki (Şekil 2.4) oksijen atomunun bulunduğu yerden açılarak kolayca okside olabilmekte (aromatik halka yapılarındaki hidroksil grupları sayesinde) ve bu sayede serbest radikalleri yok edebilmektedir. Flavonoidler, aromatik heterosiklik ve çoklu doymamış bağlardan oluşan yapılarıyla dayanıklı bir kimyasal yapı oluştururlar.

Metallerle kelat oluşturma özelliğine sahip yapısal grupları vasıtasıyla OH^- ve O^{2-} gibi reaktif oksijen türlerinin oluşumunu engelleyebilirler (Cam ve Hışıl, 2003; Naczka and Shahidi, 2004).

Antioksidan aktivitesi belirlemede hidroksilasyon derecesi ve pozisyonu en önemli parametrelerdir. Genellikle kabul gören görüşe göre B halkasının ortohidroksilasyonu önemli ölçüde göze çaracak şekilde flavonoidlerin antioksidan aktivitesine katkıda bulunur (Hudson, 1990).

Meta konfigürasyonunda antioksidan aktivitesi olmadığı durumda ise B halkasının para yapısı antioksidan aktivitesine daha çok katkıda bulunmaktadır. Ancak para ve meta hidroksilasyonu doğada sıklıkla rastlanan bir durum değildir. Bütün flavonoidler 3,4' dihidroksi konfigürasyonlarında antioksidan aktivitesine sahiptirler. Bunlardan iki tanesi (robinetin ve mirisetin) 5' pozisyonunda ekstra hidroksil grubuna sahiptir. Bu durumda antioksidan aktivite fisetin ve kuersetin gibi 5' pozisyonunda hidroksil grup taşımayanlara kıyasla daha yüksektir. Naringenin ve hesperitin adlı iki flavonon B halkasında sadece tek bir hidroksil grubuna sahiptir. Bu nedenle diğerlerine göre daha düşük antioksidan aktiviteye sahiptir. Kısaca, B halkasındaki hidroksilasyon durumu antioksidan aktiviteyi belirlemede göz önünde bulundurulması gereken başlıca etkenlerden biridir (Hudson, 1990).

2.1.2.4. Flavonoidlerin gıdalarda dağılımı

Flavonoidler gıdalarda genellikle glikozit halinde bulunurlar, suda çözünür ve dayanıklıdırlar. Gıdalarda bulunan flavonoidler; genellikle renk, tat, yağların oksidasyondan korunması, vitaminlerin parçalanmasının ve enzim inaktivasyonunun önlenmesinden sorumlu bileşenlerdir. Ancak lipitlerdeki oldukça düşük çözünürlükleri genellikle dezavantajdır (Justesen et al., 1998; Peterson and Dwyer, 1998; Hudson, 1990).

Doğal ürünlerde, özellikle bitkisel kaynaklı birçok gıdada iki veya üç bileşenin etkileşimi ile bu bileşenlerin ayrı ayrı toplamından (sinerjistik etki) daha fazla koruyucu etkiye sahip bir antioksidan aktivitesi elde edilir. Örneğin tokoferoller (birincil antioksidanlar), fosfolipitler (proton donör), askorbik asit (oksijen yakalayıcı), flavonoidler (birincil antioksidan ve metal şelat) daha güçlü bir koruma sağlamak amacı ile bir araya getirilir (Hudson, 1990).

2.1.3. Şarabın fenolik bileşimi ve fenolik bileşenlerinin önemi

Üzümlerin fenolik bileşimlerinin nitelik ve nicelikleri öncelikle üzümün çeşidine bağlıdır. Belli fenol bileşiklerinin varlığı ve miktarlarının birbirlerine oranları genetik olarak kontrol edilen cins ve tür özelliklerine bağlı iken, toplam fenol miktarı veya bileşimdeki fenollerin sınıfı çevresel faktörlere bağlıdır (Singleton and Esau, 1969).

Üzümün yetiştirildiği bölge, toprak özellikleri ve gerçekleştirilen tarımsal faaliyetler de üzümdeki pigment miktarını ve üzümün fenol bileşimini etkiler (Shahidi and Naczk, 1995).

Üzümlerin şaraba islenmesi sırasında kullanılan yöntemler ve uygulanan sıcaklık-süre normları son ürünlerdeki fenol bileşimini etkileyen bir diğer etkidir. Şarap üretimi aşamalarında sap ayırma işleminin yapılması, uygulanan parçalama işleminin etkinliği, cibre fermantasyonunun süresi ve sıcaklığı, fermentasyonda kullanılan maya son ürünlerdeki fenol bileşiminde etkilidir. Şarabın fenol bileşimi mayalar

tarafından üretilen alkol etkisiyle değişebilir. Etanol, fenolik olmayan bileşenleri fenol bileşenine çevirebilir (Shahidi and Naczk, 1995).

Fermentasyondan sonra şaraplar genellikle oksijen varlığında ahşap fıçılarda veya paslanmaz çelik tanklarda olgunlaştırılırlar. Fıçıda yillandırma sırasında şarabın fenol bileşimi fıçıdan ekstrakte edilen fenol bileşenlerine bağlı olarak değişir. Ekstrakte edilen fenol bileşenlerinin miktarı ise yillandırma süresine, kullanılan mesenin tipine, fıçının boyutlarına ve daha önce kullanılıp kullanılmamasına bağlıdır. Olgunlaşma ortalama 12- 24 ay sürer ve ardından şarap şişelenir. Daha sonra şaraplar oksijenle sınırlı miktarda temasa izin verecek şekilde şişede yillandırılırlar (Shahidi and Naczk, 1995).

Bitkinin üremesi ve büyümesi için zorunlu olan fenol bileşenleri ayrıca antimitojenik, antikarsinojenik, antioksidan, antiinflamatuar, antialerjik ve antipatojen özellikleri ile insan sağlığı üzerine olumlu etkileri açısından önem taşımaktadırlar. Fenol bileşenleri bitkilerde renk oluşumuna katılırlar ve bitkiler stres durumlarında veya darbe aldıklarında patojenlerden korunmak amacıyla bazı yeni fenol bileşenleri sentezleyebilirler (Shahidi and Naczk, 1995).

Şarapların rengini farklılaştıran çok geniş bir fenolik pigmentasyon söz konusudur. Şaraplarda açık renkten koyuya kadar değişen geniş bir renk yelpazesi vardır. Farklı şaraplarda renk sarının tonlarından kahverengiye, pembeden siyaha kadar değişir. Kırmızı şarabın rengini oluşturan temel maddeler antosiyaninlerdir. Antosiyaninlerin çeşitleri ve miktarları büyük oranda üzümün çeşidine ve yetiştirilme koşullarına bağlıdır (Clarke and Bakker, 2004).

Fenolik bileşimlerine bağlı olarak; şaraplar yumuşak veya sert yapıda olabilirler. Fenol bileşenleri şaraba kendine özgü tadını verirler. Temel olarak şarabın acılığından ve burukluğundan sorumludurlar (Proestos et al., 2005). Şarap diğer alkollü içeceklerle karşılaştırıldığında çok önemli doğal bir antioksidan kaynağıdır (Gronbaek 1999, 2001). Bu nedenle beslenme açısından önemi büyüktür.

Şarabın, özellikle de kırmızı şarabın sağlık üzerindeki olumlu etkisi içerdiği antioksidan fenolik bileşiklerden ileri gelmektedir. Özellikle kateşin, epikateşin, kuersetin ve resveratrol gibi bileşenlerin sağlık üzerindeki etkileri tıbben kanıtlanmıştır (Anlı, 2006). Fenolik bileşikler antioksidan özellikleriyle LDL-lipoproteinlerin oksidasyonunu, trombosit pıhtılaşmasını ve kırmızı kan hücrelerinin zarar görmesini engellerler. Ayrıca fenol bileşenleri metal bağlayıcı, antimutajen ve antikarsinojen ajan olarak da etkindirler (Minussi et al., 2003).

Flavonoidler antioksidan aktivitelerini serbest radikalleri bağlayarak gösterirler. Serbest radikaller canlı hücreler için çok zararlıdır. Yaslanmayı hızlandıracak ve hatta hücre yıkımına sebep olacak şekilde farklı hücre organellerine saldırırlar. Eğer DNA serbest radikallerden etkilenirse hücrede geri dönüşümü olmayan bozukluklar oluşabilir (Minussi et al., 2003).

Fransızların yağ içeriği yüksek bir diyet alışkanlıkları olmaları ve sigara tiryakisi olmalarına rağmen Fransa'da kalp ve damar hastalıklarına diğer ülkelere göre daha az rastlanması literatüre 'Fransız Paradoksu' olarak geçmiş ve bu olay şarabın flavonoid içeriği ile açıklanmıştır (Landrault et al., 2001).

Fenol bileşenleri bitkileri böcek ısırılmaları, makineyle hasatın yarattığı mekanik stres ve küf, bakteri ve virüs kaynaklı enfeksiyonların yarattığı biyolojik strese karşı korur. Bunun nedeni fenol bileşenlerinin zarar görmüş dokunun duvar hücrelerindeki lignin üretimine katılması, mikrobiyal büyümeyi engelleyerek bitkiyi koruması ve sporların çimlenmesini engellemesi biçiminde olabilir. Bitkilerin stres durumlarına karşı gösterdiği temel tepki fenol içeriğinin artması şeklindedir. Stres durumlarında bitkiler hücrede hazır bulunan fenol bileşenlerini kullanabilirler. Stresin ardından bitkiler hücrede bulunan bileşenlerle üretilen fenol bileşenlerini kullanabilirler veya iyileşmeyi sağlayacak fenol bileşenlerinin biyosentezini başlatabilirler (Shahidi and Naczki, 1995).

2.1.4. Fenolik madde tayininde kullanılan analiz yöntemleri

2.1.4.1. Flavonoidlerin ekstraksiyon yöntemleri

Antioksidan bileşiklerinin yüksek verimle eldesinde çözügen seçimi en önemli faktörlerden birisidir. Fenolik bileşikler hidrofildir ve alkolde yüksek çözünürlüğe sahiptirler. Fenolik bileşiklerin çözünürlüğü; kullanılan çözügenin polaritesine, fenolik bileşiklerin polimerizasyon derecesine ve fenolik bileşiklerin yapısına bağlıdır. Bütün fenolik maddelerin hepsini veya belirli bir sınıf fenoliklerin hepsini ekstrakte edecek bir tek çözügen sistemi yoktur. Fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda genellikle metanol, etanol, aseton, su, etil asetat veya bunların kombinasyonları kullanılır (Wrolstad and Grete, 2002; Naczki and Shahidi, 2004).

Genellikle fenolik madde içeren birçok bileşenin metanol ve etanol ekstraktlarının antioksidan aktivitesinin diğer çözügen sistemlerine göre daha yüksek olduğu görülmüştür (Oreopoulou, 2003).

Antosiyanin bileşenleri polar moleküllerdir ve polar çözücülerde daha iyi çözünürler. Antosiyaninler bazik veya nötr koşullarda stabil değildir. Bu nedenle antosiyaninlerin ekstraksiyonunda asidik ortam kullanılır (Dao and Takeoka, 2002). Ayrıca koşullara bağlı olarak fenolik maddeleri ekstrakte ettikten sonra saflaştırma işlemi de uygulanabilmektedir. Vakum altında konsantre edildikten sonra petrol eteri, etil asetat ve dietiler ile ekstrakte edilerek lipitler ve istenmeyen polifenoller uzaklaştırılabilir. Ayrıca fenolikleri saflaştırmak için sıvı-katı veya sıvı-sıvı faz ekstraksiyonu da uygulanabilmektedir. Sıvı - katı faz ekstraksiyonunda amberlit parçacıklar yardımı ile şeker ya da bazı istenmeyen polar bileşenler fenolik maddelerden ayrılır. Sıvı-sıvı faz prosedürünün temeli ise birbiri içerisinde karışmayan iki sıvı ile ayırım yöntemine dayanır. Fazlardan birisi hareketli diğeri ise hareketsiz faz olarak kullanılır ve böylelikle farklı iki faz yardımı ile istenmeyen maddelerin ayrımı sağlanır (Naczki and Shahidi, 2004).

Bunlardan başka, doğal antioksidan maddelerin ekstraksiyonunda yeni bir prosedür olan süperkritik karbondioksit yöntemi kullanılarak düşük sıcaklıkta ekstraksiyon

sağlanabilmektedir. Örneğin, bazı bitkisel gıdalar 30 MPa ve 40°C'de süperkritik karbondioksit ile ekstrakte edildiğinde antioksidan aktivitesinin aynı bitkinin aseton ekstraktından daha yüksek ya da aynı olduğu görülmüştür. Ancak genellikle süper kritik karbondioksit ile ekstraksiyon veriminin daha düşük olduğu görülmüştür.

MPa ve 60°C de yeşil çayın süperkritik karbondioksit ekstraksiyondan elde edilen kateşin veriminin etanol, ya da sokselet cihazındaki sulu ekstraksiyondan daha düşük olduğu görülmüştür. Sulu etanol çözügeninin yardımcı çözügen olarak ilave edilmesinin ise ekstrakte edilen kateşin verimini arttırdığı görülmüştür (Oreopoulou, 2003).

2.1.4.2. Spektrofotometrik yöntemler

Fenolik maddelerin miktarını belirlemek için birçok yöntem geliştirilmiştir. Gıdalarda bulunan toplam fenolik madde miktarı genellikle Folin Ciocalteau yöntemiyle gerçekleştirilir. Gıdaların içeriğinde bulunan toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi, antioksidan aktiviteyi sağlayan hidroksil grupları hakkında fikir vermesi açısından önemlidir. Genellikle toplam fenol içeriği ve antioksidan aktivitesi arasında oldukça iyi doğrusal bir korelasyon görülür (Huang et al., 2005; Prior et al., 2005).

Folin Ciocalteau (FC) reaktantı ile fenolik maddelerin okside olması sonucu 745-765 nm de gözlenebilen renkli bir ürün oluşur (Prior et al., 2005). Fenolik olmayan maddeler tarafından da indirgenebilen FC reaktantı sadece fenoliklere karşı spesifik değildir. Fenolik bileşenler FC reaktantı ile bazı şartlar altında reaksiyon verirler sodyum karbonat ile pH yaklaşık 10' a ayarlanır. Fenolik protonların disosiyasyonu ile fenolat anyonu oluşur ve bu da FC reaktantını indirgeyebilme özelliğine sahiptir. Fenolat anyonu ve FC reaktantı reaksiyonundan oluşan mavi renkli bileşen fenolik maddenin yapısından bağımsızdır (Huang et al., 2005).

Bu metot basit, duyarlı ve kesinliği yüksek bir metottur. Ancak reaksiyon asidik pH da yavaşır ve spesifikliğini kaybeder. Metodun en önemli dezavantajı, ortamda bulunan ekstrakte edilebilir proteinleri de ekstrakte etmesidir. Bu nedenle spesifik bir metot olarak kabul edilmemektedir. Ayrıca metodun diğer bir dezavantajı da analiz sırasında

ortamda bulunan askorbik asit gibi indirgen maddelerle etkileşime uğramasıdır (Huang et al., 2005).

Fenol referans standartı olarak gallik asit kullanılır. Fakat bazı kaynaklarda farklı standartlara da rastlanmıştır (Prior et al., 2005).

Folin Ciocalteu metodunun yanı sıra Prussian blue testi, vanilin testi, folindenis testi gibi metotlar nadir de olsa kullanılabilir (Prakash, 2001). UV görünür spektroskopik teknikler basit fenollerin özellikle flavonoidlerin analizinde ve antioksidan aktivitesi ölçüm metotlarında sıklıkla kullanılır (Naczki and Shahidi, 2004).

2.1.4.3. Kromatografik yöntemler

Fenolik asitlerin, izoflavonların, fenolik aldehytlerin ve kondense tanen monomerlerinin analizinde çeşitli gaz kromatografisi (GC) teknikleri kullanılabilir. Gaz kromatografisi ile analiz öncesinde; ekstrattan lipit eliminasyonu, tanenlerin enzimatik hidrolizi ya da asit depolimerizasyonu gibi ön işlemler uygulanmalıdır.

Kromatografik analizden önce, fenolik maddeler genellikle metilasyon ve trifloroasetilasyon ile daha uçucu türevlerine dönüştürüldükten sonra analizlenirler (Naczki and Shahidi, 2004).

HPLC teknikleri ise fenolik maddelerin ayrılması için en sık kullanılan metottur. Ters fazlı kolon kullanımı HPLC ile ayrılmayı daha duyarlı hale getirmiştir. Gıdalarda bulunan fenolik maddeler genellikle UV görünür dalga boyunda UV-Vis dedektörleri ile ölçülmektedir (Naczki and Shahidi, 2004).

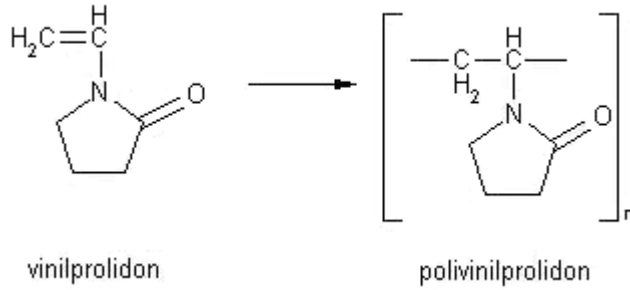
Polifenolik maddelerin tanımlanmasında kolonda alıkonulma süresi temel alınır. HPLC'de bileşiklerin kimyasal yapısı alıkonma süresi üzerine etkilidir, hidroksillenmiş ve glikozitlenmiş fenoliklerin alıkonma süreleri kısa iken, metillenmiş veya açillenmiş fenoliklerin alıkonma süreleri ise uzundur (Dao and Takeoka,2002).

2.1.4.4. Sensör uygulamaları

Fenolik madde tayinde kullanılan spektrofotometrik ve kromatografik yöntemlerin yanında, son yıllarda sensör çalışmaları da dikkat çekmektedir. Sensörük metodların, analitik yöntemlere göre daha hızlı sürede cevap vermesi, yerinde analize uygun olması, ekonomik olması, üretim ve işlem kolaylığı sağlaması, daha az örnek ve kimyasal kullanımı gerektirmesi gibi nedenlerle daha avantajlıdır (Turner et al., 1987).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, fenolik madde tayininde, polivinilprolidon (PVP) ile modifiye edilmiş karbon pasta elektrodlar (He et al., 2004; Yang et al., 2006; Franzoi et al., 2008;), biyosensörler (Capannesi et al., 2000; Oliveria et al., 2006), camı karbon elektrodlar (Kang et al., 2002; Blasco, Gonzalez and Escarpa, 2004;) ve altın elektrod (Zeng et al., 2006) kullanılmıştır.

Polivinilprolidon (PVP), N-vinilprolidon (VP) birimlerinden oluşmuş ve suda çözünen yüksek molekül ağırlıklı bir polimerdir (Şekil 2.5).



Şekil 2.5: Vinilprolidon ve polivinilprolidonun molekül yapıları

PVP fenolik bileşiklere karşı güçlü bir adsorpsiyon karakteri göstermektedir. Bu adsorpsiyon karakteri, polimerin merkezindeki imide grubu ile fenolik bileşiklerin hidroksil grubu arasında oluşan hidrojen bağına dayandırılmaktadır. Polifenol molekülündeki hidroksil gruplarının sayısı arttıkça, fenolikler PVP tarafından daha güçlü ve hızlı bir şekilde adsorplanmaktadır (He et al., 2004; Yang et al., 2006). Daha

önce yapılan çalışmalarda, PVP'nin meyve sularından ve bitki ekstraktlarından fenolik bileşikler uzaklaştırmada kullanıldığı görülmektedir (Loomis and Battaile, 1966; Borneman, Gökmen and Nijhuis,2001). Ayrıca PVP, modifiye elektrotların yapımında da kullanılmıştır (Yang et al., 2006; Franzoi et al., 2008).

2.2. Kimyasal Sensör (Gründler, 2007)

2.2.1. Kimyasal sensör tanımı

IUPAC tarafından literatürde getirilen tanım ise şu şekildedir:

“Kimyasal bileşiklere ya da iyonlara seçici ve tersinir bir şekilde cevap veren ve konsantrasyona bağımlı elektriksel sinyaller oluşturan küçültülmüş cihazlara kimyasal sensörler denir ” (Camman et al., 1991).

Bu tanıma karşılık, literatürde daha eğitici tanımlar yer almaktadır:

“Kimyasal sensörler, bir tanımlayıcı bileşen, bir çevirici bileşen ve sürekli&tersinir bir şekilde kimyasal bir konsantrasyonu bildiren bir sinyal üreticisinden oluşan küçük boyutta aletlerdir” (Wolfbeis,1990).

Bu tanıma göre cihazın tam bir sensör olarak çalışabilmesi için, konsantrasyonun her iki yöndeki değişiminin de izlenebiliyor olması gerekir.

Kimyasal sensörlerin genel olarak taşıması gereken özellikler:

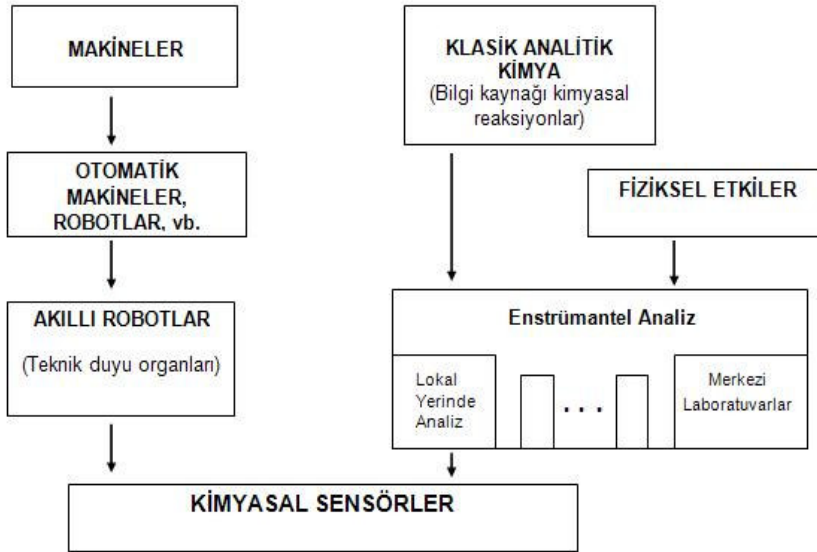
- Kimyasal nicelikleri elektriksel sinyallere çevirmeli,
- Hızlı cevap vermeli,
- Raf ömrü uzun olmalı,
- Küçük boyutta olmalı,
- Ucuz olmalı,

- Spesifik olmalı, belirlenen bir analite veya analit grubuna karşı seçici cevap vermeli.

Bu liste “düşük ölçüm sınırı” veya “yüksek hassasiyet” ile genişletilebilir.

2.2.2. Tarihçe

Sensör bilim dalının oluşmasının iki temel kaynağı vardır. Bunlardan biri, mikroteknolojilerin gelişimi ve duyu organ talebini teşvik etmesidir. Diğeri ise, analitik kimyanın gelişmesi sonucu ortaya çıkan ve giderek büyüyen yerinde analiz ihtiyacıdır. Şekil 2.6 sensör biliminin bağımsız bir bilim dalı olarak ortaya çıkışı özetlenmiştir.



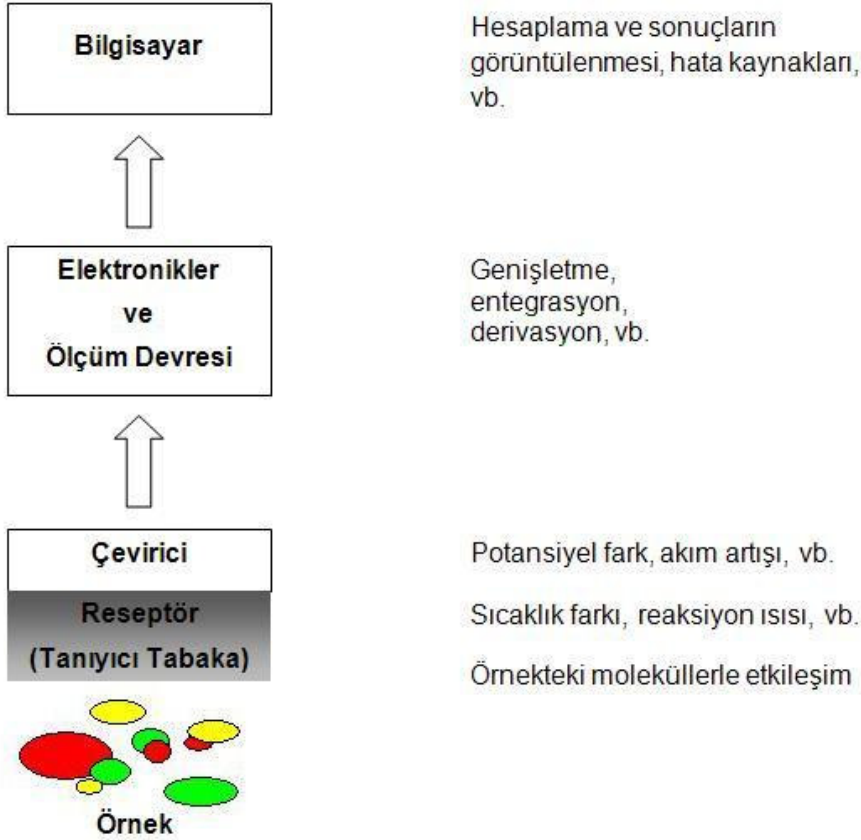
Şekil 2.6: Kimyasal sensörlerin gelişimindeki iki temel kaynak

Özel tasarlanmış cam membran pH elektrotları, kimyasal sensör tanımının ilk uygulamalarıdır. Bir tür ince cam membranın H^+ iyonuna karşı seçici geçirgenliği sensörlerin doğuşuna neden olmuştur. İlk ticari pH elektrot Beckman firması tarafından 1935’de piyasaya sürülmüştür. Kimyasal sensörlerdeki buluşlar, 1966’da kalsiyum, flor, gümüş ve sülfid iyonları için, iyon seçici elektrotların geliştirilmesi, buna

1967'de potasyum iyonunun katılması ile devam etmiştir. Birçok iyon seçici membranların geliştirilmesi ve polimer ile elektronik teknolojisinde bir araya gelmesi ile doğrudan potansiyometrik ölçümlerle sonuç veren elektrotlar piyasaya sürülmüştür (Camman et al., 1991).

2.2.3. Kimyasal sensörlerin genel tasarım prensibi

Bir kimyasal sensörün temel çalışma prensibi üç ana bileşeni ile tanımlanmaktadır.



Şekil 2. 7: Kimyasal sensör sisteminin genel gösterimi

En önemli bileşen, reseptör olup tanıyıcı tabaka olarak da adlandırılır. Bu tabaka genellikle yapısında bulunan ve tanımak istediği kimyasala özgü enerjik etkileşimi ile tanımayı gerçekleştirir. İkinci bileşenin fonksiyonu, tanıyıcıda oluşan maddeye özgü sinyali, bu sinyalle orantılı bir ölçülebilir bir enerjiye çevirmektir. Bu görev geniş bir

seçenekler yelpazesi sunan fiziksel çeviricilere düşmektedir. Son olarak, analitik sistem, ön gulendirici, empedans donsturucu, multi-plexer, analog-dijital donsturucu vb. gibi elektronik birimle desteklenmekte, bu çeviricinin hemen arkasına yerleştirilmektedir. Bu birimde dikkat edilmesi gereken, sisteme dışarıdan girişimde bulunabilmesi olası manyetik, elektrik alanlarından sakınmaktır (şekil 2.7).

Bir kimyasal sensörde en önemli bileşen tanıyıcı tabakadır. Diğer taraftan yaratılan sinyal seviyesi veya sinyal gurltu oranı can alıcı bir önem taşıyorsa, bu durumda kritik bileşen elektronik ya da fiziksel çevirici olmaktadır.

Sensörler birçok farklı özelliklerine göre sınıflandırılmışlardır. En geçerli olanı IUPAC (1990) tarafından “sinyal çevirici” lerine göre yapılan sınıflandırılmadır. Çizelge 2.3’ te çeviricilere göre sınıflandırılması ile ilgili bilgiler verilmiştir.

Çizelge 2.3: Başlıca evirici turleri

evirici Tur	lm Prensibi
Optik	Floresans Absorbsiyon Yansıma Luminosans Kırınma indisi Optotermal etki Işık saçılması
Elektriksel	Yüzey iletkenlik Elektrolit iletkenlik Organik yariletkenler
Elektrokimyasal	Potansiyometrik Amperometrik Voltametrik Alan Etki (FET)
Ktle Hassas	Piezokristalin rezonans frekansı Yüzey akustik dalga
Manyetik	Paramanyetiklik
Termal	Reaksiyon ısısı Adsorpsiyon ısısı
Diğerleri	Emisyon Radyasyon absorpsiyonu

2.2.4. Kimyasal sensörlerin performans parametreleri

Kimyasal sensörlerde en iyi ölçüm sistemini belirlemek için bazı genel fiziksel özellikler gereklidir. Bu özelliklerden en önemli olanları ve ideal sensörün karakteristik davranışları şunlardır:

Hassasiyet: Bu özellik, bir kimyasal türün değişimindeki değişime bağlı olarak, sensörün çıkış sinyalinin (S) son durağan halindeki değişimi ($\Delta S / \Delta C$) olarak tanımlanır. Sensörün büyüklüğü, ölçüm ortamına doğru kimyasal türün kütle aktarım hızı gibi faktörler duyarlılığa etki etmektedir.

Ölçüm sınırı: Bir elektrotta gerçekleştirilebilecek olan en düşük analit derişimi olarak tanımlanmaktadır. Ölçüm sınırı, kullanılan elektronik cihazın ayırma gücü ile sınırlıdır.

Dinamik aralık: En düşük ve en yüksek ölçüm limiti arasındaki konsantrasyon aralığı.

Seçicilik: Sensörün cevabı sadece belirli bir grup analit derişimine ve hatta tek bir analite duyarlı olmalı, diğer kimyasal türlerden etkilenmemelidir.

Doğrusallık: Ölçüm ortamında çözünmüş analitin maksimum derişimi ile minimum derişim aralığında, sinyal sabit bir duyarlılıkla ölçülmelidir. Sisteme eklenen her analit derişimi ile ölçülen sinyal arasındaki ilişki belirli bir analit derişimine kadar doğrusal olmalıdır.

Cevap süresi: Bir kimyasal sensörün dinamik cevabı, ölçtüğü hedef analitin derişimindeki bir değişikliğe ne kadar hızlı cevap verdiğini belirler. Temel mekanizma genellikle, kimyasal türlerin örnekten iletkenin aktif yüzeyine basit difüzyonudur. Hedef analit ve/veya reaktantın tayin edilen kütle aktarımı derişim farklarına, etkin difüzyon katsayılarına bağlıdır.

Stabilite: Sensörün performansını belirli bir zaman periyodunda koruması. Stabilite, ölçülen analit derişiminin sıfır olduğu durumlardaki sinyal derişimiyle ölçülebilir.

Raf Ömrü: Sensörün çalışabileceği zaman uzunluğu (maksimum çalışma ömründen ayrı tutulmalıdır, çalışma ömrü sürekli sistemler veya tekrarlanan devirler için ayrı tanımlanır).

2.2.5. Elektrokimyasal sensörler

Elektrokimyasal sensörler doğrudan doğruya elektrik sinyalleri üretirler. Bu onların hem en önemli avantajlarından biri hem de kimyasal sensörlerle elektrokimya alanları arasındaki yakın bağın nedenlerinden biridir.

