T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

POLİ (ALİZARİN KIRMIZISI S) KOMPOZİT FİLM ELEKTROD ile BRUCİN'İN VOLTAMETRİK DAVRANIŞI ve TAYİNİ

Yasemin MÜMİN

DANIŞMAN
Prof. Dr. Hayati FİLİK

Kimya Anabilim Dalı

Analitik Kimya Programı

İSTANBUL-2018

Bu çalışma 13.12.2018 Tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı, Analitik Kimya Programı, Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

TEZ JÜRİSİ

Prof. Dr. Hayati FİLİK
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Mühendislik Fakültesi

Prof. Dr. Kevser SÖZGEN BAŞKAN
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Mühendislik Fakültesi

Prof. Dr. Kubilay GÜÇLÜ
Adnan Menderes Üniversitesi
Fen Edebiyat Fakültesi

20.04.2016 tarihli Resmi Gazete'de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa'nın abonesi olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Lisansüstü Eğitim Enstitüsü'nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

ÖNSÖZ

Yüksek lisans sürecinde her daim bana yardımcı olarak çalışmalarımı yönlendiren, tez çalışmamın sonuçlanmasında bana bilgi ve tecrübesi ile yol gösteren değerli hocam ve tez danışmanım *Prof. Dr. Hayati FİLİK'e,*

Yüksek lisans öğrenimim süresince bana yardımcı ve destek olan, sabırla yardım eden, benden bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen sevgili arkadaşlarım, Araştırma Görevlisi *Asiye Aslıhan AVAN* ve Yüksek Kimyager *Sevda AYDAR'a*

Yaşamımın her evresinde yanımda olan, sevgilerini ve başarıma olan inançlarını her zaman hissettiren, lisansüstü eğitimime başlamamdaki en büyük desteğim olan babam *Mehmet MÜMİN*, annem *Rabia MÜMİN* ve kardeşim *Ahmet MÜMİN'*e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Aralık 2018 Yasemin MÜMİN

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ ..... **iv**
İÇİNDEKİLER ..... **v**
ŞEKİL LİSTESİ ..... **vii**
TABLO LİSTESİ ..... **viii**
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ ..... **ix**
ÖZET ..... **x**
SUMMARY ..... **xi**
1. GİRİŞ **1**
2. GENEL KISIMLAR **4**
2.1. İLETKEN POLİMERLER 4
2.1.1. İletken Polimerlerin Sentezi 4
2.2. ALİZARİN KIRMIZISI S 6
3. MALZEME VE YÖNTEM **7**
3.1. CİHAZLAR 7
3.2. KULLANILAN KİMYASAL MADDELER VE ÇÖZELTİLER 7
3.2.1. Çözeltilerin Hazırlanması 7
3.2.2. Örneğin Hazırlanması: 7
3.3. CAMSI KARBON ELEKTROT YÜZEYİNE POLİ ALİZARİN KIRMIZISI S MODİFİKASYONU 8
3.4. ÖLÇÜM PROSEDÜRÜ 8
3.4.1. Elektrokimyasal Empedans Karakterizasyonu 9
3.4.2. Brucinin Elektrokimyasal Davranışı 9
3.4.3. Tarama Hızının Etkisi 9
3.4.4. H_2SO_4 Konsantrasyonunun Etkisi 9
3.4.5. Kare Dalga Paremetrelerinin Etkisi 9
3.4.6. Analitik Parametreler 10
3.4.7. Analitik Uygulamalar 10
4. BULGULAR **11**
4.1 ELEKTROKİMYASAL EMPEDANS KARAKTERİZASYONU 11
4.2. BRUCİNİN ELEKTROKİMYASAL DAVRANIŞI 11

4.3. TARAMA HIZININ ETKİSİ....13
4.4. H_2SO_4 KONSANTRASYONUNUN ETKİSİ....14
4.5. KARE DALGA PAREMETRELERİNİN ETKİSİ....16
4.6. ANALİTİK PARAMETRELER....16
4.7. GELİŞTİRİLEN MODİFİYE ELEKTRODUN TEKRARLANABİLİRLİĞİ VE STABİLİTE....17
4.8. GİRİŞİM ETKİSİ....18
4.9. ANALİTİK UYGULAMALAR....18
5. TARTIŞMA VE SONUÇ....20
KAYNAKLAR....22
ÖZGEÇMİŞ....25

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1.1. Strikinin ve brucin molekül yapısı(R=-H :Strikinin R= -OCH_3 : Brucin) 1

Şekil 2.1. İletken polimerlerin özellikleri(Long, Y ve diğ., 2006). 4

Şekil 2.2. Alizarin kırmızısı S formülü ($C_{14}H_7NaO_7S$) 6

Şekil 3.1 Poli (ARS) oksidasyon mekanizması 8

Şekil 4.1. Nyquist empedans ölçümleri a) camsı karbon elektrod b) poli alizarin kırmızısı S / camsı karbon elektrod (5mM $Fe(CN)_6^{3-/4-}$ içeren 0,1M KCl ortamında, frekans 0,1 mHz- 0,01 Hz). 11

Şekil 4.2. 0,1mM brucinin 0,01M H_2SO_4 çözelti ortamında döngülü voltamogramları. A: birinci döngü, B: ikinci döngü; a:GCE, b: Poli(ARS)/GCE, tarama hızı; 50 mVs^{-1}. 12

Şekil 4.3. Polializarin kırmızısı S/GCE ile 0,01M H_2SO_4' li ortamda 0,1 mM Brucinin farklı tarama hızlarındaki döngülü voltamogramları (A: Birinci döngü, B: İkinci döngü). Tarama hızları; 50, 100, 200, 300, 400, 500 mV s^{-1}. 13

Şekil 4.4. Karekök tarama hızı ($v^{1/2}$) pik akımı ilşkisi (C: brinici döngü D: ikinci döngü). 13

Şekil 4.5. 0,1mM Brucinin değişen konsantrasyonlarda H_2SO_4 çözelti ortamında döngülü voltamogramları (döngü a – e sırasıyla; 0.001, 0.01, 0.05, 0.1, 0.2 M) 15

Şekil 4.6. Poli alizarin kırmızısı S/ GCE brucinin olası redoks mekanizması. 16

Şekil 4.7. Pik akımına genlik, frekans ve step size parametrelerinin etkisi. 16

Şekil 4.8. Poli Alizarin Kırmızısı S/GCE ile 0,01 M H_2SO_4 ortamında farklı konsantrasyondaki brucinin (0, 30, 70, 100, 200, 500, 700 ve1000 nM) kare dalga voltamogramları ve brucin konsantrasyonuna karşı pik akım grafiği. Step size 8 mV, pulse size 75 mV ve frekans 25 Hz. 17

Şekil 4.9. 0,1; 0,3; 0,5; 0,7; 1,0; 3,0; 5,0; 7,0 ve 10 µM brucin içeren idrar örneğinin kare dalga voltamogramları. UA: Ürik aside ait pik. 19

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 5.1. Brucin tayini için geliştirilen sensörlerin elektroanalitik performanslarının karşılaştırılması.....20

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
E	: Potansiyel
E_{pa}	: Anodik Pik Potansiyeli
I_{pa}	: Anodik Pik Akımı
R_{ct}	: Yük Transfer Direnci
v	: Tarama Hızı

Kısaltmalar	Açıklama
AC	: Alternatif Akım
Ag/AgCl	: Gümüş / Gümüş Klorür
EIS	: Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi
GCE	: Camsı karbon elektrod
O_x	: Oksidan
Poli (ARS)	: Poli Alizarin Kırmızısı S
R	: Redüktan
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
SWV	: Kare dalga Voltametrisi
CV	: Döngülü Voltametri

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

POLİ (ALİZARİN KIRMIZISI S) KOMPOZİT FİLM ELEKTROD ile BRUCİN'İN VOLTAMETRİK DAVRANIŞI ve TAYİNİ

Yasemin MÜMİN

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Hayati FİLİK

0,1M Fosfat Tampon çözeltisi (pH 7) içeren ortamda camsı karbon elektrod üzerine 0,1M Alizarin kırmızısı S monomeri döngülü voltametri yöntemiyle kaplanarak iletken polimer; poli (alizarin kırmızısı S) hazırlanmıştır. Poli alizarin kırmızısı S modifiye elektrodu; 2,3 dimetoksisitriknidin (brucin) tayininde doğrudan kullanılmıştır. Hazırlanan poli(alizarin kırmızısı S) elektrot döngülü voltametri yöntemi ve empedans spektroskopisi ile karakterize edilmiştir. Çalışmada brucinin akım sinyaline; pH, tarama hızı ve eloktrolit etkisi araştırılmıştır. Optimum kantitatif ölçümler için ikinci tarama ve bu taramada elde edilen sinyalin akım değerleri seçilmiştir. Poli (alizarin kırmızısı S) /camsı karbon elektrod ile brucinin tayinde tersinir olmayan bir oksidasyon piki ve redoks çiftleri elde edilmiştir. İkinci taramadaki akım değeri, brucin konsantrasyonunun 30–1000 nM arasında artmasıyla lineer olarak artış göstermektedir. Brucinin dedeksiyon limiti $5{,}0\times10^{-9}$ M olarak bulunmuştur. Geliştirilen yöntemle insan idrar örneğinde brucin başarıyla tayin edilmiştir.

Aralık 2018, 36 sayfa.

Anahtar kelimeler: Brucin, Voltametri, Alizarin Kırmızısı S, İdrar Analizi.

