T.C.
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI
ANALİTİK KİMYA PROGRAMI

GRAFEN OKSİT TEMELLİ İLETKEN POLİMER VE ALTIN NANOPARÇACIK MODİFİYE ELEKTROTLARIN VOLTAMMETRİK HAZIRLANMASI KARAKTERİZASYONU VE HESPERETİNİN ANALİTİK UYGULAMALARI

Sena ZADE

Danışman
Prof. Dr. Süleyman KOÇAK

MANİSA–2024

Sena
ZADE

GRAFEN OKSİT TEMELLİ İLETKEN POLİMER VE ALTIN NANOPARÇACIK MODİFİYE ELEKTROTLARIN VOLTAMMETRİK HAZIRLANMASI KARAKTERİZASYONU VE HESPERETİNİN ANALİTİK UYGULAMALARI

2024

TAAHHÜTNAME

Bu tezin Manisa Celal Bayar Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Kimya Ana Bilim Dalında akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığını, tamamen kendi çalışmam olduğunu, her alıntıya kaynak gösterdiğimi, tezin yazımında akademik ve etik kurallara aykırı herhangi bir yapay zeka ve program kullanmadığımı beyan ederim.

İmza
Sena ZADE

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Sena ZADE

Manisa Celal Bayar Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Süleyman KOÇAK

Hesperetin, portakal, greyfurt ve mandalina gibi turunçgil meyvelerinin kabuklarında bulunan doğal bir flavonoiddir. Hesperetin güçlü polifenolik yapısı nedeniyle antioksidan özellik göstermektedir. Anti kanser özellik sergilemesinden dolayı sağlık tedavilerinde de son yıllarda kullanılmaya başlanmıştır. Hesperetinin duyarlı tayini için yeni ve pratik yöntemlere ihtiyaç vardır. Bu amaçla yeni bir elektrokimyasal sensör platformu hazırlanmıştır.

Bu tez projesinde yedi farklı organik boya maddesi grafen oksit (GO/GCE) elektrot yüzeyine elektrokiyasal yolla döngüsel voltammetri kullanılarak polimerleştirilmiştir. Bu elektrotların optimizasyonu hesperetinin elektrokimyasal yükseltgenmesi ile test edildi. Monomer derişimi, kaplama döngü sayısı, pH gibi vb. deneysel parametreler optimize edildi. Daha sonra iletken polimer kaplı grafen oksit elektrota altın nanoparçacıklar (AuNP) döngüsel voltammetri ile modifiye edildi. Hazırlanan elektrot AuNP/p(iletken polimer)/GO/GCE olarak isimlendirildi.

Hesperetininin elektrokimyasal davranışına en iyi yanıt veren polimerler poli(luminol) ve poli(Sulfonazo III) olarak belirlenmiştir. Bu modifiye elektrot malzemelerin yüzey karakterizasyonu SEM-EDX analizi ile yapılmıştır. Grafen oksit modifiye elektrotların yüzeyinde oluşturulan altın nanoparçacıklar 20-40 nm boyutlarında olduğu hesaplandı. Altın nanoparçacıklar küre ve yıldız şeklinde oluştuğu görüldü.

Hesperetinin analitik tayini için poli(luminol) esaslı AuNP/p(LML)/GO/GCE ve poli(Sulfonazo III) easalı AuNP/p(SFO)/GO/GCE elektrotları hazırlandı. Bu elektrotlarda hesperetinin kalibrasyon grafikleri amperometrik ve doğrusal taramalı voltammetri (LSV) ile oluşturuldu. Elektrotun tekrarlanabilirliği ve hesperetin tayinine girişim çalışmaları yapıldı. Hesperetinin LSV ile artan derişim grafiğinden AuNP/p(LML)/GO/GC elektrotta $2x10^{-8}$ M – $1x10^{-4}$ M doğrusal olduğu ve belirtme sınırı $6x10^{-9}$ M olarak hesaplandı. Hesperetinin AuNP/p(SFO)/GO/GC elektrotta ise $6x10^{-8}$ M – $1x10^{-3}$ M aralığında doğrusal olduğu bulundu. Bu elektrot için belirtme alt sınırı $2x10^{-8}$ M olarak hesaplandı.

Geliştirilen modifiye elektrotlarda portakal kabukları ekstraktlarındaki hesperetin tayini standart katma yöntemi ile analizlendi ve geri kazanım çalışmaalrı yapıldı.

Anahtar Kelimeler: Hesperetin, grafen oksit, poli(luminol), poli(Sulfonazo III), altın nanoparçacıklar, voltammetri

2024, 67 sayfa

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

Sena ZADE

Manisa Celal Bayar University
Graduate School of Education
Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Süleyman KOÇAK

Hesperetin is a natural flavonoid found in the peels of citrus fruits such as oranges, grapefruits and tangerines. Hesperetin has antioxidant properties due to its strong polyphenolic structure. It has started to be used in health treatments in recent years due to its anti-cancer properties. New and practical methods are needed for the sensitive determination of hesperetin. For this purpose, a new electrochemical sensor platform has been prepared.

In this thesis project, seven different organic dyes were polymerized onto the graphene oxide (GO/GCE) electrode surface electrochemically using cyclic voltammetry. Optimization of these electrodes was tested by electrochemical oxidation of hesperetin. Such as monomer concentration, number of coating cycles, pH, etc. experimental parameters were optimized. Then, conductive polymer-coated graphene oxide electrode was modified with gold nanoparticles (AuNP) by cyclic voltammetry.

The polymers that best responded to the electrochemical behavior of hesperetinin were determined as poly(luminol) and poly(Sulfonazo III). Surface characterization of these modified electrode materials was performed by SEM-EDX analysis. The gold nanoparticles formed on the surface of graphene oxide modified electrodes were calculated to be 20-40 nm in size. Gold nanoparticles were observed to form in the shape of spheres and stars.

For the analytical determination of hesperetin, poly(luminol) based AuNP/p(LML)/GO/GCE and poly(Sulfonazo III) based AuNP/p(SFO)/GO/GCE electrodes were prepared. Calibration graphs of hesperetin at these electrodes were created by amperometric and linear scanning voltammetry (LSV). Reproducibility of the electrode and interference in the determination of hesperetin were studied. From the graph of increasing concentration of hesperetin with LSV, it was calculated that $2x10^{-8}$ M – $1x10^{-4}$ M was linear in the AuNP/p(LML)/GO/GC electrode and the detection limit was calculated as $6x10^{-9}$ M. Hesperetin was found to be linear in the range of $6x10^{-8}$ M – $1x10^{-3}$ M at the AuNP/p(SFO)/GO/GC electrode. The lower limit of specification for this electrode was calculated as $2x10^{-8}$ M.

The determination of hesperetin in orange peel extracts was analyzed by the standard addition method on the developed modified electrodes and recovery studies were performed.

Keywords: Hesperetin, graphene oxide, poly(luminol), poly(sulfonazo III), gold nanoparticles, voltammetry

2024, 67 pages

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasında sağlık açısıdan büyük önemi olan hesperetin maddesinin grafen oksit, iletken polimerler ve altın nanoparçacıklar ile modifiye camımsı karbon elektrotta elektrokimyasal davranışı çalışılmıştır. Çeşitli turunçgillerde bulunduğu bilinen hesperetin özellikle portakalın kabuk kısmında yer almaktadır. Hesperetin tayini için geliştirilen olçüm yöntemi gerçek örneklere uygulanarak analizin analitik validasyonları yapılmıştır. Bu çalışma ile duyarlı hesperetin tayini gerçekleştirilmiştir.

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca bilgileriyle ışık tutan, çalışmamda bana yön gösteren, destek ve emeklerini esirgemeyen öğrencisi olmaktan gurur duyduğum ve her zaman gurur duyacağım tez danışmanım sayın Prof. Dr. Süleyman KOÇAK başta olmak üzere,

Eğitimim boyunca, her hayalimde ve verdiğim her kararda en büyük destekçilerim sevgisini her zaman her an hissettiğim annem Semra ZADE ve babam Yaşar ZADE'ye

Yorulduğumda yaslandığım omuz ve motivasyonlarıyla beni destekleyen mutluluğum sevgili eşim Şaban ÇAVUŞOĞLU'na

Hayallerimin ve ideallerimin her zaman arkasında sağlamca durmamı destekleyen bana bilimi sevdiren abim Alican ZADE'ye

Her zaman manevi desteğini esirgemeyen BAŞOĞLU ve ÇAVUŞOĞLU ailesine teşekkürlerimi sunarım.

Sena ZADE ÇAVUŞOĞLU
Manisa, 2024

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

LML	Luminol
SFO	Sülfonozol III
GO	Grafen Oksit
AuNP	Altın Nanoparçacık
CV	Döngüsel Voltammetri
LSV	Doğrusal Taramalı Voltommetri
DPV	Diferansiyel Puls Voltommetri
SWV	Kare Dalga Voltommetri
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1. Flavonoidlerin temel yapısı [2]. 3
Şekil 1.2. Hesperetinin Yapısı 4
Şekil 1.3. Hesperidinin Yapısı 4
Şekil 1.4. Vitamin C ve Portakal Meyvesi 5
Şekil 1.5. Saf Hesperetin ve metanolde çözünmüş Hesperetin 6
Şekil 1.6. Voltametride kullanılan potansiyel uyarma sinyalleri. 10
Şekil 1.7. Döngüsel voltammetrinin uygulanma şekilleri. 11
Şekil 1.8. Üçlü Elektrot hücre sistemi 12
Şekil 1.9. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) 14
Şekil 1.10. Grafen ve grafen oksit yapıları [18]. 15
Şekil 1.11. Brodie yöntemi ile elde edilen grafen oksitin SEM görüntüsü [19]. 17
Şekil 1.12. Yaygın olarak kullanılan iletken polimerler [22]. 17
Şekil 1.13. Luminolün kimyasal ışıma raksiyon mekanizması [25]. 20
Şekil 1.13. Luminolün açık yapısı 20
Şekil 1.14. Poly(sulfonazo III) Reaksiyon Mekanizması [27]. 21
Şekil 1.15. Hesperetin döngüsel voltammetrisi ve olası reaksiyon mekanizmaları [33] 24
Hesperetinin polimer ve metal oksit katkılı çeşitli elektrotlarda voltammetrik analizleri yapılmıştır [34,35,36]. 24
Şekil 2.1. pH 2 Fosfat tamponunda GCE elektrot yüzeyine Luminolün 25 döngü döngüsel voltammogramı. 27
Şekil 2.2. pH 2 Fosfat tamponunda GCE elektrot yüzeyine sulfonazo III'ün 10 döngü döngüsel voltammogramı. 28
Şekil 2.3. p(LML)/GO/GCE üzerine 5mM $HAuCl_4$ çözeltisinden 5 döngü döngüsel voltammetri ile kaplanması 29
Şekil 2.4. p(LML)/GO/GCE üzerine 5mM $HAuCl_4$ çözeltisinden 10 döngü döngüsel voltammetri ile kaplanması 29
Şema 2.1. Hesperetin tayini için modifiye elektrot hazırlama ve voltammetrik ölçüm yönteminin şematik gösterimi. 30
Şekil 3.1. Farklı AuNp/p(iletken polimer)/GCE elektronların pH 2 fosfat tamponunda $3x10^{-4}$ M hesperetinin döngüsel voltammogramları. (tarama hızı: 50 mV/s) 32
Şekil 3.2. GO (a-c) ve AuNP/p(LML)/GO/GCE (d-ı) için SEM görüntüleri 33
Şekil 3.3. a) AuNP/p(LML)/GO/GCE için SEM görüntüsü b) EDX analizi. 34
Şekil 3.4. p(SFO)/GO (a,b,c) ve AuNP/p(SFO)/GO/GCE için SEM görüntüleri 35
Şekil 3.5. a) AuNP/p(SFO)/GO/GCE için SEM görüntüsü b) EDX analizi. 36
Şekil 3.6. Yalın GCE ve p(LML) modifiye elektroların pH 2 fosfat tamponunda $3x10^{-4}$ M hesperetinin döngüsel voltammogramı 37
Şekil 3.7. Yalın GCE ve p(SFO) modifiye elektroların pH 2 fosfat tamponunda $3x10^{-4}$ M hesperetinin döngüsel voltammogramı. 38
Şekil 3.8. AuNP/p(LML)/GO/GCE elektrotta a) $3x10^{-4}$ hesperetinin farklı pH ortamındaki döngüsel voltammogram, b) pH-Ep grafiği. 40
Şekil 3.9. AuNP/p(SFO)/GO/GCE elektrotta a) $3x10^{-4}$ hesperetinin farklı pH ortamındaki döngüsel voltammogram, b) pH-Ep grafiği. 41

Şekil 3.10 AuNP/p(LML)/GCE elektrot için elektrot için farklı Au^{3+} döngü sayılarında $3x10^{-4}$ M hesperetinin döngüsel voltammogramı 42
Şekil 3.11 AuNP/p(SFO)/GCE elektrot için elektrot için farklı Au^{3+} döngü sayılarında $3x10^{-4}$ M hesperetinin döngüsel voltammogramı 42
Şekil 3.12 AuNP/p(LML)/GCE elektrot için elektrot için farklı LML döngü sayılarında $3x10^{-4}$ M hesperetinin döngüsel voltammogramı 43
Şekil 3.13. AuNP/p(LML)/GO/GCE elektrot için elektrot için farklı LML döngü sayılarında $3x10^{-4}$ M hesperetinin döngüsel voltammogramı 44
Şekil 3.14. AuNP/p(SFO)/GCE elektrot için elektrot için farklı SFO döngü sayılarında $3x10^{-4}$ M hesperetinin döngüsel voltammogramı 45
Şekil 3.15. AuNP/p(LML)/GO/GCE elektrot için elektrot için farklı LML döngü sayılarında $3x10^{-4}$ M hesperetinin döngüsel voltammogramı 45
Şekil 3.16. Farklı tarama hızlarında $3x10^{-4}$ M hesperetinin AuNP/p(LML)/GO/GCE'deki döngüsel voltogramları, b) tarama hızına karşı pik akım grafiği ve c) tarama hızının karekköküne karşı pik akım grafiği 46
Şekil 3.17. a) Farklı tarama hızlarında $3x10^{-4}$ M hesperetinin AuNP/p(SFO)/GO/GCE'deki döngüsel voltogramları, b) tarama hızına karşı pik akım grafiği ve c) tarama hızının karekköküne karşı pik akım grafiği 47
Şekil 3.18. $2x10^{-5}$ M Hesperetinin pH 2 Fosfat tamponunda AuNP/p(LML)/GO/GCE de farklı potansiyellerdeki (0.70V, 0.77V, 0.82V) amperogramı. 48
Şekil 3.19. a) pH 2 Fosfat tamponunda AuNP/p(LML)/GO/GCE modifiye elektrotta artan hesperetin derişiminin kronoamperomogramı, b) Amperogramdan elde edilen kalibrasyon grafiği. 49
Şekil 3.20. a) pH 2 Fosfat tamponunda AuNP/p(SFO)/GO/GCE modifiye elektrotta artan hesperetin derişiminin kronoamperomogramı, b) Amperogramdan elde edilen kalibrasyon grafiği. 50
Şekil 3.21. a) AuNP/p(LML)/GO/GCE de hesperetin derişimleri için doğrusal tarama voltammogramları a) pH Fosfat tamponu, b)$2x10^{-8}$ M, c) $4x10^{-8}$ M, ç)$6x10^{-8}$ M, d) $8x10^{-8}$ M, e) $1x10^{-7}$ M, f) $2x10^{-7}$ M, g) $4x10^{-7}$ M, h) $6x10^{-7}$ M, ı) $8x10^{-7}$ M, i) $1x10^{-6}$ M, j) $2x10^{-6}$ M, k) $4x10^{-6}$ M, l) $6x10^{-6}$ M, m) $8x10^{-6}$ M, n) $1x10^{-5}$ M, o) $2x10^{-5}$ M, ö) $4x10^{-5}$ M, p) $6x10^{-5}$ M, r) $8x10^{-5}$ M, ş) $1x10^{-4}$ M, b) Hesperetinin kalibrasyon grafiği. 52
Şekil 3.22. a) AuNP/p(SFO)/GO/GCE de hesperetin derişimleri için doğrusal tarama voltammogramları a) pH Fosfat tamponu, b)$2x10^{-8}$ M, c) $4x10^{-8}$ M, ç)$6x10^{-8}$ M, d) $8x10^{-8}$ M, e) $1x10^{-7}$ M, f) $2x10^{-7}$ M, g) $4x10^{-7}$ M, h) $6x10^{-7}$ M, ı) $8x10^{-7}$ M, i) $1x10^{-6}$ M, j) $2x10^{-6}$ M, k) $4x10^{-6}$ M, l) $6x10^{-6}$ M, m) $8x10^{-6}$ M, n) $1x10^{-5}$ M, o) $2x10^{-5}$ M, ö) $4x10^{-5}$ M, p) $6x10^{-5}$ M, r) $8x10^{-5}$ M, s) $1x10^{-4}$ M, ş)$2x10^{-4}$ M, t) $3x10^{-4}$ M, u) $4x10^{-4}$ M, ü) $5x10^{-4}$ M, t) $6x10^{-4}$ M, v) $7x10^{-4}$ M, y) $8x10^{-4}$ M, z) $9x10^{-4}$ M, w) $1x10^{-3}$ M, b) Hesperetinin kalibrasyon grafiği. 53
Şekil 3.23. AuNP/p(LML)/GO/GCE elektrotta pH 2 tamponu ortamında a) Askorbik asit b) Fe^{+2} c) Fe^{+3} 54
Şekil 3.24. AuNP/p(SFO)/GO/GCE elektrotta pH 2 tamponu ortamında a) Askorbik asit b) Fe^{+2} c) Fe^{+3} 55
Şekil 3.25. AuNP/p(SFO)/GO/GCE elektrotta pH 2 fosfat ortamında $3x10^{-4}$ M Hesperetinin günler arası tekrarlanabilirliği pik akımına etkisi 56
Şekil. 3.26. Portakal kabuklarının hazırlanması 57
Şekil 3.27. Portakal ekstraktında Hesperetin AuNPs/p(LML)/GO/GC elektrotta LSV ile tayini, a) 9 mL pH 2 Fosfat Tamponu, b) 1 mL Portakal ekstratı, c) $5x10^{-5}$ M hesperetin, d) $1x10^{-4}$ M hesperetin, e) $2x10^{-4}$ M hesperetin, f) $3x10^{-4}$ M hesperetin. 58

Şekil 3.28. Portakal ekstraktında Hesperetin AuNPs/p(LML)/GO/GC elektrotta LSV ile tayini, a) 9 mL pH 2 Fosfat Tamponu, b) 1 mL Portakal ekstratı, c) $5x10^{-5}$ M hesperetin, d) $1x10^{-4}$ M hesperetin, e) $2x10^{-4}$ M hesperetin, f) $3x10^{-4}$ M hesperetin. 59
Şekil 3.29. Portakal ekstraktında Hesperetin AuNPs/p(SFO)/GO/GC elektrotta LSV ile tayini, a) 9 mL pH 2 Fosfat Tamponu, b) 1 mL Portakal ekstratı, c) $5x10^{-5}$ M hesperetin, d) $1x10^{-4}$ M hesperetin, e) $2x10^{-4}$ M hesperetin, f) $3x10^{-4}$ M hesperetin, g) $4x10^{-4}$ M hesperetin, h) $5x10^{-4}$ M hesperetin. 60
Şekil 3.30. Portakal ekstraktında Hesperetin AuNPs/p(SFO)/GO/GC elektrotta LSV ile tayini a) 9 mL pH 2 Fosfat Tamponu, b) 1 mL Portakal ekstratı, c) $5x10^{-5}$ M hesperetin, d) $1x10^{-4}$ M hesperetin, e) $2x10^{-4}$ M hesperetin, f) $3x10^{-4}$ M hesperetin, g) $4x10^{-4}$ M hesperetin, h) $5x10^{-4}$ M hesperetin. 61

TABLOLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1.1. Bazı İletken Polimerler ve Genel Uygulama Alanları [24]..... 18

Tablo 1.2. Hesperitin çeşitli elektrot yüzeylerindeki davranışlarının literatür tablosu. 23

Tablo 3.1. Yalın GCE ve p(Luminol) modifiye elektrotlarda pH 2 fosfat tamponunda $3x10^{-4}$ M Hesperetinin akım değerleri 37

Tablo 3.2 Yalın GCE ve p(sulfonoza III) modifiye elektrotlarda pH 2 fosfat tamponunda $3x10^{-4}$ mM hesperetinin akım değerleri 38

Tablo. 3.3. AuNP/p(SFO)/GO/GCE elektrotta pH 2 fosfat ortamında $3x10^{-4}$ M Hesperetinin günler arası tekrarlanabilirlik akım değerleri 56

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TAAHHÜTNAME III
ÖZET IV
ABSTRACT VI
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR VIII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ IX
ŞEKİLLER DİZİNİ X
TABLOLAR DİZİNİ XIII
İÇİNDEKİLER XIV
GİRİŞ 1
1. GENEL BİLGİLER 3
1.1. Hesperetin ve Hesperidin 4
1.1.1 Fizikokimyasal Özellikleri 6
1.1.2. Hesperetinin İnsan Sağlığına Etkisi 6
1.2. Voltammetri 9
1.2.1. Döngüsel Voltametri (CV) 10
1.2.2. Doğrusal Taramalı Voltammetri (LSV) 11
1.2.3. Diferansiyel Puls Voltammetrisi (PDV) 11
1.2.4. Kare Dalga Voltammetrisi (SWV) 12
1.3. Voltametrik Cihazların Yapısı 12
1.3.1. Çalışma Elektrodu 13
1.3.2. Referans Elektrot 13
1.3.3. Yardımcı (Karşıt) Elektrot 13
1.4. Taramalı Elektoron Mikroskobu (SEM) 14
1.5. Grafen ve Grafen Oksit 15
1.6. İletken Elektoroaktif Polimerler 17
1.6.1. Luminol 19
1.6.1.2. Luminolün Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri 20
1.6.2. Sülfonozo III 21
1.7. Hesperetin tayini için Litaratür Özeti 22
1.8. Tezin Amacı 24
2. DENEYSEL KISIM 25
2.1. Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar 25
2.2. Yöntem 26
2.2.1. Grafen Oksit Sentezi 26
2.2.2. GO/GCE Hazırlanması 26
2.2.3. GCE Yüzeyine Luminol (LML) ve Sülfonozo III (SFO) Elektorpolimerazyonu 27
2.2.4. Polimer Modifiye Elektrot Yüzeyine Altın Nanoparçacıkların Biriktirilmesi 28
3. SONUÇLAR VE TARTIŞMA 31
3.1. İletken Polimer Seçimi 32
3.2. Modifiye Elektrotların Yüzey Karakterizasyonları 33
3.2.1. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Görüntüleri 33
3.3. Modifiye Elektrotların Karşılaştırılması 37
4.4 pH Optimizasyonu 39

3.4. p(LML)/GCE ve p(SFO)/GCE Elektrot Yüzeyinde Au Döngü Sayısının Optimizasyonu 41
3.5. AuNP/p(LML)/GCE ve AuNP/p(LML)/GO/GCE Elektrotlarda Luminol'ün Döngü Sayısının Optimizasyonu 43
3.6. AuNP/p(SFO)/GCE ve AuNP/p(SFO)/GO/GCE için Sülfonozo III'ün Döngü Sayısının Optimizasyonu 44
3.7. Modifiye Elektrotlarda Tarama Hızı 46
3.8. Amperometrik Çalışmalar 48
3.9.Hesperetin Derişimi ve Kalibrasyon 51
3.10. Girişim Çalışmaları 54
3.10.1. AuNP/p(LML)/GO/GCE Elektrotta Girişim 54
3.10.2. AuNP/p(SFO)/GO/GCE Elektrotta Grişim 55
3.10.3 Tekrarlanabilirlik Çalışması 55
3.10.3.1. AuNP/p(SFO)/GO/GCE Elektrot İçin Günler Arası Tekrarlanabilirlik 55
3.11. Örnek Uygulama 57
4. SONUÇ VE YORUM 62
KAYNAKLAR 65

GİRİŞ

Turunçgiller, genellikle C vitamini, lif ve çeşitli antioksidanlar gibi besin öğeleri bakımından zengin olan meyve grubunu ifade eder. Portakal, mandalina, greyfurt, limon gibi meyveler turunçgil örneklerindendir. C vitamini, bağışıklık sistemini güçlendirir, cilt sağlığını destekler, demir emilimini artırır ve antioksidan özelliklere sahiptir. Turunçgillerde bulunan antioksidanlar, hücresel hasarı azaltabilir ve yaşlanmayı geciktirebilir. Ayrıca, antioksidanlar kanser ve diğer kronik hastalıklara karşı koruyucu etkiye sahip olabilir. Bu meyveler lif bakımından zengindirler. Lif, sindirim sistemini düzenleyebilir, kolesterol seviyelerini düşürebilir ve tokluk hissi sağlayarak kilo kontrolüne yardımcı olabilirler.

Türkiye'nin iklim ve toprak koşulları, turunçgil yetiştirmek için oldukça elverişlidir. Özellikle Akdeniz iklimi, narenciye gibi sıcak iklim meyvelerinin yetişmesi için uygundur. Ülkemiz, dünya genelinde önemli bir turunçgil üreticisidir. Narenciye üretiminde dünya sıralamasında üst sıralarda yer alır. Özellikle narenciye, mandalina ve limon üretiminde Türkiye, dünya pazarında rekabet avantajına sahiptir. Ürettiği turunçgil ürünlerini birçok ülkeye ihraç etmektedir. Bu durum, ülke ekonomisine önemli bir döviz girişi sağlamaktadır. Turunçgil üretimi, tarım sektörünün yanı sıra lojistik, paketleme, ihracat gibi birçok sektöre de katkıda bulunmaktadır. Turunçgil üretimi, tarım sektöründe birçok kişiye istihdam sağlar. Özellikle kırsal bölgelerde, turunçgil tarımı sayesinde birçok çiftçi ve işçi geçimini sağlamaktadır.

Hesperetin, çeşitli bitkilerde bulunan bir tür polifenolik bileşik olan bir flavonoiddir. Portakal ve limon gibi turunçgillerde özellikle bol miktarda bulunan doğal bir antioksidandır. Hesperidin gibi flavonoidler, potansiyel sağlık yararları açısından birçok araştırma yapılmıştır. İlk kez Lebreton tarafından keşfedilen hesperidin glikozid bağları kırılarak absorbe edilmiştir.

Bu yükseklisans tez projesinde yalın GCE yüzeyine grafen oksit (GO) modifikasyonu yapılıp üzerine döngüsel voltammetri(CV) ile poli(LML) ve poli(SFO) polimerizasyonu oluşturuldu. Daha sonra bu yüzeylere altın nanoparçacıklar (AuNP) CV tekniği ile dekore edildi. Oluşturulan

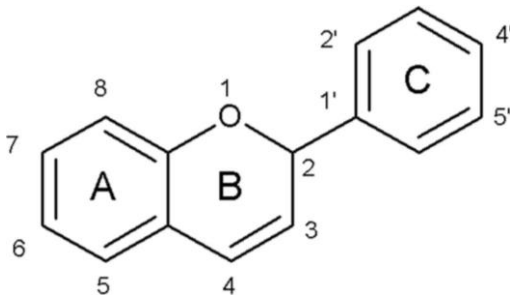
AuNP/p(LML)/GO/GCE, AuNP/p(SFO)/GO/GCE da hesperetinin yükseltgenmesi incelendi. Deneysel parametreler optimize edilip gerçek örneğe uygulanmıştır.

1. GENEL BİLGİLER

Polifenolik bileşikler, doğal bileşiklerin en ilginç ailelerinden biri olarak tanımlanmıştır. Bu maddelerin yapıları ve biyolojik özellikleri, insan yaşamına birçok yönden potansiyel faydalarından dolayı geniş çapta araştırılmaktadır. Flavonoid türü besin maddeleri diyet takviyelerine eklenmekte veya kozmetik bileşeni uygulanması üzerine bazı örnekler vardır. Bu bileşiklerin en önemli uygulamasının tıp alanında olduğu görülmektedir. Polifenol yapıları antioksidan aktivite göstermektedir. Diğer yandan bu bileşiklerin bazıları enzimleri inhibe etme yeteneğine de sahiptir. Ayrıca antimikrobiyal, antiviral, antialerjik, immün sistemi uyarıcı, antihepatotoksik, antiülserojenik, hipolipidemik, antihipertansif, sitotoksik ve antikanserojenik gibi geniş bir biyolojik aktivite yelpazesine sahiptirler [1,2].

