

**ASKORBİK ASİT VARLIĞINDA ALÜMİNYUM  
OKSİT NANOPARTİKÜLLERİ İLE MODİFİYE EDİLMİŞ  
KARBON PASTA ELEKTROTTA ÜRİK ASİT TAYİNİ**

**Rüveyda BARSBUĞA**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Kimya Anabilim Dalı**

**Danışman : Yrd. Doç. Dr. Funda ÖZTÜRK**

**2016**

**T.C.**  
**NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ASKORBİK ASİT VARLIĞINDA ALÜMİNYUM OKSİT  
NANOPARTİKÜLLERİ İLE MODİFİYE EDİLMİŞ KARBON PASTA  
ELEKTROTTA ÜRİK ASİT TAYİNİ**

**Rüveyda BARSBUĞA**

**KİMYA ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN: Yrd. Doç. Dr. Funda ÖZTÜRK**

**TEKİRDAĞ - 2016**

**Her hakkı saklıdır**

Yrd. Doç. Dr. Funda ÖZTÜRK danışmanlığında, Rûveyda BARSBUĞA tarafından hazırlanan “Askorbik Asit Varlığında Alüminyum Oksit Nanopartikülleri İle Modifiye Edilmiş Karbon Pasta Elektrotta Ürik Asit Tayini” isimli bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Yusuf DİLGİN

İmza:

Üye: Prof. Dr. Mustafa Kemal SEZGİNTÜRK

İmza:

Üye: Yrd. Doç. Dr. Funda ÖZTÜRK

İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Prof. Dr. Fatih KONUKCU

**Enstitü Müdürü**

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### ASKORBİK ASİT VARLIĞINDA ALÜMİNYUM OKSİT NANOPARTİKÜLLERİ İLE MODİFİYE EDİLMİŞ KARBON PASTA ELEKTROTTA ÜRİK ASİT TAYİNİ

**Rüveyda BARSBUĞA**

Namık Kemal Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Funda ÖZTÜRK

Ürik asit (2, 6, 8 - tri hidroksi pürin) insan metabolizmasının pürin türevli son ürünüdür. Biyolojik sıvılarda anormal ürik asit seviyesi, gut, böbrek hastalığı, hiperürisemi ve Lesch – Nyhan sendromu gibi birçok hastalığa sebep olmaktadır. Bu çalışmada ürik asit tayini için kullanılan  $Al_2O_3$  nanopartiküllü modifiye karbon pasta elektrotun ( $Al_2O_3$ -NP-KPE) hazırlanışı anlatılmaktadır.  $Al_2O_3$ -NP-KPE, grafit tozu,  $Al_2O_3$  nanopartikülleri ve parafin yağının belirli oranlarda karıştırılmasıyla oluşturuldu. Daha sonra homojen bir karışım elde edilinceye kadar yaklaşık 20 dakika boyunca ezilerek elektrot gövdesine sıkı bir şekilde dolduruldu ve bir kağıt üzerinde elektrot yüzeyi pürüzsüz hale getirilerek karbon pasta elektrotlar hazırlandı. Modifiye edilen elektrot insan kan serumunda ürik asit tayini için sensör olarak kullanıldı. Ürik asidin elektrokimyasal davranışı  $Al_2O_3$ -NP-KPE ve pH 5,0 fosfat tamponu kullanılarak, dönüşümlü voltametri (DV) ve kare dalga voltametri (KDV) yöntemleriyle incelendi. Ürik asidin yükseltgenme reaksiyonu  $Al_2O_3$ -NP-KPE yüzeyinde, sade KPE yüzeyine göre daha iyi anodik pik verdiği gözlemlendi. Modifiye edilmiş elektrot ve sade KPE' un DV değerleri karşılaştırıldığında ürik asidin elektrokatalitik etkisinin modifiye karbon pasta elektrotta daha iyi olduğu belirlendi. Ürik asit tayininde optimum çalışma şartlarının belirlenmesi için pH etkisi incelendi. Doğrusal çalışma aralığı  $1 \times 10^{-7} - 2,25 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$  ve gözlenebilirlik sınırı  $1,10 \times 10^{-7} \text{ molL}^{-1}$  olarak belirlendi ( $S/N = 3$ ). Askorbik asit, glukoz, oksalik asit, üre, glutamik asit, ksantinini girişim etkileri incelendi. Sonuç olarak, ürik asit tayininde bu girişimcilerin anlamlı bir etkisinin olmadığı tespit edildi. İnsan kan serum örneklerinde ürik derişimini belirlemek amacı ile  $Al_2O_3$ -NP-KPE' un pratik uygulaması yapıldı. Standart katma yöntemi kullanılarak ürik asit tayini gerçekleştirildi. Önerilen sensörden elde edilen sonuçlar, fotometrik yöntem ile karşılaştırıldı. Elde edilen sonuçların uyum içinde olması yöntemin seçiciliğini ve doğruluğunun bir göstergesidir. Bu sonuçlarla, önerilen sensörün, insan kan serum örneklerinde ürik asit tayini için uygun olduğunu göstermektedir.