SUMMARY

M.Sc. THESIS

VOLTAMMETRIC BEHAVIOR and DETERMINATION of BRUCINE by POLY (ALIZARIN RED S) COMPOSITE FILM ELECTRODE

Yasemin MÜMİN

Istanbul University-Cerrahpasa

Institute of Graduate Studies

Department of Chemistry

Supervisor : Prof. Dr. Hayati FİLİK

A poly(Alizarin Red S)-conducting polymer was prepared on glassy carbon electrodes by multiple scan cyclic voltammetry using 0.1 M Alizarin Red S in pH 7 phosphate buffer. The poly(Alizarin Red S)-modified electrode was used for the direct determination of 2,3-dimethoxystrychnidin-10-one (brucine). The prepared poly(Alizarin Red S) electrodes were characterized by impedance spectroscopy and cyclic voltammetry. The influence of the supporting electrolyte, pH, and scan rate on the brucine current was characterized. The second cycle and the current signal value were selected to be optimum for quantitaive measurements. An irreversible oxidative peak and two pairs of well-defined peaks were obtained at the poly(Alizarin Red S)–glassy carbon electrode. The current from the second scan increased linearly with the concentration of brucine from 30 to 1000 nM. The limit of detection for brucine was $5{,}0\times10^{-9}$ M. The brucine in human urine sample was successfully detarmined by developed method.

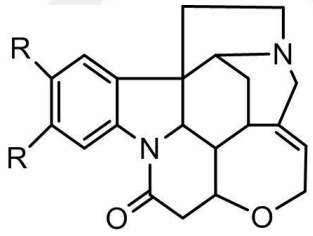
December 2018, 36 pages.

Keywords: Alizarin Red S, brucine, urine analysis, voltammetry.

1. GİRİŞ

Kargabüken (Strychnos nux vomica) 10 metreye kadar uzayabilen, sarı-beyaz renkte çiçekler açan, çok zehirli bir ağaçtır. Kargabüken tohumları kurutulduktan sonra öğütülerek toz haline getirilir ve bu tozun etanol ile ekstraksiyonundan alkaloidler elde edilir. Bu alkaloitlerin %40-50'sini Strychenin (Sitrikinin) %35-45'ini Brucin (Brusin) ve geri kalanı ise yan alkaloitler; 12-Hydroxstrychinin, 15-Hydroxy-strychnin, α-Colubrin, β-Colubrin, Icajin, Novacin, Vomicin (Vomisin), Struxin, Pseudostrychnin, Pseudobrucin, Pseudo-α-Colubrin ve Pseudo-β-Colubrin oluşturur. Alkaloidler, genellikle bitkisel kaynaklı ve ortak kimyasal özellikler gösteren, yapılarında taşıdıkları azot atomunun sayısına bağlı olarak az veya çok bazik karakter taşıyan ve çok az dozlarda bile önemli derecede farmakodinamik aktiviteye sahip organik bileşiklerdir.

Strikinin ve brucin moleküllerinde indol halkası bulunmaktadır. Bu halka farklı birçok halka ile tamamlanmıştır. Brucin sitrikininden 1.halka üzerinde 2 metoksi fonksiyonu bulundurmasıyla ayrılmaktadır.



Şekil 1.1. Strikinin ve brucin molekül yapısı(R=-H :Strikinin R= -OCH_3 : Brucin)

Strikinin brucin göre daha toksik bir alkoloiddir. Brucin merkezi sinir sistemine etki ederek ağrı ve spazmı azaltır, bu amaçla da ağrı kesici ilaçlarda kullanılmaktadırlar (Bertucat, 1975). Brucinin beslenme ve solunum yollarına sınırlı miktarda toksik etkisi bulunduğundan ilaçlarda belirli dozlarda kullanılmalıdır. Düşük dozlarda kalp atış hızını ve kan basıncını arttırırken; aşırı dozlarda kan basıncını çok yükselterek zehirlenmelere hatta ölüme sebep olabilmektedir (Li ve diğ., 2006; Wang ve diğ. 2007). Zehirlenme belirtileri; titreme, kas sertliği ve baş ağrısıdır. Doping ilaçlarında da bulunan brucinin toksik etkisinden dolayı sporcuların kullanması yasaklanmıştır (Wang ve diğ. 2007).

Metabolizmada bulunan biyolojik sıvı örneklerinde brucin konsantrasyonu son derece düşüktür. Bu nedenle, biyolojik sıvı örneklerinde brucinin belirlenmesi için, basit, hızlı, duyarlı ve hassas analitik yöntemlerin geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır. Brucin analizi için bazı analitik çalışmalar literatürde belirtilmektedir. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (Sun ve diğ. 2007), ince tabaka kromatografisi (Luo ve diğ. 1999), florimetrik deney yöntemi (Li ve diğ., 2004), nükleer manyetik rezonans (Frédérich ve diğ.2003),gaz kromatografisi- kütle spektrometrisi (Barroso ve diğ., 2005), sıvı kromatografisi ve sıvı kromatografisi- kütle spektrometrisi (Nyasulu 1990), kapiler elektroforez (Liu ve diğ., 2012). Bu yöntemlerin çoğu numuneye ön işlem gerektirmektedir. Elektroanalitik yöntemler ise diğer tekniklere göre kolay uygulanması ve düşük maliyeti nedeniyle daha çok tercih edilir.

Geçmişte çok sayıda modifiye elektrod ile brucinin hassas bir şekilde belirlenmesi üzerine çalışmalar yapılmıştır. Örneğin, Li ve diğ. (1995) çalışmasında bir civa elektrod üzerine sıyırma voltametrisi uygulayarak brucini gözlemlemiştir. Bu elektrokimyasal çalışma, orto– quinone (cacotheline) için brucinin HNO_3 ile önceden okside edilmesini gerektirmektedir böylece kinolü azaltılmış tersinir reaksiyon oluşur. Bu yöntemle brucin dolaylı olarak tayin edilmiştir.

Monte mono tabakalar üzerine altın modifiye edilerek brucinin elektrokimyasal özellikleri araştırılmıştır. Brucinin doğrudan tayini için kare dalga adsorptif sıyırma voltametrisi yöntemi geliştirilmiştir. (Zhang ve diğ. 2004). Nyasulu ve ark. (1990) karbon pasta elektrod üzerinde brucinin elektrokimyasal davranışını incelemiştir. Son zamanlarda Zhang ve ark. (2006) strikinin ve brucinin elektrokimyasal yöntemle hassas olarak tanınması için polimerik dimetilsiloksan mikrokanal elektroforez sistemi geliştirmiştir. Karbon fiber mikro kolon sensöründe brucin ve strikinin voltametrik davranışı Brij35 içeren asetat tamponunda voltametri kullanılarak araştırılmıştır. Strikinin ve brucin ayrılmasında Brij35 geliştirilmiş önemli bir üründür. Baskılı polimerler brucinin hassas tayini için kullanılan biomimetik malzemelerdir. Son zamanlarda tek duvarlı nanotüplerin yüzeyine kaplanan poli-o-fenilendiamin ile brucin tayini yapılmaktadır. Bu çalışmada tek duvarlı nanotüpler brucinin elektrokimyasal davranışını geliştirmek amacıyla kullanılmıştır (Liu ve diğ. 2012). Camsı karbon elektrod üzerine nikel manyetik nanopatikülleri modifiye edilerek yeni bir elektrod üretilmiş ve brucunin voltametrik özelliklerinin incelenmesinde kullanılmıştır. Karbon kaplı nikel manyetik nanapartikül/camsı karbon elektrod, brucinin redoks reaksiyonu için çok iyi elektrokimyasal etkinlik göstermiş ve elektron transferini arttırmıştır (Wang ve diğ., 2007). Bu

da iletken polimer olduğunu gösterir. Bu tip iletken polimerlerin en büyük avantajı çok yönlü olmalarıdır. Bu bağlamda polimer DL -aspartik asit / camsı karbon elektrod yapay örneklerde brucinin doğrudan tayini için geliştirilmiştir (Liu ve diğ., 2013). Bu konjüge polimer yüzeyindeki brucinin elektrokimyasal özellikleri döngülü voltametri ve diferansiyel puls voltametrisi ile incelenmiştir. Sonuç olarak; karbon pasta elektrod, camsı karbon elektrod, çok duvarlı karbon nanotüpler geliştirilerek, brucin ve strikinin bireysel veya eş zamanlı tayininde kullanılmıştır (Behpour ve diğ., 2012; Wang ve Xu, 2005).

Bu çalışmadaki amaç, iletken polimer geliştirerek biyolojik sıvı örneklerindeki brucini elektrokimyasal yöntemle tayin etmektir.