Flavonoidler, bitkilerde bol miktarda bulunan doğal olarak oluşan fenolik bileşiklerdir. 1930'lu yıllarda portakallardan elde edilen bir element yeni bir vitamin sınıfı olarak kabul edildi ancak daha sonra flavonoid olarak sınıflandırıldı. Bugüne kadar literatürde 8000'den fazla farklı flavonoid rapor edilmiştir. Flavonoidler, kereviz, maydanoz, kırmızı biber, papatya, nane ve turunçgillerin kabuklarında zengin olarak bulunurlar.

Flavonoidler, heterosiklik bir piren halkası (C) ile birbirine bağlanan iki benzen halkasına (A ve B) sahip temel bileşen olarak 15 karbon iskeletinden oluşur. (Şekil. 1.1). Flavonoidler, B halkasının bağlı olduğu C halkasının karbonuna ve C halkasının doymamışlık ve oksidasyon derecesine bağlı olarak farklı alt gruplara ayrılabilir [3,4].

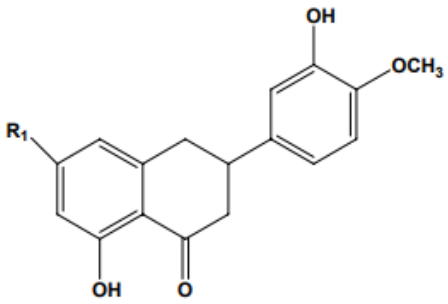


Şekil 1.1. Flavonoidlerin temel yapısı [2].

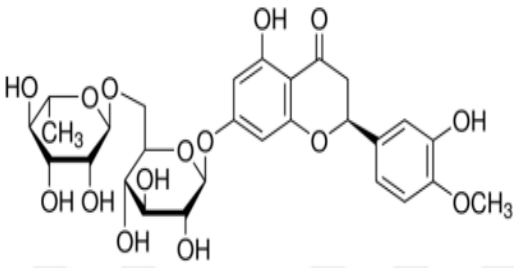
Flavonoidler; flavonlar, flavonoller, flavanonoller, flavanonlar, izoflavonlar, flavan-3-oller, antosiyanidinler, kalkonlar ve auronlar gibi çeşitli sınıflardan oluşur.

1.1. Hesperetin ve Hesperidin

Hesperetin (3',5,7-trihidroksi-4-metoksiflavanon) ve Hesperidin (flavanone) (3,5,7-trihidroksi Flavanon-7-rhamnoglucoside), vitamin E'ye benzer etkileri olan bioflavonoidler türü potent bir antioksidandır [1] (Şekil 1.1 ve Şekil 1.2). Hesperidin, 1827 yılında ilk kez Lebreton tarafından keşfedilen, glikozid halinde ya da glikozid bağları kırılarak absorbe edilir. Ayrıca hesperidin, bağırsak bakterileri tarafından üretilen alfa-rammosidaz ve beta-glukosidaz enzimleri tarafından hesperetin'e dönüştürülür [1,2]. Çin'de hesperetin, vücudun günlük flavonoid ihtiyacını karşılayabilen bir ilaç olarak reçete edilir [5].



Şekil 1.2. Hesperetinin Yapısı



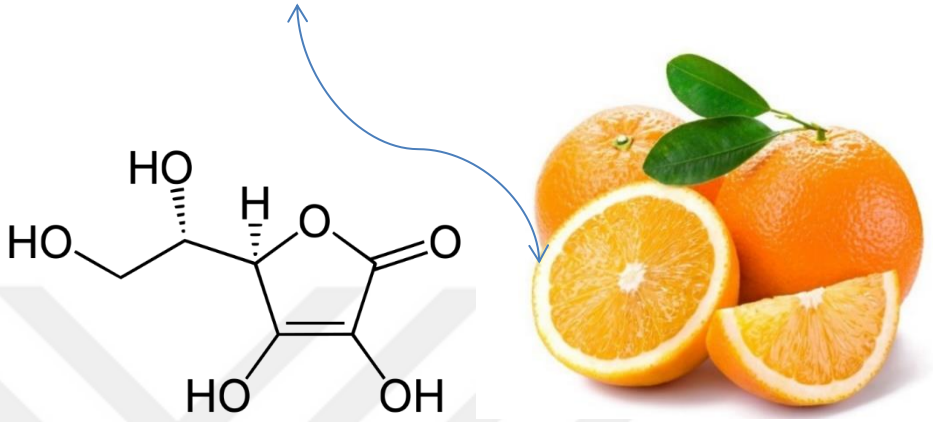
Şekil 1.3. Hesperidinin Yapısı

Hesperetinin 7-O-glikoziti olan hesperidin limon ve portakalda, hesperetin ise portakal ve greyfurt meyvelerinde daha yaygın şekilde bulunurlar [6].

Hesperetin taze portakal meyvesinin yaş ağırlığının yaklaşık %14' ünü oluşturmakta ve genellikle vitamin C ile birlikte bulunmaktadır [7] (Şekil 1.4).

Turunçgillerin kabuklarında, kabuk altındaki beyaz kısımlarında bulunur [8] ve ilk olarak bir Macar bilim adamı tarafından turunçgillerin kabuk flavonoidlerinin kılcal kanamaları önlediğini açıklamıştır. Partakaldan farklı olarak başka ailelere ait bitkilerde de bulunduğu belirtilmiştir [9].

Hesperetin portakal, mandalina, greyfurt gibi turunçgillerin kabuk altındaki beyaz kısımlarında bulurnur.



Şekil 1.4. Vitamin C ve Portakal Meyvesi

Sebzeler, çiçekler ve yiyecekler gibi kaynak meteryaller olarak bitkilerde genel olarak bulunmasıyla birlikte,

Farmakolojik aktivitelerinden dolayı,

- organik kimya, tıp, tarım, gıda takviyelerinde kullanılır.

1.1.1 Fizikokimyasal Özellikleri

Saf hesperidin, uzun saç benzeri örgüler, açık veya koyu sarı renkte olurlar. Metanolde ve alkalilerde kolayca çözünür ve berrak sarı bir çözelti oluşur. Aseton ve benzende hiç çözülmez ve sudaki çözünürlüğü ise yaklaşık %2'dir. Benzeri glikozitler ile kompleks kristal oluşturabilirler bu özelliği çözünürlüğünü ve diğer fiziksel özelliklerini etkilediğinden dolayı saf halde elde edilmesi zorlaşır. Ancak sıcak suyla yıkayarak ve %95 matanol ile ekstraksiyon yapılarak saflaştırılabilir [9] (Şekil. 1.5).

Hesperetin	**Hesperedin**
Erime noktası 226 – 228 ºC	**Erime noktası** 258 - 262º C
Molekül Formülü $C_{16}H_{14}O_6$	**Molekül formülü** $C_{18}H_{34}O_{15}$
Molekül Ağırlığı 302.282 g/mol.	**Molekül ağırlığı** 610.57 g/mol



.

Şekil 1.5. Saf Hesperetin ve metanolde çözünmüş Hesperetin

1.1.2. Hesperetinin İnsan Sağlığına Etkisi

Hespretin ve Hesperidin'nin antioksidan etkisi, kardiyovasküler etkisi, immüns sistem birleştirme, antiinflamatuar etksi, anti-kanser grupları ve sindirim sağlığına etkileri bulunmaktadır. Hesperetin, meme kanseri, pankreas kanseri, prostat kanseri, karaciğer kanseri, böbrek kanseri, kolon kanseri gibi birçok kanser hücresine karşı sitotoksik bir mekanizma sergiler. Hesperetin akciğer kanseri, ağız kanseri, özofagus kanseri, yumurtalık kanseri, tiroid, lösemi gibi bazı hastalık olabileceğini gösteren diğer bazı kanserler umut verici kanser tedavisine adaydır.

Damar Sistemi Üzerine Etkisi

Küçük yaralanmalar ve damar geçirgenliği sorunları dahil olmak üzere varisli damarlara ve kanamalara neden olan kan damarı bozukluklarını tedavi etmek için kullanılır. Kan damarları dolaşım sisteminin bütünlüğünü arttırdığı için kılcal geçirgenliği azaltmaktadır. Ayrıca kılcal damarların anti-hemorajik özellikleri de gözlenmiştir [9]. İnsan vücudundaki beslenme eksikliğinde anormal kılcal drenaja, uzuvlarda ağrılara, güçsüzlüğe ve bacak kramplarına neden olabilir [10]. Hemorid tedavisinde ve kronik venöz bozukluklarının tedavisinde de kullanılır.

Antienflamatuar Etkileri

Hesperidin, enflamasyonu azaltıcı etkilere sahiptir. Kronik inflamasyon, birçok hastalığın seyrini belirleyebilir. Hesperidin, inflamasyonu baskılayarak, inflamatuar risk riskini artırıyor. Prostaglandin 2 (PG_2) ve Prostaglandin 2α ($PG_2\alpha$)'nın sentezini inhibe etmektedir.

Antimikrobiyal Etkisi

Hesperidin ve hesperetin, laboratuvar ortamında ya da yapay koşullarda bitki ve hayvan mikroplarına karşı enfeksiyondan koruyucu ve eşleşmesini önleyici özellikler göstermişlerdir [9].

Trombositler ve Hücre Agregasyonu Üzerine Etkileri

Yapılan çalışmalarda hesperidinin antiiskemik etkisi olduğu görülmüştür [9]. İnsan üzerinde tromboositler ile yapılan araştırmada epinefrin ve ADP ile indüklenen trombosit toplanması 0.08 $mg.mL^{-1}$ konsantrasyonunda inhibe ettiği görülmüştür [11].

Ultraviyole Koruyucu Etkisi

Ultraviyole ışık yüzünden oluşan oksidatif stres ile gün ışığına maruz kalınmasıyla cilt kanseri ve yaşlanmalar meydana gelmektedir. Son yıllarda cilt hasarlarını önlemek için flavonoidlerin kullanılmaları üzerine araştırılmalar yapılmaktadır. Hesperetinin tek başına, çaygiller ve diper flavonoidlerle beraber cilt kusurlarını yok edici etkisi araştırılmıştır [9].

Analjezik ve Antipiretik Etkisi

Hesperidin histamin ve prostaglandin salımını engelleyerek gastrik mukaza zarının iltihaplanmasını engellemek için koruyucu bir rol oynar [12].

P vitamini olarakta geçen hesperidinin özetle faydaları şu şekildedir,

- Antioksidan özelliklere sahip olması sebebi ile süperoksit radikalleri temizler.
- Kardiyovasküler hastalık riskini azaltır. Kalbi oksidatif stresten korur, yüksek tansiyon tedavisinde için de kullanılır.
- Kan damarlarının genişlemesini sağlar ve böylelikle kan akışını arttırır.
- Yaş alındıkça vücuttaki kolajen miktarını azalmaktadır. Hesperetin kalojen miktarını koruyarak yaşlanmayı geciktirir. Aynı zamanda sivilce tedavilerinde de kullanılır.
- Hemoroid tedavilerine yardımcı olur.
- Alerjiler, saman nezlesi, sıcak basmları ve menopoz gibi septomlar, adet öncesi sendromu gibi çeşitli sağlık sorunlarına faydalıdır.
- Kemik hücresi oluşumunu artırır.
- Antiokdidan özelliği sayesinde oksidatif hasarın artmasına sebep olan stresi azalabilir.

Hesperetinin çeşitli tekniklerle analizi

Hesperetin tayini için kromatografik tekniklerden yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), yüksek performanslı sıvı kromatografisi/kütle spektrometrisi (HPLC-MS), Ultraviyole detektörlü sıvı kromatografisi (HPLC-UV) [16], hızlı ters fazlı yüksek performanslı sıvı kromatografisi (RP-HPLC), yüksek performanslı sıvı kromatografisi ve kapiler elektroforez (HPLC-CZE), elektrokimyasal dedektörlü yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC-ECD) kullanılmıştır. Gerçek numunelerin karmaşıklığı ve analitin düşük konsantrasyonu ölçülme gereksinimi, çoklu çözücü sistemi kullanılarak ekstraksiyon yapma gereksinimi nedenlerden dolayı pahalı cihazlara ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca bu tekniklerin yetersiz kaldığı diğer bir özellik de hesperetinin farmakolojik etki ve reaksiyon mekanizmaları bu yöntemlerle gözlemlenememektedir. Elektrokimyasal yöntemler hızlı cevap verme, düşük maliyet, kolay kullanım, yüksek hassasiyet ve seçicilik nedeniyle büyük ilgi görmüştür. Aynı zamanda hesperetinin elektrokimyasal reaksiyonları hakkında

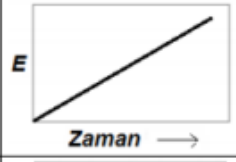
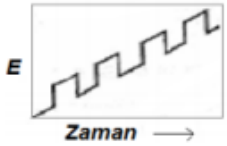
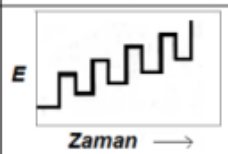
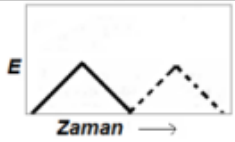
detaylı bilgi edinilir. Literatürde şu ana kadar çok az sayıda elektrokimyasal olarak hesperetin çalışması bulunmaktadır. Son yıllarda Voltammetrik çalışmalar önem kazanmaktadır.

1.2. Voltammetri

Voltametri, potansiyelin bir fonksiyonu olarak akımde meydana gelen değişmeye ölçen üçlü elektrot sistemidir. Polarografi Çek kimyacı Jaroslav Heyrovsky tarafından ilk defa geliştirilmiş ve çalışma elektrodu olarak civa damla elektrot kullanılmıştır. Bir tarafı polarlanabilen diğer tarafı polarlanmayan iki elektrot arasına (+) ve (-) yönde gitgide artan bir potansiyel uygulanır, bu uygulanan potansiyele karşılık gelen akım ölçülür. Elde edilen I=f(E) grafiğinede voltammogram denir [13,14].

Voltametride incelenecek analit elektroaktif olmalıdır, çeşitli redoks reaksiyonlarının sonucunda bir türe dönüşebilen inorganik, organik veya moleküler maddelere uygulanabildiği gibi elektron aktarım mekanizmalarının aydınlatılması, kalitatif (nitel) ve kantitatif (nicel) analiz, bazı endüstriyel araştırmalarda da kullanılabilen bir yöntemdir [15].

Akımın uygulanma şekli çeşitlendirilerek farklı voltammetrik yöntemler kullanılabilir (Şekil 1.6). Doğrusal taramalı voltammetri, Diferansiyel puls voltammetri, Karedalga voltammetri, Döngüsel voltammetridir. Oldukça duyarlı tayinlerin yapılabildiği Sıyırma teknikleri, Anodik sıyırma (ASV), katodik Sıyırma (CSV) ve Adsorptif katodik (AdCSV) yöntemleri mevcuttur.

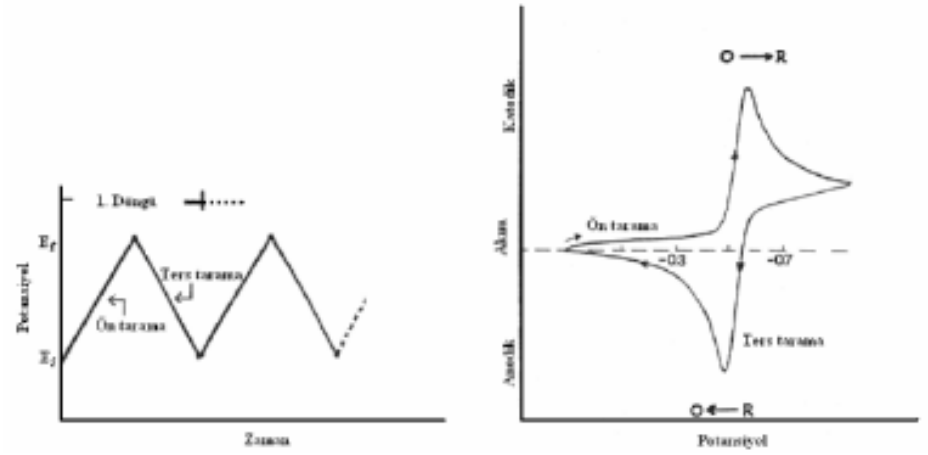
İsim	Dalga Şekli	Voltametrinin Tipi
(a) Doğrusal taramalı		Polarografi Hidrodinamik voltametri
(b) Diferansiyel puls		Diferansiyel puls polarografisi
(c) Kare dalga		Kare dalga voltametrisi
(d) Üçgen		Dönüşümlü voltametri

Şekil 1.6. Voltametride kullanılan potansiyel uyarma sinyalleri.

1.2.1. Döngüsel Voltametri (CV)

Döngüsel voltametri (CV) elektroanalitik kimyanın en çok kullanılan en önemli yöntemlerinden biridir. Teknikler arasında nitel bilgi veren ve indirgenme-yükseltgenme tepkimelerinin termodinamiğini ve elektron olaylarının kinetiğini tetkik etmekte ve adsorpsiyon gibi olayların adsorbe olup olmadığını gözlemek için kullanılır. Hızlı bir teknik olması nedeniyle çalışmaların başında ilk tercih edilen yöntemdir [14].

Bu teknikte hareketsiz bir elektroda zamanla doğrusal olarak farklı potansiyeller uygulanır ve ileri yönde potansiyel taraması bilinen bir değerde durdurularak geri yönde tarama yapılır. Katodik yönde tarama yapılırken madde indirgenmiş ise katodik pik (Epk), anodik yöndeki taramasında ise indirgenmiş maddenin bu elektrotta yükseltgenmesinden kaynaklı bir anodik pik (Epa) görülür (Şekil 1.7).



Şekil 1.7. Döngüsel voltammetrinin uygulanma şekilleri.

Döngüsel voltammetri kullanılarak elektroaktif bir monomerin elektrot yüzeyinde polimerleşmesi sağlanabilir. Bu amaçla birden fazla döngü yapılarak molekülün indirgenme-yükselgenme davranışı eile elektrot yüzeyine ince film halinde kaplanır. Bu polimer yüzeyler birçok analitik uygulama için elektrokatalitik bir etki yaratabilirler.

1.2.2. Doğrusal Taramalı Voltammetri (LSV)

Bu teknik alışılmış bir uyarma yöntemidir. Hücreye uygulanan doğru akım potansiyeli zamanla doğrusal olarak arttırılır. Böylece lineer olarak artmış olur ve hücre içerisindeki akım zamanın fonksiyonu olarak belirtilir. Oluşan potansiyel-akım eğrileri elektrodun türüne göre değişiklik gösterir.

1.2.3. Diferansiyel Puls Voltammetrisi (PDV)

Bu yöntem çalışma elektroduna uygulanan doğrusal olarak artan potansiyelin sabit büyüklükte pulslar bindirilir. Pulsları uygulamadan ve uygulamasından sonra fark alınıp akım ölçülür.

PDV'sinde elde edilen akım;

$$(I_2 - I_1)_p = \mathrm{nFA}\left(\frac{\mathrm{D}}{\mathrm{t}\pi}\right)^{1/2} c\left[\frac{1-\exp\frac{nF\Delta E_p}{2RT}}{1+\exp\frac{nF\Delta E_p}{2RT}}\right]$$

Yukarıdaki eşitlik ile gösterilir. Puls genliğinin artması pik akımı artarken, aynı zamanda pik genişliği de artmış olur [14].

Redoks tepkimelerinin potansiyellerinin yakın olduğunda birbirinden ayrılması zorlaşır ama uygun puls genliği ve potansiyel tarama hızı seçilerek birbirinden ayırma gerçekleşebilir [16]. Diferansiyel puls ile pik potansiyeli arasındaki yaklaşık 50 mV olan maddeler yanyana tayin edilebilirler.

1.2.4. Kare Dalga Voltammetrisi (SWV)

Şekil olarak pulslara benzetilse de bu yöntem puls yöntemi değildir. Düşük voltaj ve miliamperlik bir alternatif akım gibi değişken bir akımdır. Zamanla değişimi kare şeklindedir. Potansiyel periyodun bir kısmında pozitif diğer kısmında negatif değer alır [14].

1.3.Voltametrik Cihazların Yapısı

Voltametrik analizlerin duyarlılık veya reaksiyon mekanizmasındaki başarısı çalışılan elektroda bağlıdır. Bu yüzden çok farklı özellikte çalışma elektrotları geliştirilmiştir. Çalışma elektrotunun yanıtı tekrarlanabilir ve aynı zamanda yüksek bir sinyal/gürültü oranına sahip olması gerekir. Bunun için ilk olarak, hedef analitin yükseltgenme-indirgenme davranışı ve çalışma potansiyeli aralığında toprak akımı dikkate alınır. Dikkate alınması gereken diğer faktörler, potansiyel kullanım alanı, elektriksel iletkenlik ve yeniden üretilebilirliktir.

Şekil 1.8'de gösterilen sistem elektroanalitik kimyada en çok kullan bir yöntemdir. Bu çalışmadaki mekanizma: küçük bir cam voltammetrik hücre, bu hücreye konulan elektrolit çözelti, çalışma elektrodu, referans elektrodu ve yardımcı bir elektrottan oluşur. Hücredeki çözeltiye daldırılmış bir kılcal boru yardımıyla önce çözelti içindeki oksijeni uzaklaştırmak için N_2 gazı geçirilir.



Şekil 1.8. Üçlü Elektrot hücre sistemi

1.3.1. Çalışma Elektrodu

Redoks tepkimelerinin gerçekleştiği elektrottur. Camsı karbon (GCE), karbon pasta, pirolitik karbon, karbon nanotüpler, grafen oksitler, civa film elektrot (MFE), asılı civa damlası elektort (HMDE), platin (PT), altın (Au) en çok kullanılan çalışma elektrotlarıdır. Çalışma elektorodunun özelliklerinde ise iletken olmalı, kimyasal olarak aktif olmayan, negatif potansiyel sınırı yüksek olan ve kolay işlenebilir olmalıdır.

Çalışma alanı; çözücüye, pH'a, elektrolit ve kullanılan elektrot türüne bağlıdır. Çözücü veya elektrot malzemesinin anodik sınırı yükselgenmesi belirler. Destekleyici elektrolitin katodik sınırı indirgenmesi veya hidrojen oluşumu belirler.

Camsı Karbon Elektrot; Camsı karbon elektrot karbonun elektiriksel direncinin düşük olması, elektordun geniş bir aralıkta tekrarlanabilir yüzey yapısı olduğundan dolayı en fazla kullanılan çalışma elektrotudur.

Modifiye Elektrot; Voltammetrik tekniklerde analizlerdeki duyarlılık üstünlükleri sebebiyle tercih edilen elektrottur.

1.3.2. Referans Elektrot

Analiz esnasında potansiyeli sabit kalan karşılaştırma görevi yapan polarlanmayan elektrottur. En çok tercih edilen Ag/AgCl ve kalomel elektrot kullanılır. Bu elektrottan anodik akım geçirildiğinde metaller yükseltgenir ve ortamdaki klorürler çökerler ve böylelikle elektrodun yüzeyindeki derişmleri değişmez ve potansiyelleri akımdan bağımsız olur.

1.3.3. Yardımcı (Karşıt) Elektrot

Karşıt elektrot veya yardımcı elektrot olarakta adlandırılırlar. Elektoronlar için ortam oluşturup akımın geçmesini sağlamak görevidir. Eğer iki elektrotlu sistem var ise polarlanmayan elektrot üzerinden yüksek akım geçmesi polarlaşmaya neden olur. Çözeltinin direnci yüksek olduğu durumda direnci düzeltebilmesi için potansiyeli değiştrmiş olur. Potansiyelin değişmesi ile voltammogramlar bozulur. Bu sorunu çözebilmek için refens elektrodun yanına karşıt elektrot koyularak sorun çözülür. Referans elektrotta direnç çok yüksek olduğu için akım yardımcı elektrot üzerinden akar. Bu elektrotlarlar genellikle soy metallerden oluşur. En sık kullanılan platin teldir.

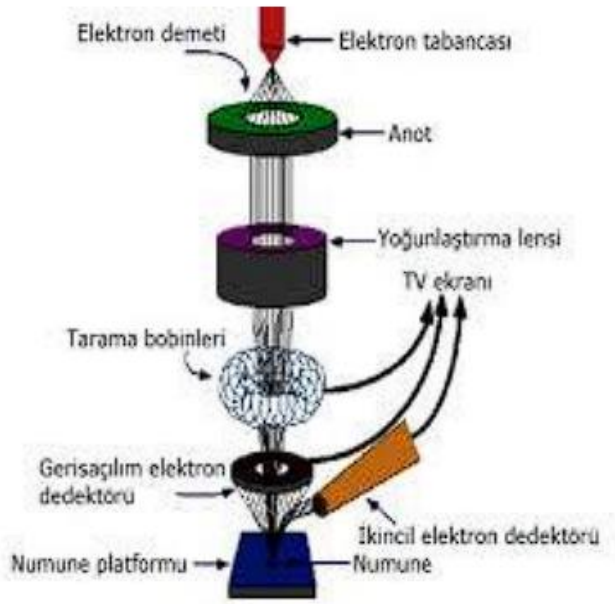
1.4.Taramalı Elektoron Mikroskobu (SEM)

İlk olarak 1965 yılında üretilen tarama elektoron mikroskobu teknolojinin gelişmesi ile bugünkü modern halini almıştır [17]. 1965 yılında çözünürlük 50 nm iken günümüz teknolojisi 1 kV'ta 0,5 nm'ye eşdeğerdir.

SEM, yüzey morfoloji ayrıntılarını incelemek ve yüksek çözünürlüklü görüntüleri elde etmek için kullanılan güçlü bir görüntüleme aracıdır. SEM, özellikle nanoteknoloji, malzeme bilimi, biyoloji, jeoloji ve daha birçok bilim alanında yaygın olarak kullanılmaktadır.

SEM, elektron demeti çıktısı için bir elektron kaynağına sahiptir. Bu kaynak genellikle termiyonik veya alan emisyon yöntemlerini kullanır. Elektronlar yüksek enerjili bir elektron tabancası tarafından üretilmiştir. Üretilen elektronlar, odaklama lensleri ve manyetik alanlar sayesinde bir demet halinde odaklanır. Bu elektron demeti numunesinin parçalarına yönlendirilir. Numune, ince bir altın veya karbon tabakası ile kaplanabilir veya özel bir hazırlık yöntemi ile iletken hale getirilebilir. Bu, elektronların numunelerinin saklanmasını önler ve daha iyi bir görüntü elde etmesine yardımcı olur.

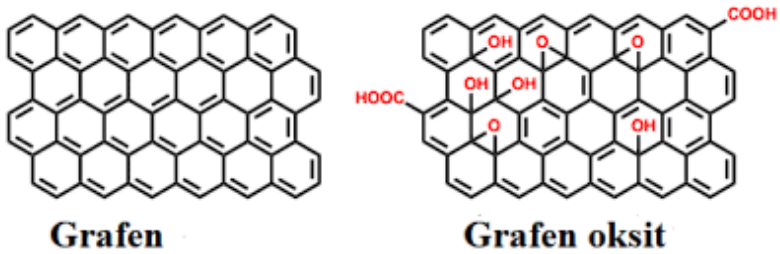
Şekil 1.9'da görüldüğü gibi SEM cihazının kısaca bölümleri numune odası, optik kolon ve görüntüleme sistemidir.



Şekil 1.9. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

1.5.Grafen ve Grafen Oksit

Grafen oksit (GO), grafen adı verilen tek atom sertifikalarının karbon tabakalarının çevreleriyle elde edilen bir malzemedir (Şekil 1.10). Grafit oksit, grafitin oksitlenmesiyle elde edilen bir malzemedir. Grafit oksit, karbon atomlarından oluşan ince tabakalı bir yapıya sahiptir. İki boyutlu (2D) yapısı nedeniyle grafen tabakalarına benzemektedir. Grafen, tek bir karbon atomu geçmişleri olan grafik tabakalarının oluşturduğu bir yapıdır ve özel mekanik, muhafaza ve termal özellikler nedeniyle büyük ilgi çekmektedir.



Şekil 1.10. Grafen ve grafen oksit yapıları [18].

Brodie ve Hummers yöntemleri, grafen oksit sentezlemek için yaygın olarak kullanılan iki kimyasal yöntemdir. Her iki yöntem de grafitin oksidasyonunu içerir ve grafen oksit tabakalarının elde edilmesini sağlar.