Spesifik bir cihazın elektrokimyasal sensör olarak tanımlanması hakkında farklı görüşler ortaya atılmıştır. Bilim adamlarının belirli bir kısmı iletken problemleri bu gruba dâhil etmemiştir. Çünkü problemler kimyasal reaksiyonları yürütmeye dayalı değildir, elektrokimyasal prosesin gerçekleştiği yerden uzakta bir çözeltinin içinde hareket eden iyonların fiziksel özelliklerine dayalıdır. Bu problem iletkenlik ölçümleri alanına elektrot ara yüzeyinin dâhil edilmesiyle çözümlenebilir. Elektrot ara yüzünde gerçekleşen proses, eşdeğer dirençleri tanımlama ile sembolize edilebilir. Bir elektrokimyasal hücredeki tüm kısmi dirençler, daha karmaşık bir direnç oluşturmak için bir araya gelirler ve bu dirence “empedans” adı verilir. Bu karmaşık niceliğe hem bulk çözeltiden hem de elektrot ara yüzünden katılımlar gerçekleşir. Bir elektrokimyasal hücredeki tüm ölçümler, birleşik empedans ölçümünün bir kısmı olarak değerlendirilebilir. Aslında, “iletkenlik sensörü” ve “empedimetrik sensör” terimleri eş anlamlı kullanılırlar. Bu genel etmenler göz önünde alındığında, elektrokimyasal sensörler çalışma prensiplerine göre sınıflandırılabilirler (Çizelge 2.4)

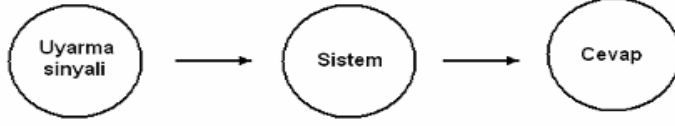
Çizelge 2.4: Elektrokimyasal sensörlerin çevirici prensipleri ve ölçüm teknikleri

Sensör	Çevirici Prensibi	Ölçülen Nicelik
Potansiyometrik	Enerji dönüşümü	Voltaj (yüksek empedans)
Amperometrik	Sınırlayıcı akım	Akım (düşük empedans)
Kondüktometrik	Dirençli	Direnç (=iletkenliğin karşıtı)

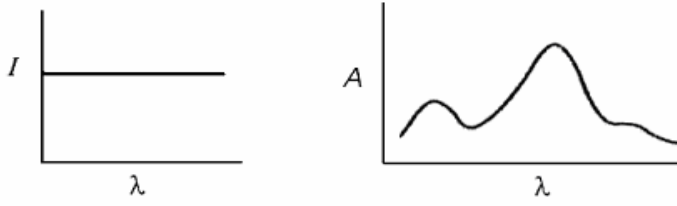
2.3. Elektrokimya

2.3.1. Elektrokimyasal – spektrofotometrik tayin yöntemlerinin karşılaştırılması

a) Genel görüş

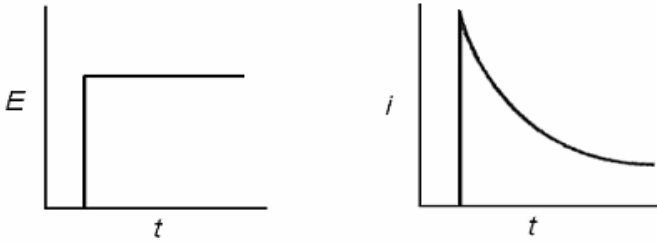


b) Spektrofotometrik deneyler



I : ışık şiddeti λ : dalga boyu A : absorbans

c) Elektrokimyasal deneyler



E : potansiyel t : zaman i : akım

Şekil 2.8: Analitik tayin sistemlerinde genel görüş ve spektrofotometrik/elektrokimyasal yöntemlerin karşılaştırılması

Bir elektrokimyasal tepkimenin oluşabilmesi için, incelenen maddeyi içeren bir çözelti, maddenin kimyasal dönüşüme uğradığı elektrot sistemi (genellikle üçlü elektrot sistemi) ve bu elektrotları birbirine bağlayan bir çevirim sistemi (transducer) gereklidir. Çözelti olarak elektriksel iletkenliği sağlamak amacıyla tampon çözelti kullanılır. Çeşitli elektrolitik yöntemler ile Diferansiyel Puls (DPV), Kare dalga (SWV), Dönüşümlü voltametri (CV) vb. de belirli potansiyel aralığında potansiyel taraması

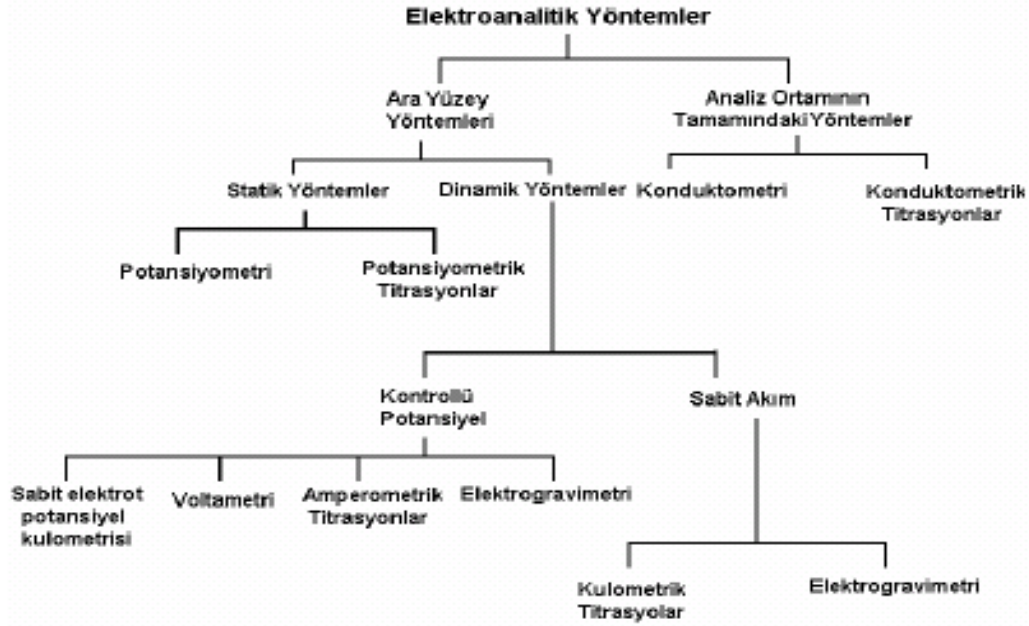
yapılarak oluşan akım ölçülür. Akım, difüzyona bağlı olarak oluştuğundan dolayı burada ölçülen difüzyon akımıdır. Difüzyon hızı akım ile doğru orantılıdır. Difüzyon, elektrot yüzeyinin yakınındaki difüzyon tabakasında oluşur.

2.3.2. Elektroanalitik yöntemler

Çok çeşitli elektroanalitik yöntemler önerilmektedir. Bunlardan en yaygın kullanılanlar aşağıda gösterilmektedir. Bu yöntemler ara yüzeyde gerçekleşen yöntemler ve tüm analiz ortamında gerçekleşen yöntemler olarak ikiye ayrılırlar.

Ara yüzeylerde gerçekleştirilen yöntemlerin daha genel bir kullanım alanı vardır. Ara yüzey yöntemleri, elektrot yüzeyleri ve bu yüzeylere hemen bitişik olan ince çözelti tabakası arasındaki ara yüzeyde oluşan olaylara dayanmaktadır. Tüm analiz ortamı yöntemleri aksine çözeltinin tamamında oluşan olaylara dayalıdır ve ara yüzey etkilerinden kaçınmak için her yola başvurulur.

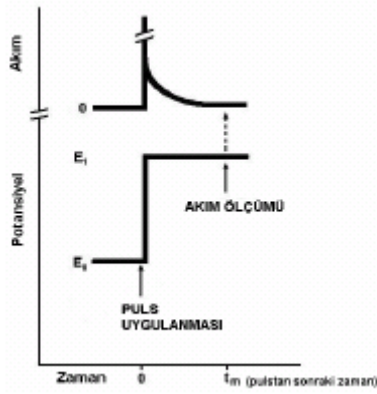
Ara yüzey yöntemleri, elektrokimyasal hücrelerin akımın varlığında veya yokluğunda işleyişine göre statik ve dinamik olmak üzere iki ana sınıfa ayrılırlar.



2.3.2.1. Voltametri ve esasları

1920'li yılların başında Çekoslovak Kimyacı Jaroslav Heyrovsky tarafından bulunan ve polarografiden geliştirilen voltametri, bir indikatör veya çalışma elektrodu polarize olduğunda, akımın uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak ölçülmesinden faydalanılarak analit hakkında bilgi edinilen bir grup elektroanalitik metoda denir. Genellikle polarizasyonu sağlamak için voltametrde yüzey alanı birkaç milimetrekare veya bazılarında birkaç mikrometrekare olan mikroelektrotlar çalışma elektrodu olarak kullanılır. Analit ölçüm sırasında minimum miktarda harcanır ve elektrokimyasal hücrede tam konsantrasyon polarizasyonu şartları altında akım ölçülür. Gerilimin ölçülen akım değerine karşı grafiklenmesi ile voltamogram elde edilir. Potansiyel ölçümüne dayanan bir elektrokimyasal yöntem olan potansiyometride ise ölçümler akımın sıfıra yaklaştığı ve konsantrasyon polarizasyonunun olmadığı şartlarda gerçekleştirilir (Chiti et al., 2001).

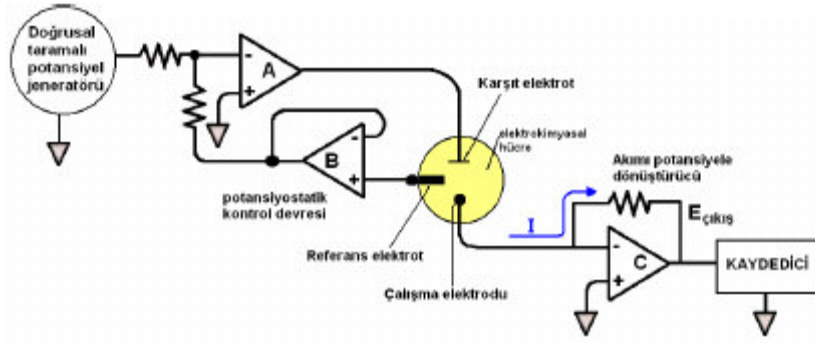
Voltametrde ölçümler puls potansiyelinin uygulanmasından sonra, akım sabit değere ulaştığında gerçekleştirilir (Niemeyer, 2001).



Şekil 2.9: Diferansiyel puls voltametrisinde akım ölçümü.

2.3.2.1.1. Voltametrik cihazlar

Voltametrik ölçümler yapılmasında kullanılan modern bir cihazın bileşenleri Şekil 2.10'da görülmektedir (Yıldız ve Genç, 1993; Skoog et al., 1996).



Şekil 2.10: Voltametrik ölçümlerde kullanılan modern bir cihazın elektriksel yapısı.

Şekildeki üç-elektrotlu potansiyostattaki elektrokimyasal hücre, analit ve reaktif olmayan destek elektroliti içeren bir çözeltiye daldırılmış üç elektrottan oluşmaktadır. Akım ölçme devresi hücrenin çalışma elektroduna bağlanmıştır. Referans elektrot bir potansiyel izleyicisi ile irtibatlandırılmıştır. Bu potansiyel izleyicisi hücreden hiçbir akım çekmeden referans elektrodun potansiyelini sürekli olarak gösterir. Üçgen şekli ile ifade edilen işlemsel yükselteçlerin görevleri; elektrokimyasal hücredeki sayım ve çalışma elektrotları arasındaki akımı sağlamak, referans elektrot ile çalışma elektrodu arasında akım sağlamak ve referans elektrot ile çalışma elektrodu arasındaki potansiyel farkını doğrusal-taramalı potansiyel üreticinin belirlediği potansiyelde tutmaktır. Sistemin çalışmasında, doğrusal-taramalı potansiyel jeneratörü, referans ve çalışma elektrotları arasındaki potansiyeli doğrusal olarak tarar. Hücredeki akım 3. işlemsel yükseltici (en sağda) tarafından sürekli olarak izlenir. Kaydediciden hemen önceki $E_{\text{çıkış}}$ potansiyeli kaydedici tarafından bilgisayara sunuş için gönderilir (Kissinger and Heineman, 1984).

Voltametrde destek elektrolit, analit çözeltisine fazla miktarda eklenen tuzdur. En çok tercih edilen tuzlar analit tayininde kullanılan potansiyelde elektrotla reaksiyona girmeyen alkali metal tuzlarıdır. Elektrotlardan biri olan **çalışma elektrodu** (indikatör elektrot), analitik reaksiyonun meydana geldiği ve zamanla potansiyeli analit konsantrasyonundaki değişimlerle beklenen şekilde değişen elektrotur. **Referans elektrot**, analit çözeltisinin bileşiminden bağımsız sabit bir elektrot potansiyeline

sahip yarı hücredir ve anot olarak ele alınır (Genellikle doymuş kalomel veya bir gümüş/gümüş klorür elektrot). Referans elektrodu içeren kontrol devresinin elektrik direnci çok büyüktür ($>10^{11} \Omega$), bu nedenle bu devreden hemen hemen hiç akım geçmez. İdeal bir referans elektrot, tersinirdir ve Nernst eşitliğine uyar, zamanla potansiyeli değişmez, sıcaklık değişimlerinde küçük bir değişim gösterir. Ayrıca elektrotta küçük bir akım değişimi olduğunda kısa bir süre sonra orijinal potansiyeline geri döner.

Diğer bir elektrot olan **karşıt elektrodun** çalışma elektrodunda oluşan reaksiyona ve ölçüme etkisi yoktur, bu elektrot çalışma elektroduyla bir çift oluşturur onu elektronlarla besler, ayrıca ortamda oluşabilecek istenmeyen akımların üzerinden geçmesine izin verir. Sinyal kaynağından çıkan elektriğin çözültiden geçerek çalışma elektroduna aktarılmasını sağlamaktadır. **Potansiyostat** ise, çalışma elektrodunun potansiyelini istenen değerde tutan bir cihazdır.

Voltametrde Kullanılan Referans Elektrotlar (Karşılaştırma Elektrotları) (Pietrzyk and Frank, 1979; Evans, 1991; Yıldız ve Genç, 1993; Skoog et al., 1996)

Elektroanalitik uygulamalarda elektrotlardan birinin yarı-hücre potansiyeli sabit, çalışılan çözültinin bileşiminden bağımsız olması ve değerinin bilinmesi istenir ve bu tanıma uyan elektrot referans elektrot olarak adlandırılır. İdeal bir referans elektrot; 1) tersinirdir ve Nernst eşitliğine uyar, 2) zamanla değişmeyen bir potansiyeli vardır, 3) düşük bir akıma maruz kaldıktan sonra orijinal potansiyeline döner, 4) sıcaklık değişimiyle ufak bir histerisis gösterir.

Elektrokimyada ilk olarak Standart Hidrojen Elektrot (SHE) referans elektrot olarak kullanılmıştır. Ayrıca Hidrojen gaz elektrotlar, eskiden beri elektrokimyasal çalışmalarda sadece referans elektrotlar olarak değil, aynı zamanda pH tayinlerinde indikatör elektrotlar olarak da yaygın biçimde kullanılmıştır.

Referans elektrotların çeşitleri:

***Gümüş-Gümüş Klorür Referans Elektrot:** En yaygın kullanılan referans elektrotlardan biri olan gümüş-gümüş klorür referans elektrot, Ag bir telin, elektrolitik yoldan AgCl ile kaplanarak Cl⁻ iyonu içeren bir çözeltiye daldırılmasıyla elde edilir.

Doygun KCl çözeltisi kullanıldığı zaman standart hidrojen elektroduna göre potansiyeli, +0.222 V dur.

*** Kalomel Referans Elektrot:** Kalomel (Hg₂Cl₂) ve Hg' dan oluşmuş bir karışım, metalik civa ve KCl çözeltisinden oluşur. Bu elektrodun potansiyeli, klorür iyonlarının aktifliğine bağlıdır. Hazırlanışı çok kolaydır.

*** Civa – Civa (I) Sülfat Referans Elektrot:** Bu elektrot, doygun kalomel elektroda benzemektedir. Potansiyeli, sülfat iyonlarının aktifliği ile tayin edilir.

Voltametrde kullanılan çalışma elektrotları

Referans elektroda bağlı olarak çalışan ve cevabı analit derişimine bağlı olan elektroda çalışma elektrodu (indikatör elektrot) denir.

Voltametik analizlerin performansı çalışma elektrotlarında kullanılan materyalden önemli ölçüde etkilenmektedir. Çalışma elektrodu, tekrarlanabilir sonuç verme özelliğinin yanı sıra yüksek sinyal / gürültü oranı sağlamalıdır. Elektrodun kullanıma uygun olduğu potansiyel aralığı, elektrik iletkenliği, tekrarlanabilir yüzey elde edilmesinin kolaylığı, mekanik özellikleri, maliyeti, ulaşılabilirliği ve toksisitesi de incelenerek geliştirilmelidir.

Çalışma elektrodunun yapımında kullanılan iletken malzeme, platin ya da altın gibi inert bir metal; karbon, pirolitik grafit ya da camsı karbon; kalay oksit ya da indiyum oksit gibi yarı-iletken veya bir civa filmi ile kaplanmış bir metal olabilir. Bu elektrotlar çeşitli şekil ve büyüklükte olabilmektedirler ve sensör tasarımı için en uygun şekilde geliştirilmektedirler.

Bu tür elektrotların kullanıldığı potansiyel aralığının tespiti çok önemlidir. Özellikle de bu potansiyel aralığı, sulu çözeltilerde sadece elektrot malzemesine değil, aynı

zamanda bu elektrotların daldırıldığı çözeltilerin bileşimine bağlı olarak da değişir. Pozitif potansiyel sınırları genellikle moleküler oksijen verecek şekilde, suyun yükseltgenmesi sonunda oluşan büyük akımlarla belirlenir. Negatif potansiyel sınırları yine suyun indirgenmesi sonunda oluşan hidrojenden kaynaklanır.

Kullanılan çalışma ortamına göre çalışma elektrotları için seçilen potansiyel aralıkları; civa elektrodu için 1 M H₂SO₄ çalışma ortamında, (-0,8 V) ile (+0,4 V) aralığı ve 1 M KCl çalışma ortamında, (-1,6 V) ile (+0,2 V) aralığıdır. Karbon elektrodu için ise, 1 M HClO₄ ortamında, (+0,2 V) ile (+1,8 V) aralığı ile 0,1 M KCl ortamında (-1,0 V) ile (+1,2 V) aralığıdır.

***Civa Elektrodu:** Civa elektrotları; negatif potansiyel sınırının çok yüksek olması, kolay oluşturulabilen yeni bir civa damlası ile taze bir metalik yüzey oluşturulabilmesi ve pek çok metal iyonun bir civa elektrodunun yüzeyinde amalgam oluşturmak suretiyle tersinir olarak indirgenebilmesini sağlaması ile voltametri kullanılır. Ancak, civanın kolayca yükseltgenmesi ve toksik bir metal olması nedeniyle, kullanımı sınırlıdır.

*** Karbon Elektrotlar:** Karbon elektrotlar, özellikle çok ucuz olmaları ve geniş bir potansiyel aralığında çalışma yapılmasına olanak verdiğinden dolayı elektrokimyasal analizlerde sık kullanılır. Ancak, karbonun, yüksek bir yüzey aktivitesi vardır ve bu nedenle organik bileşikler tarafından kolayca kirletilebilir. Hidrojen, hidroksil ve karboksil grupları ve hatta kinonlar ile karbon yüzeyinde bağlar oluşabilmektedir. Bu fonksiyonel grupların varlığı nedeniyle karbon yüzeyine birçok değişik madde tutturulabilir.

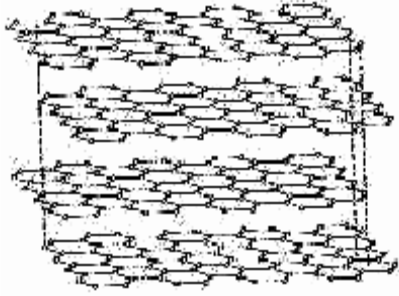
Karbon Elektrotların Çeşitleri

* **Perde baskılı karbon (grafit) elektrotlar(SCPE):** Son yıllarda tek kullanımlık perde baskılı karbon elektrotlar çok yaygın şekilde kullanım alanı bulmuştur. Özellikle biyosensör teknolojisinin geleceği olan DNA mikroçip teknolojisine uygulanabilirliği açısından oldukça başarılı sonuçlar veren bu elektrotlar geleceğin elektrotları olarak gösterilmektedir (Motti et al., 2000; Mascini et al., 2001; Lucarelli et al., 2002a, 2002b; Carpini et al., 2004).

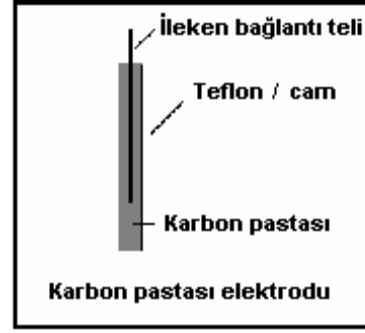
* **Camsı Karbon Elektrot (GCE) :** Camsı karbon fenol / formaldehit polimerlerinin veya poliakrilonitrilin 1000°C - 3000°C arasında basınç altında karbonizasyona uğratılması ile elde edilir. Yüksek yoğunluğa sahip, küçük porlar içeren amorf bir yapıdır. Birbirinin içine geçmiş, ince, grafit benzer şeritlerden oluşmuştur. Karbon pastası elektrotlarına göre elektrokimyasal yanıt özellikleri yüzeyin çok daha pürüzsüz ve düzgün olması nedeniyle daha iyidir. Bunun yanısıra GCE yüzeyinin fiziksel dayanıklılığı daha yüksektir (Kara ve diğ., 2002; Oliveira et al., 2005; Zhao et al., 2007).

* **Karbon Pastası Elektrodu (CPE):** Grafit tozunda bulunan karbon moleküllerinin düzlemsel ve aromatik halkalar halinde dizilimi Şekil 2.11' da görülmektedir. Zayıf π bağları ile birbirine bağlanmış olan bu tabakalar arasında hızlı bir elektron alışverişi olabilmektedir. Şekli 2.12 bir karbon pasta elektrodunun genel gösterimidir.

CPE, ucuz olması, yüzey yenilenmesinin kolay olması, düşük artık akımlar oluşturması nedeniyle tercih edilmektedir. Bağlayıcı madde olarak, Nujol (mineral yağ), parafin yağı, silikon yağı ve bromonaftalen kullanılmaktadır. Elektrot aktivitesine pasta bileşiminin büyük etkisi vardır. Bağlayıcı organik sıvı oranı arttıkça, elektron transfer hızı azalmaktadır. CPE'nin en önemli sakıncası, yeterli miktarda organik çözügen içeren çözeltilerde kullanıldığı zaman, karbon pastası çözeltide dağılmaktadır (Cai et al., 1996; Kara et al., 2002a, 2002b; Ioannou et al., 2006; Ligaj et al., 2006).



Şekil 2.11: Grafit tozunda bulunan karbon molekülerinin dizilimi.

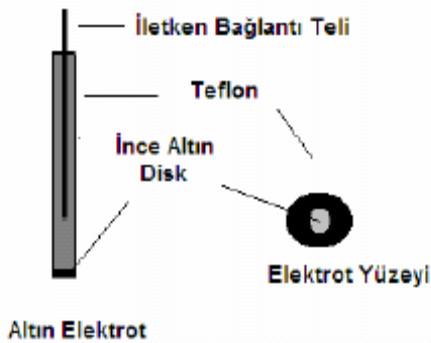


Şekil 2. 12: Karbon pastası elektrodu.

Kalem Ucu Elektrodu: Günümüzde kullanımı yaygınlaşmaya başlamış olan kalem grafit elektrotlar, tek kullanımlık olması ve kolayca yeni yüzey oluşturması sayesinde karbon pasta elektrotlarla kıyaslandığında üstünlük gösterir. Özellikle son yıllarda, bu elektrotlar ile tekrarlanabilirliğin daha iyi olması, daha düşük tayin sınırı, ucuzluk ve mikroçip tekniğine uygulanabilirliği gibi özellikleri ile elektrokimyasal çalışmalarda büyük ilgi görmektedir (Erdem et al., 2005; Kara et al., 2005).

Çalışmada kullanılan kalem ucu elektrot; grafitten oluşmuş olup, Umix eskiz kalem uçlarınının 3 cm boyutunda kesilmesiyle hazırlandı.

Metal Elektrotlar: Platin ve altın en çok tercih edilen elektrot tipleridir.



Şekil 2.13: Altın elektrot (Ozkan et al., 2002; Carpini et al., 2004).

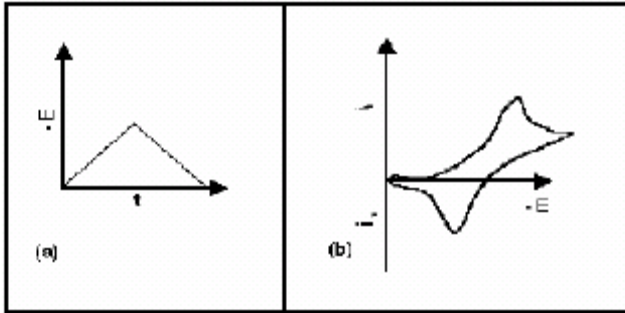
Diğer elektrotlar: Son on yıl içerisinde, boyutları mikroelektrotlardan daha küçük olan elektrotların tasarımı gerçekleştirilmiştir. Çapları 50 µm'den daha küçük olan bu tip elektrotlara ultramikroelektrotlar denilmektedir.

2.3.2.1.2. Voltametrik teknikler

Elektrokimyasal hücreye değiştirilebilir potansiyelde sinyaller uygulanır. Bu uyarma sinyalleri, akım cevaplarını oluşturur. Bunlar, doğrusal taramalı, diferansiyel puls, kare dalga ve üçgen dalgadır. Bunlardan ilk üçü sıklıkla kullanılmaktadır (Skoog et al., 1996).

(a) Dönüşümlü Voltametri (CV)

Bu teknikle, gerilimin bir fonksiyonu olarak akım ölçülür. Sürekli değişen potansiyel değerlerine karşı belirli bir aralıkta akımdaki değişim grafiğe geçirilerek Dönüşümlü Voltamogram elde edilir. Dönüşümlü voltametri ile durgun sistemde ve üçlü elektrot sistemiyle çalışılır. Burada hızı difüzyon tayin eder. Analitin yükseltgenmesi ve indirgenmesi voltamogramda gözlenebilmektedir. İlk olarak, potansiyel bir maksimuma kadar artar, daha sonra başlangıç değerine yine doğrusal olarak geri döner.



Şekil 2.14: (a) Dönüşümlü voltametrde elektroda uygulanan gerilimin zamana karşı grafiği; (b) Dönüşümlü voltametrde elde edilen akım-gerilim eğrisi.

Kapasitif akımın en küçük olduğu bölgede çalışılır. Duyarlılık 10^{-5} M ile sınırlıdır. Dönüşümlü voltametri, miktar tayinine dayalı bir yöntem değildir ama analizlenecek

maddenin hangi potansiyelde nasıl davrandığı hakkında bilgi verir. Elde edilen bilgiler doğrultusunda o maddenin hangi potansiyelde optimum cevabı verebileceğini gösterir.

Dönüşümlü voltamogramların şekli ve yapısında seçilen potansiyel aralığının yanı sıra seçilen tarama hızının, kaç defa tarama yapıldığının da etkisi vardır.

Bir dönüşümlü voltamogramdaki indirgenme ve yükseltgenme arasındaki pik gerilimleri farkı ΔE_p ile ifade edilir.

$$\Delta E_p = \frac{57}{n} mV$$

ΔE_p bu değere ne kadar yakın ise, reversible (dönüşümlü); ne kadar uzaksa irreversible (dönüşümsüz) olarak adlandırılır.

(b) Kare Dalga Voltametri (SWV)

Son derece hızlı ve duyarlı olma üstünlüğü olan bir puls polarografi tekniğidir. Tersinir bir indirgenme reaksiyonunda bir pulsun boyutu, ileri tarama sırasında oluşan ürünün geri tarama sırasında yükseltgenmesini sağlamaya yetecek kadar büyüktür. İleri puls bir katodik akımını (i_1), geri puls da bir anodik akımını (i_2) oluşturur. Kare dalganın, anodik ve katodik bölgesindeki iki noktaya ait akım değerlerinin farkları alınarak akım saptanır ($i = i_2 - i_1$). Yani elektrot tepkimelerinde yükseltgenme ile indirgenmede oluşan akım farklılıkları alınır. Akımlardan biri negatif olduğu için fark akımların toplamını verir. Bu nedenle de duyarlılık yüksektir. Belirtme alt sınırı $10^{-7} - 10^{-8}$ M düzeyindedir.

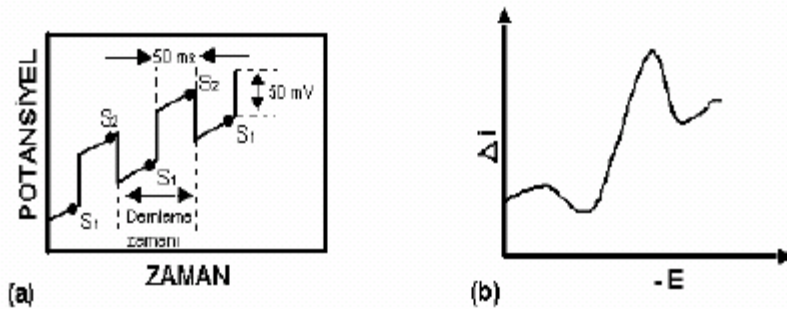
(c) Diferansiyel Puls Voltametri (DPV)

Bu teknikle, yarı-dalga potansiyelleri 0,04-0,05 V kadar farklı olan maddeler için bile pik maksimumları elde edilebilmektedir. Diferansiyel puls polarografisi, çok duyarlı bir

yöntemdir ve tayin sınırı 10^{-7} - 10^{-8} M arasındadır. 10 mV' luk veya 50 mV' luk bir puls civa damlasına uygulanır. Uygulanan pulsun belli bir zaman öncesi ve sonrasında, puls başına elde edilen akımdaki fark (Δi), doğrusal olarak artan potansiyelin fonksiyonu olarak kaydedilir.

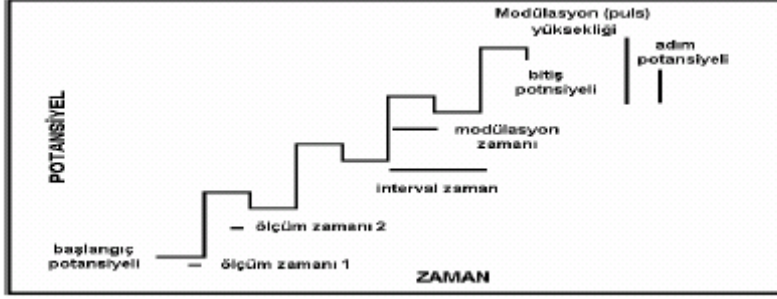
Gözlenen diferansiyel eğri pik şeklinde olup, yüksekliği konsantrasyonla doğru orantılıdır.

Faradayik akımın yüksek, faradayik olmayan yükleme akımının ise düşük değerde olması duyarlılığın artmasıyla açıklanabilir. Örneğin potansiyel aniden 50 mV arttırıldığında, elektrodu çevreleyen yüzey tabakasında, eğer elektroaktif bir tür varsa, analit derişimini yeni potansiyel tarafından istenen seviyeye düşürecek bir akım artışı gözlenir. Ancak bu potansiyel için gerekli olan denge derişimine erişilince, akım difüzyonu karşılayacak bir seviyeye düşer ki buna difüzyon kontrollü akım denir. Puls polarografisinde akım ölçümü, bu akım artışı tamamen sona ermeden önce yapılır. Toplam akım, difüzyon akımından büyüktür. Damla değiştiğinde çözelti yeniden analizlenecek madde yönünden homojen hale gelmektedir (Wang, 1994; Skoog et al., 1996).



Şekil 2.15: Diferansiyel puls polarografisi için uyarma sinyalleri; (a) Analog cihazlarda diferansiyel puls voltametri için kullanılan uyarma sinyali; (b) Diferansiyel puls voltametrisinde elde edilen bir voltamogram.

Şekil 2.16' te dijital cihazlarda diferansiyel puls voltametri için uyarma sinyalleri yer almaktadır.



Şekil 2.16: Dijital cihazlarda diferansiyel puls voltametri için kullanılan uyarma sinyali.

$$\text{modülasyon (puls) zamanı} = \frac{\text{adım gerilimi}}{\text{tarama hızı}}$$

Gerilim pulsu ilk uygulandığı zaman damla üzerinde yük artışı nedeniyle faradayik olmayan akımda da bir dalgalanma olur. Bu akım zamanla azalır ve yüzey alanının çok az değiştiği damla ömrünün sonuna doğru sifıra yaklaşır. Dolayısıyla akımı bu anda ölçmek suretiyle faradayik olmayan artık akım büyük oranda azaltılır ve sinyal / gürültü oranı artar. Bunun sonucunda duyarlılık da artar (Skoog et al., 1996).

Pulsun başlangıcından önce ve puls bitiminden önce akım değerleri alınır ve farkları kaydedilir. Tayin sınırı 10^{-8} M'dir. Modülasyon gerilimi sabit olduğundan dolayı kapasitif akım yaklaşık sabit baseline sahip olur ve yükseltgenip indirgenen maddeler de pik olarak görülür (AUTOLAB User Manual, 2005).

(d) Sıyırma Yöntemleri:

Yöntemde önce analizlenecek madde, karıştırılan bir çözeltilde elektrot yüzeyinde biriktirilir. Belirlenen süre sonunda elektroliz ve karıştırma durdurularak uygun olan voltametrik yöntem ile tayin yapılır. Analizin voltametrik tayini içeren bu ikinci basamağında, madde elektrot yüzeyinde çözülür ve sıyrılır, bu yüzden yöntem sıyırma yöntemi adını alır.