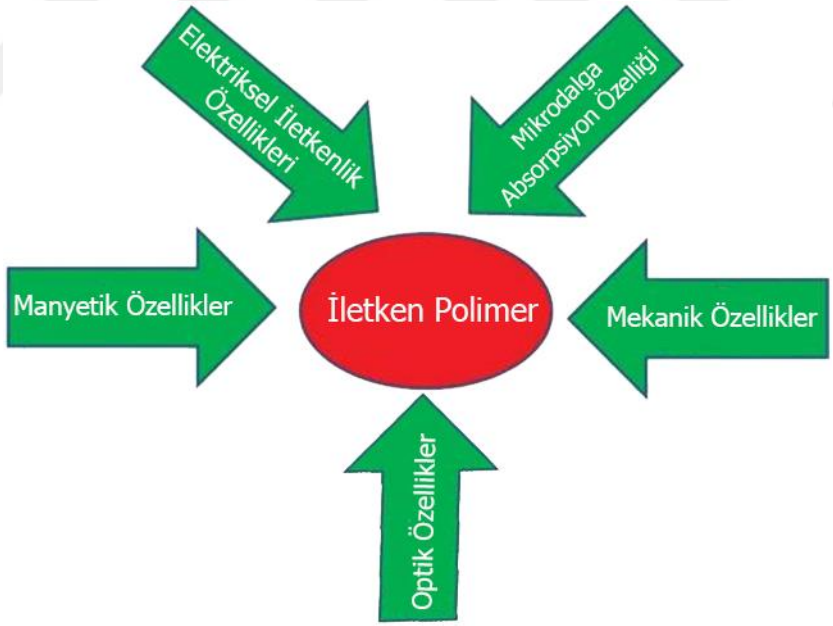
Brucin tayininde poli(ARS) ile elektrokimyasal uygulamalar bugüne kadar yapılmamıştır. Bu çalışmada elektrod performansını kararlılık, duyarlılık, tekrarlanabilirlik açısından geliştirmek amacıyla camsı karbon elektrod yüzeyine poli (alizarin kırmızısı S) modifiye edildi. Alizarin kırmızısı S; elektrokimyasal reaksiyon ile kolaylıkla camsı karbon elektrod yüzeyine kaplandı.

2. GENEL KISIMLAR

2.1. İLETKEN POLİMERLER

Konjuge π bağlarına sahip olan bir monomerin uygun bir reaktif ile indirgenmesi veya yükseltgenmesi ile elde edilen polimerlere "iletken polimerler" denir (Fried, 1995).

"İletken polimerler" terimi elektriği dağıtabilen veya iletebilen özel polimerler olarak geniş manasıyla tanımlansa da aslında bu terim farklı iki tür polimeri içermektedir. Birinci tür polimerler aktif kömür, metal tabakaları ve metal fiberleri gibi iletken dolgu maddeleri ile birleştirilmiş polimerleri içerir ve bunlar ticari olarak kullanılan polimerlerin çoğunu oluştururlar. İkinci tür polimerler ise kendiliğinden iletken polimerler (KİP) olup, kimyasal yapıları nedeniyle kendi molekülsel zincirleri boyunca elektriği dağıtabilen veya iletebilen polimerlerdir (Kalaycı, 2008) İletken polimerler, elektrik iletkenliklerinin yanı sıra, optik, manyetik, kararlılık, mekanik ve elektronik özelliklerinden dolayı dikkat çekmektedir.



Şekil 2.1. İletken polimerlerin özellikleri(Long, Y ve diğ., 2006).

2.1.1. İletken Polimerlerin Sentezi

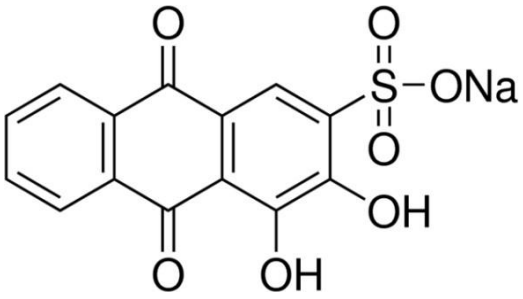
İletken polimer sentezi için; elektrokimyasal polimerizasyon, kimyasal polimerizasyon, piroliz, katalitik polimerizasyon (Ziegler - Natta katalizörlü) gibi birçok yöntem kullanılmaktadır. Bunlardan en yaygın olanı kimyasal ve elektrokimyasal yöntemlerdir.

Kimyasal polimerizasyonda; Monomer uygun bir çözücüde çözünerek katalizör eşliğinde bir yükseltgenme veya indirgenme aracı (asit, baz veya tuz) kullanılarak polimerleştirilir. Elde edilen polimer çeşitli yöntemlerle saflaştırılır ve iletken polimer elde edilmiş olur. Bu yöntemle, istenilen miktarda ve uygun maliyetle ürün elde etmek mümkündür fakat yükseltgenme basamağı kontrol edilemez.

Polimerik ürünün; polimer film elektrot, ince tabakalı bir sensör ya da mikro teknolojiye yönelik bir kullanımı amaçlanıyorsa elektrokimyasal sentez tercih edilir. Yükseltgenme için uygulanan potansiyelin kontrol edilebilir olması, sentezin her aşamasının kontrol edilebilmesini sağlar. Yükseltgenme anotta gerçekleştiğinden üründe burada birikir ve böylece ürün istenilen noktada elde edilmiş olur. (Sotherm, 1998).

Bu çalışmada elektrokimyasal polimerizasyon yöntemi kullanılmıştır. Monomer (Alizarin kırmızısı S) uygun bir çözücü veya destek elektrolitle beraber polimerleşme hücresine konularak yapılan elektroliz sonucunda, elektrot yüzeyinde veya çözeltide polimer elde edilebilmektedir. Polimerleşme hücresi genellikle, çalışma, karşı ve referans elektrottan oluşan üç elektrotlu bir sistemdir. Hücre içine konulan sulu veya susuz ortamdaki monomer çözeltinin, döngülü voltametri (CV) tekniği ile uygun bir voltamogramı alınarak sabit akım veya sabit potansiyelde polimerleşme gerçekleştirilmektedir. Burada dikkat edilmesi gereken nokta, monomerin yükseltgenme veya indirgenme potansiyelinde çözücü olarak, destek elektrolit ve elektronların reaksiyon vermemesidir. Monomerin indirgenmesi veya yükseltgenmesi ile oluşan radikal anyon veya radikal katyon zinciri büyümekte ve bunlar da iletken polimer zincirleri oluşturmaktadır. Elektrokimyasal polimerleşmede kontrollü potansiyel veya akım uygulaması (sabit potansiyel ve sabit akım elektroliz), başlangıcı ve bitiş basamaklarının kontrol edilebilmesi gibi üstünlükleri vardır. Bu yüzden kimyasal yönteme göre daha saf, yan ürünlerden ve kirlilikten arınmış ürünler elde etmek mümkündür.

2.2. ALİZARİN KIRMIZISI S



Şekil 2.2. Alizarin kırmızısı S formülü ($C_{14}H_7NaO_7S$)

Son zamanlarda poli(ARS) elektrod yüzeyine kaplanarak sitrikinin, nikotin, brucin gibi bazı organik bileşiklerin elektrokimyasal tayininde kullanılmaktadır. (Sen ve diğ., 2012; Schumacher ve diğ., 2011; Zhong ve diğ., 2004; Liu ve diğ., 2013; Ba ve diğ., 2012; Han ve diğ., 2013).

Sulu çözeltide alizarin kırmızısı S in polimer oluşum süreci fenolün serbest radikal polimerizasyonuyla paraleldir. Alizarin kırmızısı S molekülü benzokinon ve iki hidroksil grubu içerir; bu nedenle elde edilen konjuge polimer proton reseptörü olarak görev yapabilir, elektrod ve analit arasındaki yük transfer reaktivitesini dengeli bir şekilde arttırabilir. (Zhang ve diğ., 2014; Ba ve diğ., 2012).

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. CİHAZLAR

Tüm voltametrik denemeler üç elektrodlu sistemde cam hücre içerisinde Gamry Reference 600 potentiostat (Gamry, USA) cihazı kullanılarak yapıldı. Döngülü ve kare dalga voltamogramları bu sistem ile kaydedildi. Sistemde camsı karbon elektrod veya yüzeyi polimer kaplı camsı karbon elektrot çalışma elektrodu, Ag / AgCl (doymuş KCI çözeltisi) referans elektrod ve Pt tel karşıt elektrod olarak kullanılmıştır. Çalışmada belirtilen bütün potansiyeller oda sıcaklığında (25±2°C) Ag/AgCl referans elektroduna karşı elde edilmiştir.

Taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri FEI - QUANTA FEG 450 SEM cihazı kullanılarak elde edildi.

Kimyasal madde ve örnekleri tartmak için Radwag AS 220/C/2 hassas terazi, kimyasal maddelerin çözünmesine yardımcı olmak için Elmasonic marka ultrasonik banyo, pH ölçümleri için HANNA HI 221 pH metre, destile su üretimi için GFL 2008 su sistemi kullanıldı.

3.2. KULLANILAN KİMYASAL MADDELER VE ÇÖZELTİLER

3.2.1. Çözeltilerin Hazırlanması

1x 10^{-3} M stok brucin çözeltisi 0,0147 g brucinin (Sigma-Aldrich) 5 mL etanolde çözülerek 50 mL'ye distile su ile tamamlanmasıyla hazırlandı. Daha düşük konsantrasyondaki çalışma çözeltileri günlük ve taze olarak 0,01 M H_2SO_4 ile seyreltilerek hazırlandı.

1x 10^{-3} M stok Alizarin kırmızısı S (Sigma-Aldrich) çözeltisi, 0,0171 g tartılıp distile suyla 50 mL'ye tamamlanarak hazırlandı.

0,1 M H_2SO_4 stok çözeltisi derişik (%98) H_2SO_4'den seyreltilerek hazırlandı.