Brodie yöntemi, 1859'da A. J. Brodie tarafından geliştirilmiştir. Bu yöntemde, grafit malzemesi güçlü bir oksidasyon ajanı olan konsantre nitrik asit (HNO_3) ile işleme tabi tutulur. Grafit, nitrik asit ile reaksiyona girer ve grafitin karboksilik asit gruplarıyla oksitlenmesine neden olur. Daha sonra, elde edilen karboksilik asitli grafit, su veya bir bazik çözelti ile yıkanarak arındırılır. Bu işlem grafitin oksidasyonunu artırır ve grafen oksit tabakalarının elde edilmesini sağlar.

Hummers yöntemi, 1958 yılında W. S. Hummers ve R. E. Offeman tarafından geliştirilmiştir ve daha yaygın olarak kullanılan bir grafen oksit sentez yöntemidir. Bu yöntemde, grafit malzemesi konsantre sülfürik asit (H_2SO_4) ve konsantre nitrik asit (HNO_3) karışımı ile işleme tabi tutulur. Grafit, bu asit karışımı ile reaksiyona girerek oksitlenir. Daha sonra, potasyum permanganat ($KMnO_4$) gibi bir oksidasyon ajanı eklenir ve reaksiyon sıcaklığı artırılır. Bu aşamada oksitlenme süreci hızlanır ve grafen oksit tabakaları elde edilir. Elde edilen grafen oksit, su veya bazik çözelti ile yıkanarak saflaştırılır.

Her iki yöntem de grafitin oksidasyonunu kullanarak grafen oksit sentezlemeyi sağlar. Brodie ve Hummers yöntemleri, grafen oksitin araştırma ve uygulama alanlarında yaygın olarak kullanılmasını sağlamıştır. Bu yöntemler, grafen oksitin özelliklerini ve yapısını kontrol etme imkânı sağlar ve farklı uygulamalara uygun grafen oksitlerin sentezlenmesini mümkün kılar.

Grafen oksidin özellikleri;

1-*Yüksek düzeyde kimyasal koruyuculuk:* Grafen oksit, grafitin hücrelerini ile elde ettiği için kimyasal olarak oldukça koruyucudur. Bu özellik, grafen oksidin çeşitli şekillerde kullanılmasını sağlar.

2-*İyi mekanik dayanım:* Grafen oksit, grafenin yapısının türetilmiştir ve bu nedenle benzer mekanik yapıya sahiptir. Grafen oksit, yüksek mekanik dayanıklılık, koruma ve dayanıklılık gösterir.

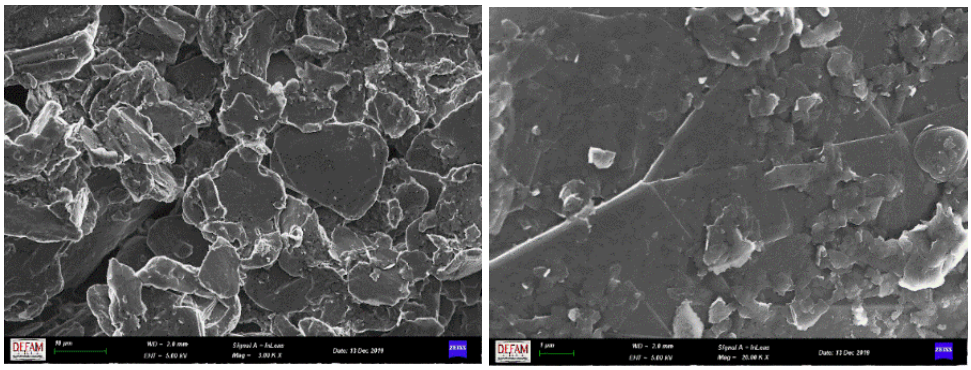
3-*İyi iletken iletkenlik:* Grafen oksit, grafenin iletkenlik özelliklerini korur, ancak daha az iletken olduğu bilinmektedir. Bununla birlikte, grafen oksit, birçok elektronik cihaz ve sensörler, hala içeriği iletkenlik gösterir.

4-*Yüksek yüzey alanı:* Grafen oksit, ince tabakalar halindeki yapı nedeniyle yüksek bir yüzey alanına sahiptir. Bu özellik, elektrokimyasal maddeler, yüzey kaplamalarında ve katalizde korunmasını sağlar.

5-*İyi optik özellikler:* Grafen oksit, optik olarak geçirgendir ve geniş bir spektral aralıkta emisyon ve absorpsiyon gösterir. Bu özellikler, enerji depolama, güneş depoları ve görüntüleme cihazları gibi optoelektronik kullanımların korunmasını sağlar.

Bu özellikler, grafen oksitin çeşitli alanlardaki potansiyel uygulamaların olduğunu göstermektedir. Ancak, her uygulama için grafen oksidin özellikleri ve performansı dikkate alınmalıdır.

Bu tez çalışmasında Brodie yöntemiyle sentezlenmiş grafen oksitin SEM görüntüleri Şekil 1.11 de verilmiştir. Grafen oksit tabakalarının nano kabuklar şeklinde oluştuğu görülmektedir.



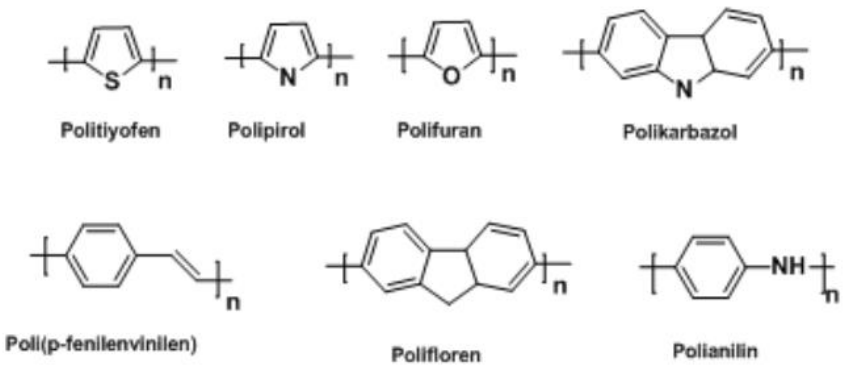
Şekil 1.11. Brodie yöntemi ile elde edilen grafen oksitin SEM görüntüsü [19].

1.6.İletken Elektoroaktif Polimerler

İletken polimerler, elektrik akımını geçirebilen organik polimerlerdir. Geleneksel polimerler genellikle elektriği iletemezken, iletken polimerler elektriksel iletkenlik özelliğine sahiptir. Bu tür polimerler, çeşitli uygulamalarda kullanılmaktadır, özellikle elektronik alanında önemli bir potansiyele sahiptirler.

Bir polimer örgüsünde, zincir boyunca elektron taşınmasına izin veren uygun elektroaktif merkezler olduğunda iletim gerçekleşir. Konjuge yapıları nedeniyle, iletken polimerler zincirdeki bir elektronun zincir boyunca hareket etmesine izin verir, bu nedenle bazı polimerler yarı iletken ve hatta metalik özelliklere sahip olabilir [20].

Şekil 1.12'de görüldüğü gibi iletken polimerler daha öncesinde elektiriği iletmeyen maddeler olarak billiniyordu fakat 1970'te Heeger, Macdiarmid ve Shirikawa tarafından keşfedildi. Ayrıca 2000 de iletken polimerlerin keşifçileri A. MacDiarmid, A. Heeger, and H. Shirakawa bu buluşuyla Nobel Kimya Ödülü aldı [21]. İlk olark üretilen polimerler yalıtkanlıklarından dolayı elektirik kablolarında tercih edilmişlerdir [22].



Şekil 1.12. Yaygın olarak kullanılan iletken polimerler [22].

İletken polimerlerin erime ve çözünme sorunları, uygulamalarını sınırlar ve iletken polimerler, biyosensörler için bir immobilizasyon matrisi olarak kullanılır. Bu, elektrot yüzeyinde biyomoleküllerin immobilizasyonunu sağlar. İletken polimerin iyi iletkenliği, elektrot yüzeyinde elektron transferi için önemlidir. İletken polimerler, biyomolekül ile elektrot arasındaki bağı oluşturur ve bir destek görevi görür [23].

Günümüzde iletken polimerler birçok alanda kullanılmaktadır. Bunlardan enerji sistemleri, güç depolama, sensör teknolojileri yaygın kullanılır. İletken polimerlerin en önemli özelliği elektrot yüzeyinde ince bir film halinde oluşmesi, elektron transferini kolaylaştırması ve yüzeyine kaplanacak metal nanoparçacıkların aglomere olmadan oluşabilmesine izin vermesidir.

Tablo 1.1. Bazı İletken Polimerler ve Genel Uygulama Alanları [24].

İletken Plimerler	Uygulama Alanları
(a) Polianilin ve Türevleri	(1) Elektrokromik Ekran
	(2) Tekrar şarj edilebilir bataryalar
	(3) Elektrokimyasal Kapasitörler
	(4) Korozyon Engelleyici
	(5)Sensör
(b) Polipirol ve Türevleri	(1) Elektrokromik Ekran
	(2) Taşınabilir Batarya
	(3) Sensör
	(4) Güneş Enerji Hücreleri
	(5) Yakıt Hücreleri
(c) Politiyofen ve Türevleri	(1) Elektroluminesans
	(2) Elektrokimyasal Kapasitörler
	(3) Güneş Enerji Hücreleri
	(4) Bataryalar için Karşıt Elektrot
	(5) Sensörler
	(6) Korozyon Engelleyici
(d) Poli(p-fenilenvinilen) ve Türevleri	(1) Elektroluminesans
	(2) Foto iletkenler
	(3) Güneş Enerji Hücreleri
	(4) Lazer Malzemeler
(e) Polifloren ve Türevleri	(1) Elektrokromik Ekran
	(2) Taşınabilir Batarya
	(3) Tekrar Şarj Edilebilinir Batayalar
	(4) Işık Saçan Diyotlar
	(5) Sensörler

Modern dünyanın polimer çağında yaşadığını söylemek muhtemelen yanlış olmaz. Yeni teknolojilerde polimerlerin kullanılması sıklığı artarak ve bilinen metal ve alaşımlara göre üstün özelliklere (iletkenlik, boyut, maliyet, verimlilik, taşınabilirlik, esneklik ve esneklik) sahip malzemeler oluşturulabilmektedir. Bu

nedenle iletken polimerler, metallerin kullanıldığı pek çok alana entegre edilebilir [24].

Polianilin (PANI) ve poliakrilonitril (PAN) gibi bazı yaygın iletken polimerler, elektriksel iletkenlikleri nedeniyle yaygın olarak araştırılmış ve kullanılmıştır. Ancak, bu polimerlerin iletkilikleri genellikle metallerin veya inorganik bileşiklerin iletkiliklerine kıyasla daha düşüktür. Son yıllarda, grafen ve karbon nanotüp gibi karbon tabanlı malzemelerin kullanılmasıyla çok daha yüksek iletkenlik değerlerine sahip iletken polimerler geliştirilmiştir. Karbon nanotüpler veya grafen, polimer matrise entegre edilerek polimerin iletkenliğini artırır. Bu tür malzemeler, esnek elektronik cihazlar, güneş panelleri, sensörler ve enerji depolama sistemleri gibi birçok uygulama için potansiyel sunmaktadır.

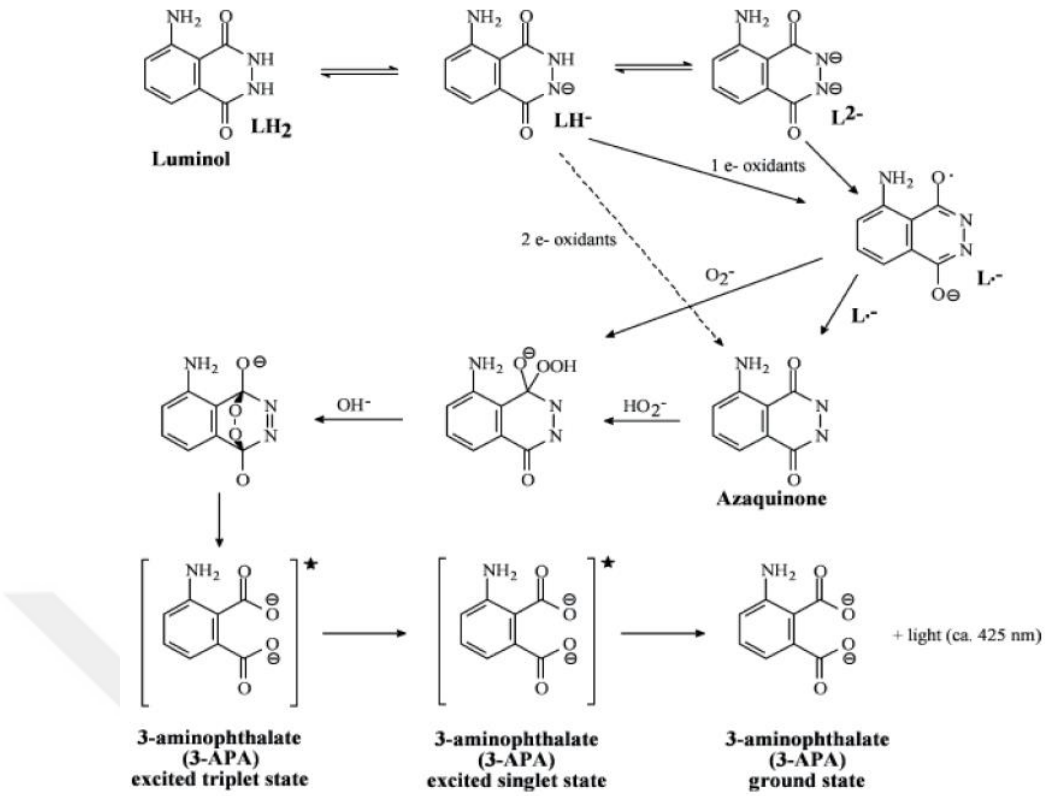
İletken polimerler, elektronik ve enerji depolama alanında ilerlemeler sağlamak için sürekli olarak araştırılan bir konudur. Araştırmacılar, daha yüksek iletkenlik değerlerine sahip, daha kararlı ve ticari olarak uygulanabilir iletken polimerleri geliştirmek için çalışmaktadır. Bu gelişmeler, gelecekte daha gelişmiş elektronik cihazlar kullanmamıza sağlayabilecektir.

1.6.1. Luminol

Luminol, birçok farklı alanda kullanılan kimyasal bir bileşiktir. Özellikle kriminal araştırmalar ve suç mahalli incelemelerinde kullanılan bir tespit maddesidir.

Luminol, 1908 yılında Alman bilim insanı Schmitz tarafından sentezlenmiştir. Albrecht ise 1928 yılında luminolün kimyasal ışıma özelliğini keşfetmiştir (Şekil 1.13). Luminolün kimyasal yapısını ve reaksiyon özelliklerini Proesher ve Mooody araştırmıştır. Mc Grath ise luminolün diğer biyolojik sıvılara duyarsızken kan ile bir reaksiyon gösterdiğini bulmuştur. Birçok spesifik serolojik testlere luminolün konformasyonunu önerdiler. Saf su içinde Na_2CO_3 ve $NaClO_4$ karıştırarak lumünolün elde edilme tepkimesini Grodsky ileri sürmüştür [25].

Bu yapılan tüm çalışmalar luminolün reaksiyon mekanizmasını açıklanmasına destek olmuştur. Mereny ve çalışma arkadaşları 1980 yılında başladıkları deneysel çalışmalarla 1990 yılında luminolün lüminesas makanizmasını açıklamışlardır [25].

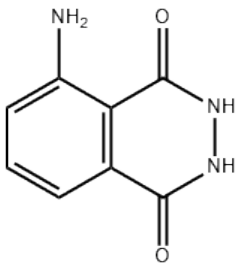


Şekil 1.13. Luminolün kimyasal ışıma raksiyon mekanizması [25].

1.6.1.2. Luminolün Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Luminol, 3-aminofitalhidrazid adı verilen bir bileşiğin kimyasal reaksiyonla dönüşümü sonucu oluşan 3-aminofitalhidrazit adlı bir bileşiğin türevidir. (IUPAC) adı 5-Amino-2,3-dihidro-1,4-ftalazindion, 5-Amino-1,2,3,4-tetrahidroftalazin-1,4-dion; 3-aminoftalhidrazittir. Alkol ortamında çözünür. Sudaki çözünürlüğü ise düşük olup 0,1g/100 ml den azdır.

Kimyasal formülü $C_8H_7N_3O_2$'dir. Molekül ağırlığı 177.16 g/mol, erime noktası ise 320,1^{o} C derecedir [26].



Şekil 1.13. Luminolün açık yapısı

Luminolün İşlevi: Luminol, kan ve diğer biyolojik sıvıların tespit edilmesinde kullanılır. Kanın ayrıştırılması için kullanılan bir maddedir çünkü hemoglobin ile etkileşime geçerek ışıma oluşturur. Luminol, suç mahallerinde kan izlerini tespit etmek için kullanılan yaygın bir araçtır.

Biyoluminens: Luminol, hidrojen peroksit (H_2O_2) ve bir alkali çözeltiyle (genellikle sodyum hidroksit) reaksiyona girdiğinde biyoluminesans denilen bir ışıma oluşturur. Bu reaksiyon sonucunda, luminol etkisiyle parlak mavi bir ışık yayılır. Bu ışık, çıplak gözle görülebilir ve karanlık bir ortamda bile izlenebilir.

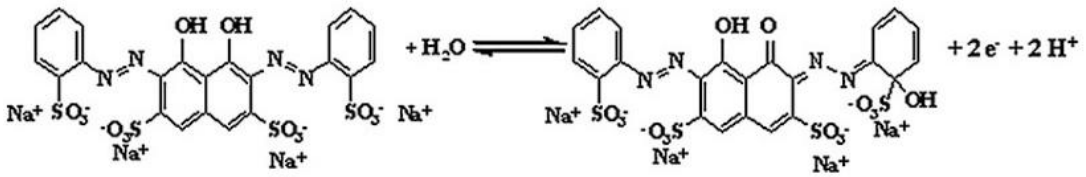
Kriminal Araştırmalarda Kullanımı: Luminol, kriminal araştırmalarda suç mahallindeki kan izlerini tespit etmek için kullanılan bir araçtır. Kan, luminol ile tepkimeye girdiğinde parlak mavi bir ışık yayar. Bu sayede, suç mahallindeki kan izleri veya kan temizlenmiş olsa bile iz bırakmış olan alanlar tespit edilebilir.

Sınırlamaları: Luminolün kullanımı bazı sınırlamalara sahiptir. Örneğin, luminol yalnızca aktif bir oksitleyici madde (örneğin hidrojen peroksit) varlığında etkili olabilir. Ayrıca, luminolün kullanımı diğer potansiyel kan kaynaklarından (hayvan kanı gibi) gelen tepkimelerle de yanıltıcı sonuçlara yol açabilir. Bu nedenle, luminol sonuçlarının doğrulanması için diğer analiz yöntemleri kullanılmalıdır.

Luminol, kriminal araştırmalarda etkili bir araç olmasına rağmen, doğrulama ve diğer analiz yöntemleri ile desteklenmelidir. Ayrıca, luminol kullanımı hukuki süreçlerde de belirli kurallar ve protokollere tabi olabilir.

1.6.2. Sülfonozo III

2,7-bis(2-sulfophenylazo) kromotropik asit tetra sodyum tuzu bir pH indikatörüdür [27].



Şekil 1.14. Poly(sulfonazo III) Reaksiyon Mekanizması [27].

Poli(sülfonazo III), organiktir ve genellikle laboratuvar çalışmaları ve endüstriyel uygulamalar için kullanılan bir boyar madde olarak bilinmektedir. Sülfonazo III, genellikle kırmızı veya pembe renge sahip bir boyar madde olarak

bilinir. Sülfonazo III, düşük sıcaklıklarda genellikle toksik değildir. Ancak herhangi bir kimyasal madde gibi dikkatli kullanılmalı ve güvenlik önlemleri alınmalıdır.

1.6.2.1. Sülfonozo III Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Poli(sülfonazo III), genellikle kırmızı renkte bir toz veya granül formunda bulunur. Kimyasal formülü $C_{22}H_{14}N_6Na_2O_9S_2$'dir. Molekül kütlesi 642 g/mol'dür. Erime noktası ≈ 300°C ve su içinde yüksek oranda çözünür.

Molekülünde birden fazla sülfon grubu içerir. Bu sülfon grupları, bileşiğin suyla kolayca reaksiyona girmesini sağlar. pH'ya karşı duyarlıdır ve pH değişikliklerine yanıt verebilir. Özellikle asidik veya bazik ortamlarda renk tonunda değişiklikler gösterebilir.

Diğer malzemelerle reaksiyona girerek onları boyar. Bu özelliği, tekstil, kâğıt, deri ve plastik boyama endüstrilerinde kullanımını sağlar. Kimyasal olarak kararlı bir bileşiktir. Asitlere, bazlara ve oksidatif maddelere karşı dayanıklıdır.

Poli(sülfonazo III), genellikle boyama ve renklendirme uygulamalarında kullanılan bir bileşik olduğu için, kimyasal ve fiziksel özellikleri bu uygulamalara uygunluk sağlar. Ancak, özelliklerin tam olarak anlaşılması ve kullanım için spesifik talimatların izlenmesi önemlidir, çünkü kimyasal özellikler, bileşiği kullanılan ortama ve diğer bileşiklerle olan etkileşimine bağlı olarak değişebilir.

1.7. Hesperetin tayini için Litaratür Özeti

Turunçgil meyvelerinin kabuklarında ve sularında bulunan bir flavon glikozit olan Hesperidin, [28] antioksidan özelliğinden dolayı bazı litaratür çalışmlarında biyosansör olarakta kullanıldığı görülmüştür. Çeşitli elektrot malzemesi üzerinde hesperetine yönelik tayinler Tablo 2.3 de özetlenmiştir.

Marcus J. Sims ve arkadaşları çok duvarlı karbon nanotüp ile modifiye edilmiş elektrolar kullanarak hesperini tayin etmişlerdir. Hesperidin, sırasıyla döngüsel voltametrik veya kare dalga adsorptif sıyırma teknikleri kullanılarak, 30 μM'ye kadar doğrusal bir aralıkta ve 0,61 μM ve 7 nM'lik bir tespit limitiyle, farklı elektrotlar arasında %5'ten az varyasyonla tespit etmişlerdir.

Aydoğdu Tığ G. ve arkadaşaları camsı karbon elektorot yüzeyine grafen okstit ve poli 2,6-piridindikarboksilik asit biriktirildi. Oluşturulan elektorodun kimyasal davranışları döngüsel voltommetri ile incelendi. Daha sonra difaransiyel

puls voltammetri yöntemi ile 0.02 M NaCl içeren 0.5 M ABS (pH 4.8) hesperidin tayini yapmışlardır.

Dong Sun ve arkadaşları SiO_2 sentezlediler. pH 8.0 fosfat tamponunda 0,5-0,25 µM doğrusal aralığında hesperidini döngüsel voltommetrik tayin etmişlerdir.

Sasya Madhurantakam ve arkadaşları 0,175 V'de bir azalma zirvesi gösteren Hesperidin-bakır kompleksi ile modifiye edilmiş bir çalışma elektrotu kullanarak 0.2-2 µM dığrusal aralığında döngüsel voltammetri metodu ile çalışmışlardır.

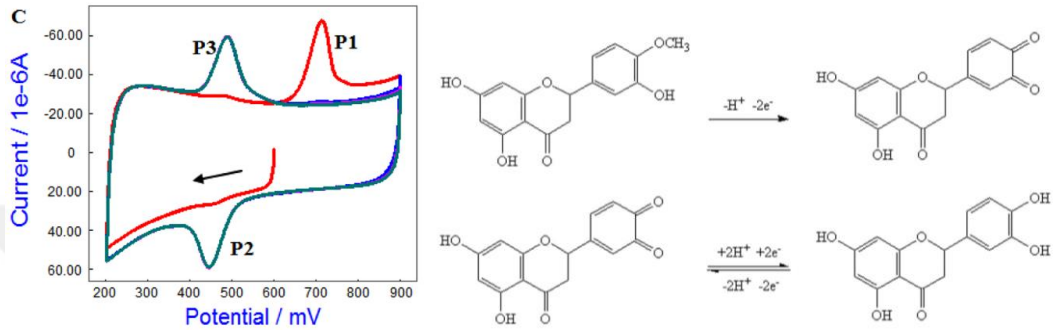
Yong Gao ve arkadaşlarıhesperidin tespiti üzerine elde edilen akımın, 5,0 x 10^{-8} mol L^{-1} –8,0 x 10^{-6} mol L^{-1} aralığında konsantrasyonu ile 8,2 x 10^{-9} tespit limiti ile doğrusal bir korelasyon sergilediğini tespit etmişlerdir.

Tablo 1.2. Hesperitin çeşitli elektrot yüzeylerindeki davranışlarının literatür tablosu.

Modifiye yüzeyler	**Metot**	**Ortam ve pH**	**Ep (V)**	**Doğrusal Aralık**	**LOD**	**Kay.**
MWCNT-BPPGE /MWCNT-SPE	CV, SWV	40% ethanol + 60% BR (pH 1.0)	0.75	0.5-15 µM, 15-40 µM	0.61 µM	[28]
P(PDCA)/ERGO/GCE	CV, DPV	0.02 M NaCl, 0.5 M ABS (pH 4.8)	0.77	0.82-82 µM	0.24 µM	[29]
SiO2/CPE	CV	0.1 M PBS (pH 8.0)	0.38	0,5-25 µM	0.25 µM	[30]
H-Cu/Pt	CV	0.1 M PBS, (pH 7.4)	-0.18	0.2-2 µM	0.55 µM	[31]
AuNPs/rGO/GCE	CV	HAc–NaAc, (pH 3.6)		0.05-8 µM	0.08 µM	[32]

Hesperetinin elektrokimyasal tayini üzerine literatürde oldukça sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Bu konu üzerine en kapsamlı araştırmayı Junjun Wu ve arkadaşları (2016) da yapmıştır [33]. Bu çalışmada ERGO/SWCNTs/GCE modifiye edilerek hesperetin tayini çalışılmıştır. Hesperetin için 5.0x10^{-8} M ila 3.0x10^{-6} M

aralığında doğrusal olduğu saptama limiti ise $2.0x10^{-8}$ M olarak hesaplanmıştır. Hesperetinin döngüsel voltammogramında anodik yönde 2 yükseltgenme piki (P1 ve P3) katodik yönde 1 indirgenme piki(P2) gözlemişlerdir. P2/P3 pikleri bir çift tersinir redoks piki olduğu ve tersinmez P1 piki ise hesperetin molekülünün C halkasındaki hidroksit pikininden kaynaklanabileceği önerilmiştir. Hesperetinin ERGO/SWCNTs/GCE deki reaksiyon mekanizması Şekil 1.15'deki gibi önermişlerdir.



Şekil 1.15. Hesperetin döngüsel voltammetrisi ve olası reaksiyon mekanizmaları [33]

Hesperetinin polimer ve metal oksit katkılı çeşitli elektrotlarda voltammetrik analizleri yapılmıştır [34,35,36].

1.8. Tezin Amacı

Bu tez projesinde yedi farklı organik boya maddeleri grafen oksit yüzeyinde döngüsel voltammetri kullanılarak elektrokimyasal polimerleştirilerek (GO/GCE) sistemlerinin hazırlanıp, yüzey karakterizasyonunu yapılmıştır. Hesperetininin elektrokimyasal davranışına en iyi yanıt veren polimerlerin yüzeylerine çeşitli altın nanoparçacıklar (AuNP) modifiye edilmiş ve kompozit elektrot üretilmiştir (AuNP/p(iletken polimer)/GO/GCE). Bu yüzeylerin SEM-EDX analizi karakterizasyonlarını yapılmıştır. Daha sonra bu elektrotta hesperidini elektrokimyasal davranışı döngüsel voltammetri, doğrusal tarama voltammetri, gibi tekniklerle incelenip deneysel parametreler optimize edilmiştir. Hesperetininin gerçek örnek analizi yapılmış ve analitik validasyonlar çalışılmıştır.