Anodik sıyırma işleminde elektrot, biriktirme basamağında katot olarak, analizlenecek maddenin başlangıçtaki haline yükseltildiği sıyırma basamağında ise anot olarak davranır. Katodik sıyırma yönteminde ise anodik sıyırmanın tersine bir durum söz konusudur.

Eser element tayininde sıyırma yöntemleri önemli yer tutar, çünkü elektrolizdeki önderiştirme sayesinde eser miktardaki bir maddenin tayini gerçekleştirilebilir. Böylece $10^{-6} - 10^{-9}$ M derişimine sahip çözeltilerin analizi yapılabilir.

2.4. Plazma Polimerizasyon Tekniği

Plazma, maddenin dördüncü hali olarak tanımlanır. Plazma polimerizasyon tekniği, her türlü materyalin yüzey özelliklerinin değiştirilmesi amacıyla yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir.

Plazma fazı birçok yolla oluşturulabilir. Genelde, bir molekül ağır şartlara maruz kaldığında, mesela yoğun ısı gibi, moleküllerin iyonlaşması gerçekleşir. Laboratuarda plazma yanma ile, alev ile, elektriksel boşalım ile, kontrollü nükleer reaksiyonlar ile veya şok ile oluşturulur. Plazma enerjisini esas olarak radyasyon ve yüzeyden iletim ile kaybettiğinden bir laboratuvar cihazı içinde plazmayı sürekli kılmak için kaybettiği hızda plazmaya enerji verilmelidir. Bu sebepten dolayı birçok deneysel çalışma, özellikle polimerleşme çalışmaları, elektrik boşalımları ile gerçekleşir. Yük boşalım içinde veya organik buharların plazması içinde gerçekleşen polimer oluşumu "yük boşalım polimerizasyonu" veya "plazma polimerizasyonu" olarak adlandırılır (Yasuda,1985). Bu yük boşalımları, radyo frekansı, yüksek voltajda akım vs. ile oluşturulabilir (Çökeliler, 2006).

Radyo frekansı yük boşalımı, mikrodalga, atmosferik basınç, düşük basınç, düşük sıcaklık vb. farklı sistemler ile plazma modifikasyonu gerçekleştirilmektedir. Plazma modifikasyonu ile, bozulma ve aşınma, oksidasyon, çapraz bağlanma gibi yüzeyin çok ince bir tabakasında oluşan yapısal değişimler sonucunda, modifiye edilmemiş yüzeylerden tamamen farklı özelliklere sahip yeni yüzeyler elde edilmektedir (Yasuda, 1984; Kaminska et al., 2002).

2.4.1. Plazmanın yapısı

Plazma maddenin katı, sıvı ve gaz hallerinden oldukça farklı özelliklere sahip olması nedeniyle maddenin dördüncü hali olarak tanımlanır (Akman, 1993; Li et al., 1997). Genel olarak plazma, yüksek sıcaklıkta kuvvetli elektrik veya magnetik alanların etkisi ile oluşur. Güçlü bir elektriksel boşalım da plazma oluşturabilir. Plazma ortamında enerji kazanan serbest elektronlar, ortamdaki diğer atomlar ve moleküllere çarparak enerjilerini transfer ederler. Bunların da birbirleriyle reaksiyona girmeleri sonucu ortamda çok değişik tür ve sayıda yeni moleküller, atomlar, radikaller, iyonlar, vb. oluşur (Akman, 1993; Li et al., 1997; Tusek et al., 2001). Sıcak plazmada, ortamda esas olarak çok sayıda iyon vardır. Soğuk plazmada ise diğer elemanlardan da önemli miktarda bulunur. Plazma, gaz sıcaklığına bağlı olarak iki başlık altında incelenebilir (Li et al., 1997; Tusek et al., 2001):

- a) Yüksek sıcaklık plazması; gaz sıcaklığı 10^6K 'den fazladır. Güneş sisteminde meydana gelen nükleer patlamalar ve kontrollü füzyon reaksiyonları yüksek sıcaklık plazmasına örnek olarak verilebilir.
- b) Düşük sıcaklık plazması; gaz sıcaklığı 10^6K 'den daha düşüktür. Düşük sıcaklık plazması da iki başlık altında incelenebilir:
 - (i) Sıcak plazma; gaz sıcaklığı 1000K 'den daha fazladır, normal şartlarda 10^4K civarındadır. Lamba ışınması, elektrik arkı ve diğer yüksek-güç boşalımları sıcak plazmaya örnek olarak verilebilir;

- (ii) Soğuk plazma; gaz sıcaklığı 1000K'den daha düşüktür, normal şartlarda 10^2K civarındadır. Düşük basınçta gerçekleşen yük boşalım plazmaları soğuk plazmaya örnektir ($1\text{eV}=11600\text{K}$).

Plazma ortamına konan bir materyal yüzeyinde kopmalar (“etching”) veya birikme (“deposition”) oluşur. Plazma koşullarının ayarlanmasıyla bu iki prosesten birinin etkin olması söz konusudur. Bu uygulamalarda plazmada kaplamanın iki önemli avantajı vurgulanmaktadır. Bunlar; kaplamanın çok homojen kalınlıkta ve ince olmasıdır (Yasuda, 1984; Flosch et al., 1992).

Plazma polimerizasyonunda özellikleri değiştirilecek materyal yüzeyinde oluşan polimerin kimyasal yapısı, birikim miktarı (kalınlığı) ve bunların homojenitesini etkileyen birçok parametre vardır. Ayrıca, plazma polimerizasyonu tekniğinde kullanılan monomerlerin kolaylıkla polimerize olabilen çift bağlar gibi reaktif fonksiyonel gruplara sahip olmaları gerekir. Plazma etching ve plazma polimerizasyonu arasındaki denge boşalım parametreleriyle kontrol edilebilmektedir (Flosch et al., 1992).

2.4.2. Plazma polimerizasyonu hızını etkileyen parametreler

Plazma polimerizasyonunun hızı kullanılan monomerin yapısına bağlıdır (Yasuda,1985). Buna ek olarak, plazma polimerizasyonunun hızına etki eden kontrol edilebilen parametreler reaktör geometrisi, monomer akış hızı, basınç, boşalım gücü, plazma süresi, frekans, elektrot açıklığı vb. makro parametrelerdir (Kaminska et al., 2002). Bu parametrelerin etkileri aşağıda ayrı ayrı ele alınarak özetlenmiştir. Monomerin yapısının doymamışlık derecesinin plazma polimerizasyon hızına etkisi çok önemlidir. Benzer reaksiyon koşullarında, üçlü bağ içeren asetilen ikili bağ içeren etilenden daha hızlı polimerize olmaktadır.

Reaktör geometrisi yüzeye biriken polimerin kimyasal yapısı ve kalınlığını, dolayısıyla kaplamanın her iki yönden de homojenitesini etkileyen önemli hususlardan biridir. Plazma polimerizasyonunda değişik şekillerde dizayn edilmiş reaktörler kullanılmaktadır. Reaktörün tübüler, dikdörtgen kesitli veya diğer şekillerde olması

monomerin reaktör içinden akış dinamiğini etkiler. Monomerin plazma bölgesinden geçiş hızı (alınma süresi) ve şekline (türbülent, laminar, vb.) bağlı olarak birikimin kimyasal yapısı ve homojenitesi değişir.

Monomer akış hızının hem birikim miktarını hem de dolaylı olarak biriken polimer kimyasını değiştirdiği rapor edilmektedir. Monomerin akış hızının artmasıyla genellikle birikim doğrusal olarak azalır. Düşük monomer besleme hızlarında, konvektif akım terimlerinin etkisinin azalmasıyla difüzyonun baskın olacağı durumda reaktöre beslenen hemen hemen tüm monomerin polimerize olarak yüzeyde birikmesi mümkün olabilmektedir.

Basınç plazma ortamının yapısını dolayısıyla polimerizasyon hızı ve yüzeyde biriken polimer yapısını etkileyen önemli bir parametredir. Elektriksel boşalım öncesi basınç (P_0) ile elektriksel boşalım sırasında basınç (P_g) birbirinden farklıdır. P_0 belirli bir akış miktarında pompalama miktarıyla orantılıdır. Pompalama miktarı arttıkça P_0 miktarı düşer. Gaz moleküllerinin iyonizasyonu ve hızı basınca bağlı olduğundan P_g 'nin değeri polimer birikim hızını ve polimerik kaplamanın kimyasal yapısını etkiler.

Genellikle boşalım gücü arttıkça polimer birikim miktarı artar. Elektriksel boşalım reaktör içinde tamamen gerçekleştikten sonra ilave edilen voltajın serbest radikallerin üretimini artırmadığı, böyle durumlarda monomerin akış miktarının, polimer birikimini belirleyen parametre olarak önem kazandığı not edilmelidir.

Plazma polimerizasyonunda yatışkın duruma ulaşıldıktan sonra, sürenin artmasıyla yalnızca kaplama kalınlığının arttığı, polimerizasyon hızı ve yüzeyde biriken polimerin yığın yapısında önemli bir değişiklik olmadığı söylenebilir. İç elektrot açıklığı da plazma polimerizasyonun hızını etkileyen önemli bir faktördür. İç elektrot açıklığı daraltıldığında (yüksek elektron yoğunluğu) hız artmaktadır.

Gerek organik ve gerekse organo-metalik bileşiklerin plazma ile polimerleşme mekanizmaları ve polimerleşme kinetikleri oldukça karışıktır. Plazma polimerizasyonunda polimer bir seri kompleks reaksiyonlar sonunda oluşmaktadır. Bu nedenle gerek polimer oluşturma (ve depolanma) hızı gerekse oluşan polimerlerin

çeşitli özellikleri elektriksel boşalma ile ilgili çeşitli koşullara bağlıdır (Çökeller, 2006). Böylece deney değişkenleri arasında yukarıda detayları açıklandığı üzere;

1. Uygulanan elektriksel boşalmanın türü (içten elektrodla kapasitif, dıştan elektrotla induktif gibi)
2. Uygulanan elektriksel boşalma ile ilgili diğer değişkenler (boşalmanın gücü, frekansı, monomer basıncı, monomer akış hızı)
3. Elektriksel boşalmanın uygulandığı reaksiyon kabı (reaktör) ile ilgili değişkenler (reaktör yatay boru ya da an seklinde ayrıca monomerin giriş ve elektrotlara göre dağılışı geometrisindeki farklılıklar)
4. Polimerin üzerine kaplandığı ortamın yeri sekli yapısı vb. gibi bazı unsurlar rol oynamaktadır.

2.4.3. Plazma polimerizasyonun mekanizması

Genel olarak, materyal yüzeyleri ile düşük basınçta meydana gelen yük boşalımı plazmasının reaksiyonları üç başlık altında özetlenmiştir (Tusek et al., 2001);

- (1) Yüzey reaksiyonları: Gaz fazında bulunan türler ile yüzeydeki türler arasındaki reaksiyonlar ve sadece yüzeydeki türler arasındaki reaksiyonlar yüzeyde sırasıyla fonksiyonel gruplar ve çapraz bağlar oluşturmaktadırlar. Bu tür reaksiyonların örnekleri, argon, amonyak, karbonmonoksit, karbondioksit, flor, hidrojen, azot, azotdioksit, oksijen ve suyla gerçekleştirilen plazma işlemlerini içermektedir.
- (2) Plazma polimerizasyonu: CH_4 , C_2H_6 , C_2F_4 ve C_3F_6 gibi organik bir monomerin polimerizasyonu yoluyla materyal yüzeyinde ince bir film oluşumu plazma polimerizasyonu prosesini oluşturur. Plazma polimerizasyonu, gaz fazındaki türler arasındaki reaksiyonları, gaz fazındaki türler ile yüzeydeki türler arasındaki reaksiyonları ve sadece yüzeydeki türler arasındaki reaksiyonları içermektedir. Plazma polimerizasyonunun mekanizması, gaz faz ve yüzeyde

meydana gelen reaksiyonların her ikisini de içeren polimerizasyon prosesinin karmaşıklığı nedeniyle henüz yeterince anlaşılamamıştır. Ortamda mevcut olan çeşitli reaktif gruplar (örneğin, iyonlar, serbest radikaller v.s) RF plazma polimerizasyon reaktöründe monomerin polimerizasyonuna katkıda bulunur.

(3) Temizleme ve yüzeyden kopmalar (etching): Bir materyal yüzeyinde bulunan maddeler yüzeyden uçucu ürünler oluşturulmak koşuluyla kimyasal reaksiyonlar ile fiziksel kopmalar şeklinde uzaklaştırılırlar. Yüzeylerden organik bulaşmaların uzaklaştırılması için oksijen içeren plazmalar kullanılmaktadır.

Genel olarak plazma, yüksek sıcaklıklar kuvvetli elektriksel veya magnetik alanların etkisinde oluşur. Herhangi bir elektriksel boşalmanın plazma olarak adlandırılabilmesi için öncelikle ortamdaki pozitif ve negatif yük taşıyıcılarının sayıca birbirine eşit olmaları koşulu gereklidir. Plazmada iyonlaşma derecesinin 10^{-5} ile 10^{-6} arasında olduğu öne sürülmektedir. Bu ise plazma ortamında büyük ölçüde elektronların bulunması demektir. Aynı çalışmada, plazmada serbest radikal konsantrasyonunun iyonlara kıyasla, 10^3 - 10^4 defa daha fazla olduğu belirtilmektedir. Plazmada pozitif ve negatif yük taşıyıcılarının birbirine eşit olmaları koşulu az sayıdaki elektron ve pozitif iyonların sayıca eşit olmaları demektir.

Plazma polimerizasyonu, 'plazma-uyarılmış' ve 'plazma-hal' polimerizasyonunun toplamını içerir. Monomerlerin, doğrudan polimere eklenmesi ile gerçekleşen polimerizasyona 'plazma-uyarılmış' polimerizasyon adı verilmektedir. Önce atomların birleşmesi ile ara ürünlerin, daha sonra da son ürünün oluşması ile gerçekleşen polimerizasyon mekanizmasına 'plazma hal' polimerizasyonu adı verilmektedir. Plazma polimerizasyonu her iki polimerizasyonun toplamı şeklinde oluşur.

2.4.4. Plazma polimerizasyon tekniğinin avantajları

Plazma polimerizasyonu ile bir ön koşul aranmaksızın tüm organik bileşikler kullanılarak materyal yüzeylerinin değiştirilmesi yöntemin en önemli avantajıdır. Diğer kaplama yöntemleriyle karşılaştırıldığında, çok ince ve çok daha homojen kalınlıkta kaplama sağlanabilmektedir. Bu nedenle plazma polimerizasyonu uygulanmış

yüzeyler birçok pratik uygulamada kullanım alanı bulabilmektedirler. Proses son derece temizdir, bir başka ifadeyle klasik proseslerde kullanılan çözücüler, başlatıcılar, stabilizörlere, vb. burada gerek olmadığından ürün çok saftır. Bu özellikle tıp uygulamalarında önemli bir avantaj olarak vurgulanmaktadır. Kaplama diğer yöntemlerde birçok basamakta ve uzun sürede (24 saat gibi) başarılıken burada, tek basamaklı bir işlemle sonuca çok kısa zamanda (1 saatten az) ulaşılmaktadır (Mutlu et al., 1997). Çünkü yük boşalım tekniği ile gerçekleştirilen modifikasyon işleminde prepolimer sentezi, kaplama solüsyonun hazırlanması, kaplama prosesi, kurutma gibi prosesler tek basamakta gerçekleştirilmektedir (Inagaki et al., 1982; Flosch et al. (1992), düşük sıcaklık plazma polimerizasyonu yönteminin en önemli avantajlarından birinin de substratların sadece en dışta bulunan tabakalarının modifikasyondan etkilenmesi olduğunu belirtmişlerdir. Böylece, modifiye edilen substratların yığın özellikleri değişmediğinden dolayı yüzey özellikleri kontrollü bir şekilde modifiye edilebilmektedir (Çökeliler, 2006).

2.5. Yüzey Analiz Teknikleri

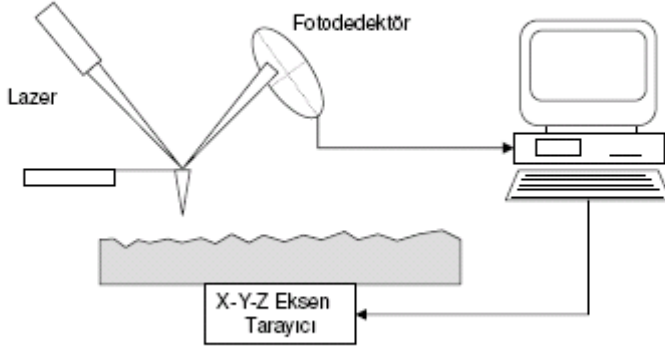
Plazma ile belirli bir amaç için yüzey modifiye edilmektedir. Bu nedenle hazırlanan malzemeler uygulamalı olarak denenmesi yanında, plazma öncesi ve sonrası yüzey özelliklerinin analiz edilmesi gerekmektedir. Sunduğumuz çalışma kapsamında yüzey analizleri gerçekleştirilirken sırasıyla AKM, Raman spektroskopisi ve Fourier transform infared spektroskopisi kullanılarak işlem görmüş karbon elektrot yüzeyi tanımlanmıştır.

2.5.1. Atomik kuvvet mikroskopisi (AKM)

Atomik Kuvvet Mikroskopisi (AKM), Taramalı Prob Mikroskopisi grubu altında yer alan en tanınmış yüzey inceleme tekniklerinden biridir. Sistem temel olarak, birkaç atomdan oluşan bir iğnenin piezo elektrik kontrol elemanları aracılığı ile yüzeye çok yakın olarak, incelenen yüzey üzerinde üç boyutta hareket ettirilmesine dayanır.

İğnenin konumundaki bozulmalar bir lazer ışığı tarafından algılanılarak büyütülür. Böylece ince tipin yüzeydeki itme ve çekme kuvvetler ile şeklinin bozulması ile yüzey

topografyası çıkarılmış olur. AKM yardımıyla yüzey topografyası nanometre seviyesinde belirlenmiş olur (Meyer et al., 1993).



Sekil 2. 17. AKM yüzey analizinin şematik gösterimi

2.5.2. Raman spektroskopisi

Moleküllerin şiddetli bir monokromatik ışın demeti ile etkileşimi sırasında, ışık absorpsiyonu olayı gerçekleşmiyorsa, ışık saçılması olayı meydana gelir. Işık saçılması sırasında saçılan ışığın büyük bir kısmının enerjisi madde ile etkileşen ışığın enerjisine eşit olur ve bu tür elastik saçılma olayına Rayleigh saçılması denir. Elastik saçılma olayının yanı sıra saçılan ışığın çok az bir kısmı ile molekül ile etkileşmeye giren ışığın enerjisinden daha farklı enerjilerle saçılır. Bu tür elastik olmayan saçılma olayı ise, Raman saçılması adını alır. Rayleigh saçılması olayında, Raman saçılmasına göre 10^4 - 10^5 kez daha şiddetli bir ışık saçılması olayı oluşur. Raman saçılması sırasında saçılan ışığın enerjisinde, molekül ile etkileşen ışığınkine göre oluşan fazlalık veya azlık, ışıkla etkileşen molekülün titreşim enerji düzeyleri arasındaki enerji farkları kadardır. Bu nedenle Raman saçılmasının spektroskopik incelenmesiyle de moleküllerin titreşim enerji düzeyleri hakkındaki bilgiler edinilebilir. Bu spektroskopik yöntemde saçılan ışığın dalgaboyunda oluşan farklar ölçülür. Bu farklar Raman kayması olarak adlandırılır. $h\nu_0$ enerjili ve molekülün absorplamadığı bir foton molekül ile etkileştiğinde, saçılmadan önce çok az sayıda foton, enerjilerinin

bir kısmını moleküllere aktarır veya moleküllerden, çok az sayıda fotona bir miktar enerji aktarılır. Bu enerji aktarımı olayı sonucu moleküller fotonla etkileştikten sonra farklı titreşim düzeylerinde bulunurlar. Enerji aktarımı nedeniyle molekül, fotonla etkileşmeden önce temel titreşim enerji düzeyindeyken, etkileşmeden sonra uyarılmış bir titreşim düzeyine geçiyorsa fotonun enerjisinde azalma ve molekülün titreşim enerjisinde ise artma olur. Bu olay sonucunda saçılan ışınlar Stokes hatları olarak adlandırılır. Fotonun enerjisinin saçılma sonrası arttığı durumda ise, molekül fotonla etkileşmeden önce uyarılmış bir titreşim düzeyindeyken, etkileşme sonrası temel titreşim düzeyine döner ve böylece molekülden fotona, molekülün uyarılmış enerji düzeyi ile temel titreşim düzeyi arasındaki fark kadar bir enerji aktarılmış olur. Bu durumda gözlenen Raman kaymalarına anti-Stokes hatları adı verilir.

Moleküllerin infrared fotonunu absorplayabilmesi, yani molekülün bu fotonla rezonansa girebilmesi için molekül titreşirken dipol momentinde periyodik ve fotonun frekansına eşit frekanslı bir değişimin olması gereklidir. Simetri merkezi bulunan moleküllerde tam simetrik titreşimler yani titreşim sırasında molekülün simetri merkezine göre olan simetrisinin bozulmadığı titreşimler, infrared aktif değildir ve infrared spektrumunda band olarak gözlenemezler. Bu titreşimler Raman aktiftirler ve sadece Raman spektrumunda ortaya çıkarlar. Bu tür moleküllerde simetri merkezine göre simetrisinin bozulduğu titreşimler ise Raman aktif değildir ve Raman kaymasına neden olmazlar. Bunlar sadece infrared absorpsiyon bandları olarak gözlenebilirler. Bir molekülün Raman kaymaları ve infrared absorpsiyon bandları aynı enerji değerlerinde gözleniyorsa, o zaman molekülün simetri merkezi yok demektir. Ancak, Raman spektrumunda kuvvetli olan bir hat, infrared spektrumunda zayıf bir band olarak gözlenebilir. Bir molekülün hem infrared hem de Raman spektrumlarının birlikte değerlendirilmesi ile o moleküle ait titreşimlerin hemen hemen tümü incelenebilir ve böylece molekülün yapısı veya nitel analizi daha güvenilir bir biçimde aydınlatılabilir. Infrared ve Raman spektroskopisi yöntemleri, içerdikleri bilgi açısından birbirini tamamlayan yöntemlerdir (Yıldız ve Genç, 1993).

2.5.3. Fourier transform infrared spektroskopisi (FTIR)

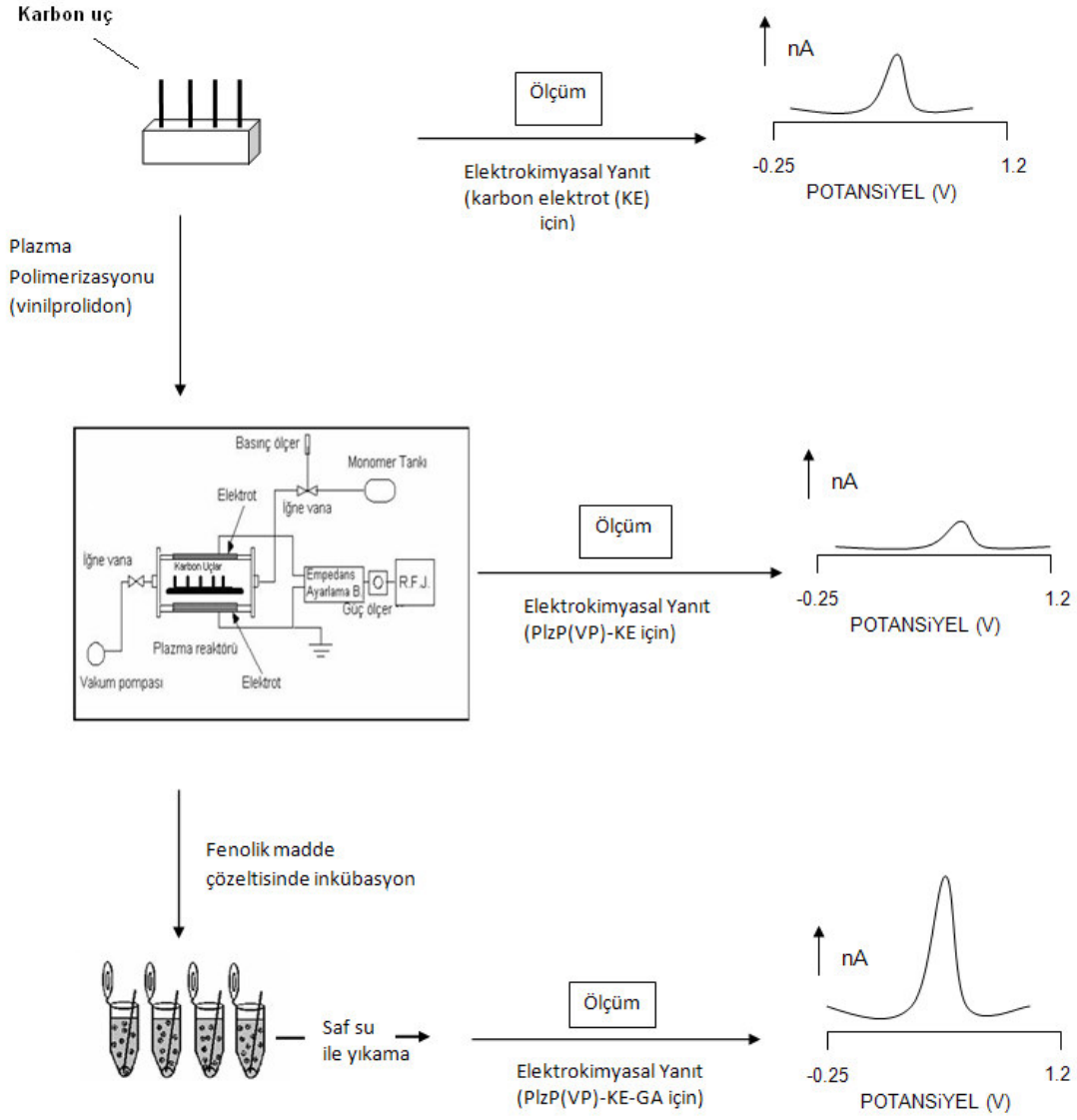
Infrared Absorpsiyon Spektroskopisi, düşük enerjili IR bölgedeki ışınların kullanıldığı absorpsiyon spektroskopisidir. Belirli şartlara sahip moleküller IR ışınını absorplayarak molekül içi titreşim enerji düzeyleri arasında geçişler olur. Moleküllerdeki titreşim frekanslarına uyan infrared fotonlarının dalga sayıları $4000-650 \text{ cm}^{-1}$ arasında değişir. Bu değerle $15 \mu\text{m}$ ile $2,5 \mu\text{m}$ dalga boyu aralığına karşılık gelirler.

Monokromotörler yardımıyla dalga boylarını seçerek ölçümün yapıldığı spektrofotometrelerde herhangi bir anda sadece seçilen dalga boyundaki spektroskopik bilgi toplanır. Ancak bazı spektrofotometrelerde özel yöntemler kullanılarak tüm frekanstaki bilgiler aynı anda elde etmek mümkündür. Bu tür spektrofotometrelerde monokromotör bulunmaz. Bu şekilde gerçekleştirilen uygulamalarda spektrum frekans ölçeğinde değil zaman ölçeğinde elde edilir ve bu spektruma interferogram denir. Interferogram, adsorpsiyon spektrumunun Fourier dönüşümüdür. Elde edilen veri bir bilgisayar aracılığı ile ters Fourier dönüşümü alınarak frekans ölçeğindeki bilgilere dönüştürülür. Bu şekilde gerçekleştirilen IR uygulaması Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FTIR) adını alır (Yıldız ve Genç, 1993; Ratner, 1996).

3. MATERYAL ve METOT

Bu tez kapsamında, fenolik madde tayinine yönelik elektrokimyasal sensör hazırlanması hedefi doğrultusunda, plazma polimerizasyonu (PlzP) tekniği ile çeşitli elektrot yüzeyleri hazırlanmış, hazırlanan bu yüzeylerin karakterizasyonu için fiziksel ve kimyasal yöntemler kullanılmış ve elektrodun fenolik maddelere karşı performansı amperometrik ölçümlerle değerlendirilmiştir. Genel bilgiler ve literatür taraması bölümlerinde de açıklanan kriterler doğrultusunda en yüksek performans gösteren elektrot, kırmızı şarap örneklerinde test edilmiştir. Bu tez kapsamı doğrultusunda gerçekleştirilen çalışmalar, beş temel başlık altında toplanmaktadır. Çalışmanın ilk aşamasında literatürde yoğun olarak elektrokimyasal sensör çalışmalarında temel olarak kullanılan iletken özellikteki karbon elektrotların yüzeyleri, yine iletken özelliğe sahip monomerlerden biri olan *N*-Vinil-2-prolidon (VP) kullanılarak plazma polimerizasyonu tekniği ile farklı PlzP parametreleri (boşalım gücü ve proses süresi) uygulanarak modifiye edilmiş ve fenolik madde adsorpsiyonuna uygun olabileceği düşünülen özelliklerde yüzey hazırlanmıştır. İkinci aşamada, hazırlanan PlzP(VP) bazlı modifiye karbon elektrotlar model fenolik madde olarak seçilen gallik asit ile değişen parametrelerde (farklı konsantrasyonlarda ve sürelerde) etkileştirilmiştir. Üçüncü aşamada ise, ilk iki basamak sonrasında, elde edilmesi beklenen ve fenolik maddelere karşı güçlü adsorpsiyon özelliğine sahip polivinilprolidon (Plz-PVP) iletken polimeri ile kaplı karbon elektrotların elektrokimyasal davranışları diferansiyel puls voltametri (DPV) yöntemi ile ortaya konmuştur. Elde edilen DPV sonuçları incelenerek elektrokimyasal sensör hazırlamaya uygun parametreler belirlenmiştir. Belirlenen parametreler ile hazırlanan PlzP(VP) bazlı elektrotların kalibrasyon doğruları elde edilmiş ve performans çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Dördüncü aşamada, en yüksek performansı sergileyen elektrot yüzeyinde meydana gelen fiziksel değişim Atomik Kuvvet Mikroskopu (AFM) ve kimyasal değişimler Raman Spektroskopisi (RS) ve Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FTIR) ile karakterize edilmiştir. Son olarak da, hazırlanan elektrokimyasal sensör kullanılarak kırmızı şarap örneklerinde bulunan fenolik maddelerin nicel olarak belirlenmesi ile çalışmalar tamamlanmıştır.

Elektrotların hazırlanması ve yüzeye uygulanan işlemler basamaklar halinde Şekil 3.1' de özetlenmiştir.



Şekil 3.1: Elektrokimyasal yolla fenolik madde tayininde izlenen yol

Yukarıdaki şekilde de şematize edildiği gibi, iletken özellikteki karbon uç yüzeyleri plazma polimerizasyonu tekniği ile modifiye edilmeden önce sistemin bazı değerleri ya da diğer bir deyişle elektrokimyasal ölçümleri DPV yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Daha sonra, yüzeye fenolik madde adsorplama özelliği kazandırmak amacıyla, iletken özelliği bilinen vinilprolidon monomeri kullanılarak plazma polimerizasyon tekniği ile değişen parametrelerde (boşalım gücü ve süresi) yüzeyde kaplama gerçekleştirilmiştir. Bu şekilde farklı kimyasal özelliklere sahip PlzP(VP) karbon elektrotlar hazırlanmıştır. Hazırlanan PlzP(VP) karbon elektrotlar, model fenolik madde ile değişen parametrelerde (farklı süre ve konsantrasyonlarda) etkileştirilmiştir.

Her kademedeki işlem sonrasında sisteme ait değişimler elektrokimyasal ölçümlerin DPV yöntemiyle gerçekleştirilmesi sonucu belirlenmiştir. PlzP(VP) bazlı karbon elektrot yüzeyinde adsorplanan fenolik madde konsantrasyonu, bu 3 basamak sonrası elde edilen elektrokimyasal yanıtlarda, gözlenen oksidasyon piklerinin değişen yüksekliklerinden yola çıkarak saptanmıştır.

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan kimyasal malzemeler ve deney sistemleri

Elektrokimyasal sensör hazırlanmasında elektrot olarak 30x1.8x0.9 mm ebatlarında karbon eskiz kalem uçları (Umix, Çin) kullanılmıştır.

Karbon elektrotların PlzP tekniği ile yüzey modifikasyonunda, fenolik madde adsorpsiyonuna uygun yüzey hazırlanması amacıyla, hem fenolik madde adsorpladığı bilinen hem de iletken özelliklerinden dolayı tercih edilen polivinilprolidon polimerinin (PVP), monomeri N-vinil-2-prolidon (VP) (Sigma-Aldrich, Almanya) kullanılmıştır.

Karbon elektrot yüzeyinin iletken VP ile modifikasyonu, plazma polimerizasyonu tekniği ile Radyo Frekanslı (RF) Plazma Sisteminde (Diener PICO, Almanya) yürütülmüştür.