**Anahtar kelimeler:**  $Al_2O_3$  nanopartikülleri, karbon pasta elektrot, kare dalga voltametri, ürik asit

2016, 62 Sayfa

## ABSTRACT

Master's Thesis

### DETERMINATION OF URIC ACID USING ALUMINIUM OXIDE NANOPARTICLES MODIFIED CARBON PASTE ELECTRODE IN THE PRESENCE OF ASCORBIC ACID

**Rüveyda BARSBUĞA**

Namık Kemal University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Chemistry  
Supervisor: Yrd. Doç. Dr. Funda ÖZTÜRK

Uric acid (2, 6, 8 - trihydroxypurine) is an end product from purine derivatives in human metabolism. Abnormal uric acid level in biological fluids is a marker of several disorders such as gout, renal disease, hyperuricemia and Lesch-Nyhan syndrome [1]. In this study  $\text{Al}_2\text{O}_3$  nanoparticles modified carbon paste electrode ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ -NP-CPE) for selective determination of uric acid is described.  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -NP-CPE was prepared by mixing the desired amounts of graphite powder,  $\text{Al}_2\text{O}_3$  nanoparticles and paraffin oil. After mixing the paste for approximately 20 minutes to ensure the homogeneity, the paste was packed firmly into the the bottom of the working electrode body and the electrode surface was polished with a weight paper to have a smooth surface. The modified electrode was evaluated as a sensor for determination of uric acid in human serum. The electrochemical behavior of uric acid at the  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -NP-CPE was investigated by cyclic voltammetry (CV) and square wave voltammetry (SWV) in phosphate buffer solution at pH 5.0. The electrooxidation of uric acid at the modified electrode is well defined with enhanced anodic peak current than the bare CPE. The CV results showed that the modified electrode exhibited an improved electrocatalytic activity towards the oxidation of uric acid, compared to bare CPE. The effect of pH was studied to determine the optimum working conditions for uric acid detection. Linear calibration curve was obtained over the range of  $1.0 \times 10^{-7} - 2,25 \times 10^{-4}$  M with a detection limit of  $1.10 \times 10^{-7}$  M ( $S/N=3$ ). The interference effect of ascorbic acid, glucose, xanthine, oxalic acid, urea, glutamic acid was investigated. The results showed that these species had no significant interference on the determination of uric acid. The practical application of  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -NP-CPE modified electrode was tested by measuring the concentration of uric acid in human serum sample. The standard addition technique was used for the determination of uric acid. The result obtained with the proposed sensor was compared with the result of the photometric method. It was found that the results are in good agreement, indicative of the good accuracy of this method. This result indicated that the proposed sensor could be an effective tool for the determination of uric acid in human serum samples.

**Keywords:**  $\text{Al}_2\text{O}_3$  nanoparticles, carbon paste electrode, square wave voltammetry, uric acid

## İÇİNDEKİLER

|   | <b><u>Sayfa</u></b> |
|---|---------------------|
| ÖZET .....  | i                   |
| ABSTRACT .....  | ii                  |
| İÇİNDEKİLER .....   | iii                 |
| ÇİZELGE DİZİNİ .....  | vi                  |
| ŞEKİL DİZİNİ .....  | vii                 |
| SİMGELER DİZİNİ .....   | ix                  |
| ÖNSÖZ .....   | xi                  |
| 1.GİRİŞ .....   | 1                   |
| 2. KURAMSAL TEMELLER .....  | 3                   |
| 2.1 Askorbik asit .....   | 3                   |
| 2.1.1 Askorbik asidin insan sağlığı için önemi.....                   | 4                   |
| 2.2. Ürik Asit .....  | 5                   |
| 2.2.1 Ürik asidin insan sağlığı için önemi .....                      | 6                   |
| 2.3 Elektrokimyasal Yöntemler .....                                   | 7                   |
| 2.4 Voltametri.....   | 10                  |
| 2.4.1 Voltametricde kullanılan elektrotlar .....                      | 10                  |
| 2.4.2 Voltametricde kullanılan çözücüler ve destek elektrolitler..... | 13                  |
| 2.4.3 Voltametric analizleri etkileyen faktörler .....                | 13                  |
| 2.4.4 Voltametricde uyarılma sinyalleri.....                          | 14                  |
| 2.5 Voltametric yöntemler .....                                       | 15                  |
| 2.5.1 Dönüşümlü voltametri ( DV ) .....                               | 15                  |
| 2.5.2 Differansiyel puls voltametricisi ( DPV ) .....                 | 16                  |
| 2.5.3 Kare dalga voltametricisi ( KDV ) .....                         | 18                  |
| 2.6 Eletrokimyasal mekanizmalar .....                                 | 19                  |