2. DENEYSEL KISIM

2.1. Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar

Çalışmanın tüm elektrokimyasal ölçümleri Autolab PGSTAT101 ve 204 ile gerçekleştirildi. Voltammetri cihazı üçlü elektrot sisteminden oluşmaktadır. Her ölçüm öncesi camımsı karbon elektrot (GCE) bir keçe üzerindeki sulu Al_2O_3 ile parlatma yapıldı. Daha sonra elektrot yüzeyinde bulunabilecek partiküller ve gazlar ultrasonik banyo ile 5 dakika giderildi. Sistemde Ag/AgCI(doy KCI) referans elektrot olarak ve Pt tel yardımcı elektrot olarak kullanıldı. Elektrolit ortamındaki oksijeni gidermek için azot gazı (%99,99) geçirildi. pH ölçümleri (Orion pH metre), IR lamba (General Elektrik 150 Watt), ultrasonik banyo (Bandalin marka), ultra saf su (Millipore saf su cihazı), Yüzey karakterizazyonu için SEM-EDX cihazı (ZEISS GEMINI 500) kullanıldı.

Kullanılan Kimyasallar;

• DMF	• Hesperetin
• HNO_3	• Sulfonozol III (SFO)
• $KMnO_4$	• Indophenol blue (IFB)
• H_2SO_4	• Pyrogallol red(PGR),
• $NaNO_3$	• Sulfonazo III (SFO),
• NaOH	• Bromcresol green (BGC),
• HCl	• Tropaeolin o (TPN),
• $HAuCl_4$	• Purusya Mavisi (PRM)
• Fosforik asit	

2.2.Yöntem

Yöntemin özetlenmiş şematik gösterimi Şema 2.1'de verilmiştir. GCE elektrot kumaş üzerindeki sulu alüminada temizlenir. Sonra ultrasonik banyoda yüzeydeki kirlilik ve gazlar giderilir. Daha sonra DMF içinde süspanse edilmiş grafen oksit(GO) GCE üzerine damlatılır. IR ışık altında kurutulur. Bu yüzeye polimerizasyon ve altın nanoparçacık biriktirilerek hesperetine olan yanıtları ölçüldü.

2.2.1. Grafen Oksit Sentezi

Bu tezde kullanılan grafen oksit, Hummer's ve Brodie olmak üzere iki kimyasal sentez yöntemi literatürden modifiye edilerek kullanıldı. Bu tezde daha yumuşak indirgeme tekniği ile elde edilmiş olan Brodie yöntemi kullanılarak GO sentezlendi. Bu amaçla, 2 g olacak %99,99 saflıkta grafit tozu tartıldı bir beher içinde 17 g $NaClO_3$ karıştırıldı. Karışım buz banyosunda tutularak yavaş yavaş karıştırıldı. Bu karışıma toplam 50 mL HNO_3 küçük kısımlar halinde eklendi. Elde edilen karışım oda sıcaklığında 24 saat sürekli olarak karıştırıldı. Daha sonra 500 mL distile su ilave edildi. Çözelti pH 7 değerine gelinceye kadar yıkama işlemi yapıldı. Son olarak elde edilen katı etüvde 80ºC'de kurutuldu.

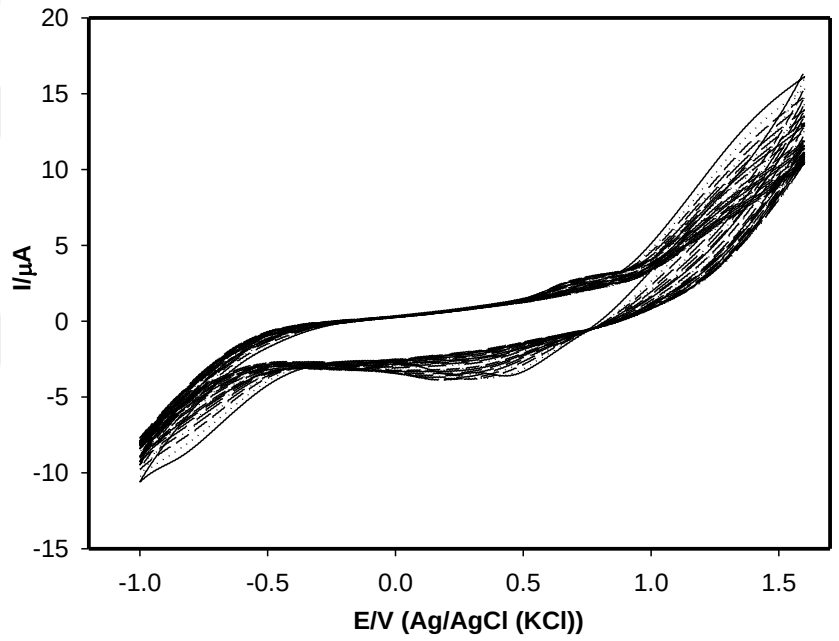
Brodie yöntemi ile elde edilen grafen oksit katısından 0.05 g tartılıp 3 ml N,N-dimetil formaldehid (DMF) eklenerek ultrasonik karıştırıcıda siyah renkli bir süspansiyon elde edilene kadar karıştırıldı. Çalışmalarda 10 µL grafen oksit süspansiyonu modifiye elektrot yüzeyine damlatıldı ve çözücüsünü uçurmak için IR lamba altında 20 dakika bekletildi.

2.2.2. GO/GCE Hazırlanması

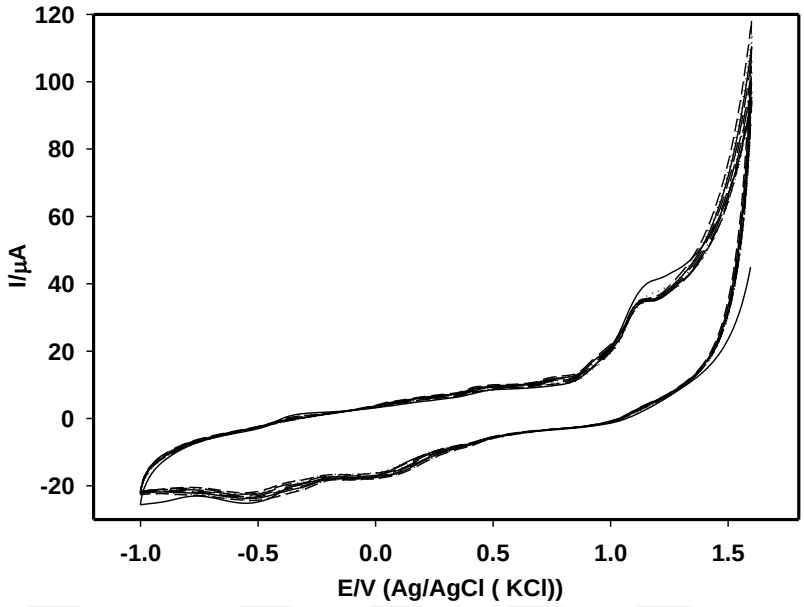
Camımsı karbon elektrot yüzeyi bir kumaşa damlatılan sulu Al_2O_3 ile parlatıldı. Elektrot yüzeyindeki partiküller ultrasonik banyo yardımıyla uzaklaştırıldı. Bu temizleme işlemi her ölçüm öncesinde tekrarlandı. Grafen oksit süspansiyonu GC elektrot yüzeyine mikropipet ile 10 µL damlatıldı. Bu elektrot IR lamba altında 15 dakika tutularak çözgenler uçurulmuş ve elektrot yüzeyi kurutularak grafen oksit kaplanmış (GO/GCE) yüzeyi hazırlanmıştır [15].

2.2.3. GCE Yüzeyine Luminol (LML) ve Sülfonozo III (SFO) Elektorpolimerazyonu

$1x10^{-3}$ M Luminol monomeri elektropolimerizasyon için voltammetrik hücreye -0.2 V ile +1.1 V potansiyel aralığında 50 mV s^{-1}'lik hızla döngüsel voltammetri tekniği ile 25 döngü kaplanarak modifiye elektrot yüzeyleri hazırlandı. Şekil 2.1. Luminol(LML) monomer çözeltisinin yalın GCE yüzeyine elektropolimerizasyon voltammogramını göstermektedir. Aynı şekilde, Şekil 2.2. de $1x10^{-3}$ M Sulfonazo III (SFO) monomer çözeltisinin elektropolimerizasyon elde edildi. Polimer kaplanan elektrotlar p(LML)/GCE ve p(SFO)/GCE olarak isimlendirildi.



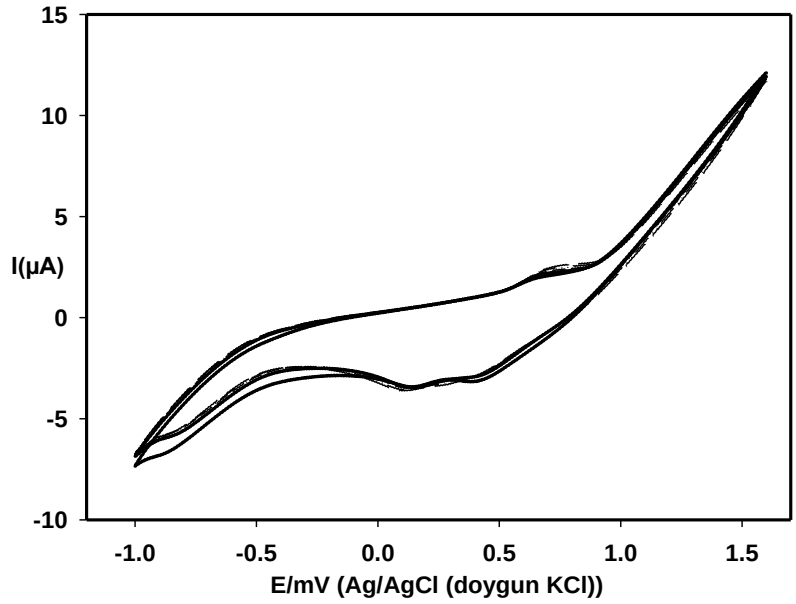
Şekil 2.1. pH 2 Fosfat tamponunda GCE elektrot yüzeyine Luminolün 25 döngü döngüsel voltammogramı.



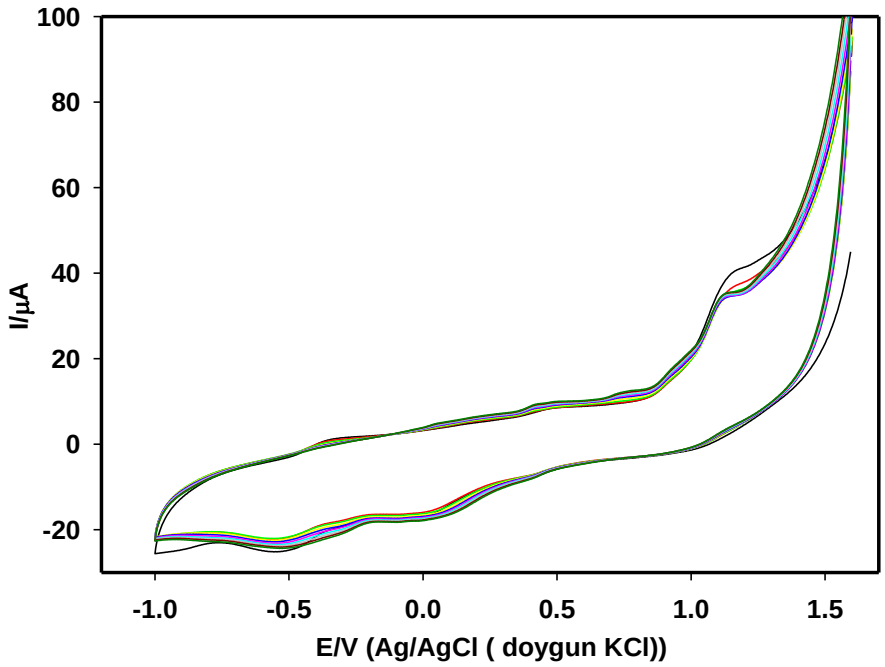
Şekil 2.2. pH 2 Fosfat tamponunda GCE elektrot yüzeyine sulfonazo III'ün 10 döngü döngüsel voltammogramı.

2.2.4. Polimer Modifiye Elektrot Yüzeyine Altın Nanoparçacıkların Biriktirilmesi

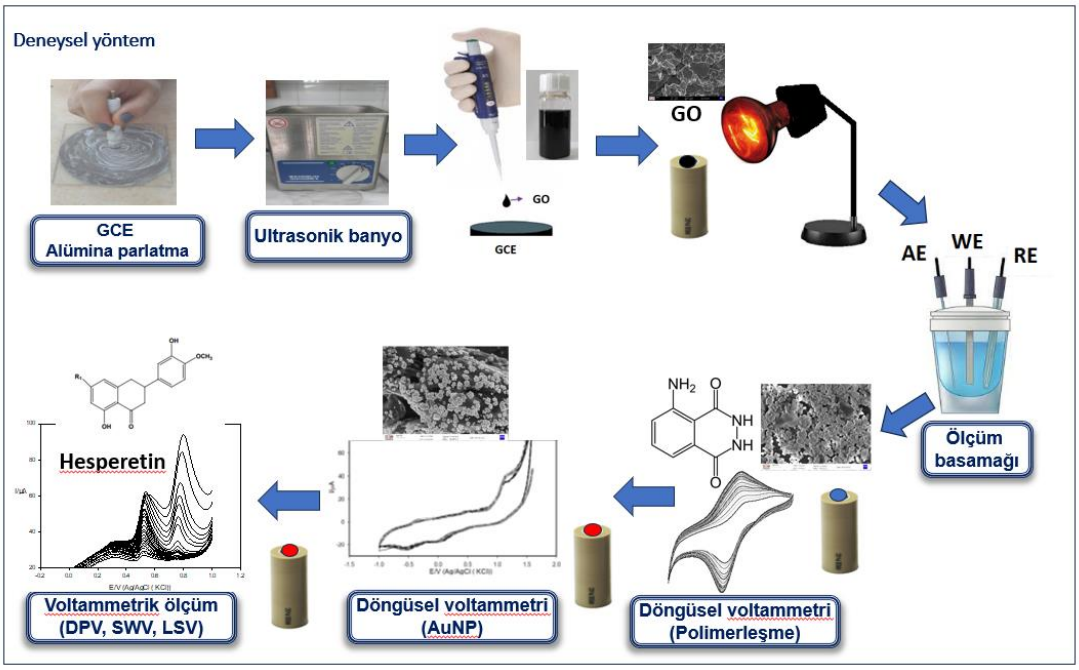
Hazırlanan p(SFO)/GO/GCE ve p(LML)/GO/GCE modifiye elektrot yüzeyine 5mM $HAuCl_4$ çözeltisi -0,2V ile +0.1,1 V potansiyel aralığında 50 mV/s tarama hızında döngüsel voltammetri ile kaplandı. Böylece AuNP/p(SFO)/GO/GCE ve AuNP/p(LML)/GO/GCE elektrotları hazırlandı. Ultra saf su ile elektrot yüzeyi yavaşça yıkandı. Daha sonra başka bir voltammetrik hücreye 10 mL pH 2 fosfat tamponu eklendi. Çözünmüş oksijeni uzaklaştırmak için tampon çözeltisinden 5 dakika N_2 gazı geçirilir ve hazırlanan modifiye elektrotlar çözeltiye daldırıldı. 50 mV/s tarama hızında -700 mV ile +1200 mV potansiyel aralıklarında CV tekniği ile hesperitin elektrokimyasal davranışı incelendi.



Şekil 2.3. p(LML)/GO/GCE üzerine 5mM $HAuCl_4$ çözeltisinden 5 döngü döngüsel voltammetri ile kaplanması



Şekil 2.4. p(SFO)/GO/GCE üzerine 5mM $HAuCl_4$ çözeltisinden 10 döngü döngüsel voltammetri ile kaplanması



Şema 2.1. Hesperetin tayini için modifiye elektrot hazırlama ve voltammetrik ölçüm yönteminin şematik gösterimi.

3. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Elektrokimyasal olarak hesperetinin yükseltgenmesi üç aşamalı olarak çalışılmıştır. Bunlar;

I) GCE yüzeyine p(LML) ve p(SFO) kaplanarak hesperetinin yükseltgenme davranışı incelenmiştir.

II) p(LML) ve p(SFO) yüzeyine altın nonoparçacık modifiye edilerek AuNP/p(LML)/GCE ve AuNP/p(SFO)/GCE hazırlanmış bu elektrotlarda hesperetinin yükseltgenme davranışı incelenmiştir.

III) GCE yüzeyine Grafen oksit (GO) modifiye edilerek AuNP/p(LML)/GO/GCE ve AuNP/p(SFO)/GO/GCE modifiye elektrotlarda hesperetinin yükseltgenme davranışı incelenmiştir.

Hesperetinin;

- yalın GCE,
- GO/GCE
- p(LML)/GCE
- p(SFO)/GCE
- AuNP/p(LML)/GCE
- AuNP/p(SFO)/GCE
- AuNP/p(LML)/GO/GCE
- AuNP/p(SFO)/GO/GCE

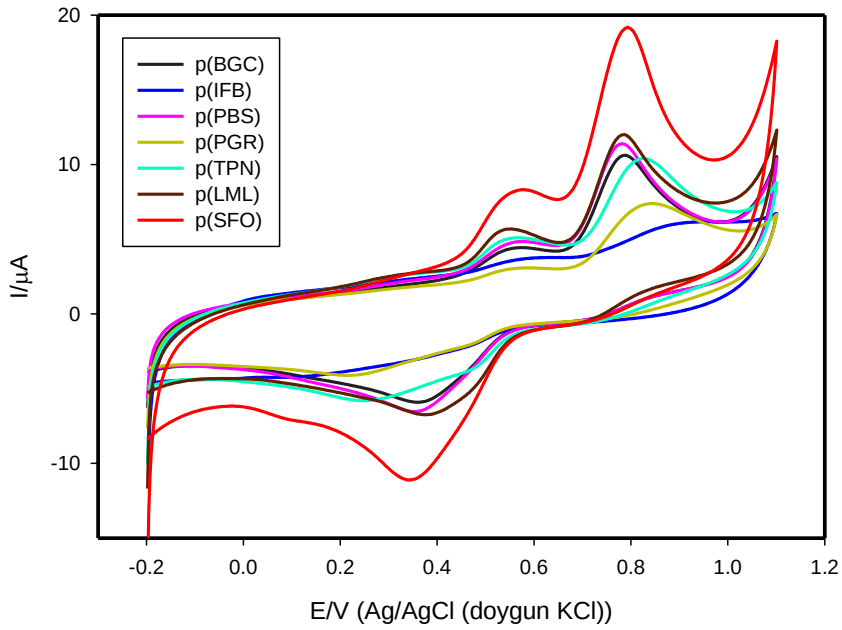
Hesperetinin pik akımındaki artış ve yükseltgenme pik potansiyelindeki kayma incelenerek biribiri arasında karşılaştırıldı. Böylece en iyi elektrokatalitik etki gösteren elektrotlar tespit edildi. Bu tezde çeşitli parametreler optimize edilerek hespretinin elektrokimyasal yükseltgenmesine olan etkileri incelendi. Bu parametreler;

- Fosfat tampon çözeltisi pH'ı,
- Farklı asit ortamları,
- Au^{3+} çözelti derişimleri,
- Au^{3+} döngü sayısı,
- Tarama hızı,

- Hesperetin derişimi,
- Amperometrik ölçümler,
- Elektrot tekrarlanabilirliği,
- Girişim çalışması,
- Gerçek örnek uygulama gibi parametreler ve optimum koşullar belirlenmiştir.

3.1. İletken Polimer Seçimi

Yalın GCE üzerine 7 farklı monomerden çıkılarak döngüsel voltammetri yardımıyla polimerleşmesi sağlanmıştır. Bu monemerler Pyrogallol red(PGR), Sulfonazo III (SFO), Luminol (LML), Tropaeolin o (TPN), Bromcresol green(BGC), Indophenol blue (IFB) ve Purusya Mavisi (PRM) kullanıldı. Bu yüzeylere altın nanoparçacıklar (AuNP) kaplanarak AuNP/poli(iletken polimer)/GCE olarak isimlendirilmiştir. Bu modifiye elektrotlarda pH 2 fosfat tamponunda $3x10^{-4}$ M hesperetinin döngüsel voltomogramı çakıştırılmıştır. Şekil 3.1'de görüldüğü gibi hesperetinin pik akımı ve pik ayrımı daha yüksek olan p(SFO) ve p(LML) polimerleri seçildi. Bundan sonraki çalışmalarda bu iki polimerin optimizasyon işlemleri yapılmıştır.



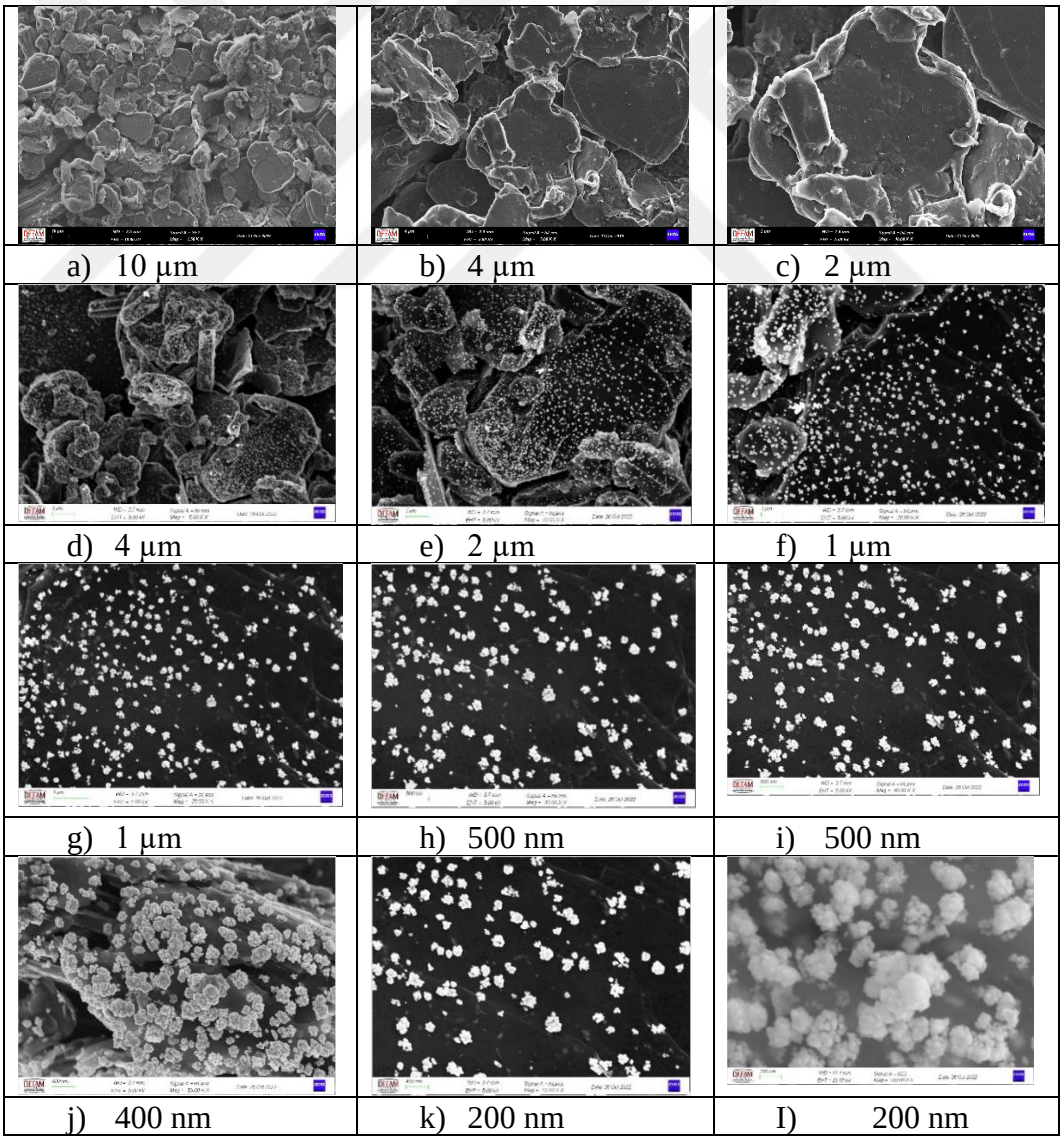
Şekil 3.1. Farklı AuNp/p(iletken polimer)/GCE elektronların pH 2 fosfat tamponunda $3x10^{-4}$ M hesperetinin döngüsel voltammogramları. (tarama hızı: 50 mV/s)

3.2.Modifiye Elektrotların Yüzey Karakterizasyonları

GO, AuNP/p(LML)/GO/GCE ve AuNP/p(SFO)/GO/GCE elektrotların SEM-EDX ile yüzey görüntülerie ve elementel analizleri yapıldı.

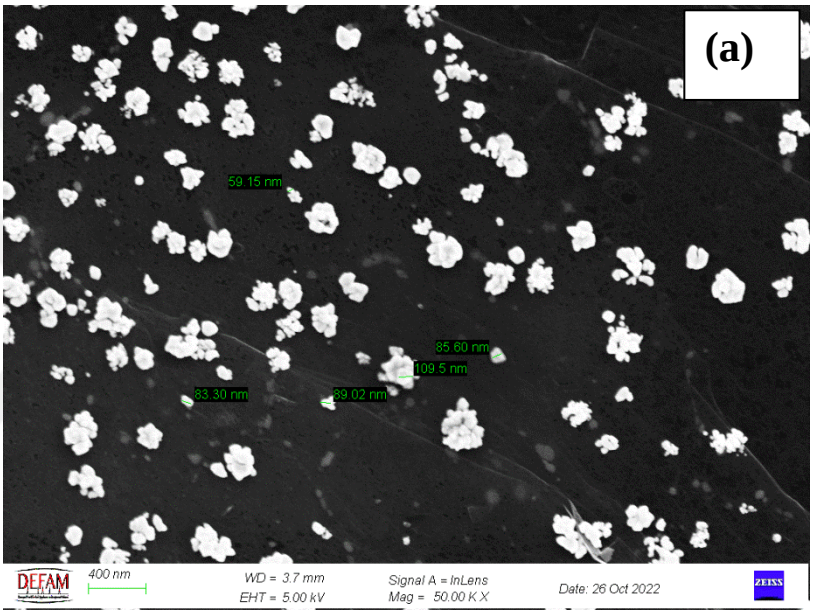
3.2.1. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Görüntüleri

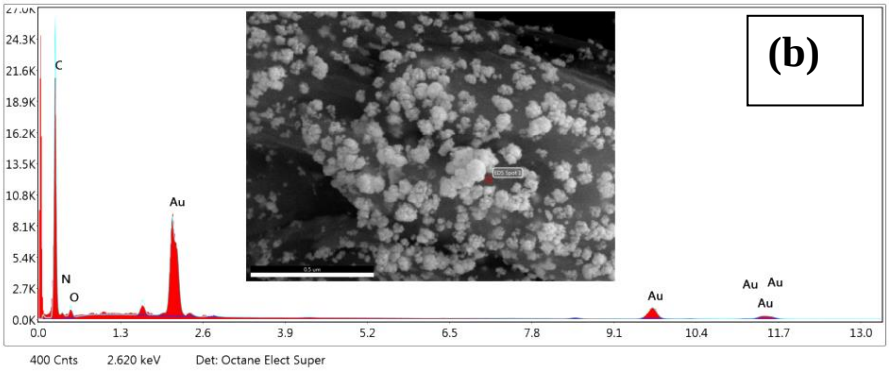
Şekil.3.2'de görüldüğü gibi AuNP/p(LML)/GO/GCE için SEM görüntüleri 4 µm, 2µm, 1µm, 500 nm, 400nm, 200nm skalalarrda alındığı görülmektedir. Grafen oksit nano yapraklar üzerinde poli(LML) oluştuğu ve bu yüzeylerin üzerine altın nanoparçacıklar homojen bir şekilde dağıldığı görülmektedir. Şekil 3.2 (g,h,ı) görüntülerinden de anlaşılacağı gibi Au nanoparçacıklar 200nm den küçük birden fazla kürelerden oluştuğu gözlenmiştir. Au nanoparçacıklar küçük kürelerin üst üste dizilmesiyle nano aglomerasyon şeklinde bir oluşum göstermiştir. Bu nano küreleri oluşturan birimlerdeki AuNP'lar 20-40 nm boyutlarında olduğu belirlenmiştir.