Fenolik madde etkileşimlerinde model fenolik madde olarak seçilen gallik asit (Isolab, Almanya) kullanılmıştır.

Elektrot performans çalışmalarında akım-voltaj karakteristiğinin takibi, Elektrokimyasal Potansiyostat - Galvanostat Cihazı (Iviumstat, Hollanda) ile gerçekleştirilmiştir. Elektrokimyasal deneylerde kullanılan Iviumstat cihazına entegre edilen hücre standı (C3 cell stand, BASi; USA) bir hücre ve üçlü elektrot sistemini kapsamaktadır. Deneylerde bu hücre içinde çalışma elektrodu olarak yüzeyinde modifikasyon gerçekleştirilmiş karbon çubuk, referans elektrodu olarak Ag/AgCl ve karşıt elektrot olarak da Pt elektrottan oluşan üçlü elektrot sistemi kullanılmıştır. Elektrokimyasal ölçümler sabit pH değerlerinde gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla pH 3.0 değerinde sodyum tartarat tamponu hazırlamak için $\text{Na}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ve $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_6$, pH 6.5 değerinde fosfat tamponu hazırlamak için Na_2HPO_4 ve KH_2PO_4 Molekula (İngiltere) firmasından temin edilmiştir.

Deneysel çalışmalarda kullanılan diğer kimyasallar, etanol ve metanol Merck (Almanya) firmasından temin edilmiştir.

Yüzey karakterizasyonu için Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM, Ambios, USA) cihazı ile yüzey topografyası görüntülenmiştir. Fourier Transform Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR, Shimadzu, DR 8101, Japonya) cihazı ve Raman Spektroskopisi (Jobin-Yvon LabRam HR800, Japonya) cihazı ile modifikasyon işlemleri sonucunda yüzeyde elde edilen kimyasal grupların bağ yapıları tespit edilmiştir.

Kırmızı şarap örneklerinde gallik asit cinsinden toplam fenolik madde tayini için referans metot olarak tercih edilen Folin-Ciocalteu metodunda, Folin-Ciocalteu (Merck, Almanya) ayracı, gallik asit stok çözeltisi (Isolab, Almanya) ve doymuş sodyum karbonat çözeltisi (Molekula, İngiltere) kullanılmıştır. Bu amaçla Hewlett Packard Agilent 8453 spektrofotometresi kullanılmıştır. Kırmızı şarap örnekleri Yazgan Şarapçılık A.Ş. (Türkiye) firmasından temin edilmiştir.

3.2. Metot

3.2.1. Elektrot hazırlanması

Fenolik madde tayinine yönelik elektrokimyasal sensör hazırlamak üzere elektrot olarak karbon uç kullanılmıştır. Karbon elektrotlar, iyi elektrik iletkenliği, geniş potansiyel aralığı, yüksek saflıkta elde edilebilirlik, düşük maliyet, boyutsal ve mekanik kararlılık, çeşitli fiziksel yapıda elde edilebilirlik gibi özelliklerinden dolayı tercih edilmektedir. Literatürde, fenolik madde tayinine yönelik hazırlanan elektrokimyasal sensörlerde de karbon elektrotların yaygın olarak kullanıldığı görülmektedir (Capannesi et al., 2000; He et al., 2004; et al., 2006; Franzoi et al., 2008).

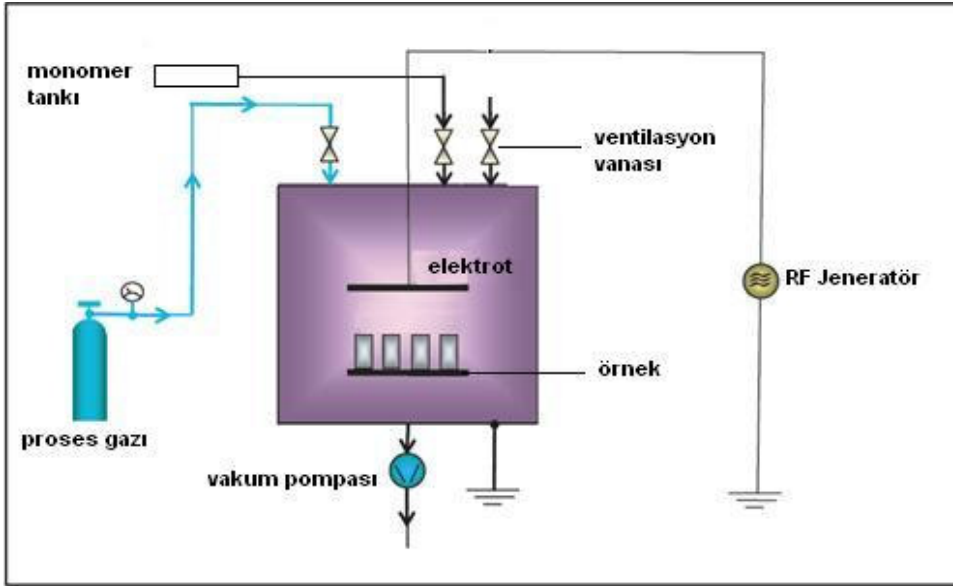
3.2.1.1. Plazma polimerizasyon düzeneği ve kaplama yöntemi

Karbon elektrot yüzeyine, fenolik madde adsorpsiyon özelliği kazandırmak amacıyla yüzeylerin modifikasyonu plazma polimerizasyonu yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, modifikasyon işlemleri yük boşalımı radyo frekansı (RF; 13.6 MHz) plazma sisteminde yürütülmüştür.

Yüzeyde oluşturulacak polimer filmin (PlzP-PVP), fenolik madde adsorpsiyonuna uygun bir zemin hazırlayacağı düşünülerek, karbon elektrot yüzeylerinin modifikasyonu amacıyla vinilprolidon (VP) monomeri kullanılmıştır.

Gerçekleştirilen plazma polimerizasyon ile yüzey modifikasyonunun (1) düşük basınç (vakum) ile yapıdaki ve/veya ortamdaki hava ve olası gazların giderilmesi, (2) argon gazı ile reaksiyon ortamının inert hale getirilmesi, (3) monomer beslemesi ve plazma işlemi, (4) reaksiyonun sonlandırılması ve düşük basınç (vakum) ile olası radikallerin sönmelenmesi olmak üzere dört temel aşaması bulunmaktadır. Modifikasyon işlemlerinde, Diener Electronics GmbH+Co (Almanya) firmasından satın alınan PICO Model RF-plazma sistemi kullanılmıştır. RF-plazma sistemi maksimum 100W güç uygulamasına olanak vermektedir.

Modifikasyon işlemlerinde uygulanan yöntem aşağıda kısaca özetlenmiştir. Yüzeyi kaplanacak karbon uçlar, reaktörün tam ortasına oturacak şekilde polistiren köpük bir destek üzerindeki örnek haznesine yerleştirildikten sonra, reaktör kapağı sızdırmazlık sağlanacak şekilde kapatılıp, reaktör basıncı 0.1 mbar olacak şekilde vakum oluşturulmuştur. Ardından argon girişi açılarak reaktörden 5 dk. süreyle (reaktör içindeki basıncı 0.2-0.3 mbar seviyesinde tutacak akış hızında) argon geçirilmiş ve argon girişi kapatılarak ortam 10 dakika süreyle vakumda tutulmuştur. Bu sayede, reaksiyona girebilecek azot, oksijen gibi tüm gazlar tamamen reaktörden uzaklaştırılarak ortamın inertliği (eylemsizliği) sağlanmıştır. Vakum uygulaması neticesinde sistemde tekrar 0.1 mbar düzeyinde basınç sağlandıktan sonra yüzey modifikasyonu işlemlerinde monomer olarak kullanılan vinilprolidon (VP) reaktöre beslenerek karbon uçlarla temas ettirilmiştir. Bu amaçla VP akış hızı sistemde [0.3-0.1] mbar basınç farkı oluşturulacak şekilde ayarlanıp yaklaşık 5 dk. süreyle sistemden monomer geçişi sağlanmıştır. RF-plazma sisteminde 5-60 W boşalım gücü değerlerinde 15-60 dakika süreyle VP plazması oluşturulmuştur. Son olarak, sistemden yine 5 dk. süreyle argon gazı geçirilmiş ve argon geçişi kapatıldıktan sonra sistem 15 dk. vakumda bekletilerek aktif radikallerin sönümü sağlanmıştır. Bu süre sonunda vakum pompası kapatılarak işleme son verilmiştir. Reaktör kapağı açıldıktan sonra karbon uçlar, 3 cm uzunluğunda kesilerek örnek tüplerinin içerisine yerleştirilmiş ve karanlık ortamda saklanmıştır. Plazma polimerizasyon düzeneği Şekil 3.2.'de verilmiştir.



Şekil 3.2: Plazma polimerizasyon düzeneğinin şematik gösterimi.

Deney kapsamında, plazma polimerizasyon tekniğinde çalışılan parametreler Çizelge 3.1.'de sunulmuştur.

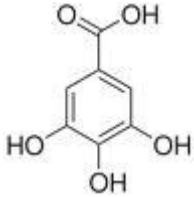
Çizelge 3.1: Plazma polimerizasyon tekniğinde çalışılan parametreler

Monomer	Plazma Polimerizasyon Koşulları		
	Boşalım Gücü (W)	Boşalım Süresi (dk)	Çalışma Basıncı: 0.3 mbar
Vinilpirolidon	15	15, 30, 45, 60	
	30	15, 30, 45, 60	
	45	15, 30, 45, 60	
	60	15, 30, 45, 60	

3.2.2. Elektrot performansının belirlenmesi

3.2.2.1. Fenolik madde- elektrot etkileşimi

Fenolik madde tayinine yönelik olarak hazırlanan PlzP(VP) bazlı karbon elektrotların performansı, model fenolik madde olarak seçilen ve literatürde yaygın standart referans olarak kullanılan gallik asit ile test edilmiştir (Prior et al., 2005) (Şekil 3.3). Hazırlanan PlzP(VP) bazlı karbon elektrotlar, 1,5 ml hacmindeki eppendorf tüplerde, farklı derişimlerdeki gallik asit çözeltisi (50-105 µmol/L, oda sıcaklığı) ile değişen sürelerde (5-120 dk), karanlık ortamda, daldırma bekletme yöntemine göre (dip coating) etkileştirilmiştir. Süre sonunda karbon uçlar saf su ile yıkanarak, elektrot performansları değerlendirilmek üzere elektroliz hüccresine yerleştirilmiştir.



Şekil 3.3: Gallik asit molekül yapısı

3.2.2.2. Voltametrik ölçüm yöntemi

Karbon elektrotların performansının incelendiği elektrokimyasal çalışma istasyonu elektroliz hüccresi ve elektrotları muhafaza eden hücre standı ile entegre çalışmaktadır. Deneyler üçlü elektrot sistemi ile yürütülmüştür. Hazırlanan karbon elektrotlar sisteme çalışma elektrodu olarak bağlanmış; referans elektrodu olarak gümüş/gümüş klorür (Ag/AgCl) elektrot ve karşıit elektrot olarak da platin (Pt) elektrot kullanılmıştır. Şekil 3.4'de elektrokimyasal çalışma istasyonu bağlı elektroliz hüccresi (Üçlü elektrot sistemi) görülmektedir.



Şekil 3.4: Elektrokimyasal çalışma istasyonuna bağlı üçlü elektrot sistemi

Karbon elektrotların performansının değerlendirildiği amperometrik ölçümler, elektrokimyasal potansiyostat – galvanostat cihazında uygulanan diferansiyel puls voltametri (DPV) yöntemi ile gerçekleştirilmiştir.

Daha önce yapılan çalışmalarda, pH 2-7 aralığında fenolik asitlerin oksidasyon piklerinin 0.4 ile 0.5 V potansiyel aralığında elde edildiği görülmüştür (Romani et al., 2000; Blasco et al., 2004). Bu çalışmada da, diferansiyel puls voltametri tekniği ile -0,25V dan +1,2 V'a kadar, 100 mV/sn tarama hızında, 50mV genlikte ve 8mV adım potansiyeli uygulanarak, PlzP öncesi karbon elektrodun, PlzP(VP) sonrası karbon elektrodun ve gallik asit ile etkileştirilmiş PlzP(VP) karbon elektrotta gallik asidin yükseltgenme sinyalleri ölçülmüştür. Elde edilen ham eğriler, potansiyostadaki IviumSoft yazılım sistemi ile tanımlanabilir pikler haline dönüştürülmüştür. Her basamak sonrasında elde edilen diferansiyel puls voltamogramlarında, karakteristik potansiyel aralıkta gözlenen yükseltgenme sinyallerinin pik yüksekliklerinin, ölçülen analitin konsantrasyonu ile doğru orantılı olmasından yola çıkılarak fenolik madde tayinine gidilmiştir. Diferansiyel puls voltamogramları, elektrotların elektrokimyasal davranışları ve performans çalışmaları ile “Deneysel Sonuçlar ve Tartışma” kısmında ayrıntılı olarak incelenmiştir.

Üçlü elektrot sisteminin içine daldırıldığı ölçüm çözeltisinin hacmi 10 ml’de sabit tutulmuştur. Karbon elektrot, 15mm’lik kısmı analit çözeltisi içerisine daldırılacak

şekilde elektrolitik hücre içerisine yerleştirilmiştir. Her ölçüm işlemi öncesinde karbon elektrodun boyu ve ölçüm alınacak çözeltinin deney hücresindeki yüksekliği tekrarlanabilir sonuç elde edilmesi amacıyla ölçülmüştür. Her ölçümde, çalışma elektrodu üzerinde oluşabilecek birikim ve kirliliği önlemek amacıyla, yeni bir karbon elektrot kullanılmıştır. Her ölçüm sonucu, üç kez tekrarlanarak grafik ve voltamogramlara yansıtılmıştır.

3.2.3. Elektrot yüzeyinin karakterizasyonu

Plazma polimerizasyonu ile yapılan tüm uygulamaların dünya literatüründe geçerlilik kazanması büyük ölçüde oluşturulan filmlerin fiziksel yüzey görüntüleme teknikleri (AKM) ve kimyasal yüzey analizleri ile (RS, FTIR) yapılarının açıklanmasına bağlıdır. Bu yüzden, karbon elektrot yüzeyinde plazma polimerizasyonu sonucu oluşan film, uygun tekniklerle karakterize edilmiştir.

3.2.3.1. Atomik kuvvet mikroskobu (AKM)

Plazma polimerizasyon tekniği ile kaplama sonrası fiziksel karakterizasyon, Atomik Kuvvet Mikroskobu (AKM) kullanılarak elde edilmiştir. Plazma polimerizasyon tekniği ile kaplanmış karbon elektrot yüzeyinin, modifikasyondan önceki ve sonraki fiziksel yapıların tayini için Atomik Kuvvet Mikroskobu (Ambios, USA) cihazı ile görüntüleme yapılmıştır. Yüzeyinde hiç modifikasyon gerçekleştirilmemiş karbon elektrot ile PlzP(VP) kaplı karbon elektrot yüzeylerine ait morfolojiler incelenmiştir.

3.2.3.2. Raman spektroskopisi

Plazma polimerizasyonu yöntemi ile modifiye edilen karbon yüzeylerin kimyasal karakterizasyonu Jobin-Yvon LabRam HR800 Raman spektroskopisi ile gerçekleştirilmiştir. Yük-eşleşmiş dedektör (CCD) ile 632.6 nm dalgaboyunda He-Ne nm lazer kullanılmıştır. Karbon elektrot yüzeyi kazınarak toz haline dönüştürülmüştür ve örnek mikroskop camı üzerinde incelenmiştir. Lazer, örnek üzerine Olympus BX41 mikroskop ile odaklanmıştır. Spektrumlar, 400s ve 700s sonunda kaydedilmiştir. (objektif x100, büyütme 600).

3.2.3.3. Fourier transform kızılötesi spektroskopisi (FTIR) analizi

Plazma polimerizasyonu ile modifiye edilen karbon elektrotların modifikasyondan önceki ve sonraki kimyasal yapılarının tayini için Fourier Transform Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR, Shimadzu, DR 8101, Japonya) kullanılmıştır. Vinilprolidon ile modifiye edilmiş karbon yüzeyler kazınarak örnekler oluşturulmuş ve potasyum bromür (KBr) içinde dağıtılarak tablet numuneler hazırlanmıştır. 800-4000 cm^{-1} dalga boyu aralığında analiz yapılmıştır.

3.2.4. Kırmızı şarap örneklerinde fenolik madde analizi

Kırmızı şarap örneklerinde toplam fenolik madde analizi yaygın bir metot olan Folin-Ciocalteu yöntemine göre yapılmıştır (Waterhouse, 2001). Bu yöntemde göre 1/5 oranında seyreltilmiş 40 μl kırmızı şarap örneği, 3.16 ml su ve 100 μl 2N Folin-Ciocalteu reaktifi karıştırılmıştır. Ortalama 4 dk beklendikten sonra doymuş sodyum karbonat çözeltisinden 600 μl eklenmiş ve tüpler vortekste karıştırılmıştır. 20 °C'de karanlıkta 2 saat bekletildikten sonra UV-Vis spektrofotometrede 765 nm de absorbans ölçülmüştür. Kalibrasyon eğrisi, aynı yol izlenerek belli konsantrasyonlardaki gallik asit çözeltileri ile elde edilmiştir. Toplam fenol içeriği gallik asit kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak gallik asit eşdeğeri olarak verilmiştir. Deneyler 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve sonuçların ortalaması alınmıştır.

En yüksek performansı gösteren PlzP(VP) bazlı karbon elektrot ile aynı kırmızı şarap örneklerinde bölüm 3.2.2.2.'de detaylı olarak anlatıldığı gibi elektrokimyasal ölçümler gerçekleştirilmiş ve sonuçlar literatürdeki verilerle karşılaştırılmıştır.

4. DENEYSEL SONUÇLAR ve TARTIŞMA

Bu çalışmanın temel amacı, plazma polimerizasyon tekniği ile fenolik madde tayinine yönelik bir elektrokimyasal sensör hazırlamak ve performans parametrelerini belirlemektir. Öncelikle, ön çalışmalar kapsamında, literatürde yoğun olarak elektrokimyasal sensör çalışmalarında temel olarak kullanılan iletken özellikteki karbon elektrotların yüzeyleri, yine iletken özelliğe sahip monomerlerden biri olan N-Vinil-2-prolidon'un (VP) plazma polimerizasyonu ile farklı PlzP parametreleri (boşalım gücü ve proses süresi) kullanılarak modifiye edilmiş ve fenolik madde adsorpsiyonuna uygun olabileceği düşünülen özelliklerde yüzey hazırlanmıştır. Hazırlanan PlzP(VP) bazlı modifiye karbon elektrotlar model fenolik madde olarak seçilen gallik asit ile sabit konsantrasyon ve sürede etkileştirilmiştir. İlk iki basamak sonrasında, elde edilmesi beklenen ve fenolik maddelere karşı adsorplama özelliğine sahip polivinilprolidon (Plz-PVP) iletken polimeri ile kaplı karbon elektrotların model fenolik madde etkileşiminden önce ve sonra gösterdikleri elektrokimyasal davranışları diferansiyel puls voltametri (DPV) yöntemi ile ortaya konmuştur.

Bu ön çalışmalar sonrasında, PlzP(VP) bazlı karbon elektrot yüzeylerinde, modifikasyon sonrasında en fazla fenolik madde adsorpladığı düşünülen karbon elektrotların hazırlandığı PlzP işlem parametreleri belirlenmiştir. PlzP(VP) bazlı karbon elektrot yüzeyinde adsorplanan fenolik madde konsantrasyonunun belirlenmesinde, elde edilen diferansiyel puls voltamogramlarında gözlenen yükseltgenme sinyallerinin pik yüksekliklerinin, ölçülen fenolik madde konsantrasyonu ile doğru orantılı olmasından yola çıkılmıştır. En yüksek gallik asit yükseltgenme sinyali gözlenen PlzP(VP) bazlı karbon elektrotların plazma polimerizasyonu işlem parametreleri belirlenmiş ve çalışma bu parametreler üzerinden devam etmiştir.

İkinci aşamada, ön çalışmalarda elde edilmiş bilgiler ışığında, iletken özellikteki vinilprolidon monomeri kullanılarak belirlenen plazma polimerizasyon tekniği işlem parametreleri ile modifiye edilen karbon elektrot yüzeylerinin hem iletken özelliği korunmuş hem de fenolik madde adsorplama özelliği kazandırılmıştır. Hazırlanan PlzP(VP) bazlı elektrokimyasal sensörün performansı incelenmiştir. PlzP(VP) bazlı

karbon elektrotlar kalibre edilerek, örnek ile etkileşim süresi, raf ömrü, hassasiyet, doğrusal aralık, tekrar kullanılabilirlik gibi özellikleri belirlenmiştir. Ayrıca, en yüksek performansı sergileyen PlzP(VP) bazlı karbon elektrot yüzeyinde plazma polimerizasyonu sonrası oluşan polimer filmin yüzey morfolojisini gösteren AKM görüntüleri, yüzeyde oluşan kimyasal bağları gösteren Raman spektrumları ve yüzeydeki kimyasal gruplarda meydana gelen değişimleri gösteren FTIR spektrumları elde edilmiştir.

Son aşamada, kırmızı şarap örneklerinin toplam fenolik madde içeriği yaygın olarak kullanılan spektrofotometrik yöntem (Folin- Ciocalteu) ile belirlenmiştir. Fenolik madde tayinine yönelik hazırlanan PlzP(VP) bazlı elektrokimyasal sensör, kırmızı şarap örneklerinde test edilmiş ve model olarak seçilen gallik asit miktarı tayin edilmiştir. Çalışma, elde edilen değerlerin, literatürdeki veriler ile karşılaştırmasıyla sonlandırılmıştır.

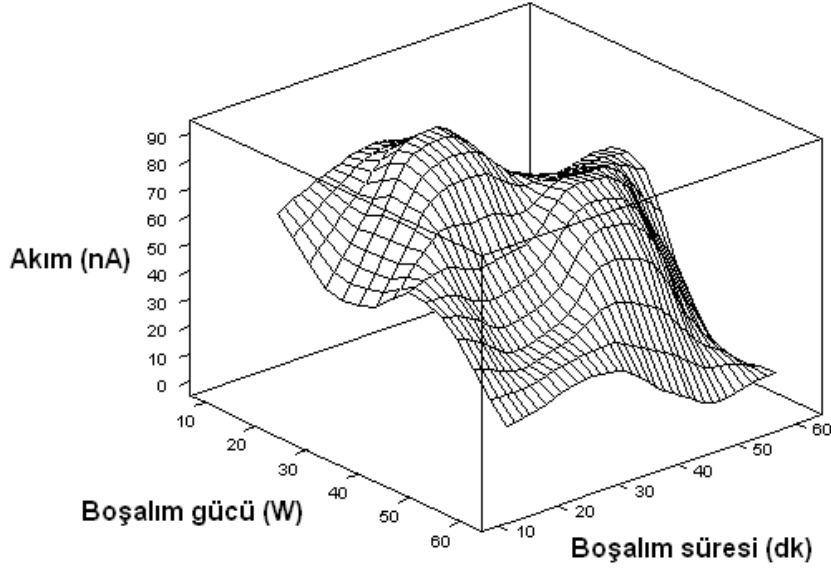
4.1. Ön Çalışmalar: Plazma Polimerizasyonu İşlem Parametrelerinin Belirlenmesi

İletken özellikteki karbon elektrot yüzeyleri, yine iletken özellik gösteren monomerlerden biri olan vinilprolidon kullanılarak plazma polimerizasyonu tekniği ile modifiye edilmiştir. Bu yüzey modifikasyonu sonrasında, karbon elektrot yüzeyinin iletken özelliğini sürdürmesi ve yüzeyde fenolik madde adsorpsiyon karakteri gösteren bir polimer filmin (PlzP-PVP) oluşturulması amaçlanmıştır. PlzP(VP) bazlı karbon elektrot yüzeylerinde adsorplanan fenolik madde konsantrasyonu, elektrotların elektrokimyasal ölçümlerinde elde edilen diferansiyel puls voltamogramlarında gözlenen oksidasyon pik yüksekliklerinden yola çıkılarak tayin edilmiştir.

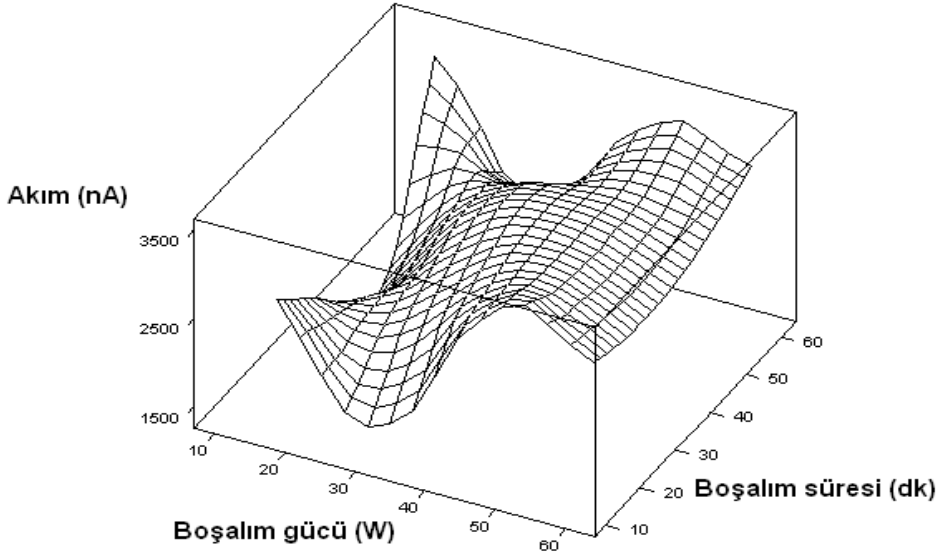
Karbon elektrotların VP ile plazma polimerizasyonu sonrasında ve PlzP(VP) bazlı karbon elektrotların 0.1M gallik asit çözeltisi ile 1 saat etkileştirildikten sonra gerçekleştirilen elektrokimyasal ölçümleri sonrasında elde edilen gallik asit oksidasyon pik yükseklikleri Çizelge 4.1'de sunulmuştur. Karbon elektrotların fenolik madde ile etkileşim basamakları ve DPV ölçümleri bölüm 3.2.2'de detaylı anlatılmıştır.

Çizelge 4.1: Farklı plazma polimerizasyon parametreleri ile hazırlanan PlzP(VP) bazlı karbon elektrotların ve bunların gallik asit çözeltisi ile etkileşimi sonrasında DPV yöntemi ile elde edilen oksidasyon pik yükseklikleri

Plazma polimerizasyonu işlem parametresi (boşalım gücü-W; boşalım süresi- dk)	PlzP(VP) karbon elektrot sinyali (pik yüksekliği-nA)	PlzP(VP)-Gallik asit etkileşimi sonrası alınan sinyal (pik yüksekliği-nA)
5W - 60dk	54	2941
15W - 15dk	62	2549
15W - 30dk	75	1890
15W - 45dk	53	1426
15W - 60dk	12	3378
30W - 15dk	42	1435
30W - 30dk	86	2404
30W - 45dk	67	2773
30W - 60dk	65	2090
45W - 15dk	54	3014
45W - 30dk	47	3046
45W - 45dk	68	3026
45W - 60dk	19	3217
60W - 15dk	24	2789
60W - 30dk	31	2654
60W - 45dk	12	2765
60W - 60dk	10	3087



a)

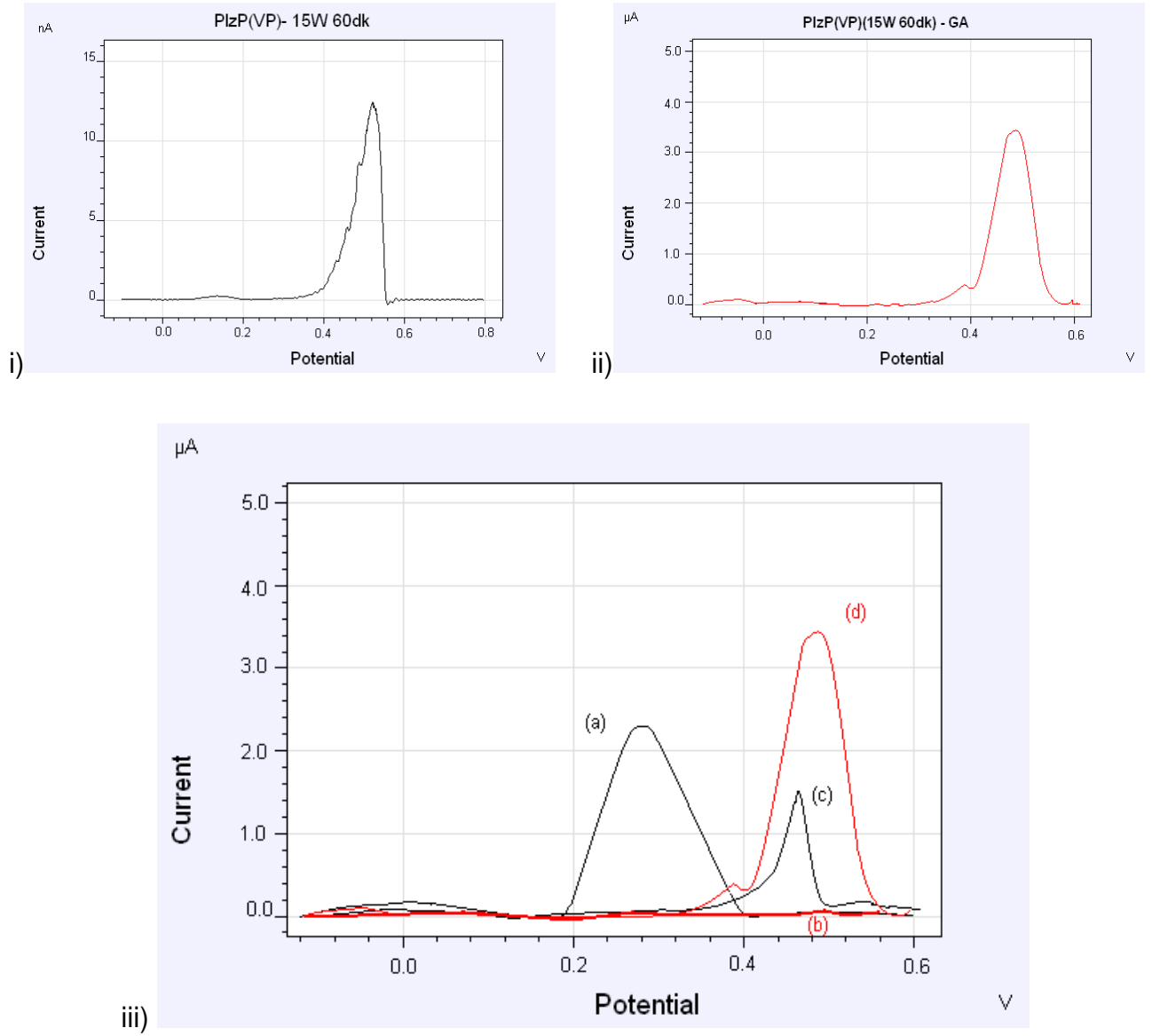


b)

Şekil 4.1: : Farklı plazma polimerizasyon parametreleri ile modifiye edilen karbon elektrotların DPV yöntemi ile alınan elektrokimyasal sinyallerindeki değişiminin 3 boyutlu gösterimi a) gallik asit ile etkileşimden önce b) gallik asit ile etkileşimden sonra

Farklı plazma polimerizasyon işlem parametreleri ile yapılan kaplama ve sonrasında PlzP(VP) bazlı karbon elektrot yüzeyinin gallik asit ile etkileştirilmesi ile elde edilen diferansiyel puls voltamogramlarında gözlenen oksidasyon pik yüksekliklerinde artış tespit edilmesi, plazma ortamında kullanılan monomerin (VP) plazma polimerizasyonu ile yüzeyde bir kaplama gerçekleştirdiğini ve bu modifiye yüzeye gallik asidin adsorplandığını kanıtlamaktadır. DPV yöntemi ile elde edilen bu oksidasyon sinyallerindeki artış, seçilen boşalım gücü ve süresine göre değişmektedir. Plazma polimerizasyonu işlem parametreleri dışında diğer tüm parametreler (model fenolik madde türü, konsantrasyonu ve etkileşim süresi) sabit tutulduğunda elde edilen veriler değerlendirildiğinde, çizelge 4.1'de de görüldüğü gibi 3 parametre (15W 60dk; 45W 60dk; 60W 60dk) öne çıkmaktadır. Bu durum, öne çıkan parametrelerde yüzeyde, fenolik madde adsorpsiyonuna elverişli yani polivinilprolidon benzeri bir polimer film tabakasının oluşumuyla açıklanabilir.