3.2.2. Örneğin Hazırlanması:

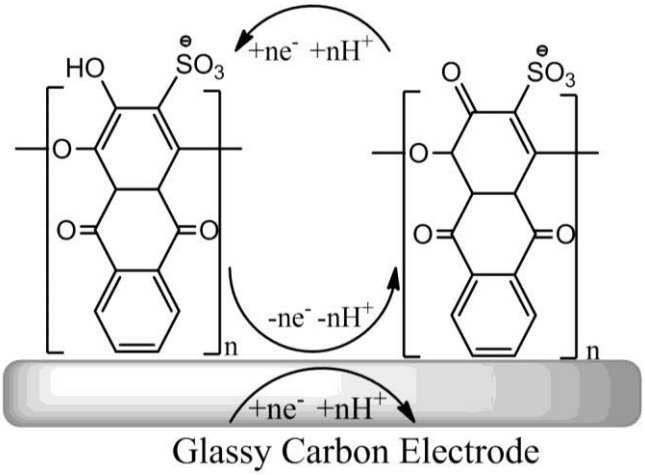
İdrar örneği öncelikle aseton (3:3 v/v) ile seyreltildi ve 5 dakika karıştırıldı, çözünmeyen maddeleri uzaklaştırmak için; numune Whatman 41 filtre kağıdından geçirildi. Örnekteki aseton kalıntıları 25˚C'de hava akımında 45 dk uçuruldu. Daha sonra idrar örneği 0.01M H_2SO_4 çözeltisiyle 25 ml'ye tamamlandı.

3.3. CAMSI KARBON ELEKTROT YÜZEYİNE POLİ ALİZARİN KIRMIZISI S MODİFİKASYONU

Her bir deneyde öncelikle elektrod 0,05 µm büyüklüğünde alüminyumoksit partikülleri içeren malzeme ile 5 dakika boyunca temizlendi. Daha sonra yüzeydeki alümina kalıntıları destile suyla yıkanarak elimine edildi. Elektrodlar ultrasonik su banyosunda 15 dk HNO_3 çözeltisinde ve 15 dk (1:1) asetonitril- propanol karışımında bekletildi.

Camsı karbon elektrod üzerine oda sıcaklığında iyonik sıvı içinde (örneğin, $BMIMBF_4$,1-Butil-3-metillimidazolum tetrafloroborat) alizarin kırmızısı S polimerizasyonu ilk kez Zhang ve diğ.(2014) tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada Alizarin kırmızısı S polimerizasyounda Hatefi-Mehrjardi ve diğ. (2014) tarafından yapılan polimerizasyon yönteminden yararlanılmıştır. Camsı karbon elektrod yüzeyinin modifikasyonu döngülü voltametri ile 50 mV s^1tarama hızında, -0,2+1,8V potansiyel aralığında, 0,1 mM alizarin kırmızısı S bulunduran 0,1M pH 7 Fosfat tamponu çözeltisinde beş döngü ile elektrokimyasal olarak gerçekleştirilmiştir.

Camsı karbon elektrod üzerinde poli alizarin kırmızısı S ploimerizasyon mekanizması, şekil 3.1'de gösterilmiştir (Hatefi–Mehrjardi ve diğ. 2014).



Şekil 3.1 Poli (ARS) oksidasyon mekanizması

3.4. ÖLÇÜM PROSEDÜRÜ

Elektrokimyasal hücrede üçlü elektrot sistemini kullanılarak 10 mL 0,01M H_2SO_4 çözeltisinde brucinin uygun miktarlarının CV ve SWV yöntemleri ile volamogramları alındı. Poli(ARS)/GCE ile brucinin tayininde CV yönteminde 50 mVs^{-1} tarama hızında 0 V ile 1,2 V

potansiyel aralığında iki döngü alınarak, SWV yönteminde ise step size 8 mV, kare dalga genliği 75 mV, kare dalga frekansı 25 Hz kullanılarak 0,1 V ile 1,1 V potansiyel aralığında iki tarama yapılarak pik potansiyelleri ve akım değerleri belirlendi.

3.4.1. Elektrokimyasal Empedans Karakterizasyonu

Elektrot yüzeyinin karakterizasyonu elektrokimyasal empedans spektroskopiyle yapıldı. Camsı karbon elektrod ve poli(ARS)/GCE ile 5 mM $Fe(CN)_6^{-3/-4}$ içeren 0,1M KCl ortamında, 0,1 mHz- 0,01 Hz frekans aralığına nyquist grafikleri elde edildi.

3.4.2. Brucinin Elektrokimyasal Davranışı

Brucinin elektrokimyasal davranışları GCE, ve poli(ARS)/GCE kullanılarak döngülü voltametri yöntemi ile incelendi. Her iki elektrotla 0,01M H_2SO_4 ortamında 0,1 mM brucin çözeltisinin 50 mVs^{-1} tarama hızında 0 V ile 1,2 V potansiyel aralığında iki döngü tarama yapılarak pik akımı ve pik potansiyel değerleri incelendi.

3.4.3. Tarama Hızının Etkisi

Poli(ARS)/GCE yüzeyinde brucinin elektrokimyasal sinyaline tarama hızının etkisi döngülü voltametri ile araştırıldı. Poli(ARS)/GCE ile 0,01M H_2SO_4'li ortamda 0,1mM Brucinin 0 V ile 1,2 V potansiyel aralığında 50, 100, 200, 300, 400 ve 500 mV s^{-1} tarama hızlarında iki döngü tarama yapılarak döngülü voltametri uygulandı. Elde edilen voltamogramlardan her iki döngü sonucunda elde edilen oksidasyon ve redüksiyon pik akım değerleri belirlenerek tarama hızının etkisi incelendi.

3.4.4. H_2SO_4 Konsantrasyonunun Etkisi

Poli(ARS)/GCE yüzeyinde brucinin pik potansiyeli ve pik akımına H_2SO_4 konsantrasyonunun etkisi döngülü voltametri ile incelendi. 0,1 mM brucinin 0.001, 0.01, 0.05, 0.1, 0.2 M olacak şekilde değişen konsantrasyonlarda H_2SO_4 ortamında 0 V ile 1,2 V potansiyel aralığında 50 mVs^{-1} tarama hızında iki döngü tarama yapılarak ikinci döngü sonucunda elde edilen yükseltgenme ve indirgenme pik potansiyel ve pik akım değerleri incelendi.

3.4.5. Kare Dalga Paremetrelerinin Etkisi

Brucinin kalibrasyon grafiğinin elde edilmesinde SWV yöntemi kullanıldı. SWV'de elde edilen pik akımları karedalga genliği, karedalga frekansı ve step size gibi çeşitli enstrümantal

parametrelere bağlıdır. Brucin tayininde farklı parametrelerin etkisi 0,1 V ile 1,1 V potansiyel aralığında 0,01M H_2SO_4 ortamında 100 nM brucinin iki tarama sonucunda elde edilen pik akımında meydana gelen değişikle incelendi. Parametrelerden step size 6 – 10 mV, puls size 25 – 100 mV ve frekans 7 – 30 Hz arasında değiştirildi.

3.4.6. Analitik Parametreler

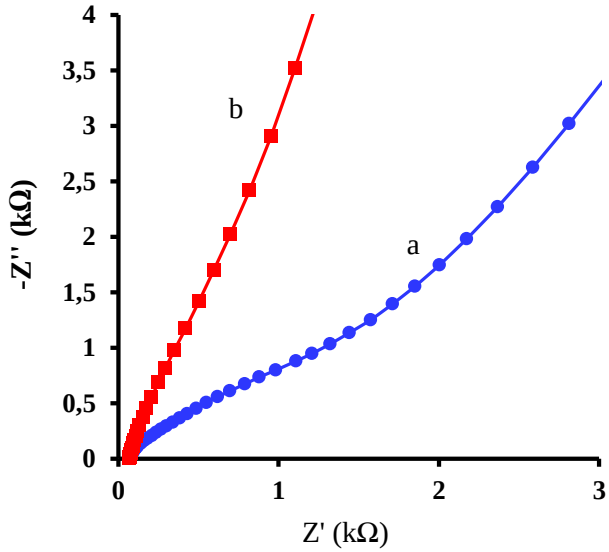
Poli(ARS)/GCE ile step size 8 mV, kare dalga genliği 75 mV, kare dalga frekansı 25 Hz olarak belirlenen optimize edilmiş parametrelerde kare dalga voltametrisi ile brucinin kalibrasyon çalışması yapıldı. 0,01 M H_2SO_4 ortamında 0, 30, 70, 100, 200, 500, 700 ve 1000 nM konsantrasyonlardaki brucinin 0,1 V ile 1,1 V potansiyel aralığında iki tarama sonucu elde edilen oksidasyon pik akım değerleriyle kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur.

3.4.7. Analitik Uygulamalar

Geliştirilen yöntem idrar örneğinde brucin tayininde kullanıldı. Bölüm 3.2.2.'de hazırlanan idrar stok çözeltisinden alınan 1 ml elektrokimyasal hücreye ilave edildi ve destek elektrolit konsantrasyonu 0,01M olacak şekilde H_2SO_4 çözeltisi ile 10 ml'ye seyreltildi. Optimize edilmiş parametrelerle kare dalga voltametrisinde idrar örneği içerisinde 0,1; 0,3; 0,5; 0,7; 1,0; 3,0; 5,0; 7,0 ve 10 µM brucin içeren 0,01M H_2SO_4 çözeltisinde 0,1 V ile 1,1 V potansiyel aralığında iki tarama sonucunda elde edilen oksidasyon pik akım değerleriyle kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur.