Şekil 3.2. GO (a-c) ve AuNP/p(LML)/GO/GCE (d-ı) için SEM görüntüleri

Şekil 3.3(a)'da AuNP/p(LML)/GO/GC elektrot için SEM görüntüsünde AuNP ait parçaların çapları 59 nm-109 nm aralığında dağılımlar elde edilmişti. Şekil 3.3(b)'de EDX spektrumunda yüzeyde meydana gelen Au nanoparçacıkların ağırlıkça % dağılımı C için %56 Au için %37 olmuştur. Yüzeyin karbondan sonra ağırlıklı olarak Au nanoparçacıklarla kaplandığını göstermektedir. Ayrıca diğer atomlar grafen oksit tabakasından C piki, grafen oksitten gelen O piki ve poli(Limunol)'ün yapısında bulunan N piki EDX de görülmektedir. Bu sonuçlar bize göstermektedir ki, poli(LML)'ün grafen oksit tabakası üzerindeki varlığını N pikleri sayesinde kanıtlamaktadır.



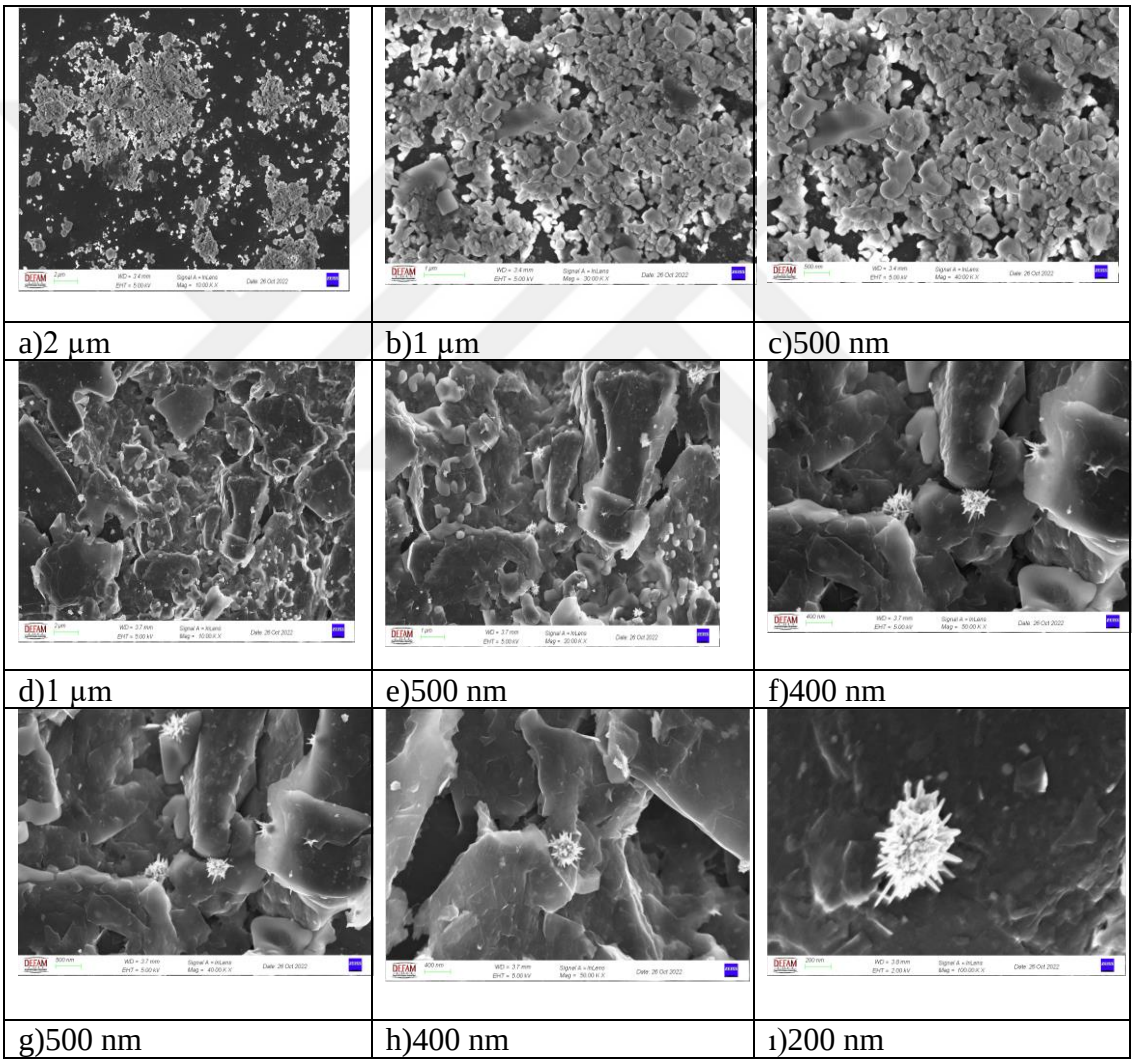


Smart Quant Results

Element	Weight %	Atomic %	Net Int.	Error %	Kratio	Z	A	F
C K	56.59	88.94	6404.01	6.62	0.3084	1.1672	0.4669	1.0000
N K	2.81	3.78	88.30	28.64	0.0029	1.1438	0.0898	1.0000
O K	3.13	3.69	243.34	15.12	0.0049	1.1231	0.1387	1.0000
AuL	37.47	3.59	920.19	5.68	0.2334	0.6015	1.0333	1.0024

Şekil 3.3. a) AuNP/p(LML)/GO/GCE için SEM görüntüsü b) EDX analizi.

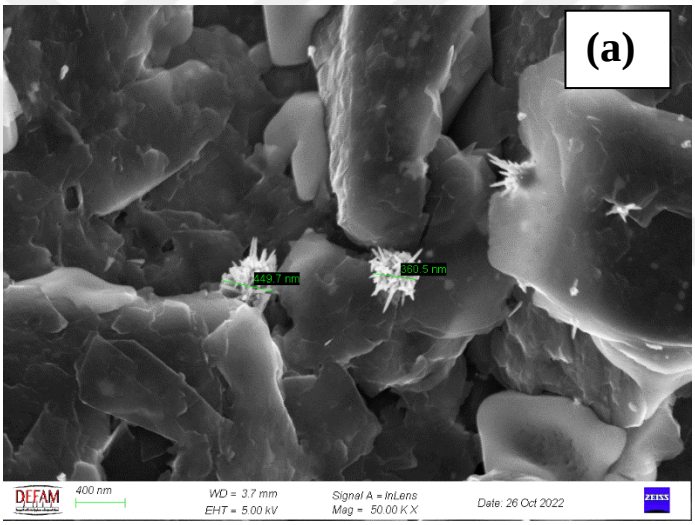
Şekil.3.4'deki SEM görüntülerinde p(SFO)/GO ve AuNP/p(SFO)/GO/GCE için 4 µm, 2µm, 1µm, 500 nm, 400nm, 200nm skalalarrda alınmıştır. Şekil.3.4(a-c)'de poli(SFO)/GO/GCE için SEM görüntüleri alınmıştır. Bu görüntülerde poli(SFO) katmanların yüzeyde ince bir film tabakası şeklinde oluşturğu görülmektedir. AuNP/p(SFO)/GO/GCE'nin SEM görüntüleri Şekil.3.4(d-ı)'da elde edildi. Bu görüntülerden grafen oksit tabakası üzerinde AuNP homojen bir şekilde dağıldığı görülmektedir. Ayrıca bu p(SFO) polimer yüzeyinde Au nanoparçacıkların "*gold star*" şeklinde oluştuğu görülmektedir. Bu altın yıldızların çapları 300-400nm aralığında ölçülmüştür.

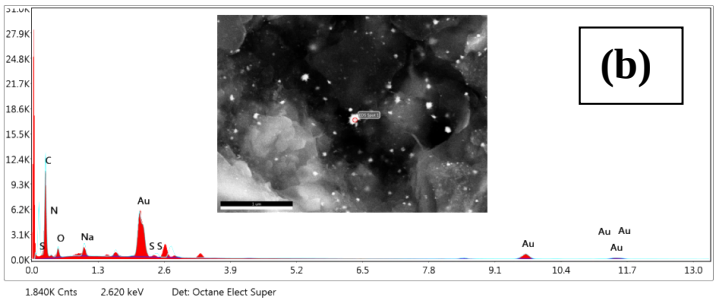


Şekil 3.4. p(SFO)/GO (a,b,c) ve AuNP/p(SFO)/GO/GCE için SEM görüntüleri

Şekil 3.5(a)'da AuNP/p(SFO)/GO/GC elektrot için SEM görüntüsünde "*gold star*" AuNP ait parçaların çapları 350 nm-450 nm aralığında dağılımlar elde edilmişti. Şekil 3.5(b)'de EDX spektrumunda yüzeyde Au, C, O, N, Na, S elementleri bulunmuştur. Bu elementlerden N, Na, ve S atomları sülfanoza III ($C_{22}H_{14}N_6Na_2O_9S_2$) yapısındaki atomlardır. Bu atomların spektrumda çıkması yüzeyin poli(SFO) ile kaplandığını desteklemektedir. Au nanoparçacıkların ağırlıkça % dağılımı C için %49 Au için %37 olmuştur. Yüzeyin karbondan sonra ağırlıklı olarak Au nanoparçacıklarla kaplandığını görülmektedir.

Bu SEM Sonuçları göstermiştir ki, iki farklı polimerin yüzeyinde oluşan AuNP'ların şekilleri karşılaştırıldığında literatürde daha ender rastalanan "*gold star*" yapıları poli(SFO) polimeri üzerinde oluşurken, poli(LML) polimeri üzerinde AuNP'ların küre şeklinde oluştuğu görülmektedir.





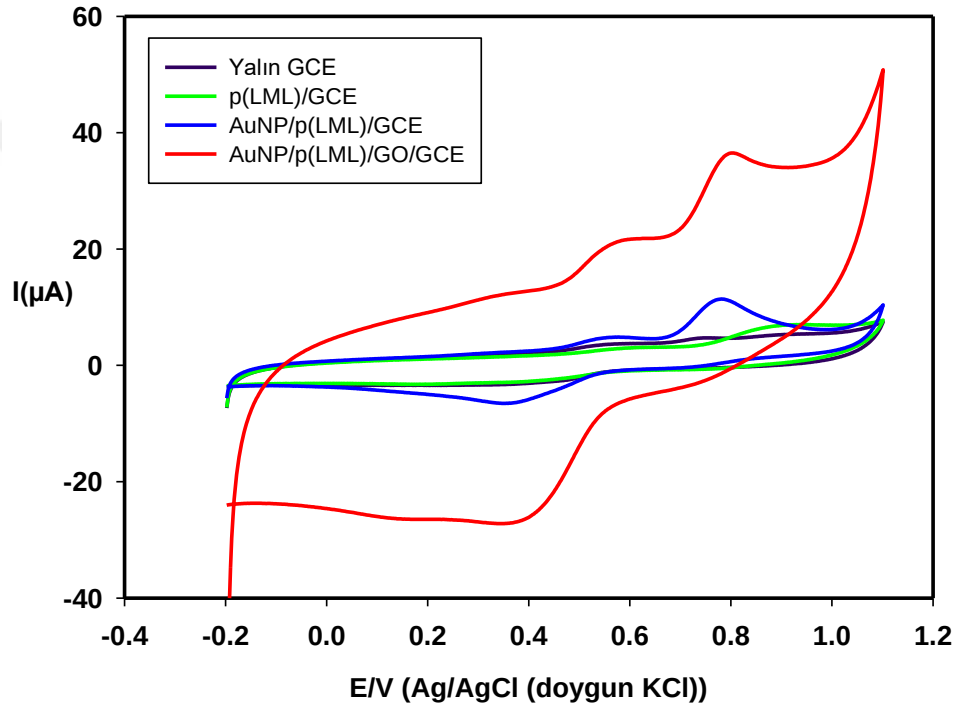
Smart Quant Results

Element	Weight %	Atomic %	Net Int.	Error %	Kratio	Z	A	F
C K	49.31	80.32	3224.64	7.37	0.2424	1.1741	0.4188	1.0000
N K	3.43	4.80	76.23	28.94	0.0039	1.1506	0.0977	1.0000
O K	6.62	8.09	354.24	12.43	0.0110	1.1297	0.1468	1.0000
NaK	3.52	2.99	540.17	8.76	0.0149	1.0325	0.4094	1.0001
S K	0.22	0.13	54.00	13.28	0.0016	1.0205	0.6976	1.0050
AuL	36.91	3.67	598.44	6.65	0.2314	0.6049	1.0342	1.0024

Şekil 3.5. a) AuNP/p(SFO)/GO/GCE için SEM görüntüsü b) EDX analizi.

3.3.Modifiye Elektrotların Karşılaştırılması

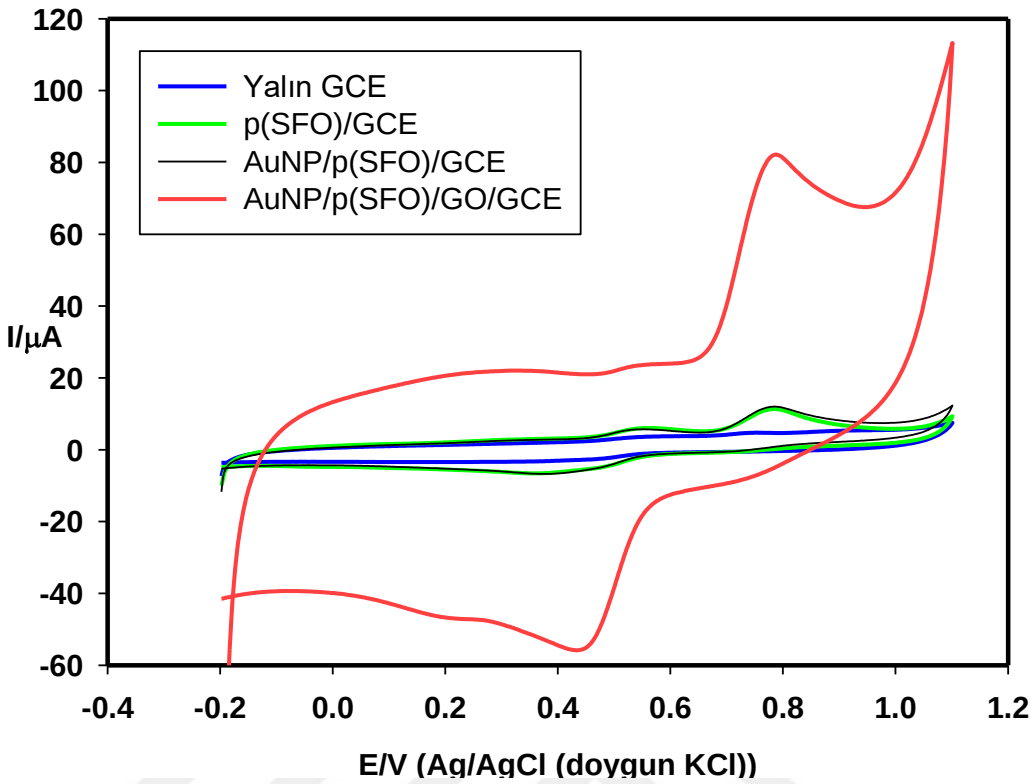
Yalın GCE, p(LML)/GCE, AuNP/p(LML)/GCE, AuNP/p(LML)/GO/GCE elektrotlar hazırlandı. Voltammetrik hücreye 10 mL pH 2 Fosfat tamponu ilave edildi. Daha sonra bu ortama $3x10^{-4}$ M hesperetin ilave edip farklı modifiye yüzeylerdeki voltammogramlar kaydedildi(Şekil 3.6). Hesperetin için en yüksek pik akımı ve pik ayrımı AuNP/p(LML)/GO/GCE de elde edildi.



Şekil 3.6. Yalın GCE ve p(LML) modifiye elektroların pH 2 fosfat tamponunda $3x10^{-4}$ M hesperetinin döngüsel voltammogramı

Tablo 3.1. Yalın GCE ve p(Luminol) modifiye elektrotlarda pH 2 fosfat tamponunda $3x10^{-4}$ M Hesperetinin akım değerleri

Elektorot	I(µA)
Yalın GCE	10,62
p(LML)/GCE	24,22
AuNP/p(LML)/GCE	61,81
AuNP/p(LML)/GO/GCE	97,90



Şekil 3.7. Yalın GCE ve p(SFO) modifiye elektroların pH 2 fosfat tamponunda $3x10^{-4}$ M hesperetinin döngüsel voltammogramı.

Tablo 3.2 Yalın GCE ve p(sulfonoza III) modifiye elektrotlarda pH 2 fosfat tamponunda $3x10^{-4}$ mM hesperetinin akım değerleri

Elektorot	**I(µA)**
Yalın GCE	10,62
p(SFO)/GCE	30,49
AuNP/p(SFO)/GCE	47,00
AuNP/p(SFO)/GO/GCE	191,83

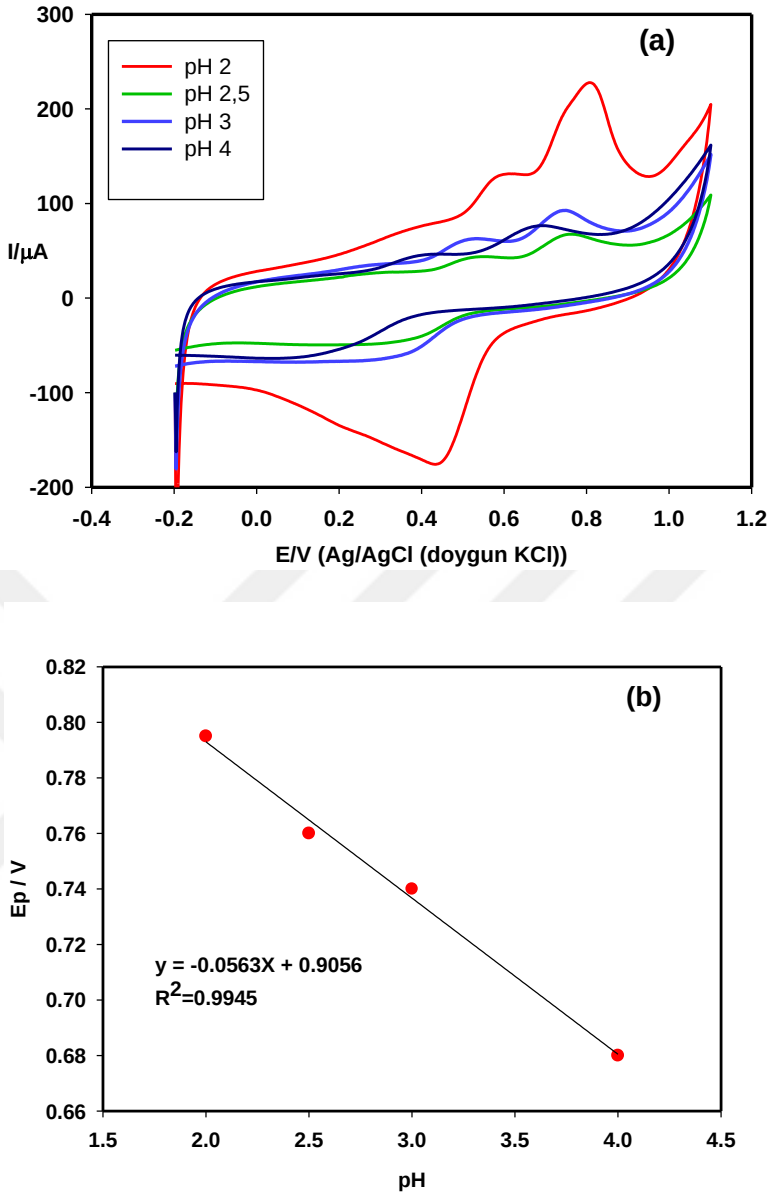
Yalın GCE, p(SFO)/GCE, AuNP/p(SFO)/GCE, AuNP/p(SFO)/GO/GCE elektrotlar hazırlandı. Voltammetrik hücreye 0.1 M pH 2 Fosfat tamponu ilave edildi. Daha sonra bu ortama $3x10^{-4}$ M hesperetin ilave edip farklı modifiye yüzeylerdeki voltammogramlar kaydedildi (Şekil 3.7). Hesperetin için en yüksek pik akımı ve pik ayrımı AuNP/p(SFO)/GO/GCE de elde edildi.

4.4 pH Optimizasyonu

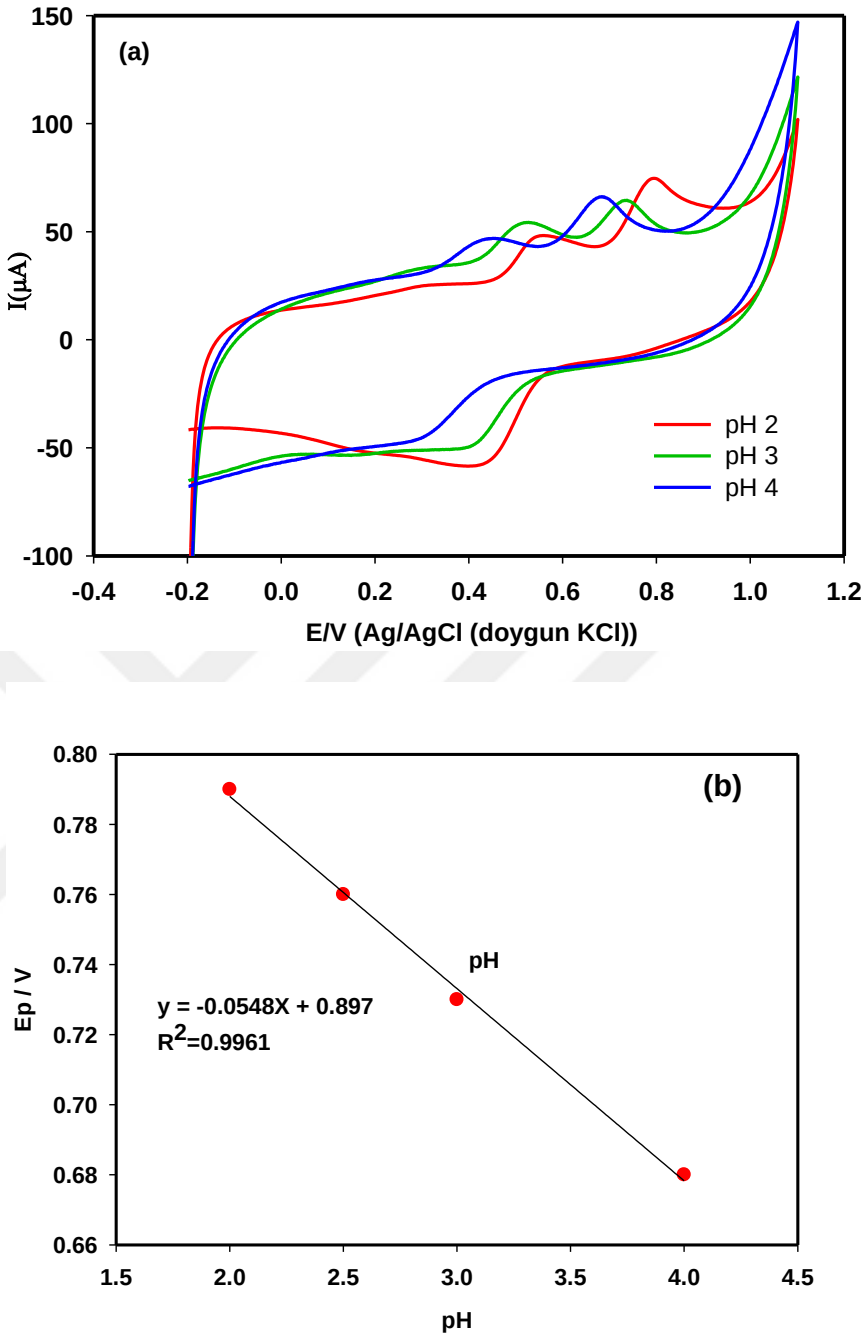
0.1 M pH (2, 2.5, 3, 4) fosfat tamponları voltammetrik hücreye alındı. Bu ortama 1 mM hesperetin ilave edildi ve ayrı bir hücrede oluşturulan modifiye elektrotlar AuNP/p(LML)/GO/GCE ve AuNP/p(SFO)/GO/GCE çözelti ortamına daldırılarak döngüsel voltammogramlar alındı (Şekil. 3.8 ve Şekil. 3.9). Çalışma sonucunda hesperetinin yükseltgenme pik akımını en yüksek veren ve potansiyel değerini pozitif yöne doğru daha fazla kaydıran pH ortamı seçildi. Her iki polimer için optimum pH 2 seçildi.

Şekil 3.8b'de görüldüğü gibi AuNP/p(LML)/GO/GCE elektrotta pH 2.0, 2.5, 3.0, 4.0 da hesperetinin Pik potansiyelindeki değişme pH a bağlı olarak değişimi incelenmiştir. Potansiyel regresyon denklemi **E_{PA} = - 0.056pH +0.9056 (R^2 = 0.9945)** dir. Nernst denklemine göre potansiyel değeri 0.059 V/pH dir. Sonuç olarak eğim 0.056 bu eğimine çok yakındır, bu da proton ve elektron prosesinin eşit olduğunu göstermektedir [37].

Şekil 3.9b'de görüldüğü gibi AuNP/p(SFO)/GO/GCE elektrotta pH 2.0, 2.5, 3.0, 4.0 da hesperetinin Pik potansiyelindeki değişme pH a bağlı olarak değişimi incelenmiştir. Potansiyel regresyon denklemi **E_{PA} = - 0.055pH +0.897 (R^2 = 0.9961)** dir. Nernst denklemine göre potansiyel değeri 0.059 V/pH dir. Sonuç olarak eğim 0.055 bu eğimine çok yakındır, bu da proton ve elektron prosesinin eşit olduğunu göstermektedir [37].



Şekil 3.8. AuNP/p(LML)/GO/GCE elektrotta a) $3x10^{-4}$ hesperetinin farklı pH ortamındaki döngüsel voltammogram, b) pH-Ep grafiği.

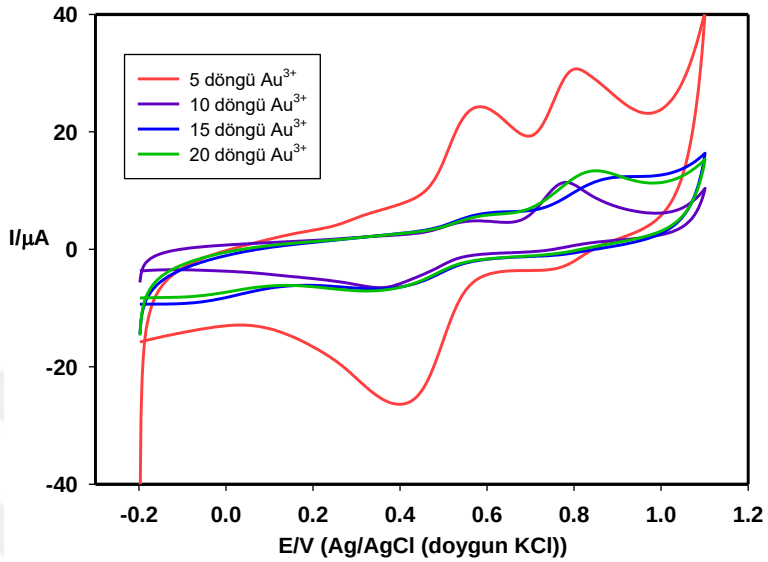


Şekil 3.9. AuNP/p(SFO)/GO/GCE elektrotta a) $3x10^{-4}$ hesperetinin farklı pH ortamındaki döngüsel voltammogram, b) pH-Ep grafiği.