İşlem görmemiş karbon elektrot, PlzP(VP) bazlı modifiye edilmiş karbon elektrot ve bu iki elektrodun 0.1M gallik asit çözeltisi ile 1 saat etkileşimi sonrasında alınan diferansiyel puls voltamogramları Şekil 4.2-4.4'de sunulmuştur.



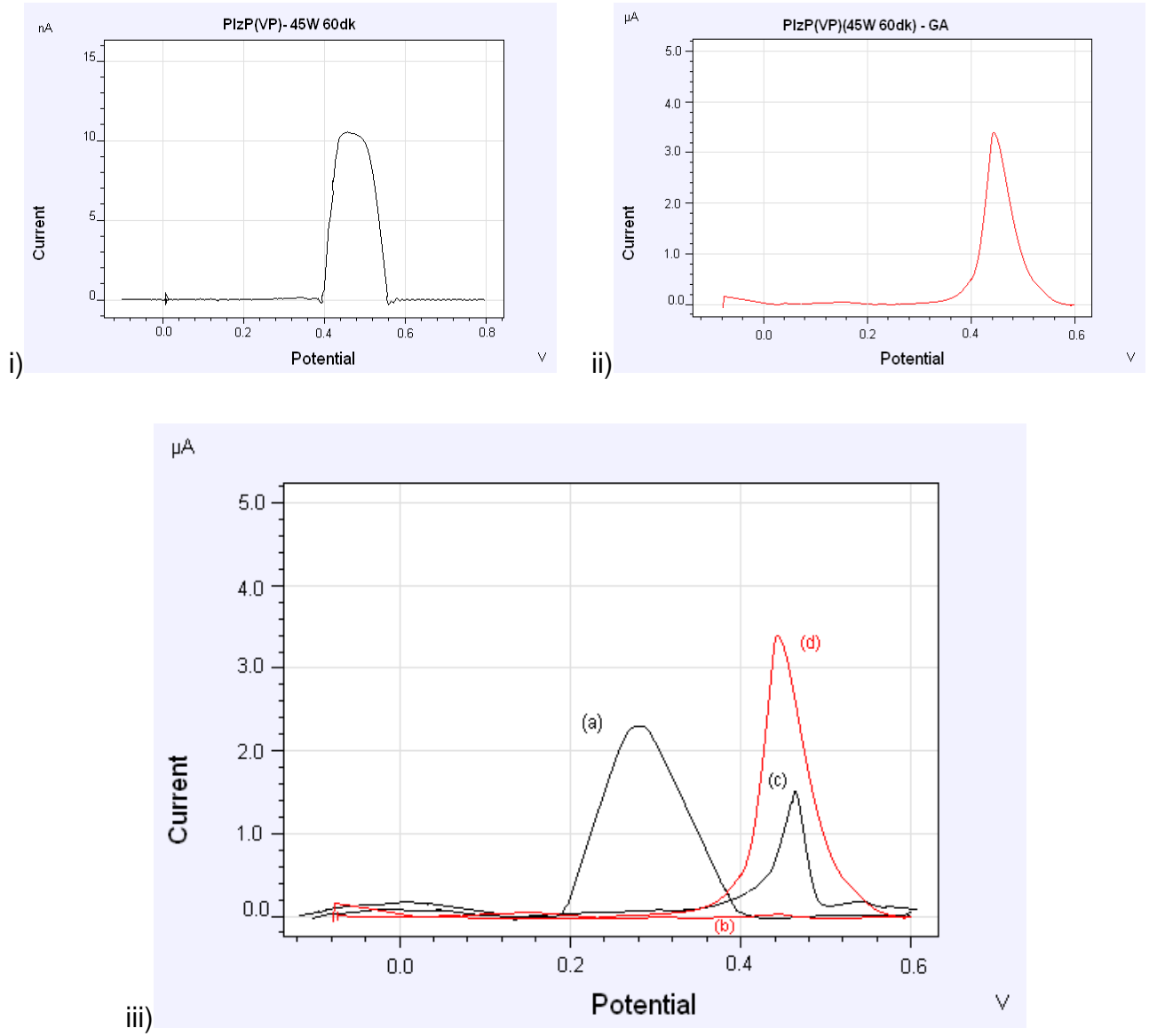
Şekil 4.2: Karbon elektrotların diferansiyel puls voltamogramları i) PlzP(VP) ile modifiye edilmiş karbon elektrot, (15W 60dk) (b), ii) 0.1M gallik asit ile 1 sa etkileştirilmiş PlzP(VP)- karbon elektrot (15W 60dk) (d), iii) a) İşlem görmemiş karbon elektrot, b) PlzP(VP) ile modifiye edilmiş karbon elektrot, (15W 60dk) c) 0.1M gallik asit ile 1 sa etkileştirilmiş işlem görmemiş karbon elektrot d) 0.1M gallik asit ile 1 sa etkileştirilmiş PlzP(VP)- karbon elektrot (15W 60dk)

Şekil 4.2' de, işlem görmemiş karbon elektrot 0.294V potansiyelinde 2.37 μA 'lık bir elektrokimyasal sinyal oluştururken, 15W 60dk işlem parametresinde PlzP(VP) ile modifiye edilmiş karbon elektrot 0.492V'da 0.012 μA 'lık bir sinyal oluşturmuştur. Karbon elektrot yüzeyine uygulanan plazma polimerizasyon işlemi sonrasında, hem alınan elektrokimyasal

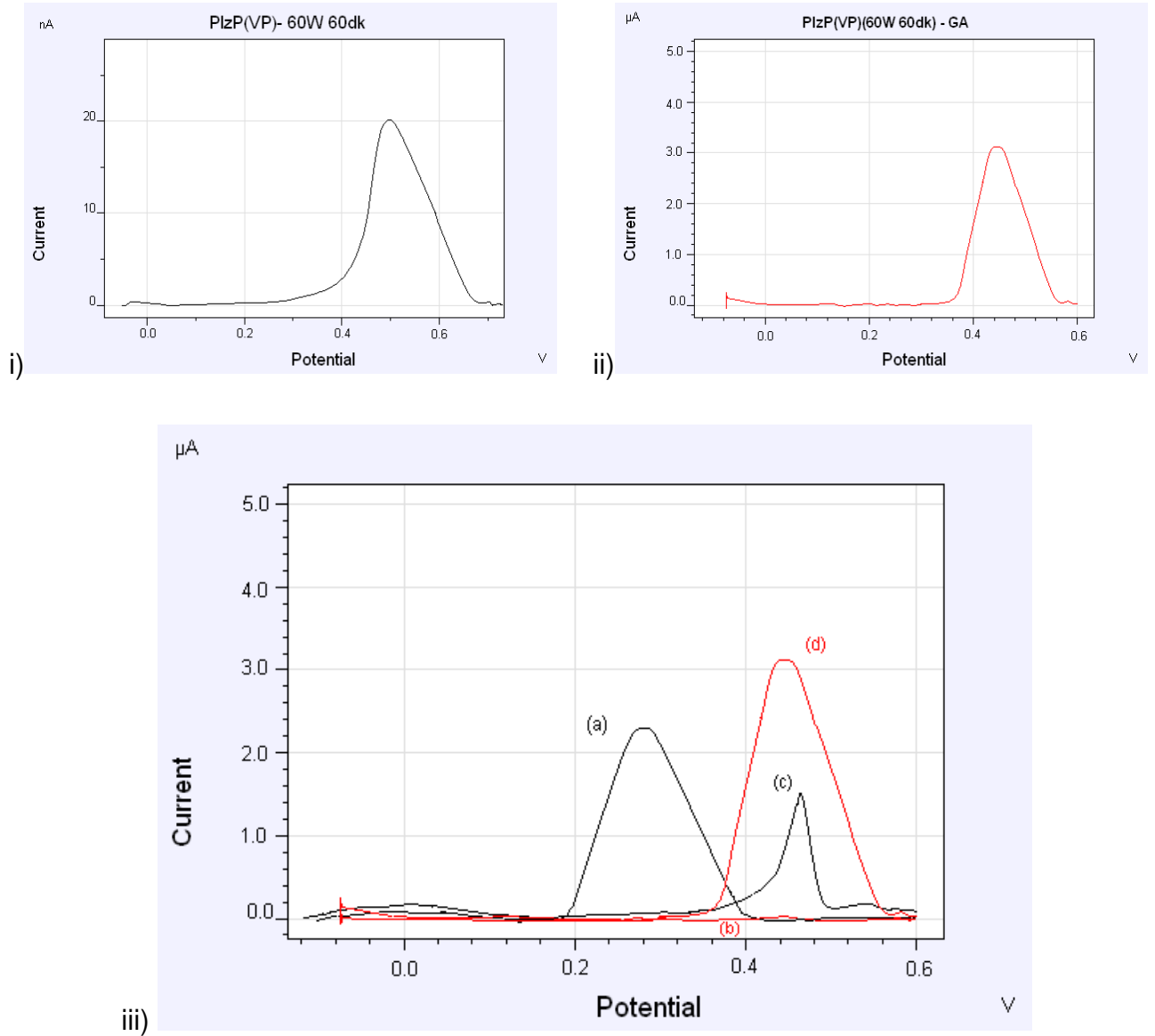
sinyal büyüklüğünün azalması hem de gözlenen yükseltgenme pik potansiyelinin kayması, yüzeyde PlzP yöntemi ile bir film oluşturulduğunu açıkça göstermektedir. Kaplanan karbon elektrot yüzeyinde, gallik asit ile etkileştirilmesinden sonra 0.484V'da alınan oksidasyon pik yüksekliğindeki bu artış da yüzeyde gallik asiti adsorplayan bir filmin oluştuğunu göstermektedir.

Ayrıca, işlem görmemiş karbon elektrodun fenolik madde ile etkileşimi sonrası elektrokimyasal davranışını incelemek için, karbon elektrot aynı koşullarda gallik asit ile etkileştirilmiştir. Sonrasında, 0.484V potansiyelinde 1.37 μ A'lık bir DPV sinyal elde edilmiştir. Ancak, fenolik madde tayini için elektrokimyasal sensör hazırlanması çalışmalarında temel olarak üzerinde durulması gereken, PlzP(VP) ile kaplanan karbon elektrot ve bu modifikasyon sonrası oluşturulan polimer yüzeye adsorplanan fenolik madde miktarının elektrokimyasal ölçümlerle ortaya konmasıdır.

Ön çalışmalarda, diğer öne çıkan iki parametrenin voltamogramları Şekil 4.3 ve 4.4'de sunulmuştur.



Şekil 4.3: Karbon elektrotların diferansiyel puls voltamogramları i) PlzP(VP) ile modifiye edilmiş karbon elektrot, (45W 60dk) (b), ii) 0.1M gallik asit ile 1 sa etkileştirilmiş PlzP(VP)-karbon elektrot (45W 60dk) (d), iii) a) işlem görmemiş karbon elektrot, b) PlzP(VP) ile modifiye edilmiş karbon elektrot, (45W 60dk) c) 0.1M gallik asit ile 1 sa etkileştirilmiş işlem görmemiş karbon elektrot d) 0.1M gallik asit ile 1 sa etkileştirilmiş PlzP(VP)- karbon elektrot (45W 60dk)



Şekil 4.4: Karbon elektrotların diferansiyel puls voltamogramları i) PlzP(VP) ile modifiye edilmiş karbon elektrot, (60W 60dk) (b), ii) 0.1M gallik asit ile 1 sa etkileştirilmiş PlzP(VP)- karbon elektrot (60W 60dk) (d), iii) a) işlem görmemiş karbon elektrot, b) PlzP(VP) ile modifiye edilmiş karbon elektrot, (60W 60dk) c) 0.1M gallik asit ile 1 sa etkileştirilmiş işlem görmemiş karbon elektrot d) 0.1M gallik asit ile 1 sa etkileştirilmiş PlzP(VP)- karbon elektrot (60W 60dk)

Plazma polimerizasyonu tekniği ile yüzey modifikasyonu sonrasında karbon elektrot yüzeyinde meydana gelen fiziksel ve kimyasal değişiklikler bölüm 4.3 'de yüzey karakterizasyonu kısmında detaylı olarak incelenmiştir.

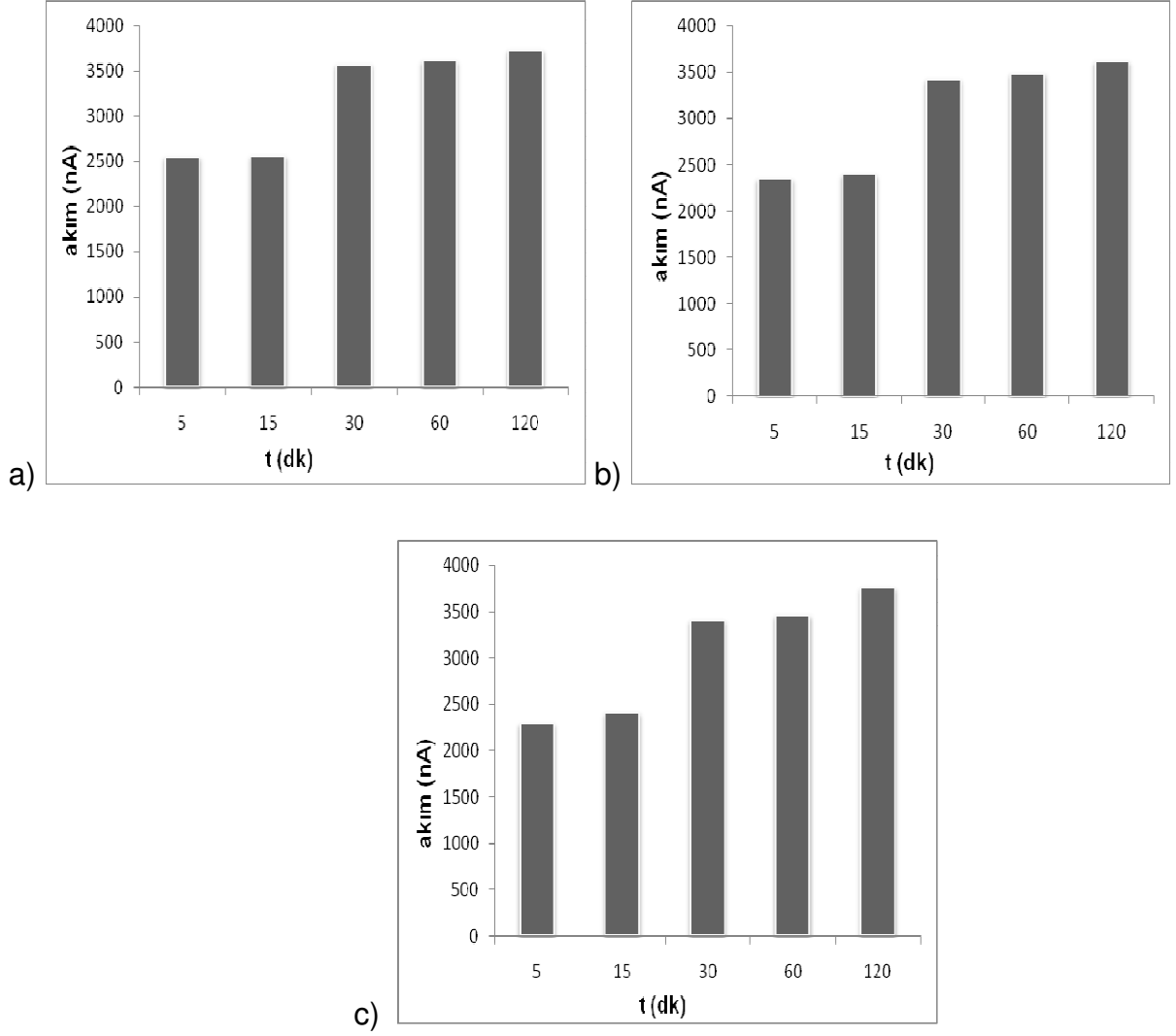
4.2. PlzP(VP) Bazlı Elektrokimyasal Sensör Performansının İncelenmesi

Çalışmanın bundan sonraki kısımlarında, fenolik madde ile etkileşim sonrasında en yüksek gallik asit yükseltgenme sinyali alınan, bir başka deyişle PlzP yöntemi ile VP kullanılarak modifiye edilmiş yüzeyde daha fazla fenolik madde adsorpladığı düşünülen, üç farklı plazma polimerizasyon işlem parametresiyle hazırlanan PlzP(VP) bazlı karbon elektrotlar ile devam edilmiştir.

4.2.1. Fenolik madde–elektrot etkileşim süresinin optimizasyonu

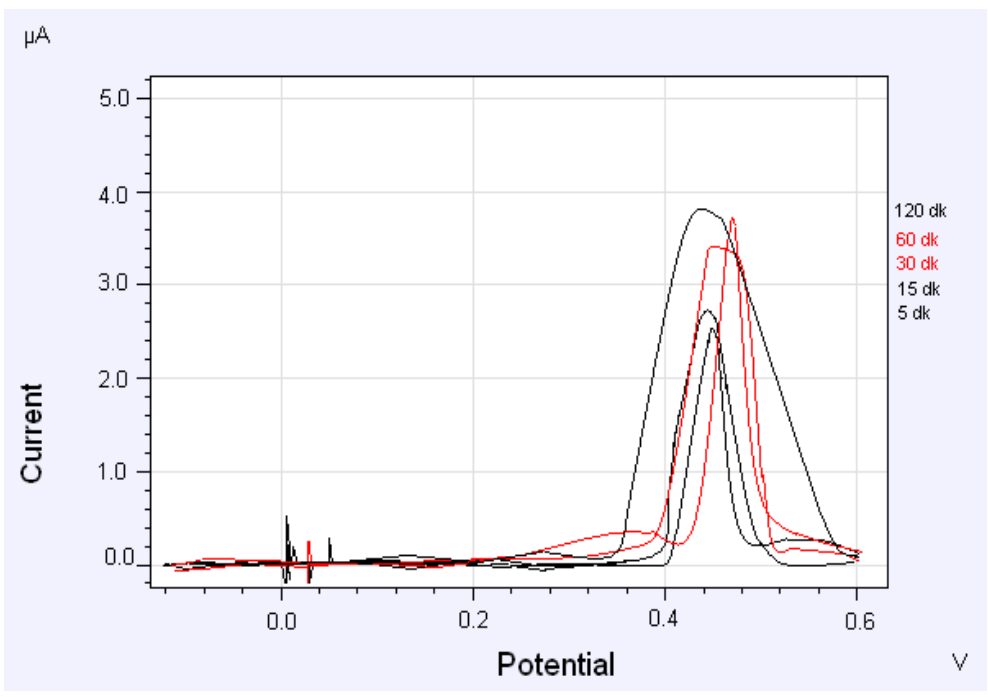
Fenolik madde tayinine yönelik hazırlanan PlzP(VP) bazlı karbon elektrotların model olarak seçilen fenolik madde ile belirli koşullar altında etkileşme süresinin, yükseltgenme sinyalleri üzerine etkisi incelenmiştir. Farklı plazma işlem parametreleriyle vinilprolidonun monomer olarak kullanılmasıyla hazırlanan karbon elektrotlar, karanlık ortamda, 0.1M gallik asit çözeltisi ile değişen sürelerde etkileştirilmiştir ve sonrasında bölüm 3.2.2.2’de anlatıldığı gibi DPV yöntemi ile elektrokimyasal ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Bu basamakta amaç, PlzP(VP) bazlı karbon elektrotların fenolik madde ile etkileşimi sonrası, yüzeyinde fenolik madde adsorplayabilme özelliğine bağlı olarak, elde edilen DPV ölçümlerinde, gallik asit yükseltgenme pik yüksekliklerinde gözlenebilen bir fark gösteren en düşük etkileşim süresini belirleyerek, çalışma parametresini elde etmektir.

Şekil 4.5’ de hazırlanan PlzP(VP) bazlı karbon elektrotların model olarak seçilen fenolik madde ile artan etkileşim süreleri sonunda gerçekleştirilen DPV ölçümlerinde elde edilen elektrokimyasal yanıtları görülmektedir.

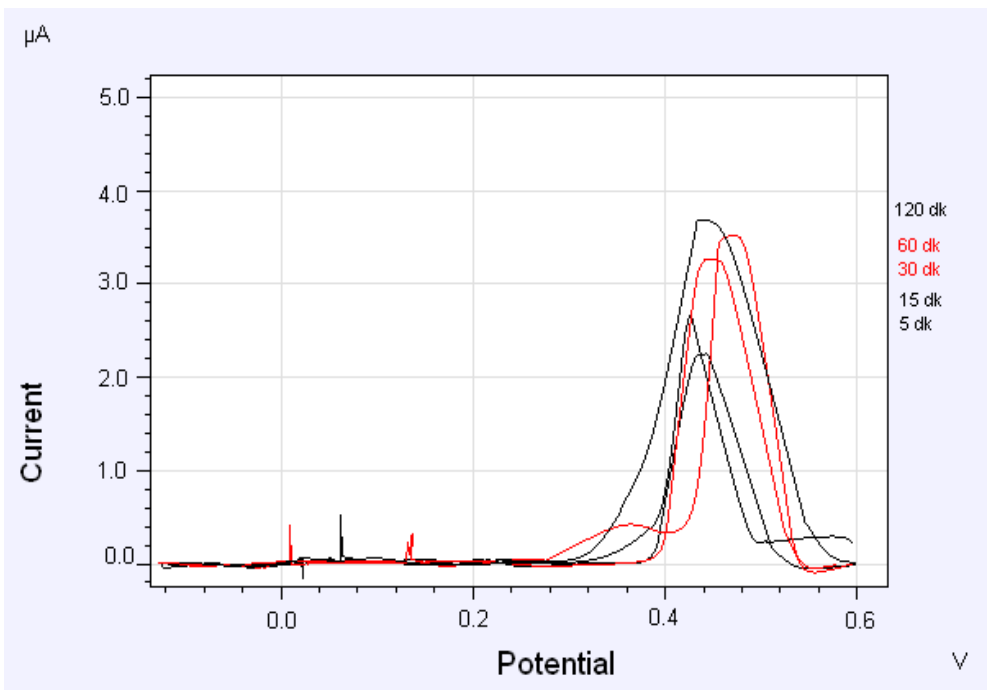


Şekil 4.5: PlzP(VP) bazlı karbon elektrotların 0.1M gallik asit ile farklı etkileşim süreleri sonunda elde edilen DPV sinyalleri a) 15W 60dk, b) 45W 60dk ve c) 60W 60dk

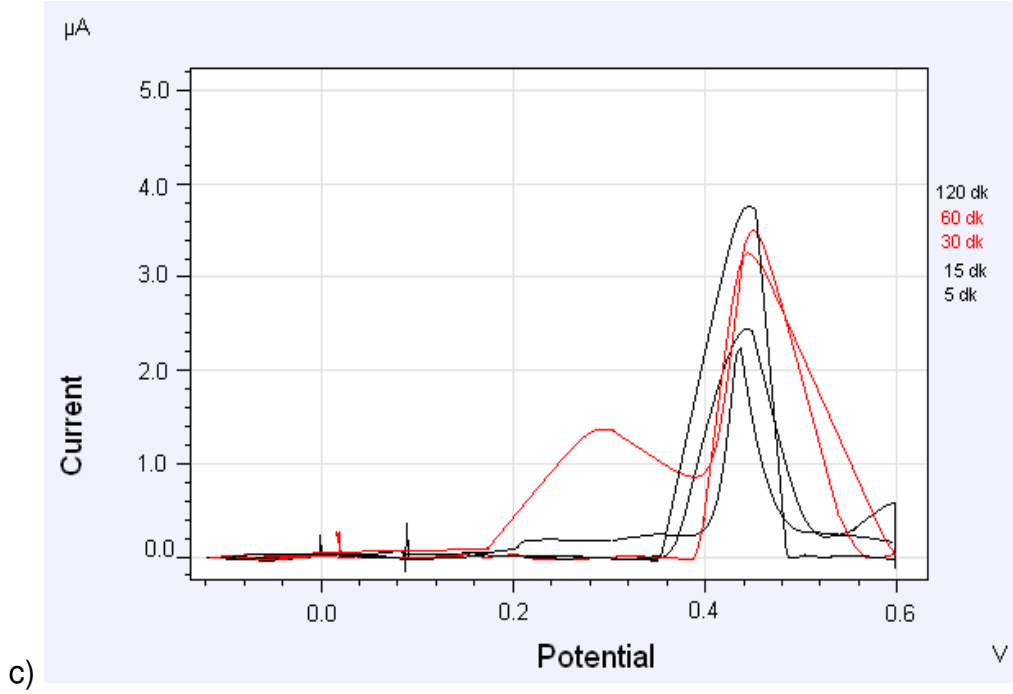
Şekil 4.6'da hazırlanan PlzP(VP) bazlı karbon elektrotların, 0.1M gallik asit ile farklı etkileşim süreleri sonunda elde edilen diferansiyel puls voltamogramları sunulmuştur.



a)



b)



Şekil 4.6: PlzP(VP) bazlı karbon elektrotların 0.1M gallik asit çözeltisi ile farklı etkileşim süreleri sonunda elde edilen gallik asit yükseltgenme sinyalleri a) 15W 60dk, b)45W 60dk ve c) 60W 60dk

Hazırlanan PlzP(VP) bazlı karbon elektrotların gallik asit ile etkileşimi sonrası gerçekleştirilen DPV ölçümlerinde elde edilen yükseltgenme sinyallerinde, belirli bir fark gözlenebilen sinyal alınan en düşük etkileşim süresi çalışma parametresi olarak belirlenmiştir. Burada amaç, en kısa sürede elektrotlardan konsantrasyona bağlı bir cevap almaktır. Yukarıdaki şekillerde de görüldüğü gibi, elektrotların fenolik madde ile etkileşim işlemi için 120 dk gibi uzun sürelerde çözelti içerisinde bekletilmesi çok anlamlı sonuçlar vermemiştir. Artan etkileşim sürelerinde, PlzP(VP) bazlı karbon elektrotlardan alınan sinyallerinin aynı oranda artmadığı görülmektedir. Ancak 15. dakikadan sonra belirgin bir artış gözlenmiştir ama bu oran 30. dk ile 120. dk arasında ise ortalama % 6 oranında kalmıştır. Bu da, ilk 30 dakikada karbon elektrot yüzeyinde oluşturulan plazma polimer film ile gallik asit arasında gerekli etkileşimlerin gerçekleştiğini ve gallik asidin VP'nun plazma polimerizasyonu ile modifiye edilmiş yüzeye adsorplandığını ve artan etkileşim süresinde yüzeyde sadece birikim oluştuğunu göstermektedir. PlzP(VP) bazlı karbon elektrotlar ile ölçülen fenolik

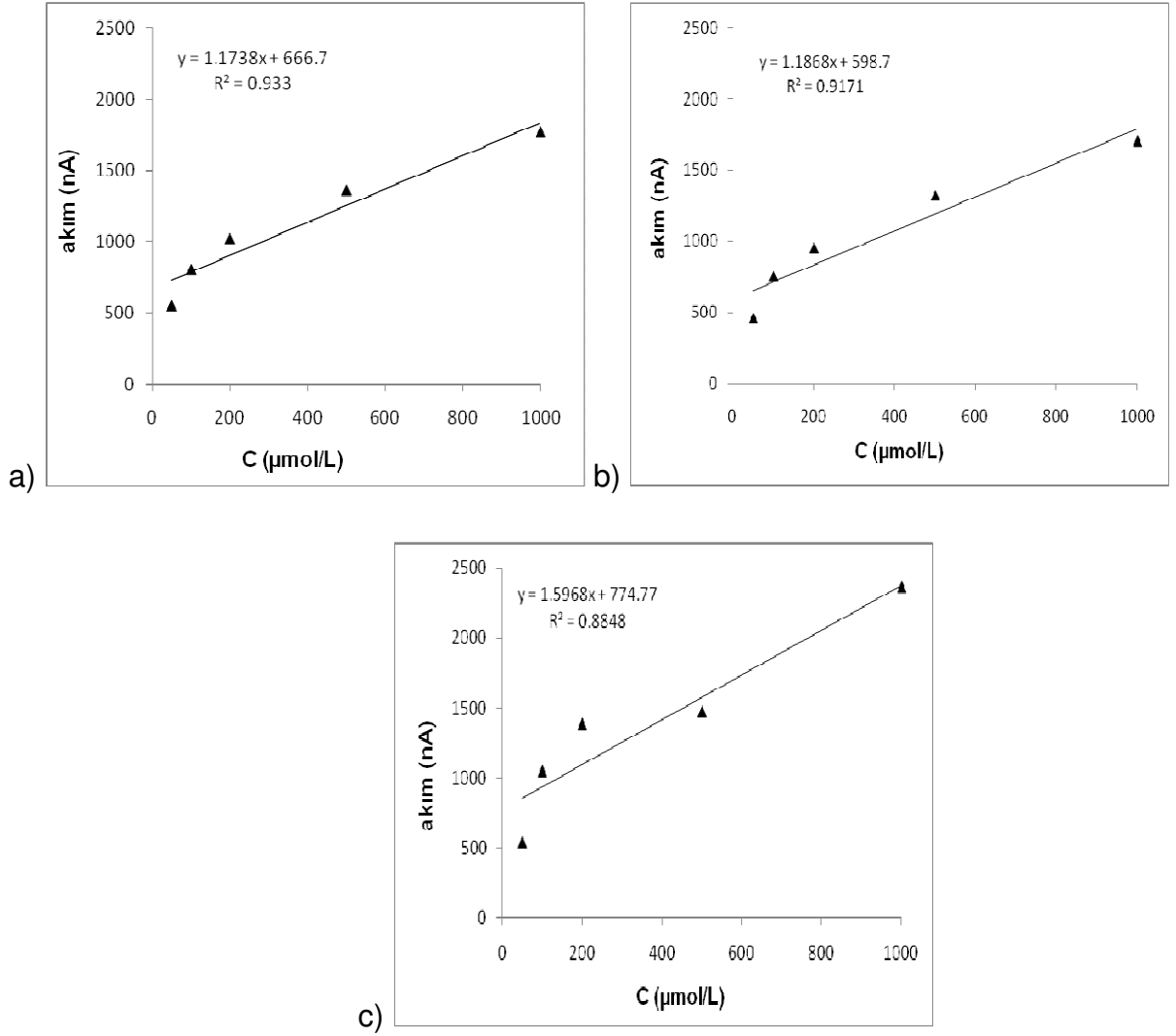
madde etkileşim süresinin arttırılması, sensör hassasiyetini olumlu olarak etkilemesine karşın, cevap süresindeki artış sensörün geliştirilmesi ve kullanım amacını sıkıntıya düşüreceğinden, etkileşim süresi için belirli bir limit değere karar verilmesi gerekmektedir.

Elde edilen veriler doğrultusunda, hazırlanan PlzP(VP) bazlı elektrokimyasal sensörden hem kısa sürede konsantrasyona bağlı bir cevap almak hem de etkileşim süresinin elde edilen elektrokimyasal sinyaller üzerinde etkisini görmek amacıyla, çalışma devamında uygulanacak PlzP(VP) bazlı karbon elektrotların fenolik madde ile etkileşim süresi 5 dk ve 30 dk olarak belirlenmiştir.