|  |           |
|--|-----------|
| 2.6.1 Tersinir mekanizmalar .....  | 19        |
| 2.6.2 Tersinmez ve yarı tersinir reaksiyonlar .....  | 20        |
| 2.7 Kaynak araştırması .....   | 21        |
| <b>3. MATERYAL ve YÖNTEM .....</b>   | <b>25</b> |
| 3.1 Cihazlar ve malzemeler .....   | 25        |
| 3.1.1 Elektrokimyasal analiz cihazı .....  | 25        |
| 3.1.2 Kullanılan hücre ve elektrotlar .....  | 26        |
| 3.1.3 Kullanılan diğer cihaz ve malzemeler .....   | 26        |
| 3.1.3 Kullanılan kimyasal malzemeler .....   | 27        |
| 3.2 Karbon pasta elektrodun hazırlanması .....   | 27        |
| 3.3 Çözeltilerin hazırlanması .....  | 28        |
| 3.3.1 Ürik asit ve askorbik asidin çözünürlüğünün belirlenmesi .....                                     | 28        |
| 3.3.2 Fosfat tamponunun hazırlanması .....   | 28        |
| 3.3.3 AA ve ürik asit çözeltilerinin hazırlanması .....  | 28        |
| 3.3.4 Girişim çalışmalarında kullanılan çözeltilerin hazırlanması .....                                  | 28        |
| 3.3.5 Serum numunelerinin analize hazırlanması .....   | 29        |
| 3.4 Deneylein yapılışı .....   | 29        |
| 3.4.1 Dönüşümlü voltametri ( DV ) deneylei .....   | 29        |
| 3.4.2 Kare dalga voltametri ( KDV ) deneylei .....   | 29        |
| 3.4.3 Kalibrasyon eğrilerinin hazırlanması .....   | 30        |
| 3.5 Validasyon parametrelerinin belirlenmesi .....   | 30        |
| 3.5.1 Doğrusal çalışma aralığı .....   | 30        |
| 3.5.2 Doğruluk .....   | 30        |
| 3.5.3 Tekrarlanabilirlik .....   | 30        |
| 3.5.4 Duyarlılık .....   | 31        |
| 3.5.5 Gözlenebilme sınırı ( LOD) .....   | 31        |
| 3.5.6 Aktarılan elektron sayısı ( $n$ ) ile yük aktarım katsayısı ( $\beta$ ) çarpımının bulunması ..... | 31        |

|  |    |
|--|----|
| <b>4. ARAŞTIRMA BULGULARU ve TARTIŞMA</b> .....  | 33 |
| 4.1 Ürik asidin elektrokimyasal davranışlarının incelenmesi.....   | 33 |
| 4.1.1 Dönüşümlü voltametri çalışmaları .....   | 33 |
| 4.1.2 Ürik asidin adsorpsiyon özellikleri.....   | 37 |
| 4.1.3 Elektrot reaksiyonunda yer alan H <sup>+</sup> sayısının bulunması ve pH' nın pik potansiyeline etkisi ..... | 37 |
| 4.2 AA varlığında ürik asidin KDV yöntemi ile tayini için yöntem geliştirme .....                                  | 41 |
| 4.2.1 Cihaz parametrelerinin optimizasyonu.....  | 42 |
| 4.3 KDV yönteminin analitik uygulamaları .....   | 43 |
| 4.3.1 Ürik asit derişim çalışmaları.....   | 43 |
| 4.3.2 Girişim çalışması .....  | 46 |
| 4.3.3 Standart katma yöntemi kullanılarak serum örneklerinden ürik asit miktar tayini .....                        | 50 |
| 4.4. Geliştirilen yöntemin validasyon parametrelerinin incelenmesi .....   | 51 |
| 4.4.1 Doğrusal çalışma aralığı .....   | 51 |
| 4.4.2 Yöntemin doğruluğu .....   | 51 |
| 4.4.3 Tekrarlanabilirlik .....   | 51 |
| 4.4.3.1 Aynı çözeltilde (gün içi) pik akımı ve pik potansiyeli için tekrarlanabilirlik .....                       | 51 |
| 4.4.3.2 Farklı çözeltilde (günler arası) pik akımı ve pik potansiyeli için tekrarlanabilirlik .....                | 52 |
| 4.4.4 Yöntemin duyarlılığı .....   | 53 |
| 4.4.5 Gözlenebilme sınırı .....  | 53 |
| 4.4.6 Alt tayin sınırı .....   | 54 |
| 4.4.4 Sağlamlık .....  | 54 |
| <b>5. SONUÇ</b> .....  | 57 |
| <b>6. KAYNAKLAR</b> .....  | 58 |
| <b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....  | 62 |