4. BULGULAR

4.1 ELEKTROKİMYASAL EMPEDANS KARAKTERİZASYONU



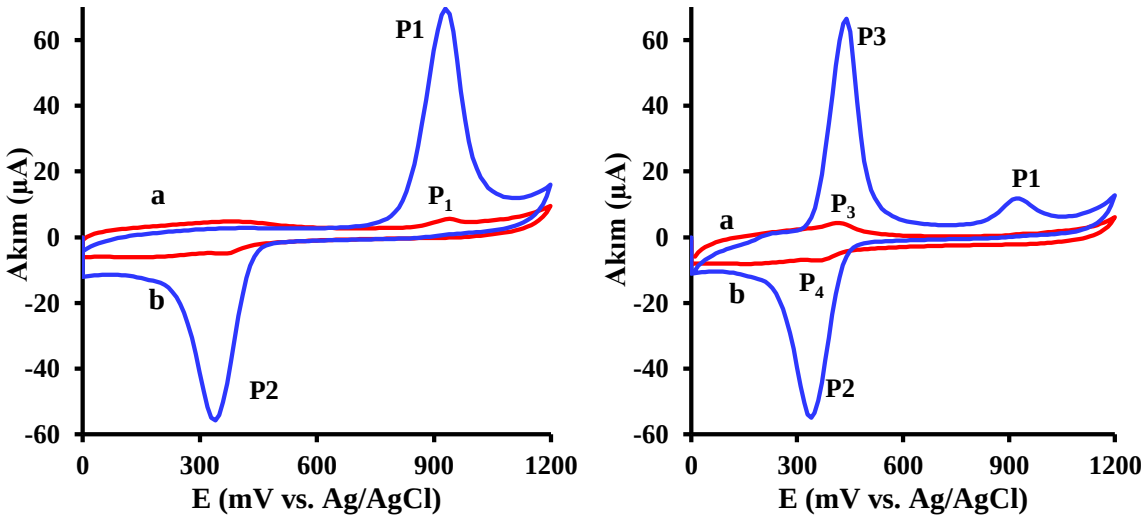
Şekil 4.1. Nyquist empedans ölçümleri a) camsı karbon elektrod b) poli alizarin kırmızısı S / camsı karbon elektrod (5mM $Fe(CN)_6^{3-/4-}$ içeren 0,1M KCl ortamında, frekans 0,1 mHz- 0,01 Hz).

Elektrodların elektron transfer kapasitesi; elektrokimyasal empedans deneyleri ile incelendi. EIS iki bölümden oluşur, düşük frekanslardaki doğrusal bölüm difüzyon kontrollü süreci gösterirken yüksek frekanstaki yarım daire bölümü elektron transfer sınırlı süreci ya da yük transfer direncine (Rct) karşılık gelmektedir. Yalın GCE de görülen yüksek frekanstaki yarım daire küçük ara yüzlü elektron direncini göstermektedir. (Qiao, J. ve diğ. 2008, Wang, F.ve diğ. 2013)

GCE üzerine poli alizarin kırmızısı S kaplandığında; poli(ARS)/GCE direnç değeri belirgin bir şekilde azalmıştır. Bu da GCE üzerine poli alizarin kırmızısı S'in başarıyla kaplandığını gösterir. Poli alizarin kırmızısı S empedans spektroskopisi Nyquist diyagramlarında neredeyse düz bir çizgi (yani difüzyon kontrollü süreci) göstermektedir.

4.2. BRUCİNİN ELEKTROKİMYASAL DAVRANIŞI

Bölüm 3.4.2'de anlatılan koşullarda brucinin elektrokimyasal davranışı incelendiğinde brucunin 0,01M H_2SO_4 ortamında elde edilen (a) camsı karbon elektrod ve (b) poli(ARS)/GCE'deki döngülü voltamogramları Şekil 4.2'de verilmiştir.

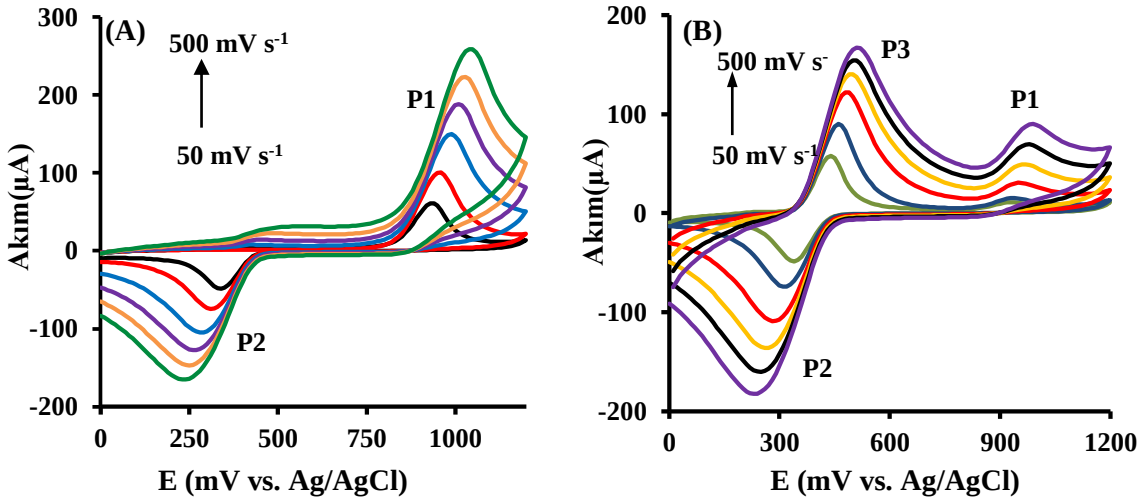


Şekil 4.2. 0,1mM brucinin 0,01M H_2SO_4 çözelti ortamında döngülü voltamogramları. A: birinci döngü, B: ikinci döngü; a:GCE, b: Poli(ARS)/GCE, tarama hızı; 50 mVs^{-1}.

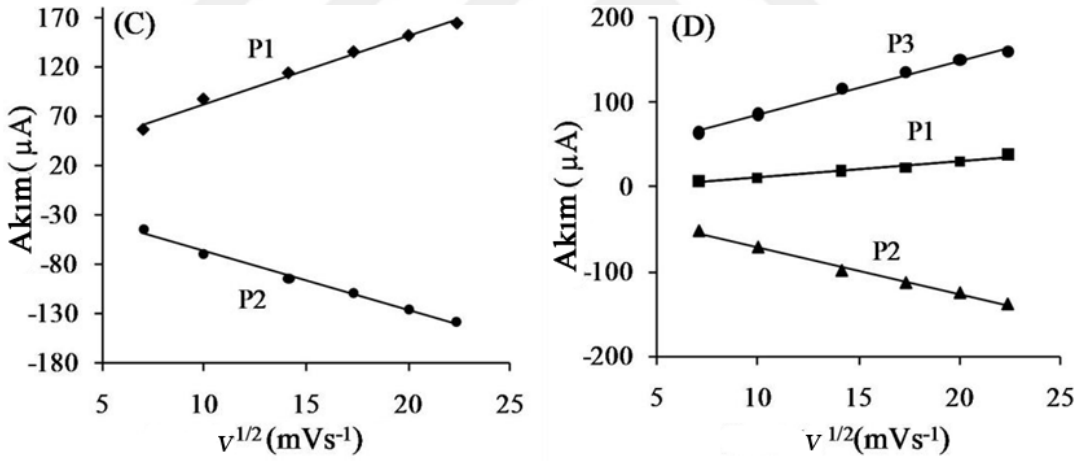
Şekil 4.2'de birinci döngüde camsı karbon elektrotta brucinin 936 mV'ta küçük bir oksidasyon piki (P1) görülmektedir (döngü A). Ardından ikinci döngüde camsı karbon elektrotta oksidasyon piki görülmedi ve P1'in akım sinyali (E_{pa}= 936 mV) azaldı veya aynı anda kayboldu (Şekil 4.2-B döngü a). Brucinin 2 akım sinyali poli(ARS)/GCE ile iyi tanımlanmıştır ve pikler belirgin şekilde ayrılmıştır. (Şekil: 4.2-A, döngü b) anodik pik (P1) potansiyeli 0,931V, katodik pik (P2) potansiyeli 0,372V olarak gözlendi ve akım sinyali büyük ölçüde artmıştır. İkinci döngüde (Şekil: 4.2-B) geri dönüşümlü redoks pikleri görülmektedir. Aynı potansiyelde akım sinyalleri (E_{pa} = 426 mV (P3), E_{pc}= 339 mV (P2), ve ΔE= 55 mV) ve P1'in akım sinyali belirgin şekilde azalmıştır. İkinci döngüde P1 geri dönüşümsüz ve akım sinyali düşüktür bu nedenle P2 tüm deneyelerde geçerli pik olarak seçildi. Poli(ARS) bileşiği; fosfat tampon çözeltisi içinde ise herhangi bir voltametrik cevap vermemiştir.

Sonuçlar, Poli(ARS)/GCE 'nin brucin oksidasyonu için güçlü bir elektrokatalitik aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir.

4.3. TARAMA HIZININ ETKİSİ



Şekil 4.3. Polializarin kırmızısı S/GCE ile 0,01M H_2SO_4' li ortamda 0,1 mM Brucinin farklı tarama hızlarındaki döngülü voltamogramları (A: Birinci döngü, B: İkinci döngü). Tarama hızları; 50, 100, 200, 300, 400, 500 mV s^{-1}.



Şekil 4.4. Karekök tarama hızı ($v^{1/2}$) pik akımı ilşkisi (C: brinici döngü D: ikinci döngü).

Öncelikle birinci döngüde P1 ve P2 oksidasyon pikleri gözlenmiştir. (şekil 4.3A) ve P3 piki ilk döngüde görülmemiştir. 50-500 mVs^{-1} tarama aralığında P1 piki pozitif bölgeye kayarken P2 akım potansiyeli negatif bölgeye kaymıştır (şekil 4.3 A).