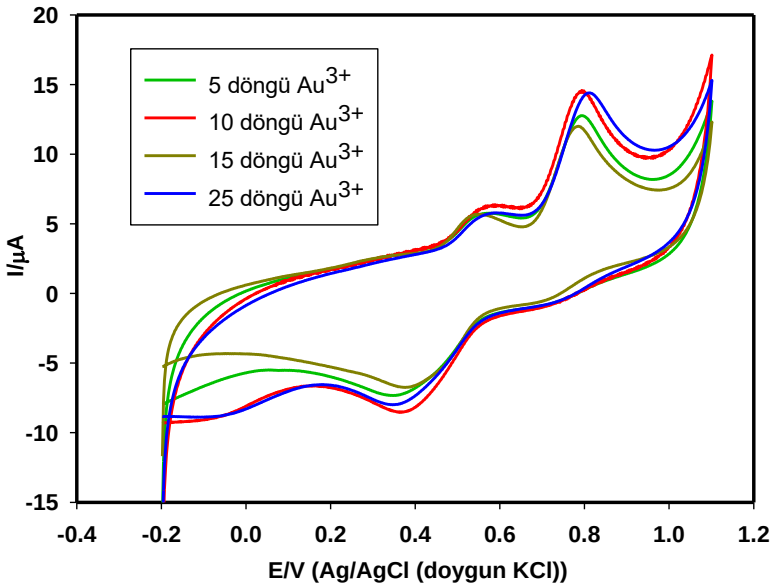
3.4. p(LML)/GCE ve p(SFO)/GCE Elektrot Yüzeyinde Au Döngü Sayısının Optimizasyonu

Optimize edilen 5mM Au^{3+} çözeltisinden döngüsel voltammetri ile farklı döngü sayılarında (5, 10, 15, 20) kaplanarak AuNP/p(LML)/GCE ve

AuNP/p(SFO)/GCE hazırlandı. Şekil 3.8'de görüldüğü üzere hesperetinin pik akımı ve pik potansiyeline göre optimum döngü sayısı p(LML)'de 5 seçildi. P(SFO)'de ise Şekil 3.9'da görüldüğü gibi 10 döngü seçildi.



Şekil 3.10 AuNP/p(LML)/GCE elektrot için elektrot için farklı Au^{3+} döngü sayılarında $3x10^{-4}$ M hesperetinin döngüsel voltammogramı

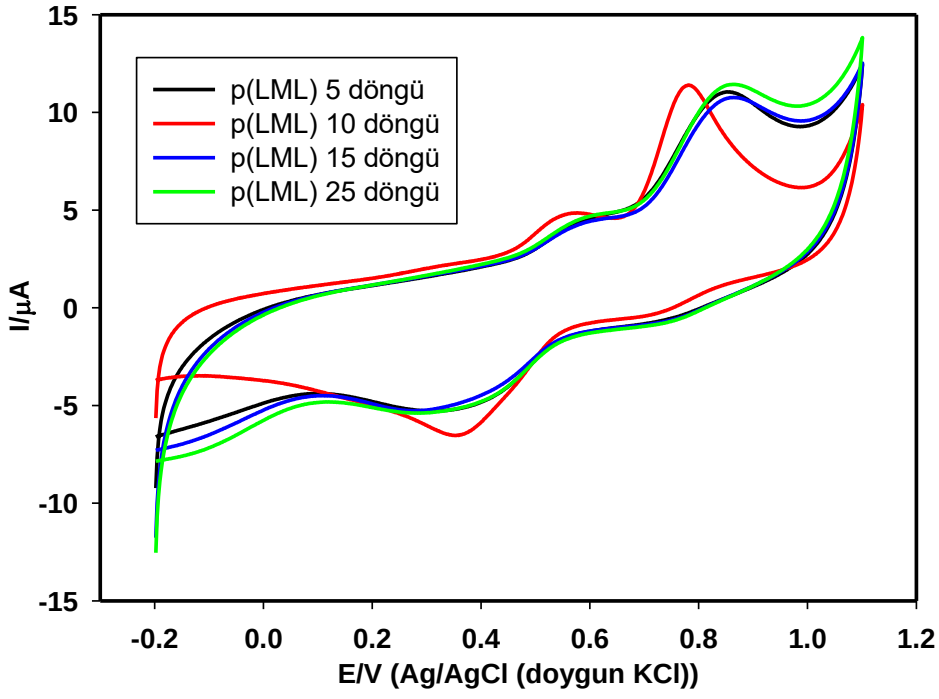


Şekil 3.11 AuNP/p(SFO)/GCE elektrot için elektrot için farklı Au^{3+} döngü sayılarında $3x10^{-4}$ M hesperetinin döngüsel voltammogramı

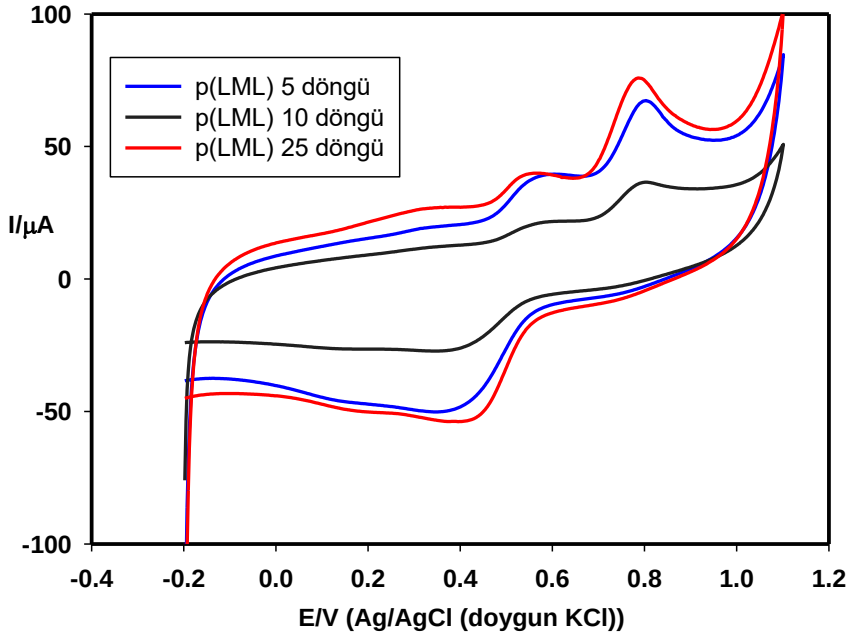
3.5. AuNP/p(LML)/GCE ve AuNP/p(LML)/GO/GCE Elektrotlarda Luminol'ün Döngü Sayısının Optimizasyonu

Bu çalışmada GCE yüzeyine AuNP ve p(LML) varlığında grafen oksitli ve grafen oksitsiz iki tür elektrot hazırlanarak her biri üzerine farklı döngü sayıda p(LML) kaplandı. Bu çalışmada amaç Hesperetin pik akımına GO yüzeyinin meydana getirdiği elektro katalitik etkiyi ortaya koymaktır.

Optimize edilen 5 mM Au^{3+} çözeltisinde AuNP/p(LML)/GCE için farklı döngü sayılarında (5, 10, 15, 25) Luminol ile kaplanarak çalışıldı. Şekil 3.12'da görüldüğü üzere hesperetinin pik akımı ve pik potansiyeline göre optimum döngü sayısı belirlendi. Daha sonra AuNP/p(LML)/GO/GCE yüzeyi farklı döngü sayılarında (5, 10, 25) Luminol ile kaplanarak çalışıldı (Şekil 3.13.). Pik akımındaki artış ve pik potansiyelindeki ayrım daha iyi olan döngü sayısı 25 olarak belirlendi. Bu iki çalışma arasında pik akımı GO modifiyeli elektrotta yaklaşık 10 kat arttığı görülmektedir. Bundan sonraki çalışmalarda GO modifiye elektrotlar hazırlandı.



Şekil 3.12 AuNP/p(LML)/GCE elektrot için elektrot için farklı LML döngü sayılarında $3x10^{-4}$ M hesperetinin döngüsel voltammogramı

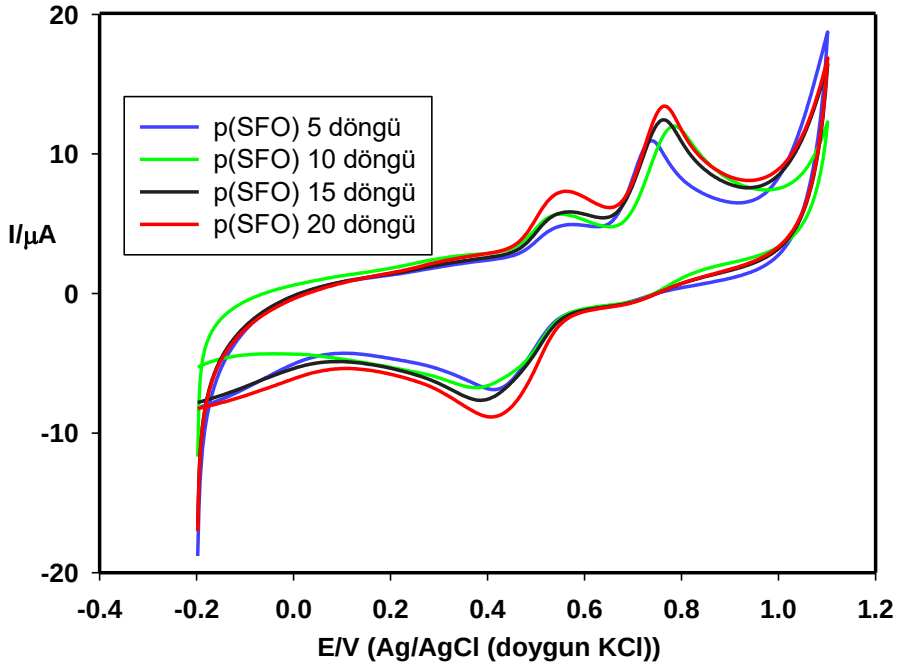


Şekil 3.13. AuNP/p(LML)/GO/GCE elektrot için elektrot için farklı LML döngü sayılarında $3x10^{-4}$ M hesperetinin döngüsel voltammogramı

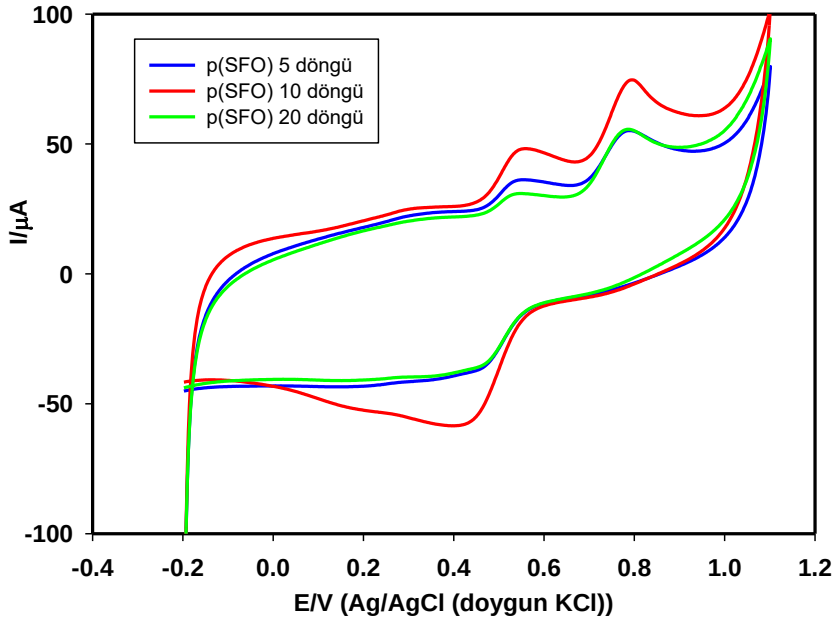
3.6. AuNP/p(SFO)/GCE ve AuNP/p(SFO)/GO/GCE için Sülfonozo III'ün Döngü Sayısının Optimizasyonu

Bu çalışmada da benzer şekilde GCE yüzeyine AuNP ve p(SFO) varlığında grafen oksitli ve grafen oksitsiz iki tür elektrot hazırlanarak her biri üzerine farklı döngü sayıda p(LML) kaplandı. Bu çalışmada amaç Hesperetin pik akımına GO yüzeyinin meydana getirdiği elektro katalitik etkiyi ortaya koymaktır.

Optimize edilen 5mM Au^{3+} çözeltisinde AuNP/p(SFO)/GCE yüzeyi farklı döngü sayılarında (5, 10, 15, 20) Sülfonozo III ile kaplanarak çalışıldı. Şekil 3.14'te görüldüğü üzere hesperetinin pik akımı ve pik potansiyeline göre optimum döngü sayısı belirlendi. Daha sonra AuNP/p(SFO)/GO/GCE yüzeyi farklı döngü sayılarında (5, 10, 20) kaplanarak çalışıldı (Şekil 3.15). Pik akımı ve pik potansiyeli daha yüksek olan döngü sayısının 10 olarak seçildi.



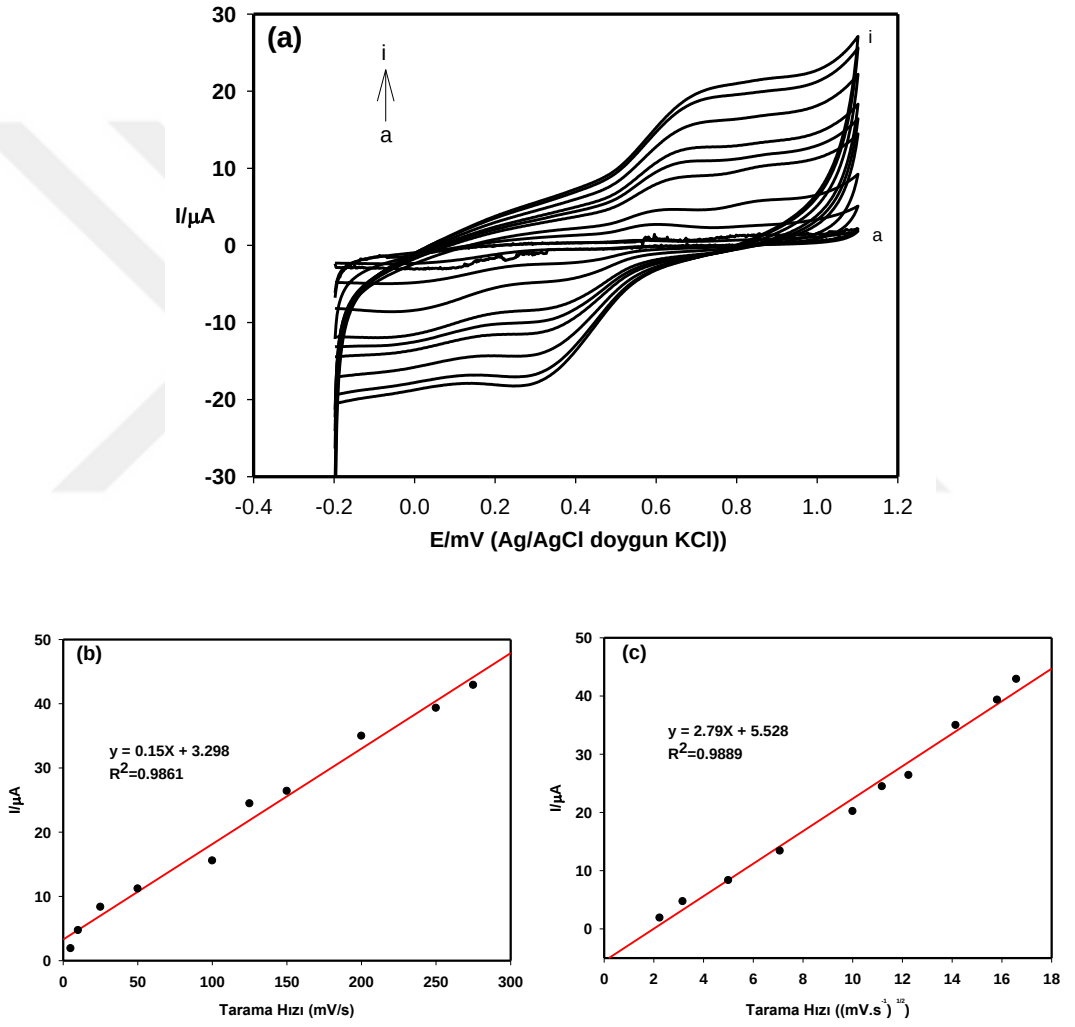
Şekil 3.14. AuNP/p(SFO)/GCE elektrot için elektrot için farklı SFO döngü sayılarında $3x10^{-4}$ M hesperetinin döngüsel voltammogramı



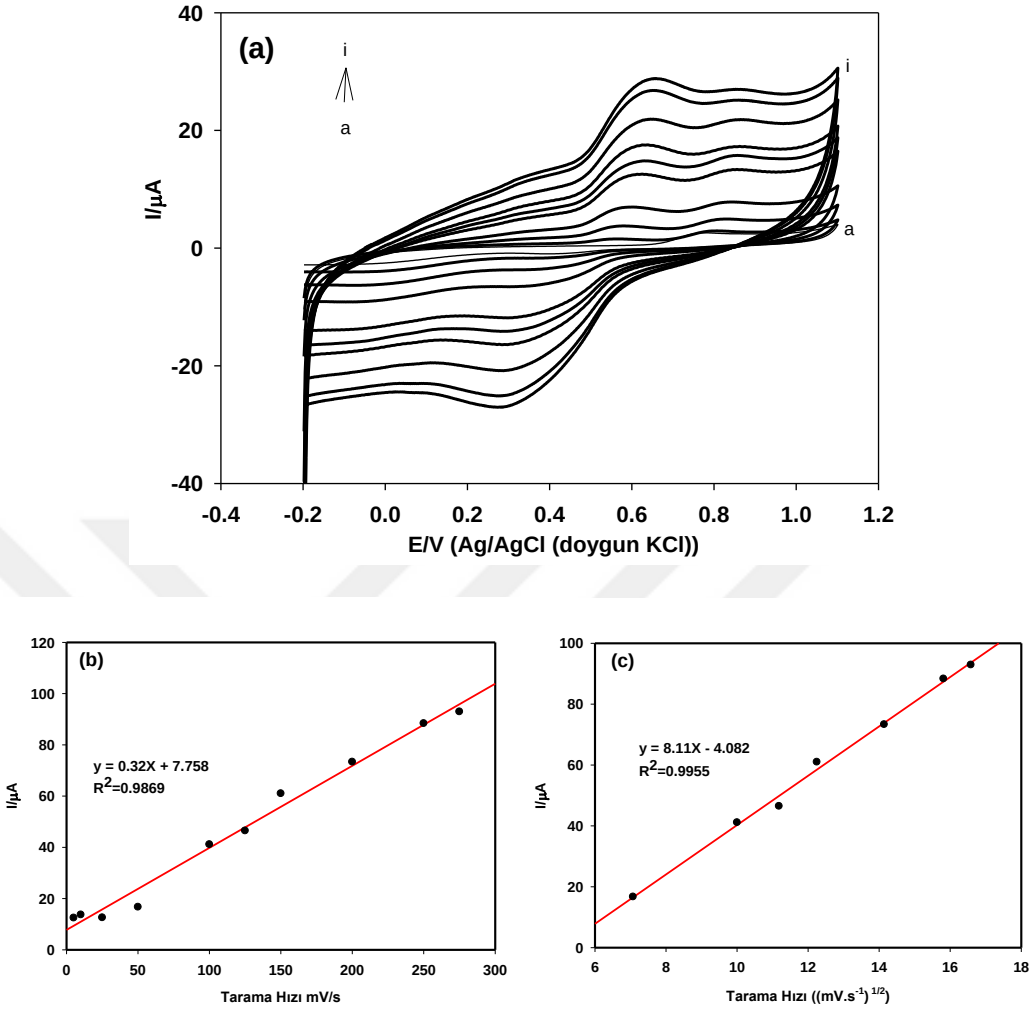
Şekil 3.15. AuNP/p(LML)/GO/GCE elektrot için elektrot için farklı LML döngü sayılarında $3x10^{-4}$ M hesperetinin döngüsel voltammogramı

3.7. Modifiye Elektrotlarda Tarama Hızı

Döngüsel voltammetri kullanılarak modifiye edilen elektrotlar farklı tarama hızları (5, 10, 25, 50, 100, 125, 150, 200, 250, 275 mV/s) $3x10^{-4}$ M hesperetinin pH 2 fosfat tamponu ortamında incelendi. AuNP/p(LML)/GO/GCE ve AuNP/p(SFO)/GO/GCE elektrotlarda hesperetin pikinin akımı ile tarama hızının karekökü doğrusal artış göstermektedir (Şekil 3.16 ve Şekil 3.17). Bu yüzden akımın elektrot yüzeyinde difüzyon kontrollü olduğu gözlendi.



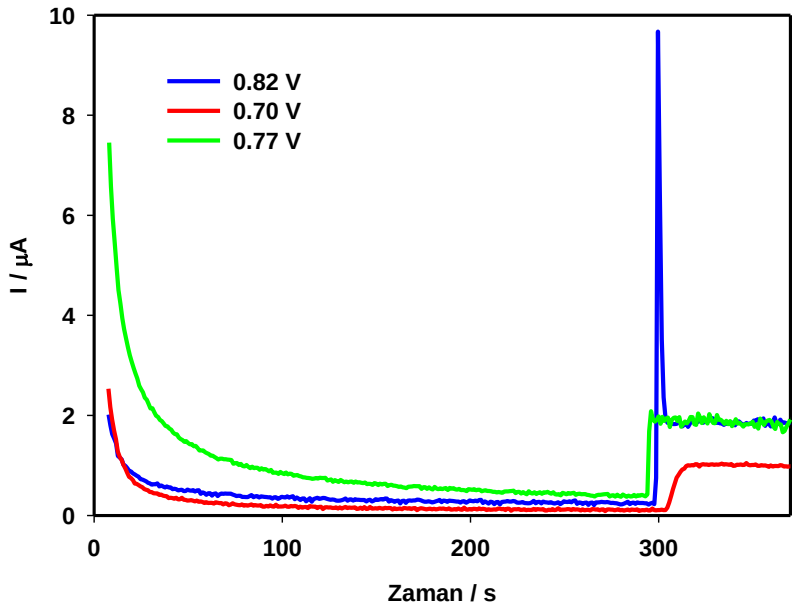
Şekil 3.16. Farklı tarama hızlarında $3x10^{-4}$ M hesperetinin AuNP/p(LML)/GO/GCE'deki döngüsel voltogramları, b) tarama hızına karşı pik akım grafiği ve c) tarama hızının karekköküne karşı pik akım grafiği



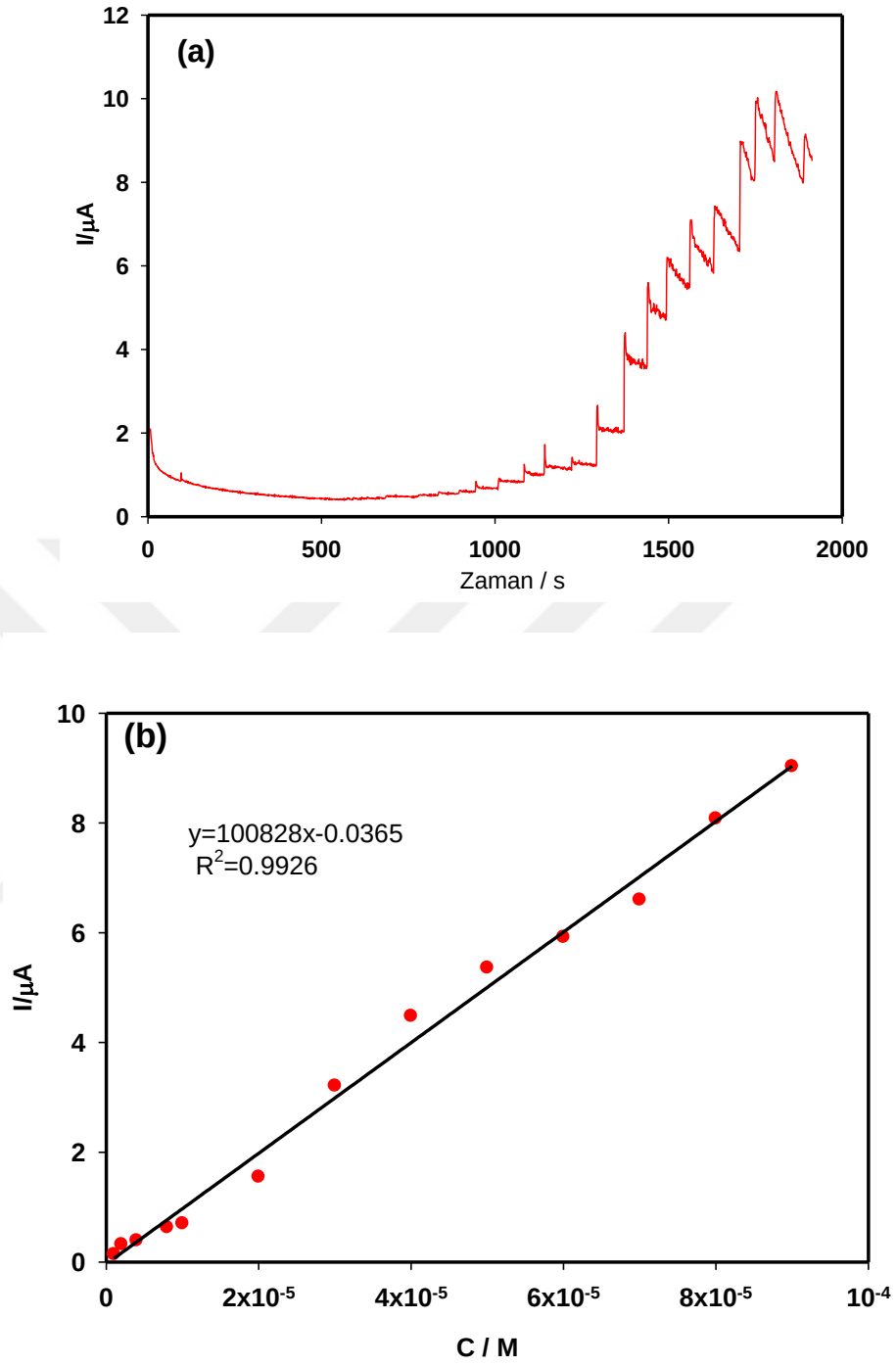
Şekil 3.17. a) Farklı tarama hızlarında $3x10^{-4}$ M hesperetinin AuNP/p(SFO)/GO/GCE'deki döngüsel voltogramları, b) tarama hızına karşı pik akım grafiği ve c) tarama hızının karekköküne karşı pik akım grafiği

3.8.Amperometrik Çalışmalar

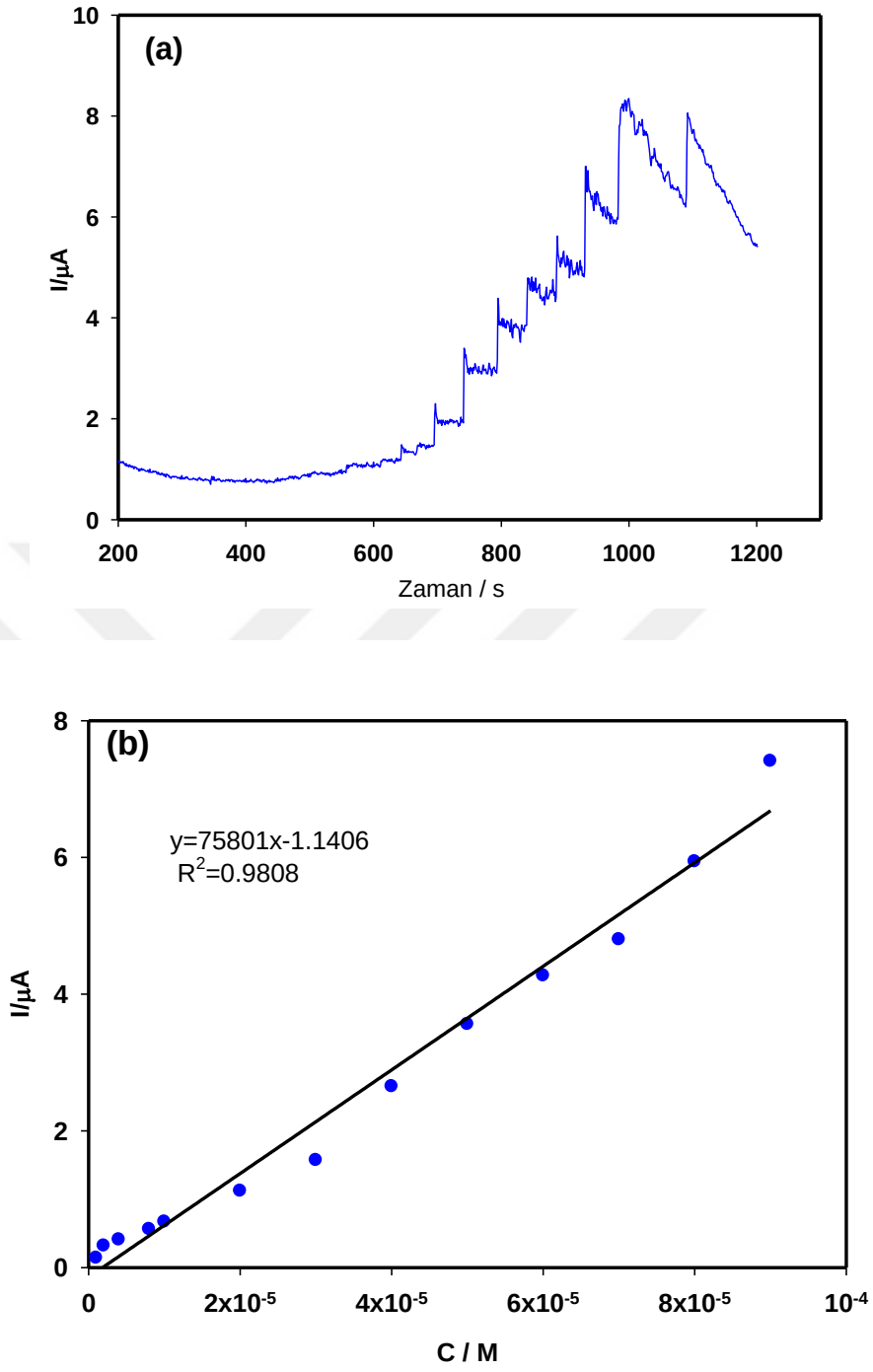
AuNP/p(LML)/GO/GCE elektrot için $2x10^{-5}$ M hesperetinin pik potansiyeline yakın 3 farklı potansiyel seçildi (0.70V, 0.77V, 0.82V) ve her birinde amperogramlar kaydedildi. Böylece üretilen elektrotun akım tepkisi gözlemlendir (Şekil 3.18). Her ileve sonrasında akım 1-2 saniye içinde stabil hale gelmektedir. Yalın GCE ve modifiye edilen elektrot yüzeyleri hazırlandı. Daha sonra döngüsel voltammogramları alınarak yükseltgenme potansiyelleri belirlendi. Elektrotlar optimize edilen yükseltgenme potansiyellerinde pH 2 fosfat tamponunda farklı derişimlerde hesperetin ilavesi yapılarak kronoamperometrik yöntemle çalışıldı. Hesperetinin artan derişimine ilişkin kronoamperomogramlar kaydedildi. Doğrusal aralık $1x10^{-6}$ M ile $9x10^{-5}$ M arasında elde edildi.