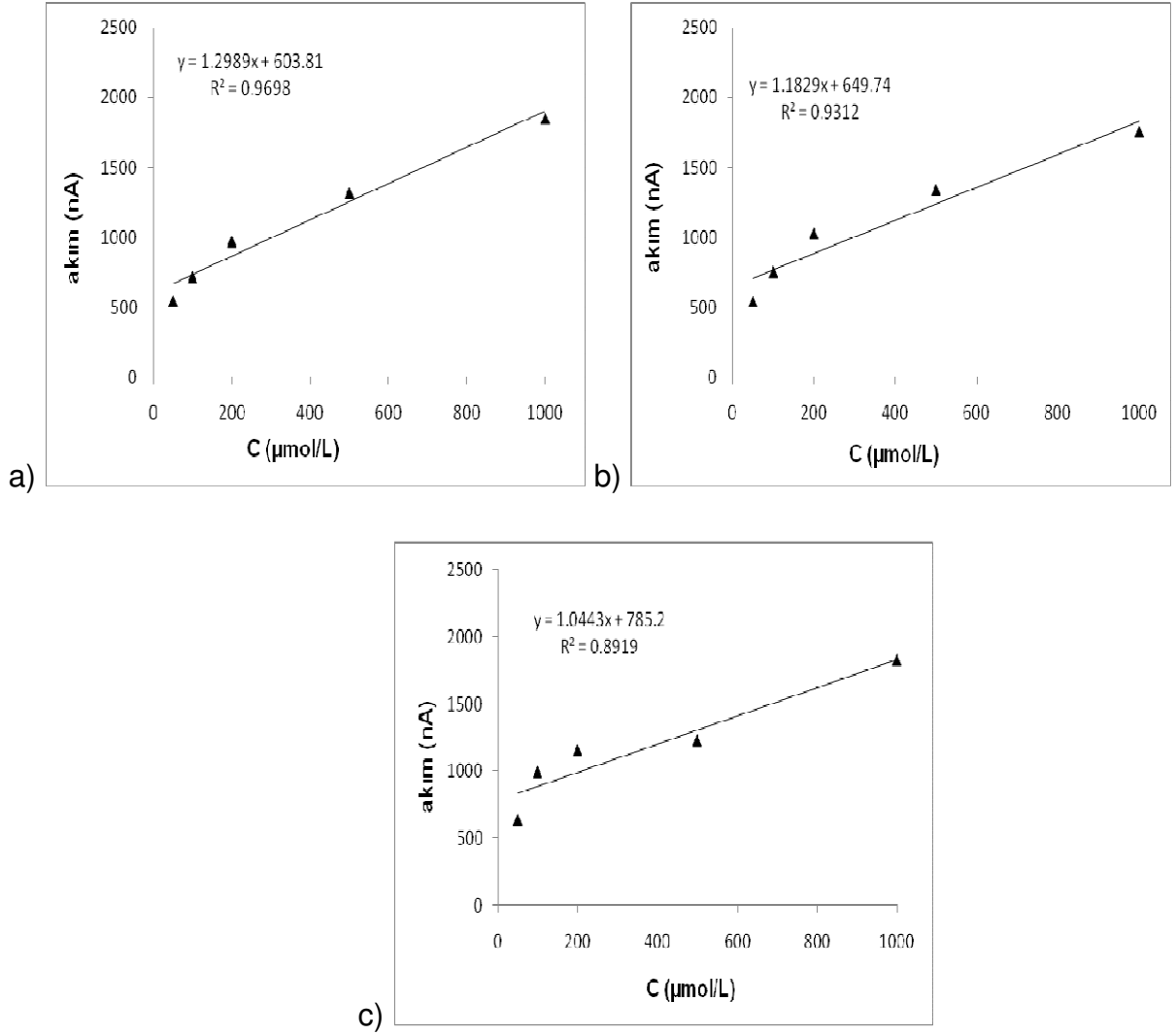
4.2.2. Elektrokimyasal sensörün kalibrasyonu

Fenolik madde tayinine yönelik hazırlanan PlzP(VP) bazlı elektrokimyasal sensörün performans çalışmaları, üç farklı plazma polimerizasyonu işlem parametresi ile hazırlanan karbon elektrotların, model fenolik madde olarak seçilen gallik asidin değişen konsantrasyonları ile iki farklı etkileşim süresi sonunda, gerçekleştirilen elektrokimyasal ölçümler sonucunda, elde edilen gallik asit yükseltgenme pik yüksekliklerinin değerlendirilmesiyle yürütülmüştür.

Bu veriler kullanılarak elde edilen kalibrasyon grafikleri aşağıda sunulmuştur (Şekil 4.7 ve Şekil 4.8).

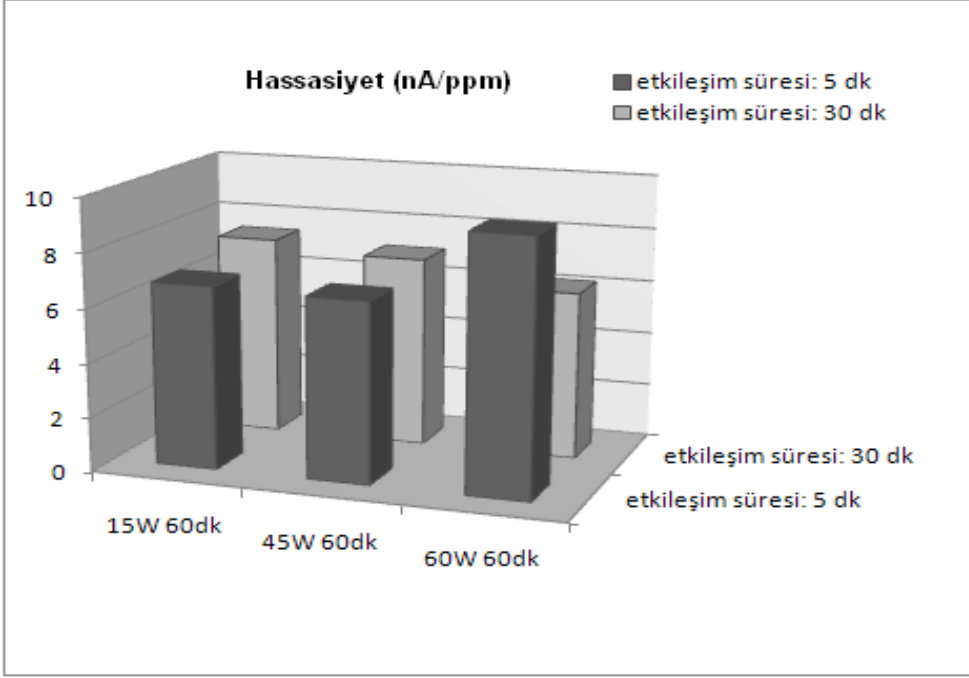


Şekil 4.7: Farklı plazma polimerizasyon işlem parametreleri ile hazırlanan elektrokimyasal sensörlerin kalibrasyon eğrileri (farklı konsantrasyonlardaki gallik asit çözeltileri ile etkileşim süresi 5dk) a) 15W 60dk ($R^2 = 0.9330$), b) 45W 60dk ($R^2 = 0.9171$) ve c) 60W 60dk ($R^2 = 0.8848$)



Şekil 4.8: Farklı plazma polimerizasyon işlem parametreleri ile hazırlanan elektrokimyasal sensörlerin kalibrasyon eğrileri (farklı konsantrasyonlardaki gallik asit çözeltileri ile etkileşim süresi 30dk) a) 15W 60dk ($R^2=0.9698$), b) 45W 60dk ($R^2=0.9312$) ve c) 60W 60dk ($R^2=0.8919$)

Bu kalibrasyon grafiklerinin değerlendirilmesi ile PlzP(VP) bazlı elektrokimyasal sensörlerin performans parametreleri belirlenmiştir. Sonuçlar, farklı plazma polimerizasyon işlem parametrelerine (boşalım gücü) ve gallik asit çözeltisi ile etkileşim süresine bağlı olarak sensörlerin performansının değiştiğini göstermektedir (Şekil 4.9 ve Çizelge 4.2).



Şekil 4.9: PlzP(VP) bazlı elektrokimyasal sensörlerin gallik asit ile farklı etkileşim sürelerinde gösterdikleri hassasiyet.

Çizelge 4.2: PlzP(VP) bazlı elektrokimyasal sensörlerin performans parametreleri

PlzP(VP) işlem parametresi	Etkileşim süresi (dk)	Hassasiyet (nA / mg L ⁻¹)	Doğrusal aralık (mg L ⁻¹)
15W 60dk	5	6.77	17-153
	30	7.41	17-170
45W 60dk	5	6.67	17-136
	30	7.04	17-153
60W 60dk	5	9.33	68-170
	30	6.19	68-170

İlk iki parametreye bakıldığında, plazma sisteminde uygulanan boşalım gücünün artması ile PlzP(VP) bazlı elektrokimyasal sensörün hassasiyeti azalmış ve doğrusal aralığı daralmıştır, ancak gallik asit ile etkileşim süresi arttırıldığında hassasiyetinin arttığı ve doğrusal aralığının da genişlediği görülmüştür. PlzP(VP) bazlı elektrokimyasal sensörün fenolik madde ile etkileşim süresi arttıkça, daha fazla miktarda fenolik maddenin yüzeyde daha homojen şekilde adsorplandığı düşünülmektedir ve elde edilen hassasiyet sonuçları bunu desteklemiştir.

Son parametrede ise, hazırlanan PlzP(VP) bazlı elektrokimyasal sensörün gallik asit ile etkileşim süresi arttığında hassasiyeti azalmıştır, ancak doğrusallık parametresinde değişiklik gözlenmemiştir. Plazma polimerizasyon yöntemi ile yüzeyde değişim gerçekleştiren sistemlerde, genel olarak boşalım gücünün artması ile birikim hızı artar ve sonra bir plato değerine ulaşır (Çökeliler, 2006). Ortamda bulunan moleküller, uyarılmış hale ulaştıklarında sistem dengeye ulaşınca kadar enerji alımına devam eder. Belli bir enerji seviyesinden sonra, ortamdaki hacim başına düşen molekül sayısı sabit ve alınan enerji sabit olduğundan, daha fazla yük boşalımı, polimer oluşumuna neden olamaz. Buradan, 60W 60dk plazma polimerizasyonu işlem parametresi ile hazırlanan karbon elektrot yüzeyinde de, boşalım gücünün artırılmasıyla yüzeyde oluşan polimer miktarının artmadığı sonucuna varılabilir. Bununla birlikte, plazma sisteminde daha fazla boşalım yükü uygulanarak, monomerin yapısında kırılması istenmeyen bağların da kırıldığı ve yüzeyde oluşturulması hedeflenen polimer yapısından uzaklaşıldığı sonucuna varılabilir.

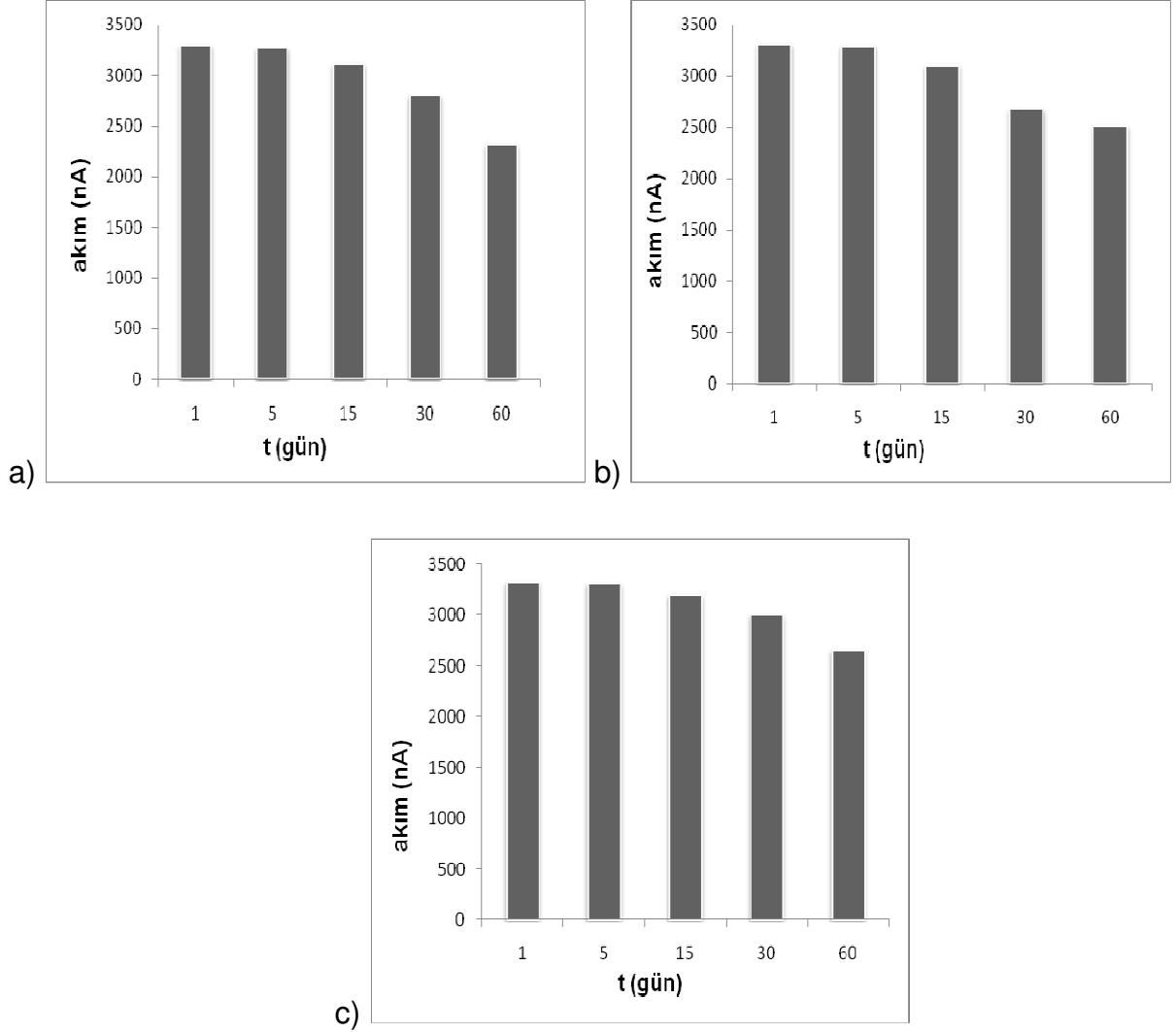
Sonuçlar ele alındığında, hazırlanan PlzP(VP) bazlı elektrokimyasal sensörler, karbon elektrot yüzeyinde adsorplanan fenolik madde konsantrasyonu ile doğrusal olarak değişen cevaplar vermektedirler. Ancak, çok düşük konsantrasyonlarda ve çok yüksek konsantrasyonlarda PlzP(VP) bazlı karbon elektrotlardan alınan elektrokimyasal cevaplar doğrusallıktan sapmaktadır. Hazırlanan elektrokimyasal sensörlerin kalibre edilmesi sonucu elde edilen doğrusal çalışma aralığı, bu çalışmanın sonunda da örnek olarak kullanılacak kırmızı şaraplarda bulunan fenolik

madde miktar aralığı ile orantılıdır. Bu nedenle, çalışmanın bu aşamasında hazırlanan elektrokimyasal sensörün, hassasiyetinin yüksek olması çok anlamlı değildir, çünkü miktar tayinine gidilecek fenolik maddeler, gıdalarda iz miktarda bulunan bileşikler değildir. Aksine daha doğru cevap alınması açısından, hazırlanan elektrokimyasal sensörün, daha geniş doğrusal aralıkta cevap vermesi birincil önem taşımaktadır. Bu durumda, en yüksek performansı sergileyen PlzP(VP) bazlı elektrokimyasal sensör, daha geniş doğrusal aralıkta cevap veren 15W 60dk işlem parametresiyle hazırlanan PlzP(VP) bazlı elektrokimyasal sensör olarak belirlenmiştir.

4.2.3. Elektrokimyasal sensörün raf ömrü

Fenolik madde tayinine yönelik hazırlanan PlzP(VP) bazlı elektrokimyasal sensörün raf ömrü çalışmaları 60 gün süresince sürdürülmüştür. Bir sensörün raf ömrü, performansını belirli bir zaman periyodunda koruyarak çalışabileceği zaman uzunluğu olarak tanımlanmıştır. Raf ömrünün uzun olması hazırlanan sensörün stabilitesini belirli bir zaman periyodunda koruyabildiğini gösterir.

Plazma polimerizasyon işleminden sonra örnek tüplerinde saklanan karbon elektrotların DPV yöntemi kullanarak gerçekleştirilen elektrokimyasal ölçümleri, hazırlanan PlzP(VP) bazlı elektrokimyasal sensörün raf ömrünü belirlemek amacıyla 1., 5., 15., 30. ve 60. günlerde gerçekleştirilmiştir. Her elektrot, belirlenen günlerde, karanlık ortamda 0.1M GA çözeltisi ile 30dk etkileştirilmiş ve sonrasında DPV ölçümleri gerçekleştirilmiştir (Bölüm 3.2.2). Raf ömrü süresince PlzP(VP) bazlı karbon elektrotların elde edilen diferansiyel puls voltamogramlarında gözlenen gallik asit yükseltgenme sinyalleri Şekil 4.10'da sunulmuştur.



Şekil 4.10. Hazırlanan elektrokimyasal sensörün raf ömrü süresince 0.1M galik asit çözeltisi ile 30 dk etkileşimleri sonucu alınan galik asit yükseltgenme sinyalleri a)15W 60dk, b) 45W 60dk ve c)60W 60dk.

PlzP(VP) bazlı elektrokimyasal sensörlerin raf ömrü, hazırlanmasından itibaren takip eden 60 gün süresince belli aralıklarda elektrokimyasal ölçümler ile test edilmiştir. Şekil 4.10'da, hazırlanan PlzP(VP) bazlı karbon elektrotların 0.1M galik asit ile 30 dk etkileşim sonunda alınan galik asit yükseltgenme sinyalleri doğrultusunda, karbon elektrot yüzeyinde plazma polimerizasyon tekniği ile oluşturulan polimer filmin 60 gün boyunca stabil kaldığı söylenemez. PlzP(VP) bazlı karbon elektrotlardan alınan sinyallerde 1. günden 60. güne kadar sırasıyla toplam %30, %24 ve %20 oranlarında

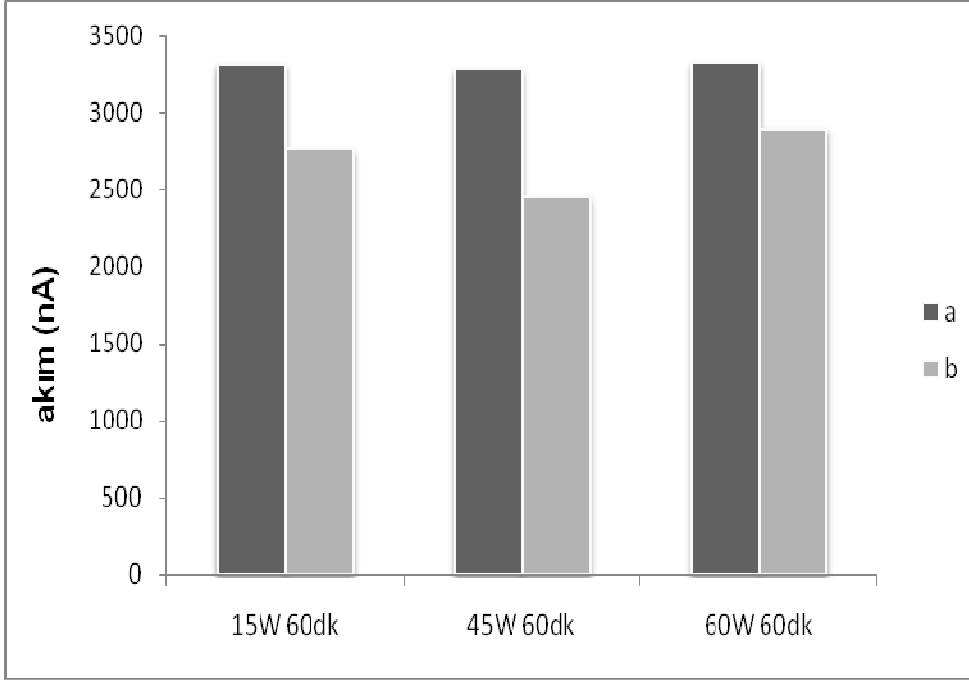
belirgin bir düşüş gözlenmiştir. Sonuçlar, farklı plazma polimerizasyon işlem parametrelerine (boşalım gücü) bağlı olarak elektrotların kararlılığının değiştiğini göstermektedir. Sonuç olarak plazma polimerizasyonu tekniğinde uygulanan boşalım gücü arttıkça, yüzeyde oluşturulan polimer filmin elektrokimyasal davranışının daha az değiştiği, başka bir deyişle stabilitesini koruduğu söylenebilir. Grubumuzda daha önce yapılan çalışmalarda, plazma sisteminde uygulanan boşalım gücünün artması ile yüzeyde daha kalın ve daha stabil bir kaplama gerçekleştiği ortaya konması (Çökeliler, 2006), elde edilen sonuçları desteklemiştir.

PlzP(VP) bazlı karbon elektrotların elektrokimyasal ölçümleri sonrasında elde edilen yükseltgenme sinyali büyüklüklerine bakıldığında, hazırlanan karbon elektrotların, kullanılmadan önce kalibre edilmesi ile 60 güne kadar saklanabileceği sonucuna varılabilir.

4.2.4. Elektrokimyasal sensörün tekrar kullanılabilirliği

Çalışma boyunca hazırlanan ve kalibrasyon doğruları elde edilen elektrokimyasal sensörlerin tekrar kullanımları test edilmiştir.

Daha önceki çalışmalarda, PVP ile modifiye edilmiş membran yüzeyinde adsorplanan fenolik maddenin 0.1M NaOH ile muamele sonunda yüzeyden ayrıldığı belirtilmiştir. (Borneman, Gökmen and Nijhuis, 2001). Çalışma boyunca hazırlanan PlzP(VP) bazlı karbon elektrotlar, önce 0.1M gallik asit çözeltisi ile 30 dk. etkileştirilmiş ve sonrasında DPV yöntemi ile elektrokimyasal ölçümleri alınmıştır. Aynı PlzP(VP) bazlı karbon elektrot, 0.1M NaOH çözeltisinde 30 dk. süre ile yıkanmış, tekrar aynı koşullarda gallik asit ile etkileştirilmiş ve sonrasında elektrokimyasal ölçüm alınmıştır. Bu yol izlenerek PlzP(VP) bazlı karbon elektrotların, NaOH uygulamadan önce ve sonrasında gerçekleştirilen elektrokimyasal ölçümlerinde gözlenen gallik asit yükseltgenme sinyalleri Şekil 4.11'de sunulmuştur.



Şekil 4.11: Hazırlanan PlzP(VP) bazlı karbon elektrotların 0.1M gallik asit çözeltisi ile 30 dk. etkileştirilmesinden sonra elde edilen gallik asit yükseltgenme sinyalleri a) ilk kullanımda ve b) 30dk 0.1M NaOH uygulamasından sonra

PlzP(VP) bazlı karbon elektrot yüzeylerinde ilk kullanımdan sonra adsorplanan fenolik maddeleri uzaklaştırmak için NaOH uygulanmış ve sonrasında ikinci kez kullanımında elde edilen gallik asit yükseltgenme sinyalinde ortalama % 18 lik bir düşüş tespit edilmiştir. NaOH uygulamasıyla, yüzeyde adsorplanan fenoliklerin uzaklaştırıldığı ve bu yüzeye tekrar fenolik madde adsorplanabildiği görülmüştür. Ancak, elektrokimyasal ölçümler sonrasında, elektrot yüzeyinin aşındığı ve yüzeydeki polimer filmin stabilitesini korumadığı düşünüldüğünden, karbon elektrotların tekrar kullanımda performanslarının düştüğü gözlenmiştir. Ayrıca karbon elektrodun ve modifikasyon için uygulanan plazma polimerizasyonu tekniğinin getirdiği maliyetin düşük olmasından dolayı karbon elektrotların bir kere kullanılmasının uygun olacağına karar verilmiştir.

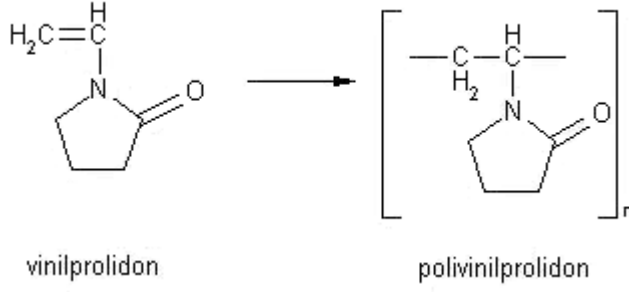
4.3. PlzP(VP) Bazlı Karbon Elektrodun Yüzey karakterizasyonu

Sunulan çalışmanın daha önceki aşamalarında plazma polimerizasyon tekniği ile farklı işlem parametreleri kullanılarak hazırlanan ve kalibre edilerek raf ömrü, tekrar kullanılabilirlik, hassasiyet, doğrusal aralık gibi performans parametreleri belirlenen PlzP(VP) bazlı elektrokimyasal sensörlerden, elimizdeki imkanların kısıtlı olması nedeniyle sadece optimum performansı gösterdiği düşünülen elektrodun yüzey karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışmanın temeli, karbon elektrot yüzeyini plazma polimerizasyon yöntemi ile modifiye ederek, yüzeye fenolik madde adsorplama özelliği kazandırmak ve sonrasında adsorplanan fenolik madde miktarını, karbon elektrotların elektrokimyasal ölçümleri ile elde edilen diferansiyel puls voltamogramlarında gözlenen yükseltgenme sinyallerinin, yüksekliği konsantrasyonla doğru orantılı olan pikleri ile saptamaktır. Polivinilprolidon (PVP) polimerinin hem iletken özelliği, hem de fenolik bileşiklere karşı güçlü bir adsorpsiyon karakteri gösterdiği bilinmektedir. Bunun için de, yüzey modifikasyonunda hedeflenen, vinilprolidon monomerini plazma ortamında polimerleştirerek, yüzeyde PlzP-PVP film oluşturmaktır. Böylece, yüzeyde adsorplanan fenolik madde konsantrasyonu, elde edilen DPV yükseltgenme sinyallerinin yüksekliği konsantrasyonla doğru orantılı olan pikleri ile saptanacaktır.

Plazma polimerizasyonunda özellikleri değiştirilecek materyal yüzeyinde oluşan polimerin kimyasal yapısı, birikim miktarı (kalınlığı) ve bunların homojenitesini etkileyen birçok parametre vardır. Ayrıca, plazma polimerizasyonu tekniğinde kullanılan monomerlerin kolaylıkla polimerize olabilen çift bağlar gibi reaktif fonksiyonel gruplara sahip olmaları gerekir. Plazma etching ve plazma polimerizasyonu arasındaki denge boşalım parametreleriyle kontrol edilebilmektedir (Flosch et al., 1992).

Plazma polimerizasyonu tekniğinde kullanılan monomerin molekül yapısı ile bu moleküldeki bağ enerjileri ve bağ uzunlukları aşağıda sunulmuştur (Şekil 4.12 ve Çizelge 4.3).



Şekil 4.12: Vinilprolidon monomerinin molekül yapısı

Çizelge 4.3: Vinilprolidon molekülü bağ enerjileri ve bağ uzunlukları

Bağ	Bağ Enerjisi (kJ/mol)	Bağ uzunluğu (r) (pm)
C-H	411	109
C-N	305	147
C-C	346	154
C=C	602	134
C=O	799	120

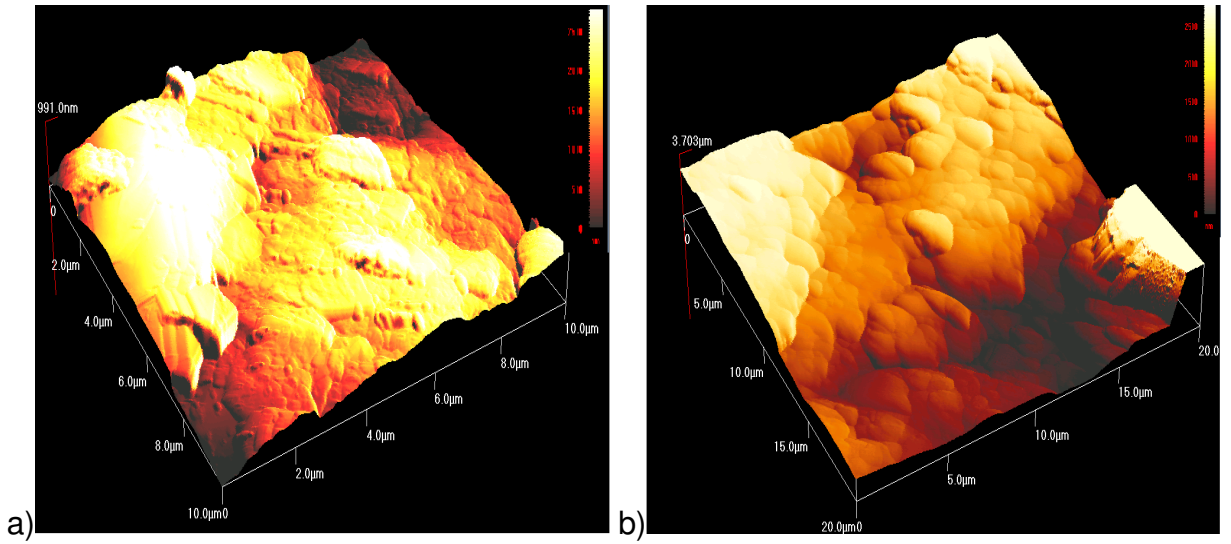
Polivinilprolidon polimeri, VP molekülündeki C=C çift bağı kırılması sonucunda çok sayıda VP molekülün yan yana gelmesi ile oluşur. VP molekülünün yapısındaki bağların enerjilerine bakıldığında, prolidon halkasındaki C-N ve C-C bağların enerjilerinin daha düşük olduğu görülmektedir, ancak halka yapının temelini oluşturan, C-N ve C-C bağlarının kırılması sterik engellerden ve siklik yapıdan dolayı halka dışındaki bağlara göre daha zordur. Molekülde, kolaylıkla polimerize olan reaktif bir C=C bağı bulunmakta ve yüzeyde PVP polimeri yapısı oluşması için bu bağı kırılması gerekmektedir. PlzP(VP) ile yüzeyin modifikasyonunda hedef, PVP yapısına en yakın polimer yapısını elde etmek olduğundan, genel molekül yapısını bozmadan sadece çift bağı kırılması istendiğinden, plazma polimerizasyonu tekniğinde düşük boşalım gücü ve daha uzun boşalım süresi tercih edilmiştir. Nitekim hazırlanan sensörlerin performansı bu tercihi desteklemiştir.

En yüksek performansı gösteren, 15W 60dk PlzP işlem parametresi ile hazırlanan karbon elektrot yüzeyinde meydana gelen fiziksel değişim atomik kuvvet mikroskopu

(AKM) ve kimyasal değişimler Raman Spektroskopisi (RS) ve Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FTIR) ile karakterize edilmiştir.

4.3.1. Atomik kuvvet mikroskobu (AKM) analizi

Plazma polimerizasyon tekniği ile VP monomeri kullanılarak hazırlanan karbon elektrotların, yüzey modifikasyonu öncesi ve sonrasında elde edilen PlzP(VP) tabakasının yüzey topografyasının incelenmesi amacıyla çekilen AKM (Atomik Kuvvet Mikroskobu) görüntüleri aşağıda verilmiştir.



Şekil 4.13: Karbon elektrot yüzeylerinin 3 boyutlu AKM görüntüleri (a) işlem görmemiş karbon elektrot yüzey morfolojisi (b) PlzP(VP) bazlı karbon elektrot yüzey morfolojisi

İşlem görmemiş karbon elektrodun yüzey kalınlığı 992.3 nm iken, VP monomeri ile yapılan kaplama sonrası yüzey kalınlığının 3.703 μm olduğu görülmektedir. Ayrıca, işlem görmemiş karbon elektrodun pürüzlülük değeri 133 nm iken, plazma polimerizasyon tekniği ile kaplama sonrasında, yüzeyin pürüzlülük değeri 647 nm olarak gözlenmiştir.

Plazma polimerizasyon tekniği ile kaplama sonrası, karbon elektrot yüzeyinin fiziksel özelliğinin bu şekilde değişmesi bir durumdur ve plazma polimerizasyon tekniği ile polimerleştirilmiş bir kaplama yapıldığını kanıtlamaktadır. Ayrıca, PlzP(VP) bazlı

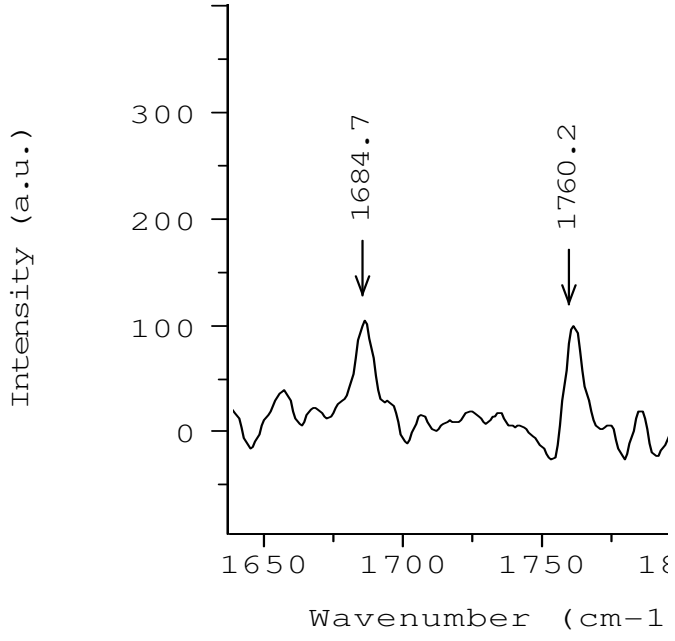
karbon elektrot yüzeyinde fenolik maddelerin adsorplanacağı yüzey alanının artması bir başka deyişle pürüzlülüğün artması istenilen bir durumdur. Plazma polimerizasyon sonrası, karbon elektrotların elektrokimyasal sinyallerinde düşüş gözlenmesinin yanı sıra fiziksel topolojideki bu değişiklik PlzP-film oluşturulduğunu kanıtlamaktadır.