Poli(ARS)/GCE üzerine burucinin oksidasyonunun difüzyon veya adsorpsiyon kontrollü mü olduğunu belirlemek için pik akımı ve tarama hızının karekökü ($v^{1/2}$) arasındaki ilişki incelenmiştir. Bunun sonucunda elde edilen (Şekil 4.4 C) lineer regresyon denklemleri;

P1 için I_{pa}= 6.923 $v^{1/2}(mV^{s-1})$ + 12.867 (R^2 = 0.9902)

P2 için I_{pa}= 6.923 $\nu^{1/2}$($\nu^{1/2}$) + 12.867 (R^2 = 0.9902) bulunmuştur (Şekil 4.4 C).

Bu sonuçlara göre ilk döngüde brucinin Poli Alizarin Kırmızısı S/GCE kullanılarak yapılan elektrokimyasal reaksiyonu difüzyon kontrollüdür. İkinci döngüde P1, P2, P3 pik akımları gözlenmiştir. 50-500 mV^{s-1} tarama hızı aralığında P1 ve P3 pik potansiyelleri pozitif bölgeye kayarken P2 potansiyeli negatif bölgededir.

Brucinin P2 ve P3 akımları tarama hızının karekökü ile (50-500 mV^{s-1} aralığında) doğrusal bir artış görtermiştir (Şekil 4.4 B). Tarama hızı karekökü ($\nu^{1/2}$) ile pik akımları arasındaki ilişki regrasyon denklemleriyle ifade edilirse;

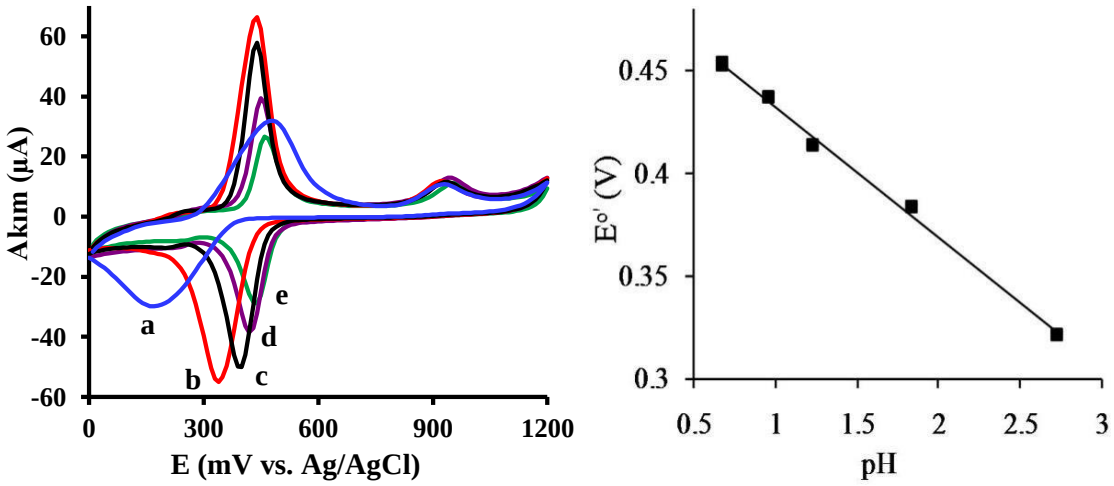
P1 için I_{pa}= 1.949 $\nu^{1/2}$ (mV^{s-1}) –8.0451 (R^2 = 0.9719), P2 için I_{pc}= 6.345 $\nu^{1/2}$(mV^{s-1}) + 22.194 (R^2 = 0.9921),

P3 için I_{pa} = –5.5584 ν (mV^{s-1}) –14.917 (R^2 = 0.9933) bulunmuştır (Şekil 4.4 D).

Bu sonuçlara göre birinci ve ikinci döngüde brucinin Poli(ARS)/GCE kullanılarak yapılan elektrokimyasal reaksiyonları difüzyon kontrollüdür. Bu sonuç Liu ve arkadaşlarının çalışmasıyla uyum içindedir (Liu ve diğ. 2013).

4.4. H_2SO_4 KONSANTRASYONUNUN ETKİSİ

Fosfat Tamponu, H_2SO_4, amonyum, NaOH ve asetat tamponu gibi çeşitli destek elektrolitler denenmiştir. Bunlar arasından en iyi sonuçlar H_2SO_4 ile elde edilmiştir. Pik potansiyeli ve pik akımları çözelti pH'sıyla ilişkilidir. Şekil 4.5'te brucinin farklı konsantrasyonlardaki H_2SO_4 çözelti ortamında döngülü voltamogramları görülmektedir.



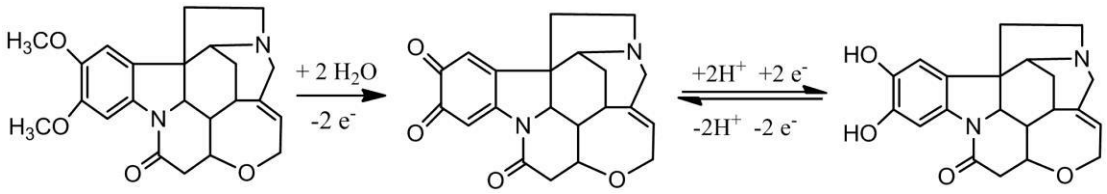
Şekil 4.5. 0,1mM Brucinin değişen konsantrasyonlarda H_2SO_4 çözelti ortamında döngülü voltamogramları (döngü a – e sırasıyla; 0.001, 0.01, 0.05, 0.1, 0.2 M)

Brucinin elektrokimyasal özelliği 1-200 mM H_2SO_4 konsantrasyon aralığında Poli(ARS)/GCE ile test edilmiştir. H_2SO_4 çözelti konsantrasyonu arttırıldığında anodik ve katodik pik akımlarındaki artış döngülü voltamogramda görülmektedir. Sonuçlar düşük pH ortamlarında gerçekleştirilen ölçümlerin daha stabil olduğunu ve daha yüksek pik akımının elde edildiğini göstermiştir. Ayrıca; 0,01M H_2SO_4 çözelti ortamında en iyi pik şekli görüldü ve pik yüksekliği maksimuma ulaşır sonrasında azalmaktadır (Şekil 4.5). Bu nedenle yüksek hassasiyet ve seçicilik elde etmek amacıyla çalışma ortamı çözeltisi olarak 0,01M H_2SO_4 seçildi.

Brucinin formal potansiyeli döngülü voltamogramdaki redoks pik potansiyellerinin ortalaması alınarak hesaplandı ($E^{o'}=(E_{pa} + E_{pc})/2$).

pH ve formal potansiyel arasındaki ilişki lineerdir ve lineer regrasyon denklemi; $E^{o'}$ (V) = – 0.064 pH + 0.4967 (R^2 = 0.9963) olarak bulunmuştur.

25°C'deki eğim değeri; -64 mV/pH. Bu değer Nerst eğim değerine (-59 mV/pH) çok yakındır. Formal potansiyel değerinin eğimi (-64 mV/pH) elektron transferine eşit sayıda protonun eşlik ettiğini gösterir.

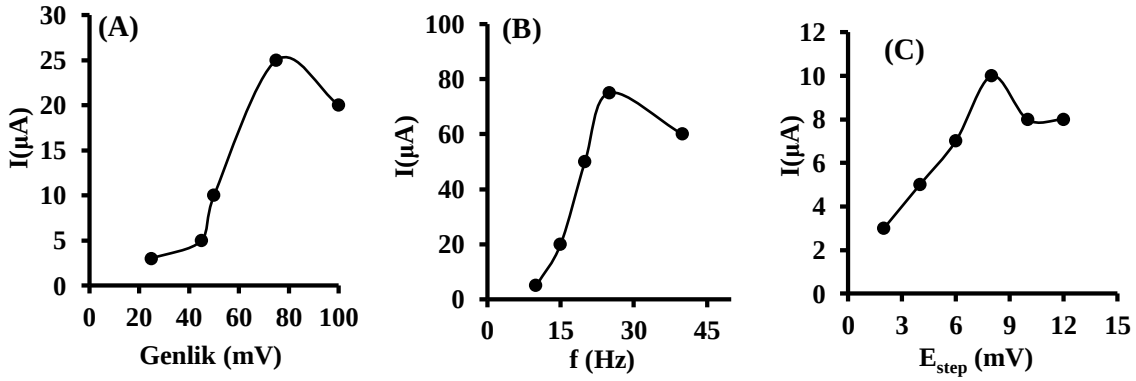


Şekil 4.6. Poli alizarin kırmızısı S/ GCE brucinin olası redoks mekanizması.

4.5. KARE DALGA PAREMETRELERİNİN ETKİSİ

Kare dalga genliği 25 mV ve 75 mV arasında artan genlikle birlikte pik akımının arttığı ve sonrasında ise azaldığı görülmüştür. Bu yüzden kare dalga genliği 75 mV olarak seçilmiştir. Brucinin pik akımı kare dalga frekansının artmasıyla 25 Hz'e kadar artış gösterirken üzerindeki değerlerde pik akım değerleri kararsızlaştığı görüldü. Frekans 25 Hz seçilerek step size parametresi araştırıldı. Pik akımı step size'ın 8 mV'a kadar artmasıyla lineer bir artış göstermiş ve sonrasında hemen hemen sabit kalmıştır. Bu nedenle, 8 mV optimum step size olarak seçilmiştir.

Yapılan araştırmalar sonucunda optimize edilmiş parametreler step size 8 mV, kare dalga genliği 75 mV, kare dalga frekansı 25 Hz olarak belirlendi.