Şekil 3.18. $2x10^{-5}$ M Hesperetinin pH 2 Fosfat tamponunda AuNP/p(LML)/GO/GCE de farklı potansiyellerdeki (0.70V, 0.77V, 0.82V) amperogramı.



Şekil 3.19. a) pH 2 Fosfat tamponunda AuNP/p(LML)/GO/GCE modifiye elektrotta artan hesperetin derişiminin kronoamperomogramı, b) Amperogramdan elde edilen kalibrasyon grafiği.



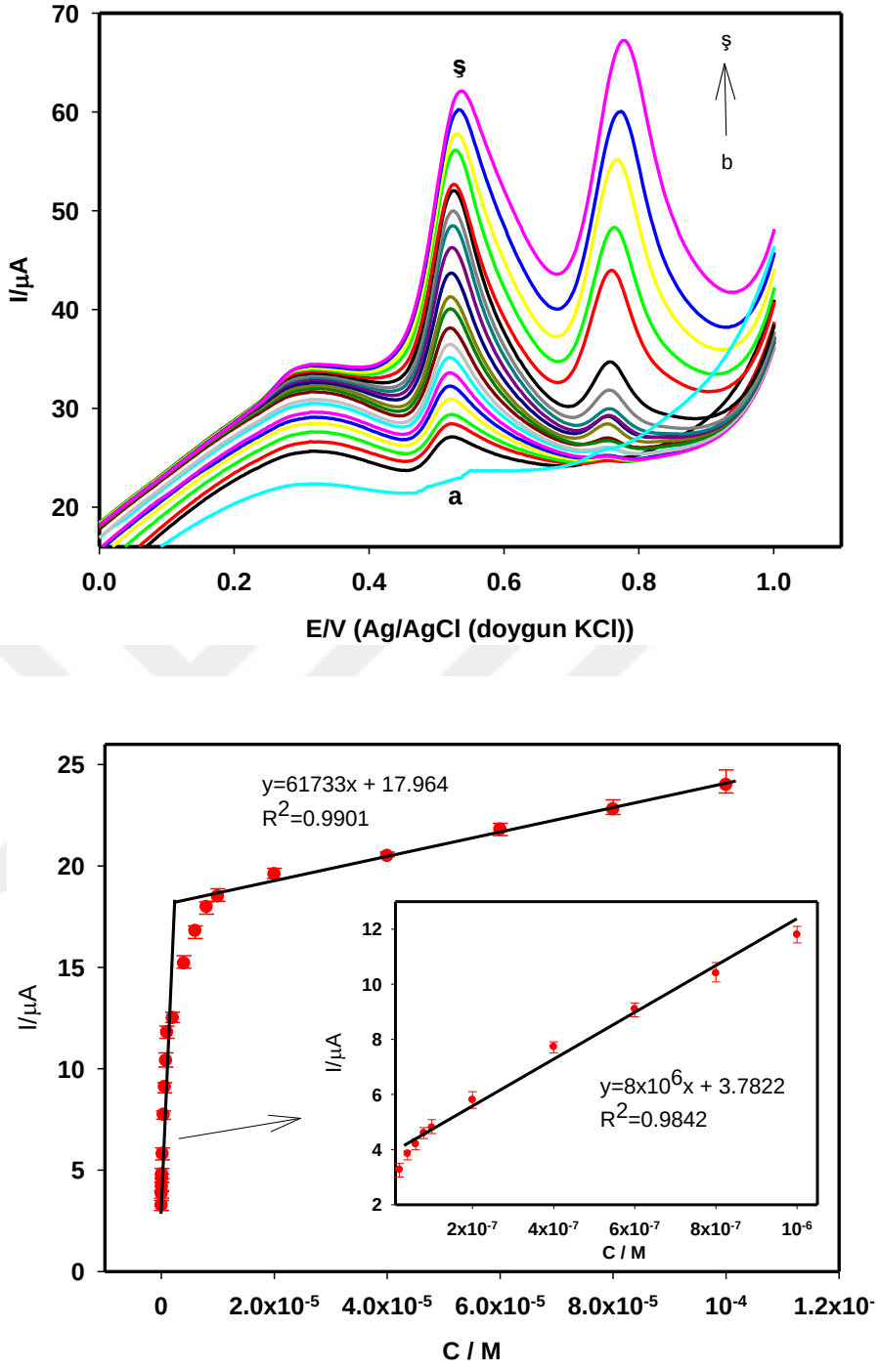
Şekil 3.20. a) pH 2 Fosfat tamponunda AuNP/p(SFO)/GO/GCE modifiye elektrotta artan hesperetin derişiminin kronoamperomogramı, b) Amperogramdan elde edilen kalibrasyon grafiği.

3.9.Hesperetin Derişimi ve Kalibrasyon

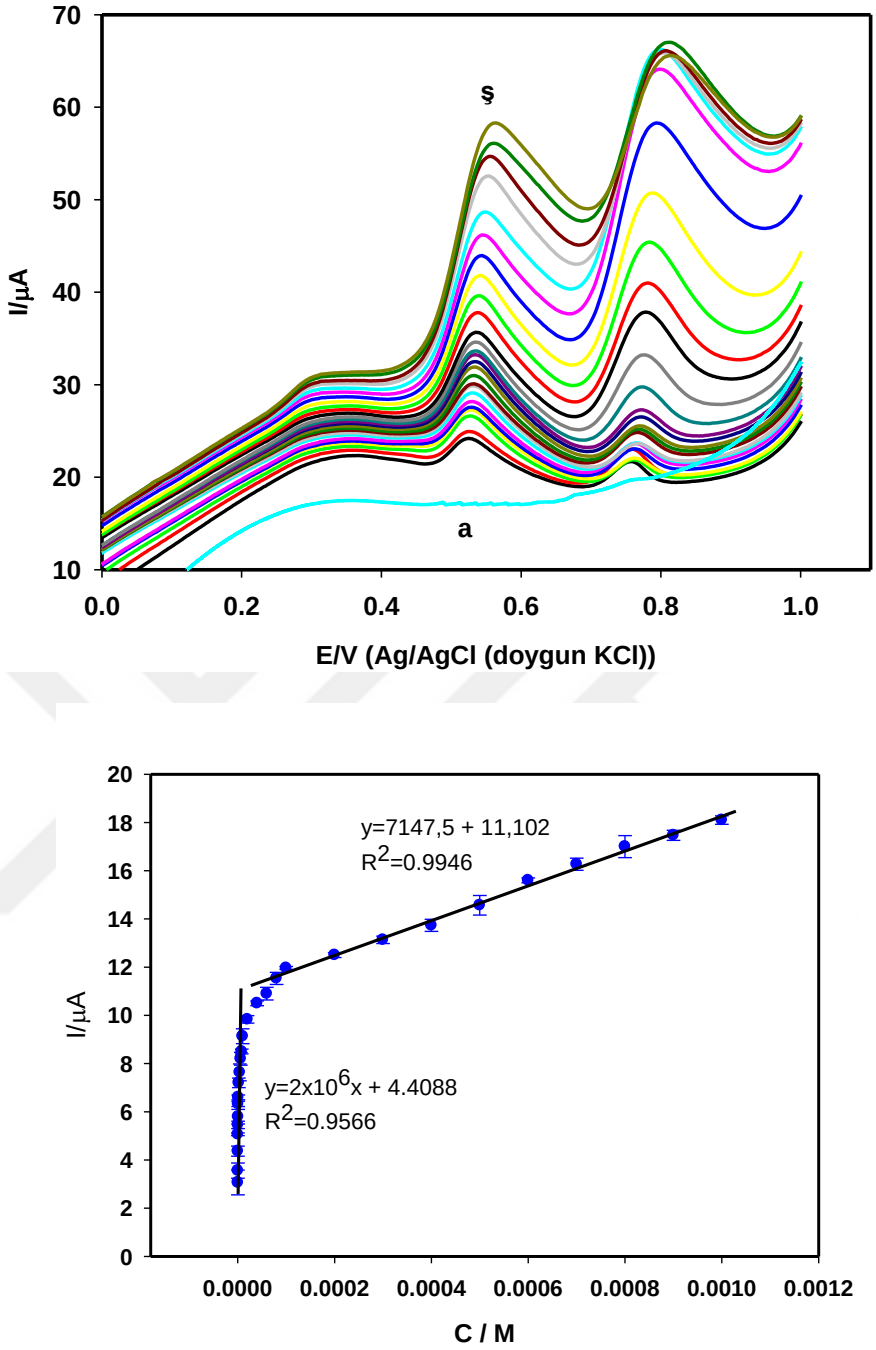
Hesperetin tayini için farklı voltammetrik teknikler denendi. Bunlardan Diferansiyel puls voltammetri, Karedalga voltammetri ve doğrusal taramalı voltammetri (LSV) kullanıldı. Sabit hesperetin derişimi bu üç yöntemde ayrı ayrı voltammogramı alındığında en yüksek pik akımına doğrusal tarama voltammetri ile elde edildi. Hesperetin tayinleri ve analitik validasyonlar LSV ile yapıldı.

Optimize edilmiş olan AuNP/p(LML)/GO/GCE ve AuNP/p(SFO)/GO/GCE'de hesperetinin tayini için LSV yöntemi kullanıldı. Şekil 3.21'de görüldüğü gibi AuNP/p(LML)/GO/GC elektrotta hesperetinin yükseltgenmesine ait +0.515 V ve +0.750 V da iki pik gözlenmektedir. Bu pikler hesperetinin yükseltgenmesine ait piklerdir. Kalibrasyon grafiği çizilirken +0.515 V daki pikler dikkate alınarak grafik oluşturulmuştur. LSV de AuNP/p(LML)/GO/GCE elektrot için hesperetin tayini $2x10^{-8}$ M – $1x10^{-4}$ M aralığında 2 eğimli bir grafik elde edildi. Belirtme alt sınırı (LOD) $6x10^{-9}$ M olarak hesaplandı.

Şekil 3.22'de görüldüğü gibi AuNP/p(SFO)/GO/GC elektrotta hesperetinin yükseltgenmesine ait +0.520 V ve +0.760 V da iki pik gözlenmektedir. Bu pikler hesperetinin yükseltgenmesine ait piklerdir. Kalibrasyon grafiği çizilirken +0.760 Vdaki pikler dikkate alınarak grafik oluşturulmuştur. LSV de AuNP/p(SFO)/GO/GCE elektrot için hesperetin tayini $6x10^{-8}$ M – $1x10^{-3}$ M aralığında 2 eğimli bir grafik elde edildi. Belirtme alt sınırı (LOD) $2x10^{-8}$ M olarak hesaplandı.



Şekil 3.21. A) AuNP/p(LML)/GO/GCE de hesperetin derişimleri için doğrusal tarama voltammogramları a) pH Fosfat tamponu, b)$2x10^{-8}$ M, c) $4x10^{-8}$ M, ç)$6x10^{-8}$ M, d) $8x10^{-8}$ M, e) $1x10^{-7}$ M, f) $2x10^{-7}$ M, g) $4x10^{-7}$ M, h) $6x10^{-7}$ M, ı) $8x10^{-7}$ M, i) $1x10^{-6}$ M, j) $2x10^{-6}$ M, k) $4x10^{-6}$ M, l) $6x10^{-6}$ M, m) $8x10^{-6}$ M, n) $1x10^{-5}$ M, o) $2x10^{-5}$ M, ö) $4x10^{-5}$ M, p) $6x10^{-5}$ M, r) $8x10^{-5}$ M, ş) $1x10^{-4}$ M, **B)** Hesperetinin kalibrasyon grafiği.



Şekil 3.22. A) AuNP/p(SFO)/GO/GCE de hesperetin derişimleri için doğrusal tarama voltammogramları a) pH Fosfat tamponu, b)$2x10^{-8}$ M, c) $4x10^{-8}$ M, ç)$6x10^{-8}$ M, d) $8x10^{-8}$ M, e) $1x10^{-7}$ M, f) $2x10^{-7}$ M, g) $4x10^{-7}$ M, h) $6x10^{-7}$ M, ı) $8x10^{-7}$ M, i) $1x10^{-6}$ M, j) $2x10^{-6}$ M, k) $4x10^{-6}$ M, l) $6x10^{-6}$ M, m) $8x10^{-6}$ M, n) $1x10^{-5}$ M, o) $2x10^{-5}$ M, ö) $4x10^{-5}$ M, p) $6x10^{-5}$ M, r) $8x10^{-5}$ M, s) $1x10^{-4}$ M, ş)$2x10^{-4}$ M, t) $3x10^{-4}$ M, u) $4x10^{-4}$ M, ü) $5x10^{-4}$ M, t) $6x10^{-4}$ M, v) $7x10^{-4}$ M, y) $8x10^{-4}$ M, z) $9x10^{-4}$ M, w) $1x10^{-3}$ M, **B)** Hesperetinin kalibrasyon grafiği.

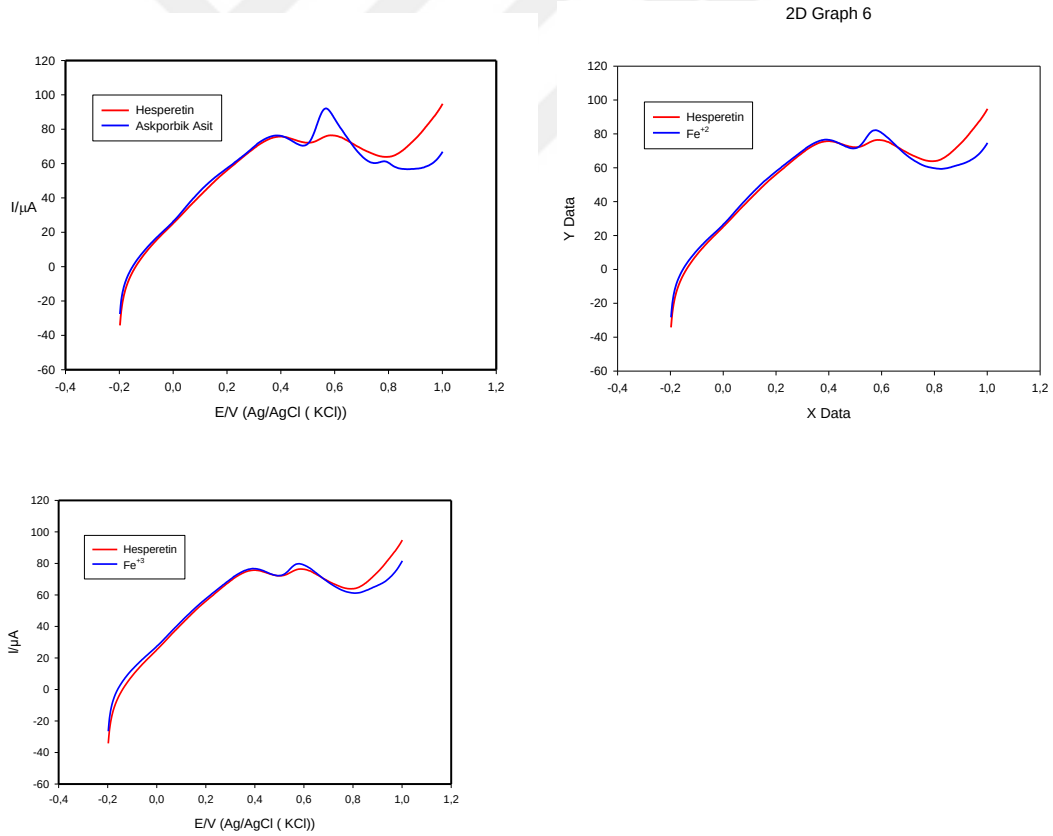
3.10. Girişim Çalışmaları

Hesperetin tayini için geliştirilen AuNP/p(LML)/GO/GC ve AuNP/p(SFO)/GO/GC elekttotta diğer girişimcilerin etkisi incelendi. Bu amaçla Hesperetin doğrusal tarama voltammogramı (LSV) alındıktan sonra üzerine Askorbik asit, Fe^{2+} ve Fe^{3+} eklendi.

Şekil 3.23'de göründüğü gibi askorbik asitin AuNP/p(LML)/GO/GCE elektrotta hesperetin sinyalini artırdığı görüldü. Aynı durum Fe^{2+} ve Fe^{3+} de de gözlendi.

Şekil 3.24'de göründüğü gibi askorbik asitin AuNP/p(LML)/GO/GCE elektrotta hesperetin sinyalini azalttığı görüldü. Aynı durum Fe^{2+} ve Fe^{3+} de önemli bir değişiklik meydana gelmemiştir.

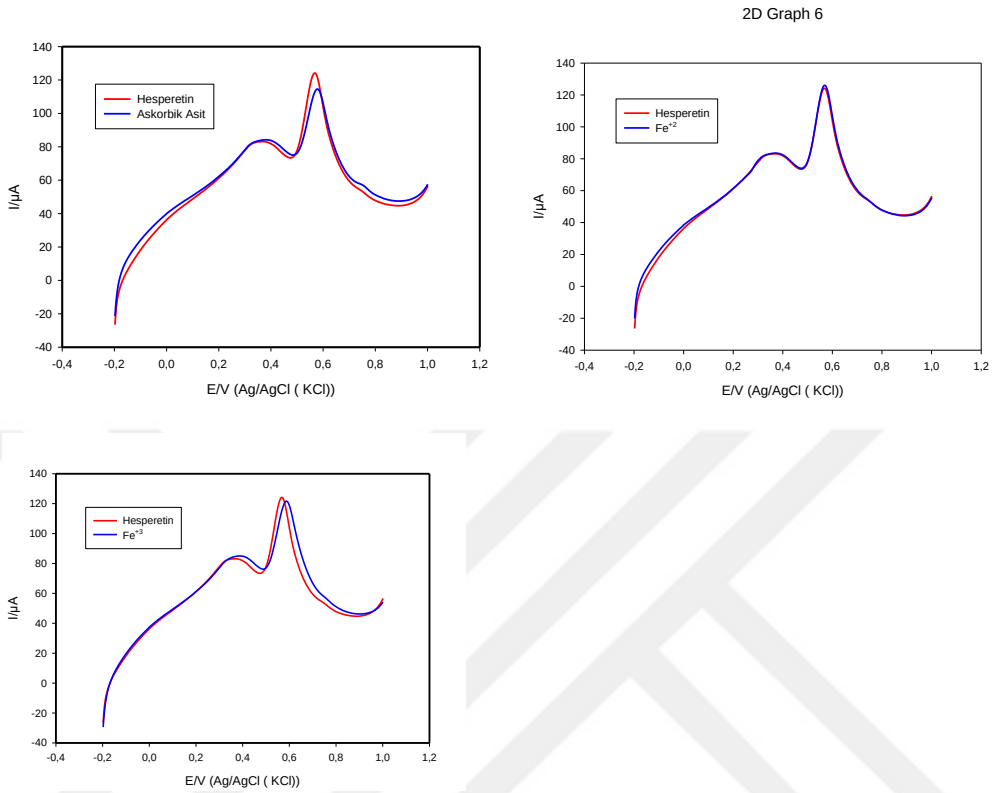
3.10.1. AuNP/p(LML)/GO/GCE Elektrotta Girişim



Şekil 3.23. AuNP/p(LML)/GO/GCE elektrotta pH 2 tamponu ortamında a) Askorbik asit b) Fe^{+2} c) Fe^{+3}

Modifiye edilen AuNP/p(LML)/GO/GCE elektrot yüzeyinde hesperetine çeşitli maddelerin girişim etkisi olup olmadığı araştırıldı.

3.10.2. AuNP/p(SFO)/GO/GCE Elektrotta Grişim

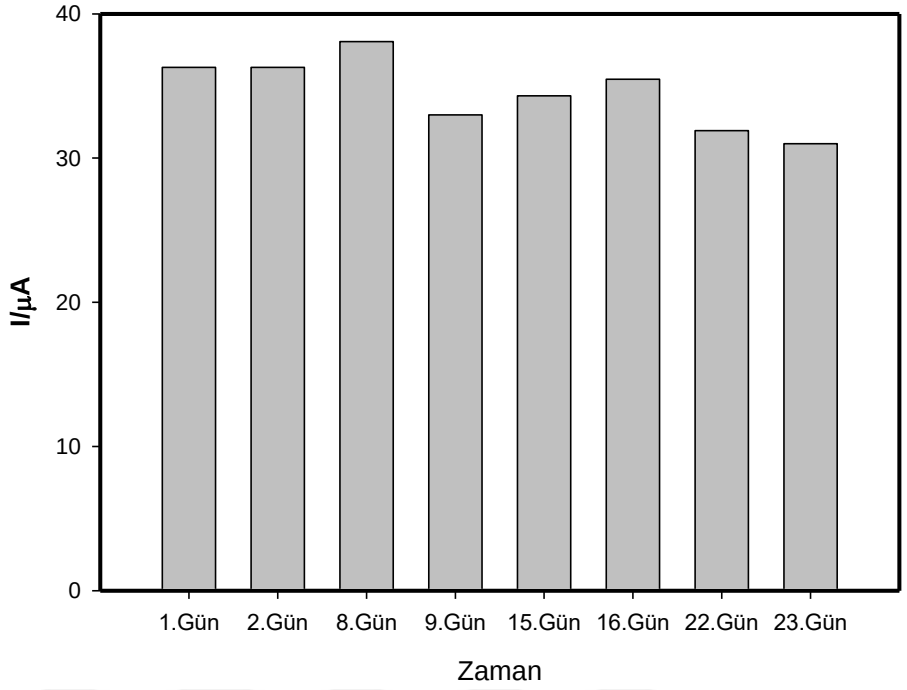


Şekil 3.24. AuNP/p(SFO)/GO/GCE elektrotta pH 2 tamponu ortamında a) Askorbik asit b) Fe^{+2} c) Fe^{+3}

3.10.3 Tekrarlanabilirlik Çalışması

3.10.3.1. AuNP/p(SFO)/GO/GCE Elektrot İçin Günler Arası Tekrarlanabilirlik

AuNP/p(SFO)/GO/GCE elektrodu modifiye edildikten sonra pH 2 fosfat tampon ortamında $3x10^{-4}$ M hesperetinin yükseltgenmesine ilişkin voltammogramı kaydedildi. Daha sonra modifiye edilen elektrot pH 2 fosfat tamponunun buharında bekletildi. 1-23 gün arasında belirli zaman aralıklarında ölçüm alındı (Şekil 3.25). Günler arası tekrarlanabilirlik çalışması ile modifiye elektrot yüzeyinde ölçülen akım değerlerinin birbirine yakınlığı belirlendi. İlk gün ile 9. gün sonunda ölçülen pik akımlarında yaklaşık %10 azalma olduğu gözlendi. Böylece modifiye elektrot kararlılığını uzun süre korumaktadır (Tablo 3.3).



Şekil 3.25. AuNP/p(SFO)/GO/GCE elektrotta pH 2 fosfat ortamında $3x10^{-4}$ M Hesperetinin günler arası tekrarlanabilirliği pik akımına etkisi

Tablo. 3.3. AuNP/p(SFO)/GO/GCE elektrotta pH 2 fosfat ortamında $3x10^{-4}$ M Hesperetinin günler arası tekrarlanabilirlik akım değerleri

Ölçüm Sayısı	**Gün**	**Pik akımı(mA)**
1.Ölçüm	1.Gün	36,29
2.Ölçüm	2.Gün	36,29
3.Ölçüm	8.Gün	38,08
4.Ölçüm	9.Gün	33,00
5.Ölçüm	15.Gün	34,31
6.Ölçüm	16.Gün	35,47
7.Ölçüm	22.Gün	31,90
8.Ölçüm	23.Gün	31,00
Ortalama		**34,54**
Std. Sapma		**2,43**

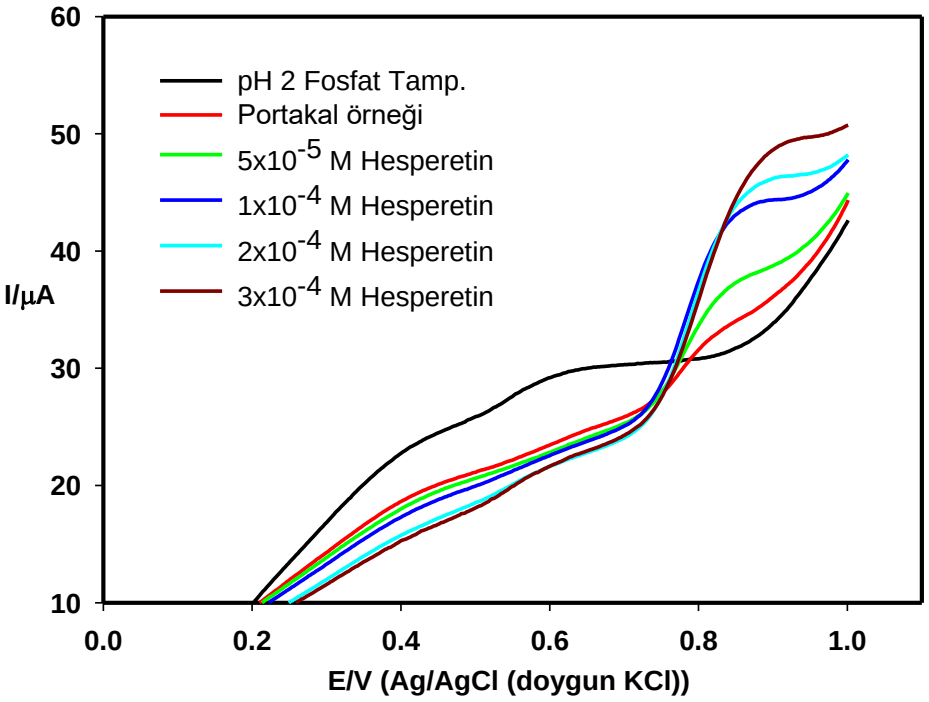
3.11. Örnek Uygulama

AuNP/p(LML)/GO/GCE ve AuNP/p(SFO)/GO/GCE elektrot hazırlanarak hesperetin tayini için doğrusal taramalı voltammetri (LSV) kullanıldı. Şekil 3.26 da görüldüğü gibi, Hesperetin tayini için portakal örnekleri kabukları blenderdan geçirilerek küçük parçalara ayrıldı 20g portakal 100 mL metanolde ultrasonik banyoda 2 saat bekletilerek extrakte edildi. Daha sonra katı posalarla birlikte cam şişede şişede +4 C^o de tutuldu. Her iki elektrotta(AuNP/p(LML)/GO/GCE ve AuNP/p(SFO)/GO/GCE) ayrı ayrı standart katma uygulanarak miktar tayini yapıldı.