4.3.2. Raman spektroskopisi analizi

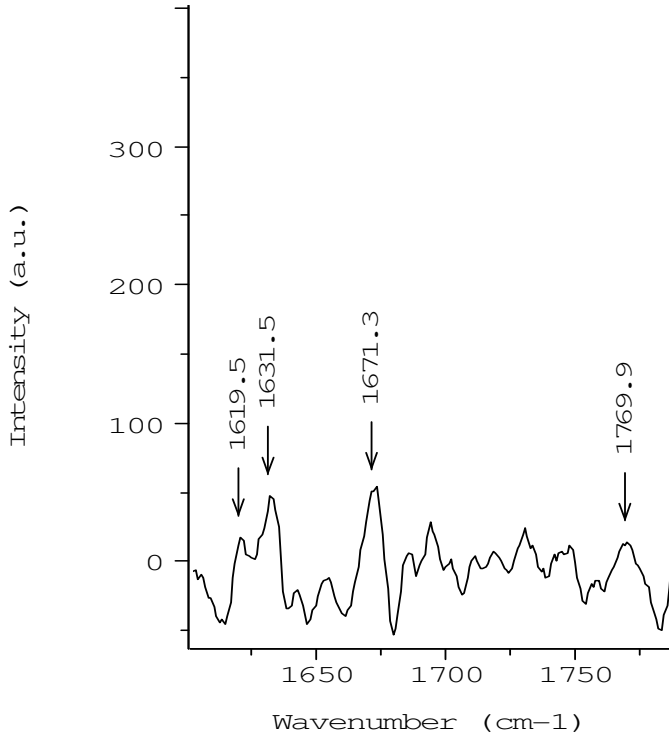
Sırasıyla, grafit, VP emdirilmiş grafit ve plazma ortamında polimerleştirilmiş grafit-PVP yapılarının Raman Spektrometresinde ayrıntılı değerlendirmeleri gerçekleştirilmiştir.

Grafit yapıda bulunan temel C-C zincir gerilme titreşimleri oldukça geniş bir spektral aralıkta rahatlıkla görölmektedir. Ancak burada üzerinde durulması gereken iki önemli nokta, 1) grafit üzerindeki monomerin spektral karakterizasyonu ve 2) plazma ortamında polimerleşmiş olan yapının karakterizasyonudur. Hem monomer hem de polimer yapıda bulunan grupların spektral karakterizasyonunda çok temel farklılıklar görölmemiştir. Söz gelimi $450-700\text{ cm}^{-1}$ dalga sayısı aralığında küçük frekans kaymaları olmakla birlikte VP ve PVP yapılarda görölmektedir. Daha yüksek dalga sayılarında C-N-C gerilme titreşimleri ($850-900\text{ cm}^{-1}$, iki ayrı band), C-N düzlem içi titreşimleri ve 900 cm^{-1} 'in üstünde aromatik halka titreşimleri görölmektedir.

Monomer ve polimerin spektral farklılıkları en açık görölebilen aralık $1600-1800\text{ cm}^{-1}$ dalga sayısı aralığıdır. Bilindiği gibi, bu aralık çifte bağ gerilme titreşimlerinin gözlendiği bir bölgedir. Monomerde bulunan C=C gerilme titreşimi 1760 cm^{-1} 'de (Şekil 4.14) açık bir şekilde görölürken, polimerde 1770 cm^{-1} 'deki band şiddetinde belirgin bir azalış dikkat çekmektedir (Şekil 4.15). Bu davranışı, monomerdeki çifte bağların kırılması ya da daha net bir ifade ile polimerleşmenin gerçekleşmesi olarak değerlendirilebilir. Laktam halkasında bulunan C=O yapının gerilme titreşimi, monomerde 1685 cm^{-1} 'de görölürken (Şekil 4.14), polimerde 1632 cm^{-1} ve 1672 cm^{-1} de (Şekil 4.15) iki C=O gerilme bandı görölebilmektedir.



Şekil 4.14. N-vinil-2-prolidon monomeri emdirilmiş karbon elektrodun Raman spektrumu (60 dk)



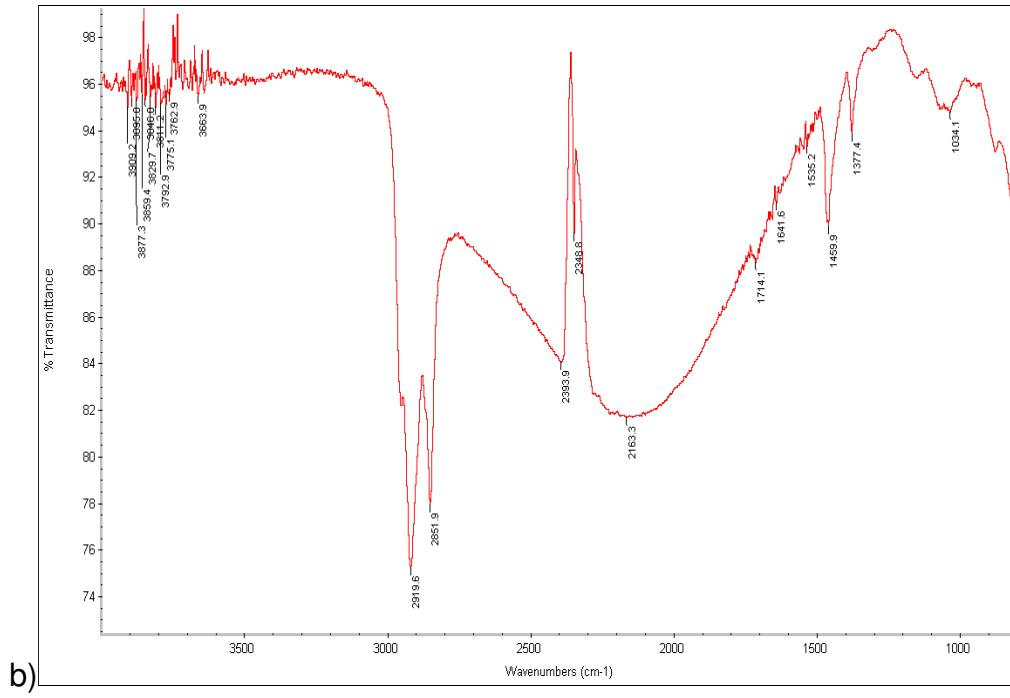
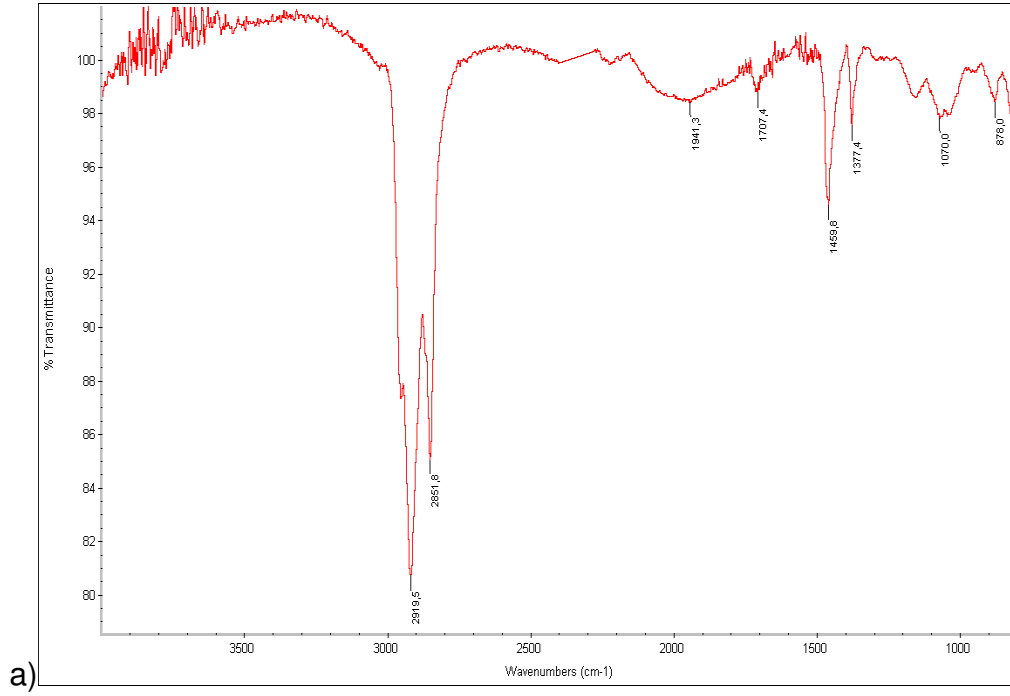
Şekil 4.15. PlzP(VP) bazlı karbon elektrodun Raman spektrumu (PlzP(VP) polimerizasyon işlem parametresi: 15W 60dk)

Karbonil grubunun su adsorpsiyonu ile gerilme titreşiminin azalacağı ve yüksek frekanstan düşük değerlere kayabileceği dikkate alınmalıdır. Farklı çalışmalarda spektral değerlendirmelere bakıldığında bu kaymalar 1680 cm^{-1} 'den 1650 cm^{-1} 'ye kadar olabilmektedir (Borodko ve diğ., 2006; Taylor ve diğ., 2001). Qui ve çalışma grubu ise prolidon halkasındaki C=O gerilme titreşimini 1633 cm^{-1} olarak değerlendirmekte (Qui ve diğ., 2008) ve Bianco ve çalışma grubunun spektral değerlendirmeleriyle uyum göstermektedir (Bianco ve diğ., 2003). Szaraz ve Forsling (2000) ise Raman değerlendirmelerinde VP monomerinin C=O gerilme titreşimlerini 1694 cm^{-1} , polimerin ise 1670 cm^{-1} olarak öngörmektedir. Kuşkusuz, nem varlığında etkileşmeye giren ve girmeyen karbonil gruplarının farklı spektral davranış göstermesi ve hatta C=O/H₂O etkileşmelerini 1:1, 1:2 tipinde olabileceği dahi spektral farklılıklar getirebilir. Polimerin Raman spektrumunun değerlendirilmesinde, 1672 cm^{-1} 'de serbest karbonil gerilme, 1632 cm^{-1} 'de ise hidrojen bağlı karbonil gerilme titreşimlerinin olabileceği, 1620 cm^{-1} 'deki pikinde 1:2 tipi bir kompleks oluşumunun sonucu olarak görülebileceği düşünülmektedir.

4.3.3. Fourier transform kızılötesi spektroskopisi (FTIR) analizi

Plazma polimerizasyon tekniği ile yüzeyi VP monomeri kullanılarak kaplanan karbon elektrodun modifikasyon öncesi ve sonrasında yapıdaki kimyasal değişimleri incelemek amacıyla FTIR analizleri gerçekleştirilmiştir.

Şekil 4.16'de işlem görmemiş karbon elektrot ve PlzP(VP) bazlı karbon elektrodun FTIR spektrumları sunulmuştur.



Şekil 4.16: Karbon elektrot yüzeylerine ait FTIR spektrumları a) işlem görmemiş karbon elektrot b) PlzP(VP) bazlı karbon elektrot

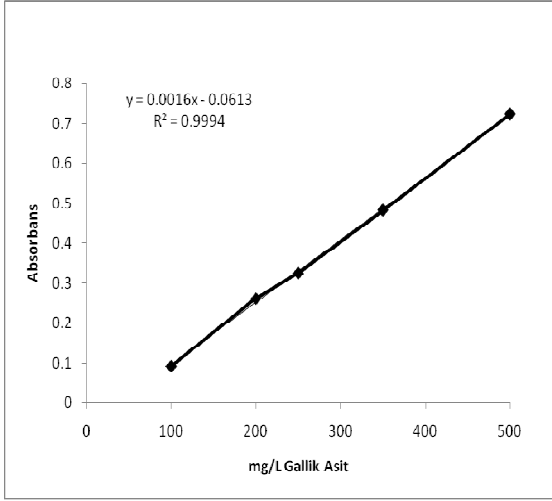
Karbon elektrodun modifikasyon öncesi ve sonrası FTIR spektrumları incelendiğinde, hazırlanan PlzP(VP) bazlı karbon elektrotta 3800-3500 cm^{-1} dalga boylarında görülen N-H gerilme bağlarına ait piklerin VP yapısından kaynaklı olduğu düşünülmektedir. 1714 cm^{-1} ve 1642 cm^{-1} dalga boylarında VP molekülüne ait olduğu düşünülen C=O grupları görülmektedir. 1349 cm^{-1} dalga boyunda görülen ters pikin, yapıya su girmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca, işlem görmemiş ve PlzP(VP) ile kaplanmış karbon elektrotlara ait spektrumlar birlikte ele alındığında, 2920 cm^{-1} ve 2852 cm^{-1} ile 1460 cm^{-1} ve 1377 cm^{-1} dalga boylarında görülen C-H bağlarının 2 ayrı bant halinde gözlenen piklerinin şiddetindeki azalma, karbon elektrot yüzeyinde bir kaplama gerçekleştirildiğini doğrular niteliktedir (Yıldız, 1997; Liu et al., 2005).

Sonuç olarak, Raman spektrumları ile yüzeyinde VP molekülünün polimerleştiği gözlenen karbon elektrodun, FTIR spektrumlarında gözlenen kimyasal bağlar yüzeyde plazma polimerizasyon tekniği ile oluşturulan polimer filmin yapısını doğrular niteliktedir.

4.4. Kırmızı Şarap Örneklerinde Fenolik Madde Tayini

Hazırlanan PlzP(VP) bazlı elektrokimyasal sensörlerden en iyi performansı gösteren 15W 60dk plazma polimerizasyon işlem parametresiyle hazırlanan sensör (PlzP(VP)-15W 60 dk), 4 çeşit kırmızı şarap örneğinde test edilmiştir.

İlk olarak, kırmızı şarap örneklerinde toplam fenolik madde miktarı, yaygın olarak kullanılan Folin Ciocalteau (FC) yöntemiyle spektrofotometrik olarak belirlenmiştir (Waterhouse, 2001). Toplam fenolik madde tayini analizinde, örneklerin toplam fenolik madde miktarı gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak verilmiştir. Bu amaçla öncelikle gallik asit kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Gallik asitin etanolik çözeltisi hazırlanmış ve kalibrasyon eğrisinin çizilmesinde 100-500 mg/L konsantrasyon aralığındaki gallik asit çözeltisi kullanılmıştır. Gallik asit kalibrasyon eğrisi Şekil 4.17'de gösterilmiştir.



Şekil 4.17: Gallik asit kalibrasyon eğrisi

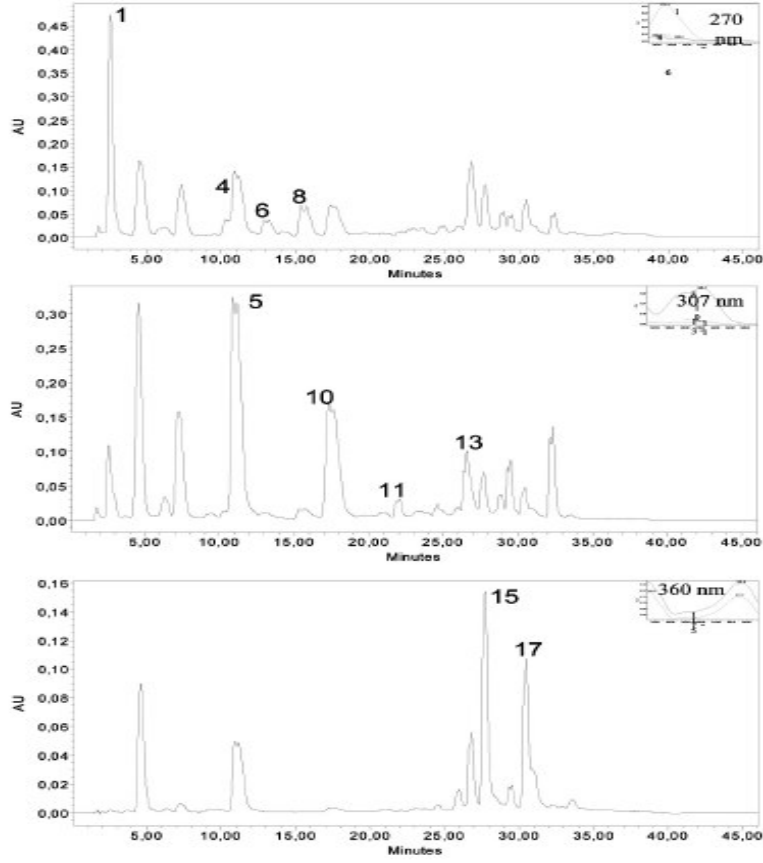
Gallik asit kalibrasyon eğrisi çizildikten sonra kırmızı şarap örnekleri 1/5 seyreltilerek konsantrasyonlarının absorbansı bu kalibrasyon eğrisinin doğrusal aralığında okunacak değerlere getirilmiştir. Toplam fenolik madde miktarı gallik asit kalibrasyon denkleminde yararlanılarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.4). 3 paralel tekrar yapılmış ve ortalama alınmıştır.

Çizelge 4.4: Kırmızı şarap örneklerinde FC metodu ile saptanan toplam fenolik madde miktarı

Örnek	Miktar (mg GA/L)
Öküzgözü	1688
Boğazkere	1825
Syrah	1494
Cabernet-Sauvignon	1489

Kırmızı şarap çeşitlerinde toplam fenolik madde miktarı 1000-4000 mg/L (GAE) arasında değişmektedir (Minussi ve diğ., 2003; Paixao ve diğ., 2008). Fenolik madde

miktarının bu kadar geniş bir aralıkta seyretmesinin başlıca nedenleri olarak, üzüm çeşidi, üzümün yetiştirildiği bölge ve toprak özellikleri ve gerçekleştirilen tarımsal faaliyetler, üzümlerin şaraba işlenmesi sırasında kullanılan yöntemler ve uygulanan sıcaklık-süre normları sıralanabilir (Shahidi and Naczki 1995). Yapılan çalışmalarda, kırmızı şarap çeşitlerinde saptanan başlıca fenolik bileşikler, gallik asit, vanilik asit, kafeik asit, şirincik asit, kateşin, epikateşin, ferulik asit, trans-resveratrol, p-kumarik asit, sinamik asit, kuersetindir (Simonetti, 1997; Minussi et al., 2003; Kelebek et al., 2005; Paixao et al., 2008; Ünsal, 2007). Kırmızı şaraplarda bulunan fenolik bileşiklerin içinde genel olarak kütle bazında en fazla bulunan ise gallik asittir (Kerry and Abbey, 1997; Simonetti, 1997). Şekil 4. 18'de toplam fenolik madde miktarı, çalışmada incelenen kırmızı şarap örneklerinde elde edilen değerlere yakın olan bir kırmızı şarap örneğinin ters fazlı yüksek basınç sıvı kromatografisinde (RP-HPLC) farklı dalga boylarındaki kromatogramları sunulmuştur (Paixao et al., 2008). İncelenen kırmızı şarap örneğinin içerdiği fenolik madde miktarları Çizelge 4.5 'de sunulmuştur (Paixao et al., 2008).



Şekil 4.18: Kırmızı şarap örneğinin RP-HPLC'de farklı dalga boylarında elde edilen kromatogramları. Pik tanımlamaları: 270 nm: (1) gallik asit, (4) vanilik asit, (6) şirincik asit, (8) (-)-epikateşin; 307 nm: (5) kafeik asit, (10) p- kumarik asit, (11) ferulik asit, (13) trans-resveratrol; 360 nm: (15) mirsetin, (17) kuersetin

Çizelge 4.5: Kırmızı şarap örneğinde saptanan fenolik madde miktarları

Fenolik bileşik	Miktar (mg/L)
Gallik asit	347.49±9.60
Vanilik asit	20.20±0.27
Kafeik asit	145.61±7.13
Şirincik asit	27.67±1.61
(-)-Epikateşin	85.57±2.58
p-kumarik asit	61.17±3.27

Ferulik asit	1.97±0.04
Trans- resreveratrol	6.42±0.14
Mirsetin	49.12±1.47
Sinamik asit	7.74±0.45
Kuersetin	61.41±1.22
Toplam fenolik madde miktarı	1544±3.7 (GAE)

Fenolik bileşiklerin elektrokimyasal yöntemlerle analizlerinde, çalışma pH aralığı ve bu aralıklardaki standart oksidasyon potansiyelleri belirlenmiştir (Romani et al, 2000; Blasco et al., 2004). Bazı fenolik bileşiklerin oksidasyon potansiyelleri Çizelge 4.6' da sunulmuştur.

Çizelge 4.6: Fenolik bileşiklerin oksidasyon potansiyelleri

Fenolik bileşik	pH aralığı	Oksidasyon potansiyeli (V)
Gallik asit	2.0-7.0	0.450
Kafeik asit	2.0-7.0	0.460
Kateşin	2.0-8.5	0.810
Rutin	2.0-8.5	0.220/1.10
Kuersetin	2.0-7.0	0.550
Sinamik asit	2.0-7.0	0.620

Şarapların pH değerleri 2,8-4,0 arasında değişebilir (Clarke 2004). Şarabın pH değerinin 3,5'dan yüksek olması istenmez bunun nedeni; şarabın pH'sı yükseldikçe

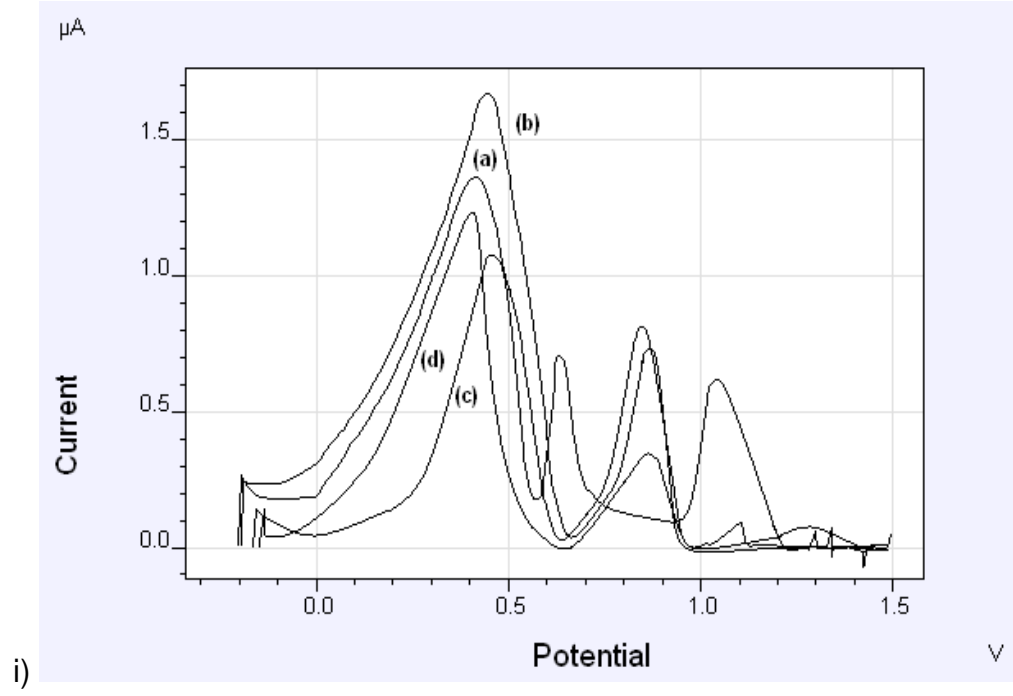
şarap; oksidasyon reaksiyonlarına, istenmeyen renk değişimlerine, protein kararsızlığına ve bakteriyel fermentasyona daha yatkın hale gelmesidir (Ruffner 1982, Esteman et al. 1999). Çalışmada kullanılan şarapların pH değerleri 3.16-3.72 arasında (ortalama 3.42) bulunmuştur. Bu nedenle, PlzP(VP) bazlı karbon elektrot yüzeylerinde plazma polimer filmin olası pH değişimi ile bozulmasını önlemek için tüm DPV ölçümleri, pH 3.0 tamponunda gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, saptanması hedeflenen gallik asidin oksidasyon pikleri de bu pH değerinde gözlenebilmektedir. Ancak, kırmızı şarap örneklerinde farklı pH değerlerinde fenolik maddelerin oksidasyon potansiyeli ve pik yüksekliklerini gözlemlemek amacıyla, kırmızı şarap örneklerinde pH 6.5 ortamında da elektrokimyasal sensör ile DPV ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

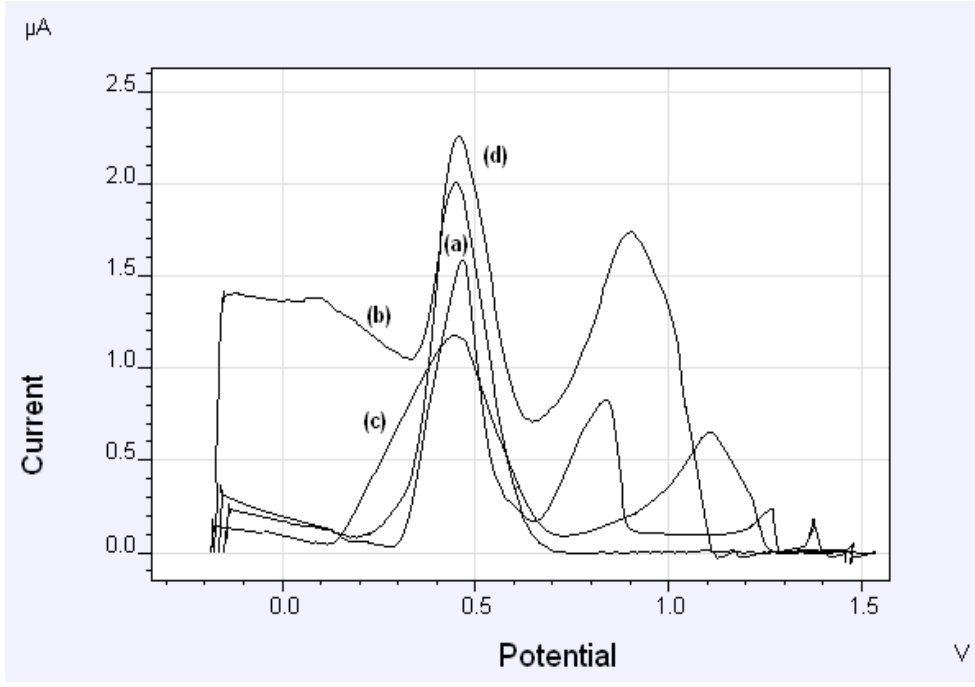
Dört farklı kırmızı şarap örneğinde en yüksek performansı sergileyen elektrokimyasal sensör (PlzP(VP)-15W 60dk) test edilmiştir. Bu sensöre ait kalibrasyon doğruları Şekil 4.7. ve 4.8'de verilmişti. Kırmızı şarap örneklerindeki gallik asit miktarı, kalibrasyon denklemlerinden yararlanılarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.7)

Çizelge 4.7: Kırmızı şarap örneklerinde PlzP(VP) bazlı elektrokimyasal sensör ile saptanan gallik asit miktarları

Örnek	Miktar (mg GA/L) (Elektrodun örnek ile etkileşim süresi 5 dk)	Miktar (mg GA/L) (Elektrodun örnek ile etkileşim süresi 30 dk)
Öküzgözü	124	123
Boğazkere	150	184
Syrah	56	93
Cabernet- Sauvignon	80	110

Hazırlanan PlzP(VP) bazlı elektrokimyasal sensörün kırmızı şarap örnekleri ile farklı sürelerde etkileşimi sonucu elde edilen diferansiyel puls voltamogramları Şekil 4.19' da sunulmuştur.

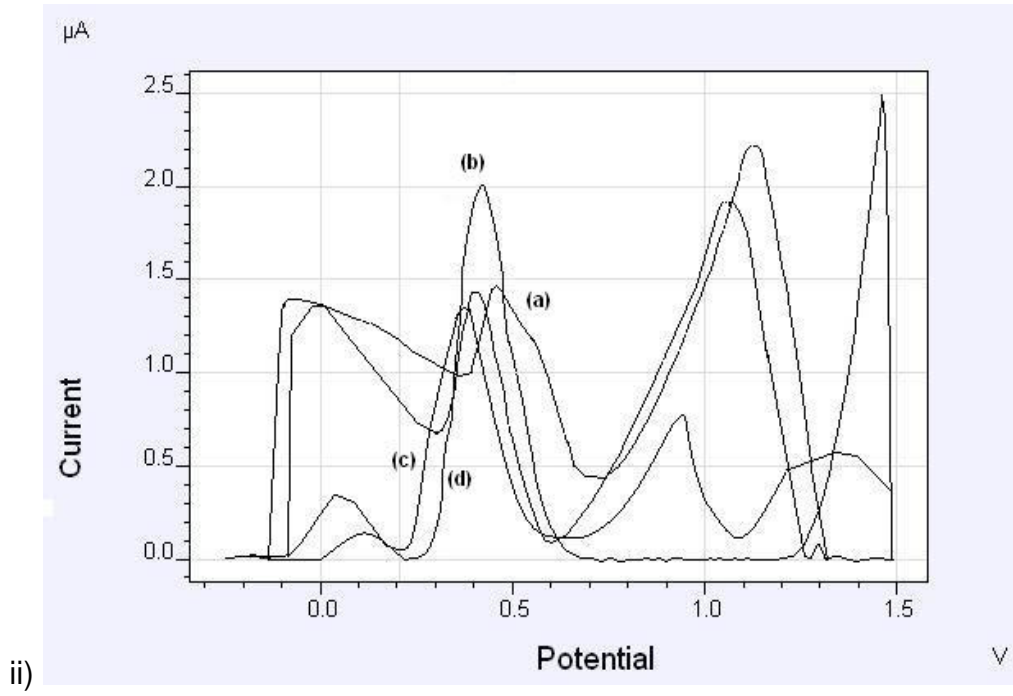
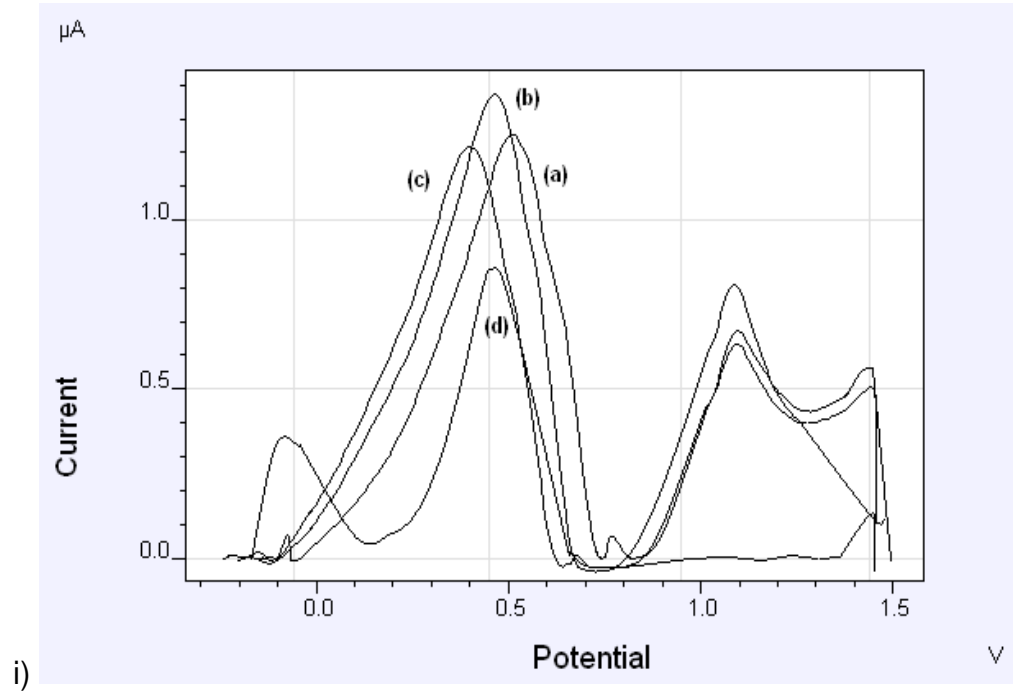




ii) Şekil 4.19: PtZP(VP)-15W 60dk karbon elektrotların kırmızı şarap örnekleri ile farklı etkileşim sürelerinde elde edilen voltamogramları. Ortam pH 3.0; i) 5 dk ve ii) 30 dk ; a) Öküzgözü, b) Boğazkere, c) Syrah ve d) Cabernet Sauvignon

Sonuçlar, şarap örnekleri ile etkileşim süresine göre elde edilen oksidasyon piklerinin yükseklikleri ve potansiyellerinin değiştiğini göstermektedir. Kırmızı şarapta, en fazla miktarda bulunan fenolik bileşik olan gallik asidin oksidasyon piki, fenolik asitlerin oksidasyon potansiyel aralığı olan 0.400-0.500 V arasında gözlenmiştir. Ayrıca, bu potansiyel aralığında elde edilen en yüksek oksidasyon pikleri gallik aside aittir. DPV yönteminde, oksidasyon pik yüksekliklerinin konsantrasyonla doğru orantılı olması bu sonucu doğrulamaktadır. 0.600-1.200 V potansiyel aralığında elde edilen oksidasyon pikleri, kırmızı şaraplarda bulunan diğer fenolik bileşiklere ait olabilir (Çizelge 4.6).