Şekil 4.7. Pik akımına genlik, frekans ve step size parametrelerinin etkisi.

4.6. ANALİTİK PARAMETRELER

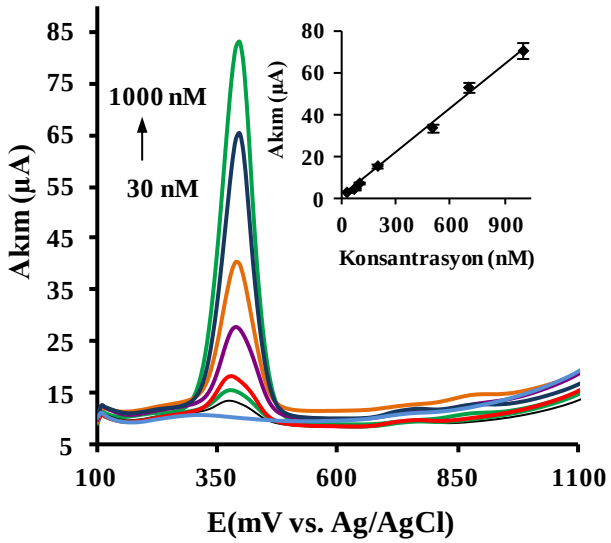
Bölüm 3.4.6'da belirtilen koşullarda elde edilen kare dalga voltamogramında Şekil 4.8'de görüldüğü gibi artan brucin konsantrasyonuyla birlikte pik akımları da artmıştır.

SWV yönteminin uygulanmasıyla kalibrasyon grafiği 30-1000 nM aralığında doğrusaldır ve kalibrasyon denklemi;

I_{pa}= 0.0709 C (nM) + 0.8591 (R^2 = 0.9963)

I_{pa} : pik akımı, C brucinin nanomolar cinsinden konsantrasyonudur.

S/N=3 alınarak 3s/m ilişkisiyle dedeksiyon limiti 5× 10^{-9} M bulunmuştur. Burada m kalibrasyon grafiğinin eğimini S/N sinyal gürültü oranıdır. Şekil 4.8'de brucinin çeşitli konsantrasyonlardaki kare dalga voltamogramları görülmektedir.



Şekil 4.8. Poli Alizarin Kırmızısı S/GCE ile 0,01 M H_2SO_4 ortamında farklı konsantrasyondaki brucinin (0, 30, 70, 100, 200, 500, 700 ve1000 nM) kare dalga voltamogramları ve brucin konsantrasyonuna karşı pik akım grafiği. Step size 8 mV, pulse size 75 mV ve frekans 25 Hz.

4.7. GELİŞTİRİLEN MODİFİYE ELEKTRODUN TEKRARLANABİLİRLİĞİ VE STABİLİTE

Geliştirilen poli(ARS)/GCE tekrarlanabilirliğini hesaplamak için birbirinden bağımsız bir şekilde beş elektrot hazırlanarak 0.1mM konsantrasyonunda brucin için pik akım değerleri belirlendi ve bağıl standart sapması (RSD) % 3,2 olarak bulundu. Geliştirilen modifiye elektrodun tekrarlanabilirliğini saptamak amacıyla camsı karbon elektrod yüzeyine 5 defa paralel olarak Alizarin kırmızısı S kaplandı ve aynı deney koşullarında brucin belirlenmesi için ölçümler alındı. Geliştirilen modifiye elektrodun tekrarlanabilirliğinde bağıl standart sapma % 2.4 bulundu. Buna ek olarak Poli Alizarin Kırmızısı S/GCE'nin uzun süreli kararlılığı operatif uygulamar için de çok önemlidir. Ayrıca Poli(ARS)/GCE kararlılığı 0.01 M çözelti ortamı seçildikten sonra incelenmiştir. Bu ortamda kaplanan elektrod 4˚C' de 5 gün bekletildi.

5 günün ardından alınan ölçümlerde pik yüksekliğinin % 3 azaldığı görülmüştür. Bu sonuçlara göre geliştirilen elektrod; tekrarlanabilirlik, yeniden kullanılabilirlik ve kararlılık açısından mükemmel özellik göstermektedir.

4.8. GİRİŞİM ETKİSİ

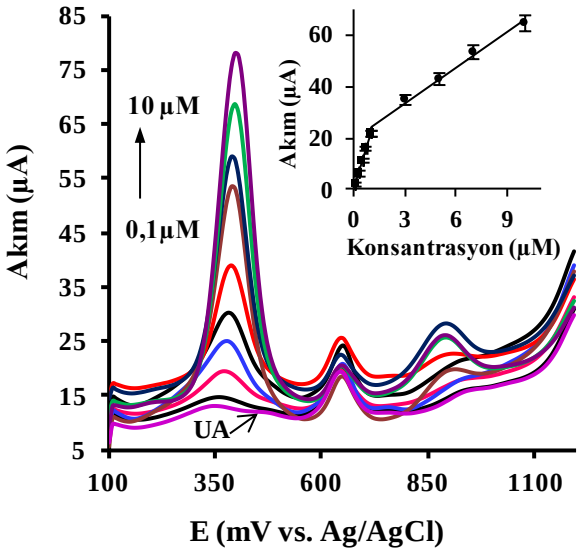
Girişim çalışması, sabit miktarda (50 nM) brucin içeren optimize deney ortamında içine her bir maddeden (askorbik asit, strikinin) çeşitli konsantrasyonlarda (1:10, 1:100) eklenerek Brucin pik akımı üzerine etkileri incelenerek yapıldı. Strikininin 100 kata kadar brucin oksidasyon pikinde bir girişime neden olmadığı görülmüştür. Na^+, K^+ gibi iyonları içeren organik bileşiklerinde 1:100 oranında brucin sinyaline %95 tolerans sınırları içerisinde önemli ölçüde etkisi görülmemiştir. Ancak 10 kat askorbik asidin brucin oksidasyon pikine etki ettiği görülmüştür.

4.9. ANALİTİK UYGULAMALAR

Yöntemin gerçek örnekte brucin analizinin performansını ve uygulanabilirliğini doğrulamak için bu modifiye elektrot idrar örneğinde brucin tayinine uygulandı.

Şekil 4.9'da idrar örneği bulunan çözeltiden elde edilen kare dalga voltamogramları görülmektedir. Şekil 4.9'da görülebileceği gibi ürik asid oksidasyon piki 0,65 voltta gözlenmiştir. Ancak brucin pik yüksekliğinin idrar örneği bulunan çözeltide yapılan deneylerde azaldığı görülmüştür. Bu nedenle brucin belirlenmesi için yeni bir kalibrasyon eğrisi gerekmektedir. Matriks eşleşmeli lineer kalibrasyon grafikleri brucin-idrar içeren 0.1-10 µM aralığında değişen konsantrasyonlardaki çözeltilerle ölçümler alınarak çizildi.

İlk eğri 0,1-1 µM brucin konsantrasyon aralığında; [I (µA) = 0.0224 C (µM) + 0.0671 (R^2 = 0.9983)], diğer kalibrasyon eğrisi 1-10 µM aralığında; [I= 0.0047 C (µM) + 19.378 (R^2 = 0.9903)] olarak bulunmuştur.



Şekil 4.9. 0,1; 0,3; 0,5; 0,7; 1,0; 3,0; 5,0; 7,0 ve 10 µM brucin içeren idrar örneğinin kare dalga voltamogramları. UA: Ürik aside ait pik.

Brucin konsantrasyonu 10 µM'dan daha büyük iken pik yüksekliği yavaş yavaş yok oldu bu da geliştirilen modifiye elektrodun tükendiğini gösterir. Dedeksiyon limiti 0,05 µM olarak hesaplandı. İdrarda brucin tayini aynı şartlar altında beş kez tekrarlandı. İdrar örneğinde brucin tayini için standart katkı yöntemi kullanıldı. Brucinin geri kazanımı % 95-105 aralığında bulunmuştur. Bağıl standart sapma %2.7 olarak bulundu ve böylece yöntemin doğruluğu, tekrarlanabilirliği analitik hassasiyeti ispatlanmıştır. Bu yöntem farmakolojik çalışmaların yanı sıra anti-doping ilaç analizlerinde de kullanılabilir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada Alizarin kırmızısı S monomeri başarılı bir şekilde elektrokimyasal olarak camsı karbon elektrod üzerine polimerize edilmiştir. Çok basit ve hassas bir elektrokimyasal sensör olup brucin tayini için önerilmiştir. Modifiye elektrod üzerinde brucinin oksidasyonu döngüsel voltametri ve kare dalga voltametri yöntemleri kullanılarak incelenmiştir.

Poli(ARS)/GCE güvenilirliği ve stabilitesi nedeniyle geliştirilen yöntem; biyolojik sıvılarda, doping ilaçlarında brucin tayinine imkan sağlayabilecektir.

Tablo 5.1'de daha önce yayınlanan çalışmalarda Brucinin tayin edilmesi için geliştirilen sensörlerin elektroanalitik performanslarının karşılaştırılması gösterilmiştir.