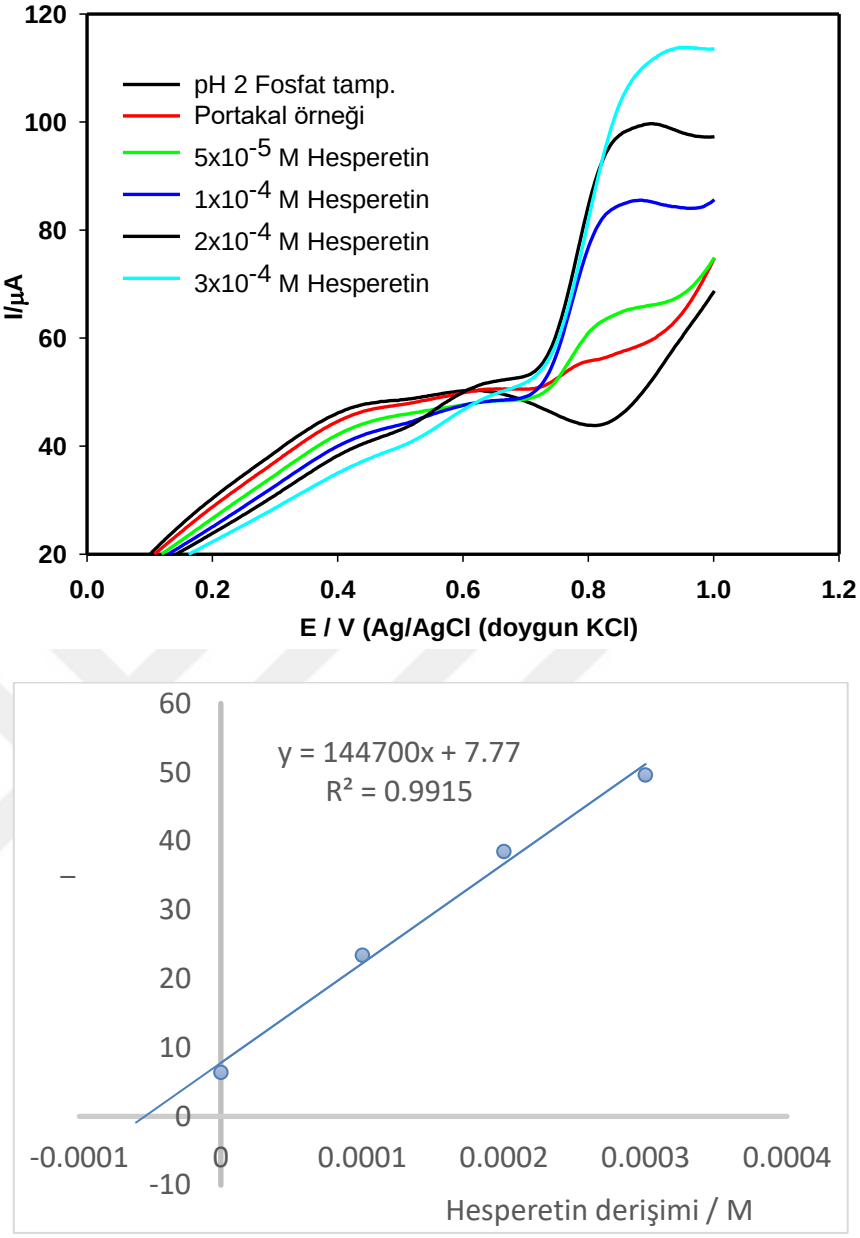
Voltammetrik hücreye 9 mL pH 2 Fosfat tamponu üzerine 1 mL portakal ekstraktından eklendi. Tampon çözelti, örnek ortamı ve hesperetin standartı eklendikten sonra voltammogramlar kaydedildi. Bu deneme farklı derişimlerde 2 kez tekrarlandı. (Şekil 3.27, Şekil 3.28, Şekil 3.29 ve Şekil 3.30). Daha sonra geri kazanım çalışması için örnek ortamlarına $5x10^{-5}$ M hesperetinden katım yapılarak standart katma yöntemi ile tayini gerçekleştirildi. Yapılan denemelerden elde edilen derişim ve akım değerleri grafiğe geçirildi.



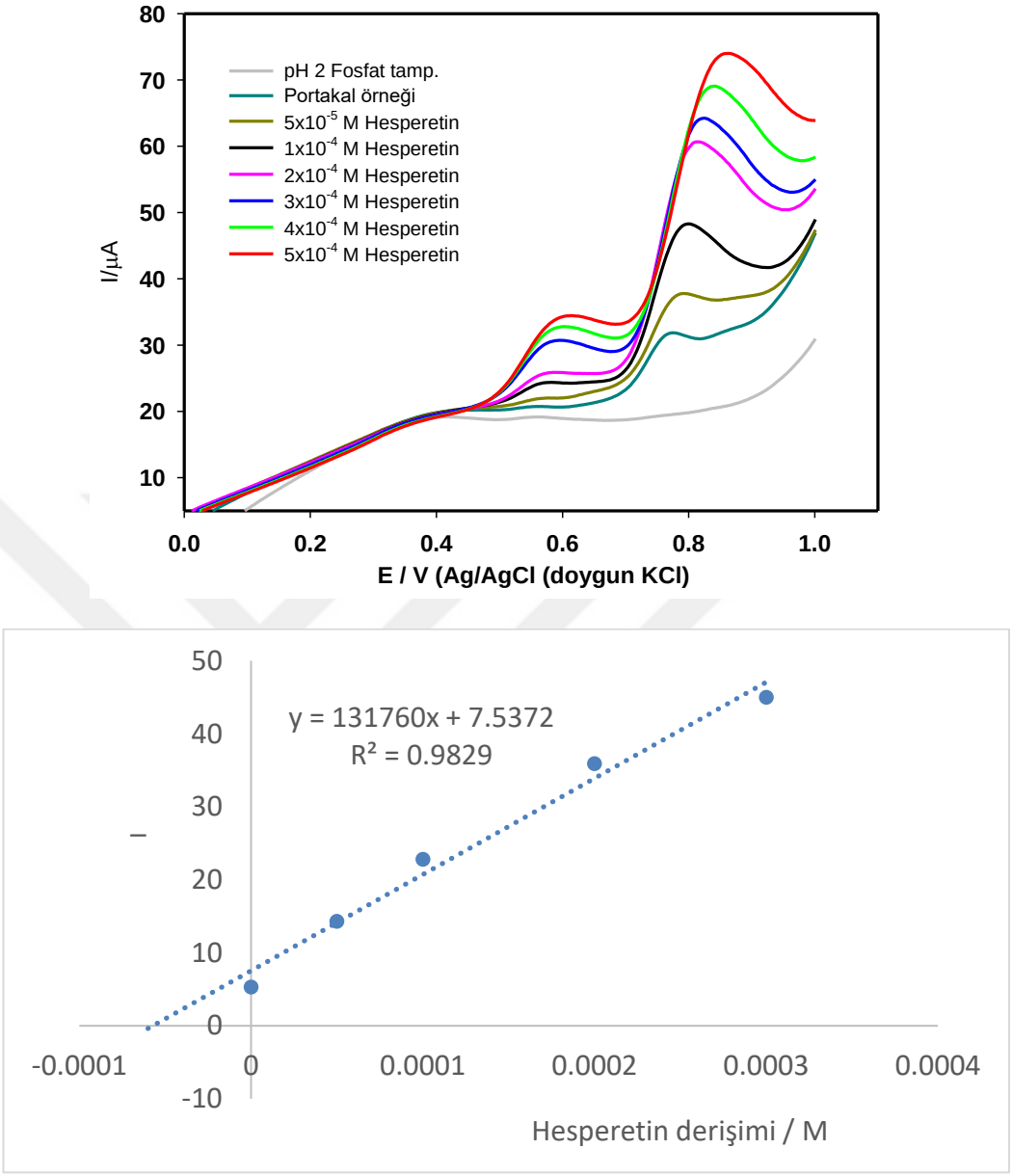
Şekil. 3.26. Portakal kabuklarının hazırlanması



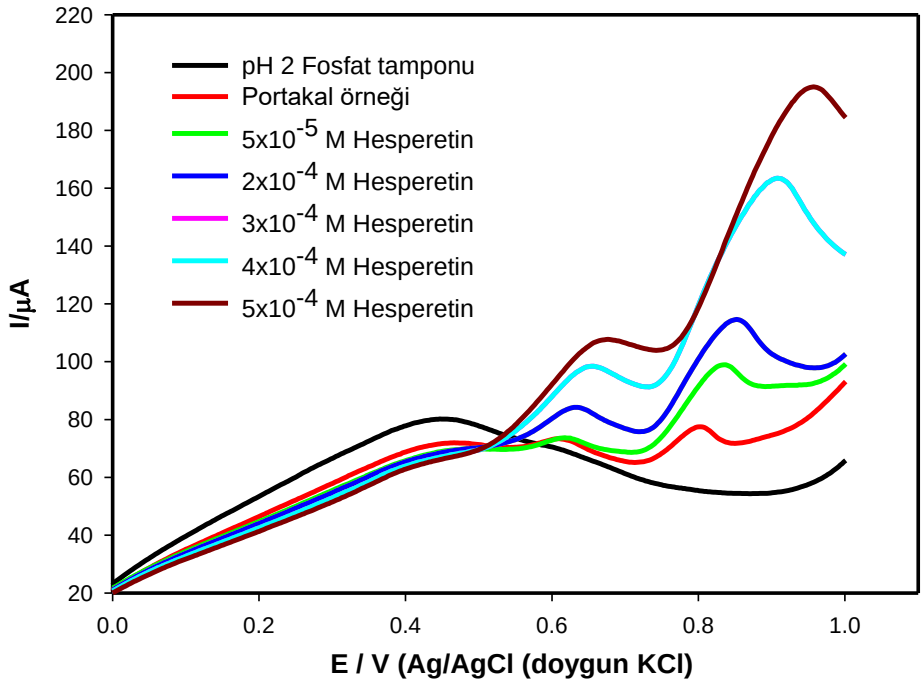
Şekil 3.27. Portakal ekstraktında Hesperetin AuNPs/p(LML)/GO/GC elektrotta LSV ile tayini, a) 9 mL pH 2 Fosfat Tamponu, b) 1 mL Portakal ekstratı, c) $5x10^{-5}$ M hesperetin, d) $1x10^{-4}$ M hesperetin, e) $2x10^{-4}$ M hesperetin, f) $3x10^{-4}$ M hesperetin.



Şekil 3.28. Portakal ekstraktında Hesperetin AuNPs/p(LML)/GO/GC elektrotta LSV ile tayini, a) 9 mL pH 2 Fosfat Tamponu, b) 1 mL Portakal ekstratı, c) $5x10^{-5}$ M hesperetin, d) $1x10^{-4}$ M hesperetin, e) $2x10^{-4}$ M hesperetin, f) $3x10^{-4}$ M hesperetin.



Şekil 3.29. Portakal ekstraktında Hesperetin AuNPs/p(SFO)/GO/GC elektrotta LSV ile tayini, a) 9 mL pH 2 Fosfat Tamponu, b) 1 mL Portakal ekstratı, c) $5x10^{-5}$ M hesperetin, d) $1x10^{-4}$ M hesperetin, e) $2x10^{-4}$ M hesperetin, f) $3x10^{-4}$ M hesperetin, g) $4x10^{-4}$ M hesperetin, h) $5x10^{-4}$ M hesperetin.



Şekil 3.30. Portakal ekstraktında Hesperetin AuNPs/p(SFO)/GO/GC elektrotta LSV ile tayini a) 9 mL pH 2 Fosfat Tamponu, b) 1 mL Portakal ekstratı, c) $5x10^{-5}$ M hesperetin, d) $1x10^{-4}$ M hesperetin, e) $2x10^{-4}$ M hesperetin, f) $3x10^{-4}$ M hesperetin, g) $4x10^{-4}$ M hesperetin, h) $5x10^{-4}$ M hesperetin.

Tablo. 3.4. Portakal örneklerindeki hesperetin miktarı ve geri kazanım değerleri

Elektrot	**Bulunan (g/kg)**	**% Geri kazanım**
AuNPs/p(LML)/GO/GCE	4,53	%99,5
AuNPs/p(SFO)/GO/GCE	4.42	% 109,1

4. SONUÇ VE YORUM

Bu çalışmada GCE yüzeyine döngüsel votlammetri kullanılarak çeşitli organik maddeler polimerleştirilmiş, grafen oksit ve altın nanoparçacıklar ile birlikte modifiye edilerek hesperetinin elektrokimyasal davranışı incelendi ve Hesperetin tayini için duyarlı bir elektrot materyali geliştirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmanın ilk aşamasında GCE elektrot yüzeyine 7 farklı polimer kaplanarak hesperetinin yükseltgenme davranışı incelendi. Poli(iletken polimer)/GCE de en iyi pik akımı veren poli(luminol) ve poli (Sulfonazo III) olarak belirlendi.

Yalın GCE, p(SFO)/GCE, AuNP/p(SFO)/GCE, AuNP/p(SFO)/GO/GCE elektrotlar hazırlandı. p(LML)/GCE ve p(SFO)/GCE yüzeyi Au nanoparçacık ile modifiye edilerek polimer-AuNP sinerjik etkileşimi ile elektrokatalitik etki oluşturuldu (Tablo 3.1 ve Tablo 3.2). Burada her bir modifikasyonun etkisini görmek için ayrı ayrı elektrot sistemleri hazırlandı. GCE de hesperetinin yükselgenme pik akımı 10.60 µA olarak elde edildi. p(LML)/GCE elektrodun pik akımı sırasıyla 24. 22 µA iken, AuNP/p(LML)/GCE elektrotta akım 61.81 µA çıktı. p(SFO)/GCE elektrodun pik akımı 30.49 µA iken, AuNP/p(SFO)/GCE elektrotta akım 47.00 µA çıktı. Burada hem iletken polimerin hem de altın nanoparçacıkların modifikasyon sonrası ayrı ayrı pik akımını arttırdığını görmekteyiz. Daha sonrasında elektrot grafen oksit ile kaplanarak AuNP/p(LML)/GO/GCE ve AuNP/p(SFO)/GO/GCE yüzeyleri elde edildi ve her iki elektrottada pik akımları daha yüksek olduğu için bu elektrotlarla çalışılmaya devam edildi. Hesperetin pik akımları dikkate alındığında yalın GCE elektroda göre AuNP/p(LML)/GO/GCE de yaklaşık 10 kat arttığı, AuNP/p(SFO)/GO/GCE de ise 19 kat arttığı tespit edilmiştir.

Elektorot	**I(µA)**
Yalın GCE	10,62
p(LML)/GCE	24,22
AuNP/p(LML)/GCE	61,81
AuNP/p(LML)/GO/GCE	97,90

Elektorot	I(μA)
Yalın GCE	10,62
p(SFO)/GCE	30,49
AuNP/p(SFO)/GCE	47,00
AuNP/p(SFO)/GO/GCE	191,83

AuNP/p(LML)/GO/GCE ve AuNP/p(SFO)/GO/GCE elektrotlar fosfat ortamında farklı pH değerlerinde hesperetinin elektrokimyasal yükseltgenmesi çalışıldı. Hesperetinin yükseltgenme pik akımını ve ayrımını sağlayan pH ortamı olarak belirlendi. Au optimum döngü sayısı p(LML) için 5 döngü seçildi. P(SFO) için ise optimum Au döngü sayısı 10 döngü seçildi.

Grafen oksit nano yapılar üzerinde poli(LML) oluştuğu ve bu yüzeylerin üzerine altın nanoparçacıklar homojen bir şekilde dağıldığı görülmüştür. Şekil 3.2 (g,h,ı) görüntülerinden de anlaşılacağı gibi Au nanoparçacıklar 200 nm den küçük birden fazla kürelerden oluştuğu gözlenmiştir. Bu nano küreleri oluşturan birimlerdeki AuNP'lar 20-40 nm boyutlarında olduğu belirlenmiştir.

AuNP/p(LML)/GO/GC elektrot için SEM görüntüsünde AuNP ait parçaların çapları 59 nm-109 nm aralığında dağılımlar elde edilmiştir. EDX spektrumunda yüzeyde meydana gelen Au nanoparçacıkların ağırlıkça % dağılımı C için %56 Au için %37 olmuştur. Yüzeyin karbondan sonra ağırlıklı olarak Au nanoparçacıklarla kaplandığını göstermektedir (Şekil 3.3(a,b)). EDX bize göstermektedir ki, poli(LML)'ün grafen oksit tabakası üzerindeki varlığını N pikleri sayesinde kanıtlamaktadır.

p(SFO)/GO ve AuNP/p(SFO)/GO/GCE için SEM görüntülerinde 4 μm, 2μm, 1μm, 500 nm, 400nm, 200nm skalalarrda alınmıştır (Şekil.3.4). Bu görüntülerde poli(SFO) katmanların yüzeyde ince bir film tabakası şeklinde oluşturğu görülmektedir. Bu görüntülerden grafen oksit tabakası üzerinde AuNP homojen bir şekilde dağıldığı görülmektedir. Ayrıca bu p(SFO) polimer yüzeyinde Au nanoparçacıkların "*gold star*" şeklinde oluştuğu görülmektedir. Bu altın yıldızların çapları 300-400 nm aralığında ölçülmüştür. EDX spektrumunda yüzeyde Au, C, O, N, Na, S elementleri bulunmuştur. Bu elementlerden N, Na, ve S atomları

sülfanoza III ($C_{22}H_{14}N_6Na_2O_9S_2$) yapısındaki atomlardır. Bu atomların spektrumda çıkması yüzeyin poli(SFO) ile kaplandığını desteklemektedir.

Hesperetinin analitik tayini için poli(luminol) esaslı AuNP/p(LML)/GO/GCE ve poli(Sulfonazo III) easalı AuNP/p(SFO)/GO/GCE elektrotları hazırlandı. Bu elektrotlarda hesperetinin kalibrasyon grafikleri amperometrik ve doğrusal taramalı voltammetri (LSV) ile oluşturuldu. Elektrotun tekrarlanabilirliği ve hesperetin tayinine girişim çalışmaları yapıldı. Hesperetinin LSV ile artan derişim grafiğinden AuNP/p(LML)/GO/GC elektrotta $2x10^{-8}$ M – $1x10^{-4}$ M doğrusal olduğu ve belirtme sınırı $6x10^{-9}$ M olarak hesaplandı. Hesperetinin AuNP/p(SFO)/GO/GC elektrotta ise $6x10^{-8}$ M – $1x10^{-3}$ M aralığında doğrusal olduğu bulundu. Bu elektrot için belirtme alt sınırı $2x10^{-8}$ M olarak hesaplandı.

Elde edilen verilerden çıkaracağımız sonuç AuNP/p(LML)/GO/GCE ve AuNP/p(SFO)/GO/GCE elektortlarında hesperetin tayini için oldukça iyi bir elektrokatalitik yüzey elde edilmiştir. Bu yüzeyde hesperetin tayini için seçici ve duyarlı bir yöntem geliştilerek portakal meyvesinin ekstratına uygulanmış ve geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. Bu modifiye elektot yüzeyi hesperetin sensör çalışmalarında kullanabilinecektir.

KAYNAKLAR

[1] P. Mouly, E. M. Gaydou, and A. Auffray (1998). Simultaneous separation of flavanone glycosides and polymethoxylated flavones in citrus juices using liquid chromatography, Journal of chromatography A, 800, 171- 179.

[2] D.H. Kim, E.A. Jung, I.S. Sohng, J.A. Han, T.H. Kim, and M. J. Han, (1998). Intestinal bacterial metabolism of flavonoids and its relation to some biological activities, Archives of pharmacal research, 21, 17-23.

[3] A. Rakha, N. Umar, R. Rabail, M. S. Butt, M. Kieliszek, A. Hassoun, R. M. Aadil, (2022). Anti-inflammatory and anti-allergic potential of dietary flavonoids: A review, Biomedicine&Pharmacotherapy, 156, 113945.

[4] A. N. Panche, A. D. Diwan, S. R. Chandra, (2016). Flavonoids: an overview, Journal of Nutritional Science, 5, e47.

[5] A. Kahraman, M. Serteser, T. Koken, (2002). Flavonoidler, Kocatepe Tıp Dergisi, 3, 01-08.

[6] National Center for Biotechnology Information (2022). Hesperetin, PubChem Compound Summary for CID 72281.

[7] G. Barthe, P. Jourdan, C. Mclntos, R. Mansell (1988). Radioimmunossay for the quantitative determination of hesperidin and analysis of its distribution in Citrus sinensis. Phytochemistry 27(1), 249-54.

[8] U. Leuzzi, C. Caristi, V. Panzera, G. Licandro (2000). Flavonoids in pigmented orange juice and second-pressure extracts. J Agric Food Chem; 48(11), 5501-6

[9] A. Garg, S. Garg, D.J.D. Zaneveld, A.K. Singla, (2001). Chemistry and pharmacology of the Citrus bioflavonoid hesperidin, Phytother. Res., 15, 655-669.

[10] H. Philp (2003). Hot flashes a review of the literature on alternative and complementary treatment approaches, Altern. Med. Rev., 8(3), 284-302.

[11] P. Knekt, J. Kumpulainen, R. Jarvinen, H. Rissanen, M. Heliovaara, A. Reunanen, T. Hakulinen, A. Aromaa (2002) Flavonoid intake and risk of chronic diseases, Am. J. Clin. Nutr., 76, 560-568.

[12] J.A. Del Rio, M.D. Fuster, P. Gomez, I. Porras, A. Garcia-Lidon, A. Ortuno, Citrus limon: a source of flavonoids of pharmaceutical interest, Food Chem., 84 (3), 457-461 (2004)

[13] D.A. Skoog, M.D. West, J.F. Holler, R.S. Crouch, Analitik Kimya Temel İlkeleri (Esma Kılıç, Hamza Yılmaz Çev. Ed., 8. Basım). Ankara, Bilim Yayıncılık.

[14] H. Tural, İ. Gökçel, F.N. Ertaş (2010). Enstrümental Analiz 1 Elektroanalitik Yöntemler. Ege Üniversitesi Yayınları, İzmir, Türkiye.

[15] S. Karaca, S. Koçak (2021) Fabrication and characterization of enhanced hydrazine electrochemical sensor based on gold nanoparticles decorated on the vanadium oxide, ruthenium oxide nanomaterials, and carbon nanotubes composites, Turkish Journal of Chemistry 45, 1210-1223.

[16] A.J. Bard, L.R Faulkner, Electrochemical methods fundamentals and applications. New York: John Wiley & Sons, Ltd., 471-533 (2001).

[17] N. Erdin (1986). Tarama Elektoron Mikroskobunun Temel Prensipleri ve Numune Hazırlama, İstanbul Üniversitesi, Orman Fakültesi Dergisi, Seri B, Cilt 36, Sayı 2.

[18] M. Hatip (2020) Polimer temelli metal nanoparçacık modifiye karbon nanotüp kompozit elektronların hazırlanması, karakterizasyonu: hidrazinin elektrokimyasal davranışnın incelenmesi, Yüksek lisans tezi, MCBÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Manisa.
[19] B. Aslışen, S. Koçak (2022). Preparation of mixed-valent manganese-vanadium oxide and Au nanoparticle modified graphene oxide nanosheets electrodes for the simultaneous determination of hydrazine and nitrite, Journal of Electroanalytical Chemistry, 904, 115875.
[20] A.J. Heeger (2001). Semiconducting and metallic polymers: The fourth genaration of polymeric materials. The Journal of Physical Chemistry B, 105 (36), 8475-8491.
[21] G.G. Wallace, P.R. Teasdale, G.M. Spinks, L.A.P Kane-Maguire (2009). Conductive Electroactive Polymers. 3rd Ed. Taylor & Francis Group, New York, 263s.
[22] M. Sacak (2010). Polimer Kimyası. Gazi kitabevi, Ankara, 423-433.
[23] Ş. Özöner (2010). Horseradish peroxidase enzimi kullanılarak amperometrik fenol biyosensörlerinin geliştirilmesi. Doktora tezi, Gebze İleri Teknoloji Enstitüsü Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü, Kocaeli.
[24] K. Gurunathan, A.V. Murugan, R. Marimuthu, P.U. Mulik and P.D. Amalnerkar (1999). Electrochemically synthesized conducting polymeric materials for applications towards technology in electronics, optoelectronics and energy storage devices, Material Chemistry and Physics, 61, 173,191.
[25] F. Barni, S.W. Lewis, G.M. Miskelly, G. Lago, (2007). Forensic application of the luminol reaction as a presumptive test for latent blood detection, Talanta, 896-913.
[26] https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB1275687. Htm
[27] A.A. Ensafi, M.T.T. Khayamian, A. Arabzadeh (2010). Highly selective determination of ascorbic acid, dopamine, and uric acid by differential pulse voltammetry using poly(sulfonazo III) modified glassy carbon electrode, Sensors and Actuators B: Chemical, 147, 213-221.
[28] M.J. Sims, Q. Li, R.T. Kachoosangi, G.G. Wildgoose, R.G. Compton (2009). Using multiwalled carbon nanotube modified electrodes for the adsorptive striping voltammetric determination of hesperidin, Electrochimica Acta 54:22, 5030-5034.
[29] G. Aydoğdu Tığ, E.Ö. Bolat E, B. Zeybek, Ş. Pekyardımcı (2016). Elektrokimyasal Olarak İndirgenmiş Grafen Oksit ve Poli 2,6-Piridindikarboksilik Asit Modifiye Camsı Karbon Elektrot ile Hesperidin-Dsdna Tayini. Hacettepe Journal of Biology and Chemistry. 44(4), 487-497.
[30] Dong S. Fengran W. Kangbing W. Jianwei C. Yikai Z. (2009). Electrochemical determination of hesperidinusing mesoporous SiO2 modified electrode, Microchim Acta 167:35–39 DOI 10.1007/s00604-009-0200-0.
[31] S. Madhurantakam, S. Selvaraj, J.B.B. Rayappan, U.M. Krishnan (2018). Exploringhesperidin-copper complex as an enzyme mimic for monitoring macrophage activity Springer-Verlag GmbH Germany, Springer Nature.
[32] Y. Gao, X. Wu, H. Wang, W. Lu and M. Guo, (2018). Highly sensitive detection of hesperidin using AuNPs/rGO modified glassy carbon electrode, Analyst, 143, 297.

[33] J. Wu, L. Wang, Q. Wang, L. Zou, B. Ye (2016). The novel voltammetric method for determination of hesperetin based on a sensitive electrochemical sensor, Talanta, 150, 61-70.
[34] E. Yakupova, G. Ziyatdinova (2023). Highly Sensitive Determination of Hesperidin Using Electrode Modified with Poly(Ferulic Acid), Eng. Proc. 31, 1. https://doi.org/10.3390/ASEC2022-13786.
[35] E. Yakupova, G. Ziyatdinova (2021). Electrode Modified with Tin(IV) Oxide Nanoparticles and Surfactants as Sensitive Sensor for Hesperidin, Chem. Proc., 5, 54. https://doi.org/10.3390/CSAC2021-10615.
[36] M.A.Beluomini, N.R. Stradiotto, M.V.B. Zanoni (2022). Simultaneous detection of hesperidin and narirutin in residual water using nanoporous platinum electrosynthesized by alloying-dealloying mechanism, Journal of Electroanalytical Chemistry 904, 115866.
[37] L. Rao, X. Lu, L. Xu, Y. Zhu, T. Xue, Y. Ge, Z. Duan, X. Duan, Y. Wen, J. Xu (2022). Green synthesis of kudzu vine biochar decorated graphene-like MoSe2 with the oxidase-like activity as intelligent nanozyme sensing platform for hesperetin, Chemosphere, 289, 133116
[38] H. Shirakawa, J.E. Louis, G.A. Macdiarmid, C.K. Chiang and J.A. Heeger, (1977). Synthesis of electrically conducting organic polymers: halogenderivatives of polyacetylene (CH)x, Chemical Communications, 578-580.
[39] E.T. Strom and C.S. Rasmussen (2011). 100 + years of plastics. leo baekeland and beyond, acssymposium series, washington, dc: american chemical society, 3080, 147, 163.
[40] B.B. Çarbaş (2016). İletken Polimerler ve Enerji Uygulamaları, Küresel Mühendislik Çalışmaları Dergisi, 3(1), 46 – 60.