Ortamın pH değerinin etkisini görmek için, PtZP(VP)-15W 60dk bazlı elektrokimyasal sensörün kırmızı şarap örnekleri ile farklı sürelerde etkileşimi sonrasında, pH 6.5'de de DPV yöntemi ile elektrokimyasal ölçümleri gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.20).



Şekil 4.20: PlzP(VP)-15W 60dk karbon elektrotların kırmızı şarap örnekleri ile farklı etkileşim sürelerinde elde edilen voltamogramları. Ortam pH 6.5; iii) 5dk iv) 30 dk a) Öküzgözü, b) Boğazkere, c) Syrah ve d) Cabernet Sauvignon

Hazırlanan PlzP(VP)-15W 60dk bazlı elektrokimyasal sensörün kırmızı şarap örnekleri ile farklı etkileşim süreleri sonunda, pH 6.5 ortamında gerçekleştirilen elektrokimyasal ölçümler sonucunda elde edilen diferansiyel puls voltamogramlar incelendiğinde, elektrolit ortamının pH değerine göre elde edilen oksidasyon piklerinin yükseklikleri ve potansiyellerinin değiştiği görülmektedir. Bu piklerin tanımlanması ileri çalışmalar gerektirmektedir, zira karbon elektrot üzerinde oluşturulan plazma polimer filmin farklı pH değerlerindeki davranışı ve özelliklerinin değişimi bilinmemektedir.

5. GENEL SONUÇLAR

Fenolik madde tayini için plazma polimerizasyon yöntemi ile elektrokimyasal sensör hazırlanması başlıklı çalışmada elde edilen önemli sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

- Elektrokimyasal sensör hazırlama çalışmasında ilk basamak, elektrot yüzeyinde fenolik maddelerin adsorplanabileceği uygun bir kimyasal yapılanmanın tasarımıdır.
- Çalışma kapsamında, güncel ve avantajlı bir yüzey kaplama yöntemi olan plazma polimerizasyon tekniği kullanılmıştır. Grubumuzda, bu teknik, çeşitli polimerik yüzeylerin kaplanmasında (Mutlu et al., 2007; Çökeliler et al., 2007; Güleç et al., 2006; Mutlu et al., 1991), enzim elektrot uygulamalarında (Boyacı et al., 2002; Çökeliler and Mutlu 2002; Biederman et al., 1999; Alp et al., 2000; Mutlu et al., 1997; Mutlu et al., 1994) ve immünosensör uygulamalarında kullanılmıştır (Mutlu et al., 2002; Çökeliler, 2006).
- İyi elektriksel iletkenlik, düşük maliyet ve kolay işlenebilirlik gibi avantajlarından dolayı karbon elektrotlar iletken polimer modifikasyonu ve fenolik madde adsorplama işlemlerine tabii tutularak elektrokimyasal sensöre dönüştürülen temel yapı olarak seçilmiştir.
- Karbon elektrot yüzeylerinin plazma polimerizasyon tekniği ile modifikasyonunda, iletken özellik gösteren ve fenolik maddelere karşı güçlü bir adsorpsiyon karakteri olan polivinilprolidon polimeri yapısına erişebilmek amacı ile *N*-Vinil-2-prolidon (VP) monomeri kullanılmıştır.
- Plazma polimerizasyonu tekniği ile farklı işlem parametreleri kullanılarak modifiye edilen karbon elektrot yüzeyleri model fenolik madde gallik asit ile etkileştirilerek, karbon elektrotların elektrokimyasal davranışları incelenmiş ve diferansiyel puls voltametri yöntemi ile modifikasyon sonrasında karbon elektrot yüzeyinde bir polimer film oluştuğu ve bu yüzeyin fenolik maddeleri adsorpladığı elde edilen voltamogramlarla ortaya konmuştur.

- Fenolik bileşikler, meyve ve sebzelerde doğal olarak bulunan ve şarap, meyve suyu, zeytinyağı gibi gıda ürünlerinde kalite indeksi olarak kabul gören metabolitlerdir. Halen kullanılan ve gelenekselleşmiş tayin yöntemleri Bölüm 2.1.4 'de detayları açıklanan dezavantajlara sahiptir. Buna karşın, alternatif yöntemlerin geliştirilmesi halen gıda mühendisliği alanında önemli bir konudur (Günaydın et al., 2009) Çalışma boyunca geliştirilen farklı yaklaşımlarla hazırlanan en iyi sonuç veren elektrokimyasal sensördeki hassasiyet ($7.41 \text{ nA/mg L}^{-1}$), doğrusal aralık ($17-170 \text{ mg L}^{-1}$), raf ömrü (60 gün), tekrar kullanım özellikleri belirlenmiştir.
- Hazırlanan elektrokimyasal sensör yüzeyinde oluşturulan polimer filmin kimyasal yapısı FTIR ve RS tekniği ile, topografyası da AFM görüntüleme tekniği ile de karakterize edilmiştir.
- Elde edilen bu bilgi birikimi ile model fenolik madde olarak seçilen gallik asit tayini için hazırlanan elektrokimyasal sensör, kırmızı şarap örneklerinde test edilmiştir. Kırmızı şarap örneklerinde hazırlanan elektrokimyasal sensör ile elde edilen diferansiyel puls voltamogramlarında model fenolik madde olarak seçilen gallik asidin yükseltgenme pikleri ayırt edilmiş, ayrıca kırmızı şaraplarda bulunan diğer fenolik maddelerin yükseltgenme pikleri de gözlenmiştir.
- Sonuç olarak, fenolik madde tayinine yönelik hazırlanan elektrokimyasal sensör, konvansiyel olarak nitelendirilebilecek yöntemlere alternatif olarak daha hızlı sonuç veren, yerinde analize uygun, üretim ve işlem kolaylığı getiren, daha az kimyasal ve örnek kullanımı gerektiren ve ekonomik bir yöntemdir.
- Hazırlanan elektrokimyasal sensörün performans parametreleri daha fazla fenolik bileşik tayini için geliştirilmesine yönelik çalışmalar hem dünyada hem de grubumuzda devam etmekte olup, sensör bugünkü performansı ile konvansiyel yöntemlerle nazaran daha düşük bir performans sergilemektedir.

6. KAYNAKLAR

- Akman, M. A., 1993, Mechanical Properties of Plasma Surface Modified Calcium Carbonate/PP Composites, Master's Thesis, The Graduate School of Natural and Applied Science, Middle East Technical University, Ankara,65s.
- Alasalvar, C., Grigor J.M., Zhang, D., Quantick, P.C. and Shahidi, F. 2001. Comparison of volatiles, phenolics, sugars, antioxidant vitamins and sensory Quality of different colored carrot varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 1410-1416.
- Alp, B., Mutlu, S., Mutlu, M., (2000).Glow-discharge-treated cellulose acetate (CA) membrane for a high linearity single-layer glucose electrode in the food industry, *Food Research International*, 33 (2), 107-112.
- Amakura Y., Okada M., Tsuji S. and Tonogai Y., 2000. High performance liquid chromatographic determination with photodiode array dedection of ellagic acid in fresh and processed fruits. *Journal of Chromatograpy*, 872, 87-93.
- Anlı, R. E. 2006. Bağlar Güzeli: Üzüm ve Üzüm Kültürü, Yapı Kredi Yayınları, 238 s., İstanbul.
- AUTOLAB User Manual, 2005, EchoChemie, The Netherlands.
- Babic, J., Amiot, M.J., Nguyen-The C. and Aubert, S., 1993. Changes in phenolic content in fresh ready to use shredded carrots during storage. *Journal of Food Science*, 58, 351-355.
- Belitz, H.D., Grosch, W. and Schieberle, P. 2002. Phenolic compounds. In: *Food Chemistry*, Springer, pp.822-835.
- Bianco G., Soldi M.S., Pinheiro E.A., Pires A.T.N., Gehlen M.H. & Soldi V. (2003). Thermal stability of poly(N-vinyl-2-pyrrolidone-co-methacrylic acid) copolymers in inert atmosphere. *Polymer Degredation Stability*, 80, 567-574.
- Biederman, H., Boyacı, I. H., Bilkova, P., Slavinska, D., Mutlu, S., Zemek, J., Trchova, M., Klimovic, J., Mutlu, M., 1999, Characterization of glowdischarge treated cellulose acetate membrane surfaces for single-layer enzyme electrode studies, *Journal of Applied Polymer Science*, 81, 1341-1352.
- Blasco A.J., Gonzalez M.C. and Escarpa A., 2004, Electrochemical approach for discriminating and measuring predominant flavonoids and phenolic acids using differential pulse voltammetry: towards an electrochemical index of natural antioxidants. *Analytica Chimica Acta*, 511, 71–81.

- Borneman Z., Gokmen V. and Nijhuis H. H., 2001, Selective removal of polyphenols and brown colour in apple juices using PES:PVP membranes in a single ultrafiltration process. *Separation and Purification Technology* 22-23, 53–61.
- Borodko Y., Habas S.E., Koesel M., Yang P., Frei H. & Somorjai G.A. (2006). Probing the Interaction of Poly(vinylpyrrolidone) with Platinum Nanocrystals by UV-Raman and FTIR. *Journal of Physical Chemistry B*, 110, 23052-23059.
- Boyacı, I.H., Mutlu, M, 2002,.Measurement of Glucose, sucrose and lactose in food samples with enzyme-immobilised packed-bed column reactors integrated to an amperometric enzyme electrode, *Nahrung/Food*, 46(3), 174-178.
- Cai, X., Rivas, G., Farias, P.A.M., Shiraishi, H., Wang, J., Fojta, M., Palecek, E. 1996, Trace measurements of plasmid DNAs by adsorptive stripping potentiometry at carbon paste electrode, *Bioelectrochem. Bioenerg.*, 40: 41-47.
- Cam, M. ve Hışıl, Y., 2003. Gıdalardaki flavonoidler ve önemleri, 3. Gıda Mühendisliği Kongresi, Ankara, 2-4 Ekim, s. 67-82.
- Camman, K., Lemke, U., Rohen, A., Sander, J., Wilken, H., Winter, B., 1991, *Chemical Sensors and Biosensors-Principles and Applications*, *Angew. Chem. Int. De.Engl.*, 30: 516-539.
- Capannesi C., Palchetti I., Mascini M. and Parenti A., 2000, Electrochemical sensor and biosensor for polyphenols detection in olive oils. *Journal of Food Chemistry*, 71, 553-562.
- Carpini, G., Lucarelli, F., Marrazza, G., Mascini, M. 2004, Oligonucleotide-modified screen-printed gold electrodes for enzyme-amplified sensing of nucleic acids, *Biosens. Bioelectron.* 20 (2): 167-175.
- Chiti G., Marrazza G., Mascini M., 2001. Electrochemical DNA biosensor for environmental monitoring *Anal. Chim.Acta*, 427:155.
- Clarke, R.J. and Bakker, J. 2004. *Wine Flavour Chemistry*. Blackwell Publishing Oxford, 324, U.K.
- Çalıklı, A., 2003. Kayısı ve vişne suyu üretimindeki atıkların değerlendirilmesi. Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri. Ankara. http://papyrus.ankara.edu.tr/arastirma/2003/a2003_28/proje.pdf.
- Çıkrıkçı, S., 2005. 4'-dioktilamino-3-hidroksiflavon temelli floresans problemlerinin sentezleri ve özelliklerinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul,124s.

- Çökeliler D., 2006, Aflatoksin Tayini için Plazma Polimerizasyon Yöntemi ile Kütle Hassas İmmunosensör Hazırlanması, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Çökeliler D, Erkut S, Zemek J, Biederman H, Mutlu M, 2007, Modification of glass fibers to improve reinforcement: A plasma polymerization technique, *Dental Materials*, Volume 23, Issue 3, Pages 335-342
- Dao, L. and Takeoka G., 2002. Anthocyanins. In. *Methods of analysis for functional foods and nutraceuticals*. CRC Pres LLC.
- De Pascual-Teresa., Santos-Bluega, C. and Rivas-Gonzalo, M. 2000. Quantitative analysis of flavan-3-ols in spanish foodstuffs and beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 5331-5337.
- Dewanto, V., Wu, X., Adom, K.K. and Liu, R.H., 2002. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 1531-1535.
- Dhadwar, S. S., Bemman, T., Anderson W. A., Chen, P., 2003, Yeast cell adhesion on oligopeptide modified surfaces, *Biotechnology Advances*, 21, 395-406.
- Erdem, A., Ariksoysal, D.O., Karadeniz, H., Kara, P., Sengonul, A., Sayiner, A.A., Ozsoz, M., 2005, Electrochemical genomagnetic assay for the detection of hepatitis B virus DNA in polymerase chain reaction amplicons by using disposable sensor technology, *Elect. Com.*, 7 (8): 815-820.
- Espada, A.C.M., Wood, K.V., Bordelon, B. and Watkins, B.A., 2004. Anthocyanins quantification and radical scavenging capacity of Concord, Norton, Marechal Foch grapes and wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 677 9-6786.
- Evans; A., 1991. *Potentiometry and ISE*, ACOL, London, s.106-198.
- Flosch, D., Clarotti, G., Geckeler, K. E., Schue, F., Gopel, W., 1992, Characterization of plasma-treated poly (hydroxybutyrate) membrane surfaces by ESCA and contact angle measurements, *Journal of Membrane Science*, 73, 163-172.
- Franzoi A.C., Spinelli A. & Vieira C., 2008. Rutin determination in pharmaceutical formulations using a carbon paste electrode modified with poly(vinylpyrrolidone). *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 47, 973-977.
- Gil, M., Barberan, T., Pierce, B.H., Holcroft, D.M. and Kader, A.A., 2000, Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 4581-4589

- Gonçalves, B., Landbo, A.K., Knudsen, D., Silva, A.P., Pereira, M., Rosa, E., and Meyer, A.S., 2004. Effect of ripeness and postharvest storage on the phenolic profiles of cherries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 532-530.
- Gronbaek, M. 1999. Type of alcohol and mortality from cardiovascular disease. *Food Chemical Toxicology*, 37; 912-914.
- Gronbaek, M. 2001. Factors influencing the relation between alcohol and mortality with focus on wine. *Jornal International of Medicine*, 250; 291-308.
- Gründler P., 2007, *Chemical Sensors An Introduction for Scientists and Engineers*, Springer Berlin Heidelberg New York, pp 3-13,137-138.
- Güleç, H.A., and Mutlu, M., 2006, Modification of Food Contacting Surfaces by Plasma Polymerisation Technique: Part I: Determination of Hydrophilicity, Hydrophobicity and Surface Free Energy by Contact Angle Method, *J Food Engineering*, 75, 187-195.
- Günaydın B., Şir N., Kavlak S., Güner A. and Mutlu M., 2009, A New Approach for the Electrochemical Detection of Phenolic Compounds. Part I: Modification of Graphite Surface by Plasma Polymerization Technique and Characterization by Raman Spectroscopy, *Food and Bioprocess Technology*, (in press), DOI 10.1007/s11947-009-0244-5
- Hakkinken, S.H. and Törrönen, A.R., 2000. Contents of flavonols and selected phenolic acids in strawberries and *Vaccinium* species: influences of cultivar, cultivation site-and technique. *Food Research International*, 33, 517-554.
- He Q., Dang X., Hu C. & Hu S., 2004. The effect of cetyltrimethyl ammonium bromide on the electrochemical determination of thyroxine. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 35, 93–98.
- Huang, D., Ou, B. and Prior, R.L., 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53,1841-1856.
- Hudson, B., 1990. *Food Antioxidants*, Elsevier Science, USA, pp 173-188.
- Inagaki, N., Kishi, A., Katsuura, K., 1982, Surface properties of polymers prepared from trimethylsilyldimethyl-amine and hexamethyldisilazane by glow discharge polymerization, *Int. J. Adhesion and Adhesives*, 233-238.
- Ioannou, A.K., Pantazaki, A.A., Girousi, S.T.H., Millot, M.-C., Vidal-Madjar, C., Voulgaropoulos, A.N., 2006, DNA biosensor based on carbon paste electrodes modified by polymer multilayer, *Electroanal.* 18 (5): 456-464.
- IUPAC, 1991, *Pure Appl Chem* 63:1247–1250

IUPAC, 1999, Pure Appl Chem 71:2333–2348

Jamet, A. And Ebeling, P.W. 2002. Stabilization Mechanisma for Anthocyanin: The Case for Copolymerization Reactions. Engineering and Food for the 21.st Centruy, CRC Pres LLC, pp.1-4.

Justesen, U., Knuthsen, P., Leth, T., 1998. Quantitative analysis of flavonols, flavones, and flavonones in fruits, vegetables and beverages by high performance liquid chromatography with photo-diode array and mass spectrometric dedection. Journal of Chromatography A, 799,101-110.

Kaminska, A., Kaczmarek, H., Kowalonek, J., 2002, The influence of side groups and polarity of polymers on the kind and effectiveness of their surface modification by air plasma action, European Polymer Journal, 38, 1915-1919.

Kang J., Lu X., Zeng H., Liu H. & Lu B., 2002, Investigation on the electrochemistry of rutin and its analytical application. Analytical Letters, 35, 677–686.

Kara,P, Ozkan, D., Kerman, K., Meric, B, Erdem, A., Ozsoz, M., 2002a, DNA sensing on glassy carbon electrodes by using hemin as electrochemical hybridisation label, Anal. Bioanal. Chem., 373: 710-716.

Kara, P., Kerman, K., Ozkan, D., Meric, B., Erdem, A., Nielsen, P.E., Ozsoz, M., 2002b, Label free and label based electrochemical detection of hybridization by using methylene blue and peptide nucleic acid probes at chitosan modified carbon paste electrodes, Electroanal., 14 (23), 1-6.

Kara, P., Ozkan, D., Erdem, A., Kerman, K., Pehlivan, S., Ozkinay, F., Unuvar, D., Itirli G., and Ozsoz, M., 2003, Detection of achondroplasia G380R mutation from PCR amplicons by using inosine modified carbon electrodes based on electrochemical DNA chip technology, Clin. Chim. Acta, 336(1-2): 57-64.

Kara, P., Erdem, A., Girousi, S., Ozsoz, M., 2005, Electrochemical detection of enzyme labeled DNA based on disposable pencil graphite electrode, J. Pharmaceut. Biomed., 38 (1): 191-195.

Karadeniz, F., 1994. Elma suyunda fenolik madde dağılımının konsantreye işleme sırasında değişimi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Kelebek H., Canbaş A., Selli S., Saucier C., Jourdes M., Glories Y.,2006. Influence of different maceration times on the anthocyanin composition of wines made from Vitis vinifera L. Cvs. Oğazkere and Öküzgözü, J. Food Engineering, 77, 1012-1017.

- Kim, D.O., Chun, O.K., Moon, H.Y. and Lee, C.Y., 2003. Quantification of polyphenolics and antioxidant capacity in fresh plumps. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 6509-6515.
- Kissinger P. T. and Heineman W. R., 1984, *Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry*, Eds., New York: Marcel Dekker, pp.171-186.
- Landrault, N., Poucheret, P., Ravel, P., Gasc, F., Cros, G. and Teissedre, P.L. 2001. Antioxidant capacities and phenolic levels of French wines from different varieties and vintages. *J. Agr. Food Chem.*, 49(7); 3341-3348.
- Lee, J.H. and Talcon, S., 2004. Fruit maturity and juice extraction influences ellagic acid derivatives and other antioxidant polyphenols in muscadine grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 361-366.
- Ligaj, M., Jasnowska, J., Musia³, W.G., Filipiak, M., 2006, Covalent attachment of single-stranded DNA to carbon paste electrode modified by activated carboxyl groups, *Electrochim. Acta*, 51 (24): 5193-5198.
- Liu Z.M., Xu Z.K., Wan L.S., Wu J., Ulbricht M., 2005, Surface modification of polypropylene microfiltration membranes by the immobilization of poly(N-vinyl-2-pyrrolidone): a facile plasma approach, *Journal of Membrane Science* 249, 21–31.
- Loomis, W.D. and Battaile, J., 1966, Plant phenolic compounds and the isolation of plant enzymes. *Phytochemistry*, Volume 5, Issue 3, 423-438
- Lucarelli, F., Marazza, G., Palchetti, I., Cesaretti, S., Mascici, M., 2002a, Coupling of an indicator-free electrochemical DNA biosensor with polymerase chain reaction for the detection of DNA sequences related to the apolipoprotein E, *Anal. Chim. Acta*, 469: 93-99.
- Lucarelli, F., Palchetti, I., Marazza, G., Mascini, M., 2002b, Electrochemical DNA biosensor as a screening tool for the detection of toxicants in water and wastewater samples, *Talanta*, 56: 949-957.
- Madhavi, D.L., Deshpande, S.S. and Salunkhe, D.K., 1996. *Food Antioxidants: Technological, Toxicological and Health Perspectives*. Markel Dekker, Newyork, pp 41-50.
- Mascini, M., Palchetti, I., Marazza, G., 2001, DNA electrochemical biosensors., *Fresenius J Anal Chem*, 369(1):15-22.
- McGuire, J.-, Kirtley, S. A., 1988, Surface characterization for prediction of food particle behavior at interfaces: Theoretical considerations and limitations, *Journal of Food Engineering*, 8, 273-286..

- Meyer, G., and Amer, N. M., 1998, Novel optical approach to atomic force microscopy, *App.Phy. Lett.*, 53, 12, 1045-1047.
- Minussi, R.C., Rossi, M., Bologna, L., Cordi, L., Rotilio, D., Pastore, G.M. and Durán, N. 2003. Phenolic compounds and total antioxidant potential of commercial wines. *Food Chemistry*, 82; 409-416.
- Motti, C., Dainese, E., Mascini, M., Minnuni, M., De Santis, P., Cozzani, I., 2000, The use of biotechnology in agriculture and the methods for the detection of genetically modified organisms (GMOS) in food, *Italian J. Biochem.*, 49: 64-72.
- Mutlu, M., Mutlu, S., Rosenberg, M.F., Kane, J., Jones, M.N., Vadgama, P., 1991, Matrix surface modification by plasma polymerization for enzyme immobilization, *J. of Materials Chemistry*, 1(3), 447-45,.
- Mutlu, M., Mutlu, S., Alp, B., Boyacı, İ.H., Piskin, E., 1997, Preparation of a single layer enzyme electrode by plasma polymerization technique, *Plasma Processing of Polymers*, NATO ASI Series, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 477-485.
- Mutlu S, Mutlu M, Vadgama P, Piskin E, 1994, Sandwich Type Amperometric Enzyme Electrodes for Determination of Glucose, in "Diagnostic Polymeric Materials", A.M. Usmani and N. Akmal, eds., American Chemical Society (ACS) Symposium Series, 556, 71-83.
- Mutlu, S., Zeaire, M.H., Piskin, E., Mutlu, M., 2002, Glow-Discharge-Treated Quartz Crystal Microbalance as Immunosensor, in "Biomedical Diagnostic Science and Technology", WT Law, N Akmal and AM Usmani, eds., Marcel Dekker, Inc., 203-214.
- Mutlu, S., Çökeliler, D., Mutlu, M., 2007, Modification of food contacting surfaces by plasma polymerization technique. Part II: Static and dynamic adsorption behavior of a model protein "bovine serum albumin" on stainless steel surface, *J Food Engineering*, Volume 78, Issue 2, Pages 494-499.
- Naczki, M. and Shahidi, F., 2004. Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054, 95-111.
- Naudi, A.S., Bidlack, W.R. and Crecelius, A.T., 2000. *Flavonoids*. CRC Pres. Newyork.
- Niemeyer CM. 2001. Nanoparticles, proteins, and nucleic acids: biotechnology meets materials science. *Angew Chem Int Ed*, 40:4128–4158.

- Noda, Y., Kaneyuki, T., Mori, A. and Packer, L., 2002. Antioxidant activities of pomegranate fruit extract and its: Delphinidin, cyanidin and pelargonidin. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 50, 166-171.
- Oliveira Brett, A.M., Chiorcea Paquim, A.-M., Diculescu, V., Oretskaya, T.S., 2005, Synthetic oligonucleotides: AFM characterisation and electroanalytical studies, *Bioelectrochem.*, 67 (2 SPEC. ISS.): 181-190.
- Oliveira I.R.W.Z., Fernandes S.C. & Vieira I.C. 2006. Development of a biosensor based on gilo peroxidase immobilized on chitosan chemically crosslinked with epichlorohydrin for determination of rutin. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41, 366–372.
- Oreopoulou, V. 2003. Extraction optimization in food engineering: Extraction of natural antioxidants. CRC Press. Newyork.
- Ortuno, C., Reynaldo, L., Fuster, M.D., Botia, J., Puig, G., Sabater, F., Lidon, A.G., Porras, I. and Rio, J.A.D., 1997. Citrus cultivars with high flavonoid contents in the fruits. *Scietia Horticulturac*, 68, 231-236.
- Ozkan, D., Erdem, A., Kara, P., Kerman, K., Gooding, J.J., Nielsen, P.E., Ozsoz, M. 2002, Voltammetric determination of DNA hybridization using methylene blue and self-assembled alkanethiol monolayer on gold electrodes, *Anal. Chim. Acta* 462 (1): 39-47.
- Paixao N., Pereira V., Marques J.C., Camara J. S., 2008, Quantification of polyphenols with potential antioxidant properties in wines using reverse phase HPLC, *J. Sep. Sci.* 2008, 31, 2189 – 2198.
- Peterson, J., Dwyer, J., Bhagwat, S., Haytowitz, D., Holden, J., Eldridge, A.L., Beecher, G. and Aladesanmi, J., 2005. Major flavonoids in dry tea. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18, 487-501.
- Pietrzyk, D.J.; Frank, C.W. 1979, *Analytical Chemistry*, 2.Baskı, and Academic press: s.226- 239.
- Prakash, A., 2001. Antioxidant activity. *Medallion Laboratories Analytical Progress*. 19(2); www.medlabs.com/file.aspx.
- Prior, R.L., Wu, X., Scaich, K., 2005. Standardized methods for the determination antioxidant capacity and phenolics in foods and dieatry supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(8), 3110-3113.
- Proestos, C., Bakogiannis, A., Costas, P.,Koutinas, A.A., Kanellaki, M. and Komaitis, M. 2005. High performance liquid chromatography analysis o phenolic substances in Greek wines. *Food Control*, 16; 319-323.

- Qui J., Wang G. & Zhao C. (2008). Preparation and characterization of amphiphilic multi-walled carbon nanotubes. *Journal of Nanoparticle Research*, 10, 659-663.
- Ratner, B. D., 1996, Surface diagnostics of plasma-treated materials. *Plasma Processing of Polymers*. d' Agostino, R., Favia, P., Fracassi, F. (eds.), Kluwer Academic Publishers, Netherlands, pp. 211-220.
- Robards, K., Prenzler, P.D., Tucker, G., Swatsitang, P., Glover, W., 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*, 66, 401-436.
- Romani A., Minunni M., Mulinacci N., Pinelli P., Vincieri F. F., Del Carlo M., and Mascini M., 2000, Comparison among Differential Pulse Voltammetry, Amperometric Biosensor, and HPLC/DAD Analysis for Polyphenol Determination, *J. Agric. Food Chem.*, 2000, 48 (4), 1197-1203.
- Salces, R.M., Korta, E., Barranco, L., Berrueta, A., Gallo, B. and Vicente, F., 2001. Determination of polyphenolic profiles of basque cider apple varieties using accelerated solvent extraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 3761-3767.
- Schieber, A., Keller, P. and Carle, R., 2001. Determination of phenolic acids and flavonoids of apple and pear by high-performance liquid chromatography *Journal of Chromatography A*, 910, 265-273.
- Sellapan, S., Akoh, C.C., Krewer, G., 2002. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia grown blueberries and blackberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 2432-2438.
- Seram, N.P., Lee, R., Scheuller, H.S. and Heber, D., 2004. Identification of phenolic compounds in strawberries by liquid chromatography electrospray ionization mass spectroscopy. *Food Chemistry*, 97, 1-11.
- Shahidi, F. and Naczk, M. 1995. *Food Phenolics: Sources, Chemistry, Effects and Applications*. Technomic Publishing Company Inc., 331, U.S.A.
- Simonetti, P., Pietta, P., & Testolin, G., 1997. Polyphenol content and total antioxidant potential of selected Italian wines. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 45(4), 1152-1155.
- Singleton, V.L. and Esau, P. 1969. *Phenolic Substances in Grapes and Their Significance*. Academic Press Inc., 282, U.S.A.
- Skoog, D. A., West, D.A., Holler, F.J., *Analitik Kimyanın Temelleri*, Çeviri editörleri; Prof. Dr. Esmâ Kılıç, Prof. Dr. Fitnat Köseoğlu, 1996. Bilim Yayıncılık, 7. Baskı, 303-495.

- Stewart, A.J., Bozonnet, S., Mullen, W., Jenkins, G.I., Lean, M.E.J. and Crozier, A., 2000. Occurrence of flavonols in tomatoes and tomato based products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48, 2663-2669.
- Szaraz I. & Forsling A.T.N. W. (2000). A spectroscopic study of the solvation of 1-vinyl-2-pyrrolidone and poly(1-vinyl-2-pyrrolidone) in different solvents. *Polymer*, 41, 4831-4839.
- Tanrıöven, D., 1997. Armut suyu ve konsantresinde fenolik madde dağılımı. Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Taylor L.S., Langkilde F.W. & Zografi G.(2001). Fourier Transform Raman Spectroscopic Study of the Interaction of Water Vapor with Amorphous Polymers. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 90, 888-901.
- Turker, N., Aksay, S. and Ekiz, H.I., 2004. Effects of storage temperature on the stability of anthocyanins of a fermented black carrot (*Daucus carota var. L.*) beverage: shalgam. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52, 3807-3813.
- Turner, A.P.F., Karube, I. & Wilson, G., 1987. *Biosensors: Fundamentals and Applications*. Oxford Science Press, Oxford.
- Tusek, L., Nitschke, M., Werner, C., Stana-Kleinschek, K., Ribitsch, V., 2001, Surface characterisation of NH₃ plasma treated polyamide 6 foils, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 195, 81-95.
- Uzelac, V.D., Pospisil, J., Levaj, B. and Delonga, K., 2005. The study of the phenolic profiles of raw apricots and apples and their purees by HPLC for the evaluation of apricot nectars and jams authenticity. *Food Chemistry*, 91, 373-383.
- Ünsal T., 2007. Kalecik Karası, Gamay ve Cabernet Sauvignon Şaraplarında Bazı Fenolik Bileşenlerin Karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara,s.26-30.
- Villers, A., Vanhoenacker, G., Majek, P., Sandra, P., 2004. Determination of anthocyanins in wine by direct injection liquid chromatography-diode array detection-mass spectrometry and classification of wines using discriminant analysis. *Journal of Chromatography A*, 1054, 195-204.
- Wang, J., 1994, *Analytical Electrochemistry*, Wiley – VCH, New York.
- Waterhouse, A.L., 2001, Determination of Total Phenolics, in *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 11.1.1-11.1.8, Wrolstad, R.E., Wiley.
- Wolfbeis O.S. ,1990, *Fresenius J Anal Chem* 337:522.

- Wrolstad, R.E. and Grete, S., 2002. Flavonoids from berries and grapes. In: Functional Foods: Biochemical and Processing Aspects, 2, 72-103.
- Yang X., Wang F. & Hu S. 2006. The electrochemical oxidation of troxerutin and its sensitive determination in pharmaceutical dosage forms at PVP modified carbon paste electrode. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 52, 8–13.
- Yasuda, H., 1985, Plasma Polymerization, Institute for Film Processing Material, University of Missouri Rulla Academic Press Inc., 344-355.
- Yıldız A., ve Genç, Ö., 1993, Enstrümental Analiz Teknikleri, H. Ü. yayınları A-46, Ankara, 289-384,480s.
- Yıldız A., 1997, Enstrümental Analiz Teknikleri, H. Ü. Yayınları, Ankara, 437-440s.
- Zeng B., Wei S., Xiao F. & Zhao F. , 2006, Voltammetric behavior and determination of rutin at a single-walled carbon nanotubes modified gold electrode. Sensors and Actuators B Chemical, 115, 240–246.
- Zhao, J., Hu, G.-Z., Yang, Z.-S., Zhou, Y.-Y., 2007, Determination of 1-naphthol with denatured DNA-modified pretreated glassy carbon electrode, Anal. Lett., 40 (3): 459-470.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Beyhan Günaydın

Doğum Yeri : KONYA

Doğum Yılı : 1985

Medeni Hali : Bekâr

Eğitim ve Akademik Durumu:

Lise **1994-2003:** Darüşşafaka Eğitim Kurumları; İstanbul, Türkiye

Lisans **2003-2007:** Hacettepe Üniversitesi, Ankara, Türkiye
Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü

Yabancı Dil: İngilizce

İş Tecrübesi:

Ocak 2008 - : Araştırma Görevlisi, Hacettepe Üniversitesi,
Mühendislik Fakültesi, Ankara.