Tablo 5.1. Brucin tayini için geliştirilen sensörlerin elektroanalitik performanslarının karşılaştırılması

Elektrot	Metod	Lineer aralık (μM)	Dedeksiyon limiti (μM)	Referans
Hg elektrot	Adsorptif sıyırma voltametrisi	0.02–1	0.002	Li ve diğ. (1995)
4–amino–2–merkaptopirimidin /tek tabaka altın elektrot	Kare dalga adsorptif sıyırma voltametrisi	0.4–200	0.06	Zhang ve diğ. (2004)
Poli(dimetilsiloksan) mikroçip	Döngülü voltametri	0.7–150	0.2	Zhang ve diğ. (2006)
Poli–o–fenilendiamin/Tek duvarlı nanotüp	Doğrusal tarama voltametrisi	0.62–12	0.21	Ping ve diğ. (2012)
C–Ni/Camsı karbon elektrot	Diferansiyel puls voltametrisi	0.047–240	0.014	Wang ve diğ. (2007)
Poli(DL–Aspartik asit)	Diferansiyel puls voltametrisi	0.05–90	0.03	Liu ve diğ. (2013)
Çok duvarlı karbon nanotüp/ Karbon pasta elektrot	Diferansiyel puls voltametrisi	5–355	0.28	Behpour ve diğ. (2012)
Çok duvarlı karbon nanotüp/ Camsı karbon elektrot	Kare dalga voltametrisi	1–100	0.2	Wang ve diğ. (2005)
Poly(alizarin kırmızısı S)/Camsı karbon elektrot	Kare dalga voltametrisi	0.03–1.0	0.005	Bu çalışma

Tabloyu değerlendirecek olursak en düşük dedeksiyon limiti 0.005 μM ile bizim çalışmamızda görülmektedir, buna en yakın sonuç diferansiyel puls voltametrisinde C– Ni/GCE kullanılarak 0.014μM bulunmuştur, diğer kullanılan tüm elektrodlarda dedeksiyon limiti daha büyük olduğu görülmektedir. Geliştirdiğimiz yöntemi tablo 5.1'de görülen literatürdeki yöntemlerle

kıyasladığımızda Brucinin elektrokimyasal oksidasyonunun daha düşük dedeksiyon limitine sahip olduğu görülmektedir.

KAYNAKLAR

Ba, X., Luo, L. Q.,. Ding, Y. P, Zhang, Z., Chu, Y. L. Wang, B. J. and Ouyang, X. Q. 2012, Poly(alizarin red)/graphene modified glassy carbon electrode for simultaneous determination of purine and pyrimidine, *Analytica Chimica Acta*, 752, 94–100.

Barroso, M., Gallardo, E., Margalho, C., Ávila, S., Marques, E.P., Vieira, D.N. and López-Rivadulla, M., 2005, Application of solid phase microextraction to the determination of strychnine in blood, *Journal of Chromatography B*, 816 (1-2), 29–34.

Behpour, M., Ghoreishi, S.M., Khayatkashani, M. and Motaghedifard, M., 2012, A new method for the simultaneous analysis of strychnine and brucine in Strychnos nux-vomica unprocessed and processed seeds using a carbon-paste electrode modified with multi-walled carbon nanotubes, *Phytochemical Analysis*, 23 (2), 95–102.

Prof.Dr Bertucat M., 1975, Alkoloidler ve analog sentetik türevleri, *Farmasötik Kimya Ders Notları* Ankara 260-262

Frédérich, M., Choi, Y.H., and Verpoorte, R., 2003, Quantitative analysis of strychnine and brucine in Strychnos nux-vomica using $_1$H–NMR, *Planta Medica*, 69 (12), 1169 –1171.

Han, H. T., Wu, X.R., Wu, S.J., Zhang, Q., Lu, W.J., and Pan., D.W., 2013, Fabrication of alizarin red S/multi-walled carbon nanotube nanocomposites and their application in hydrogen peroxide detection, *Journal of Materials Science*, 48 (9), 3422–3427.

Hatefi-Mehrjardi, A., Ghaemi,N., Karimi, M.A., Ghasemi, M., and Islami-Ramchahi, S., 2014, Poly(alizarin Red S)-modified glassy carbon electrode for simultaneous electrochemical determination of levodopa, homovanillic acid and ascorbic acid, *Electroanalysis*, 26 (11), 2491–2500.

Kalaycı, G., 2008 *Polianilin / Aktif Karbon Kompozit Maddesinin Sentezi, Karakterizasyonu ve İletken Film Yapımı*, Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 21 - 32

Li, M., Hu, N., and Lin. S., 1995, Indirect measurement of brucine by adsorptive stripping voltammetry at mercury electrode, *Talanta*, 42 (10), 1389–1394.

Li, X. T., Chen, X.J., and Wang, G.J., 2004, Study on pharmacokinetics of brucine in mice, *Chinese Pharmaceutical Journal*, 39, 452–454.

Liu, H. H., Chen, Y.L., Liu, Y.C., and Yang, Z.S., 2013a, A sensitive sensor for determination of l-tryptophan based on gold nanoparticles/poly(alizarin red S)-modified glassy carbon electrode, *Journal of Solid State Electrochemistry*, 17 (10), 2623–2631.

Liu, J., Yang, L., Zhang, K., Li, K., Wu,X., and Ye. B., 2013b, The detailed electrochemical character of brucine at a poly(aspartic acid)-modified electrode and its sensitive determination, *Analytical Methods*, 5 (11), 2712–2719.

Liu, P., Zhang, X., Xu, W., Guo, C., and Wang, S., 2012, Electrochemical sensor for the determination of brucine in human serum based on molecularly imprinted poly-o-phenylenediamine/SWNTs composite film, *Sensors and Actuators B*, 163 (1), 84–89.

Long, Y., Huang, K., Yuan, J., Han, D., Niu, L., Chen, Z., Gu, C., Jin, A., Duvail, J.L., 2006, Electrical conductivity of a single Au/polyaniline microfiber, *Applied Physics Letters,* 88 (16), 2113.

Luo, J. P., Zhang, Z.S., Lian, Y.L., Du, Z.M., and Tian, C.,1999, Determination of strychnine in Jinlong Qubi Wan by TLC scanning, Chinese *Journal of Pharmaceutical Analysis Letters*, 19 (3), 179–181

Nyasulu, F.W., 1990, Brucine, part 1: Electrochemistry of brucine, *Electroanalysis,* 2 (4), 327–331.

Qiao, J. X., Luo, H. Q., Li, N. B., 2008, Electrochemical behavior of uric acid and epinephrine at an electrochemically activated glassy carbon electrode, *Colloids and Surfaces B*, 62 (1), 31-35.

Schumacher, S., T. Nagel, F.W., Scheller, and N. Gajovic-Eichelmann. 2011, Alizarin red S as an electrochemical indicator for saccharide recognition, *Electrochimica Acta* 56 (19), 6607–6611.

Sen, M., Tamer, U., and Pekmez, N.Ö., 2012. Carbon nanotubes/alizarin red S-poly(vinyl-ferrocene) modified glassy carbon electrode for selective determination of dopamine in the presence of ascorbic acid, *Journal of Solid State Electrochemistry*, 16 (2), 457–463.

Sotherm, T.A., Elsenbaumer, R.L., Reynolds, J.R., 1988, New York, Handbook of Conducting Polymers 2nd Edition, *Marcel Dekker*, 29, 86, 124 - 134, 533 - 588, 708

Sun, J., X.X., Gu, X.Y., Zhao, and Ren, Z.J., 2007, RP-HPLC determination of strychnine and brucine in Fengshi Antai tablets, *Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis*, 27 (5), 757–759.

Wang, F., Yu, X., Li, H., Li, M., Feng, Q., 2013, Graphene-Nafion Composite Film Modified Electrode for Voltammetric Sensor for Determination of Dihydromyricetin, *Journal of the Chinese Chemical Society,* 60 (8), 1019-1026

Wang, S. Xie, F.F., and Hu, R.F., 2007, Electrochemical study of brucine on an electrode modified with magnetic carbon-coated nickel nanoparticles, *Analytical and Bioanalytical Chemistry,* 387 (3), 933–939.

Zhang, Q. L., Xu, J.J., Lian, H.Z., Li, X.Y., and Chen. H.Y., 2006, Rapid separation of strychnine and brucine on a dynamically modified poly(dimethylsiloxane) microchip followed by electrochemical detection, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 384 (1), 265–270.

Zhang, Q., Pan, D., Zhang, H., Han, H., and Kang Q., 2014, Development of a poly(alizarin red S)/ ionic liquid film modified electrode for voltammetric determination of catechol, *Electrochimica Acta*, 133, 23–29.

Zhang, X. H., Wang, S.F., and Sun, N.J., 2004, Direct determination of brucine by square wave voltammetry on 4-amino-2-mercaptopyrimidine self-assembled monolayer gold electrode, *Bioelectrochemistry*, 65 (1), 41–46.

Zhong, H., Li,N., and Zhao, F., 2004, Determination of proteins with alizarin red S by Rayleigh light scattering technique, *Talanta*, 62 (1), 37–42.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Yasemin MÜMİN
Doğum Yeri	Bakırköy/İstanbul
Doğum Tarihi	21.10.1991
Uyruğu	☑ T.C. ❒ Diğer:
Telefon	05379662021
E-Posta Adresi	yasemin-mumin@hotmail.com
Web Adresi	



Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Fakülte	Mühendislik Fakültesi
Bölümü	Kimya Bölümü
Mezuniyet Yılı	Tarih girmek için tıklayın veya dokunun.

Yüksek Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Enstitü Adı	Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Anabilim Dalı	Kimya Bölümü
Programı	Analitik Kimya

Makale ve Bildiriler
Yasemin Mümin, Hayati Filik, Sevda Aydar, Asiye Aslıhan Avan (2016) Electrochemical Determination of Brucine in Urine with a Poly(Alizarin Red S)-modified Glassy Carbon Electrode, Analytical Letters, 49:17, 2716-2727, DOI: 10.1080/00032719.2016.1154569