## ÇİZELGE DİZİNİ

|   | <u>Sayfa</u> |
|---|--------------|
| Çizelge 2.1 : Askorbik asidin özellikleri .....   | 4            |
| Çizelge 2.2 : Ürik asitin özellikleri .....   | 6            |
| Çizelge 3.1 : Çalışmada kullanılan kimyasal maddelerin temin edildiği firma ve saflık dereceleri .....  | 27           |
| Çizelge 4.1 : Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> - NP - KPE' in pH 5,0 fosfat ortamında 1×10 <sup>-3</sup> molL <sup>-1</sup> ürik asit ve 1×10 <sup>-3</sup> molL <sup>-1</sup> AA maddelerine ait dönüşümlü voltomogramlardan elde edilen pik potansiyellerinin ve pik akımlarının tarama hızına ile değişimi. .... | 35           |
| Çizelge 4.2 : Ürik asit ve AA çözeltilerinin dönüşümlü voltomogramlarından elde edilen pik potansiyelleri ve pik akımı değerleri (C <sub>ürik asit</sub> :1,0 × 10 <sup>-3</sup> mol L <sup>-1</sup> , C <sub>AA</sub> :1,0 × 10 <sup>-3</sup> mol L <sup>-1</sup> , tarama hızı: 0,01 V s <sup>-1</sup> ) .....  | 42           |
| Çizelge 4.3 : KDV yöntemi için optimum cihaz ve yöntem parametreleri .....  | 42           |
| Çizelge 4.4 : Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> - NP - KP elektrodun cevabına AA' in etkisi (0,05 M pH 5,0 fosfat tamponu).....  | 48           |
| Çizelge 4.5 : Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> - NP - KPE elektrodun cevabına girişim yapan türlerin etkisi (0,05 M, pH 5,0 fosfat tamponu) .....   | 49           |
| Çizelge 4.6 : Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> – NP - KPE kullanılarak kan numunelerinde tayin edilen ürik asit derişim .....   | 50           |
| Çizelge 4.7 : Ürik asit tayini için geliştirilen yöntemin bazı validasyon parametreleri .....   | 54           |
| Çizelge 4.8 : Ürik asit tayininde kullanılan bazı elektrokimyasal yöntemlerinin karşılaştırılması .....   | 55           |

## ŞEKİL DİZİNİ

### Sayfa

|   |    |
|---|----|
| Şekil 2.1 : Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılması .....   | 9  |
| Şekil 2.2 : Voltametrik ölçüm yönteminde kullanılan elektrot çeşitleri.....   | 11 |
| Şekil 2.3 : Elektrokimyasal çalışmalarda kullanılan üçlü elektrot hücre sistemi .....   | 12 |
| Şekil 2.4 : Dönüşümlü voltametri için uyarma sinyalinin dalga şekli.....  | 16 |
| Şekil 2.5 : Diferansiyel puls voltametrisinde puls tipi uyarma sinyali .....  | 17 |
| Şekil 2.6 : Kare dalga voltametride puls tipi uyarma sinyalinin dalga şekli .....   | 18 |
| Şekil 3.1 : BASİ C3 hücre standı.....   | 25 |
| Şekil 3.2 : Kullanılan üçlü elektrot sistemi ve dropsens marka potansiyostat .....  | 26 |
| Şekil 4.1 : Ürik asidin molekül yapısı .....  | 33 |
| Şekil 4.2 : $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ürik asidin, 0,05 M fosfat tamponu ortamında, $\text{Al}_2\text{O}_3$ - NP - KPE ve sade KPE' de elde edilen dönüşümlü voltomogramları ( $v$ : $0,1 \text{ V s}^{-1}$ , pH 5) .....   | 34 |
| Şekil 4.3 : $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ürik asidin sade KPE' de pH 5,0 fosfat tamponunda farklı tarama hızlarında alınan dönüşümlü voltomogramları ( Tarama hızının logaritmasının pik potansiyeline etkisini gösteren grafik, $i_p^a / v^{1/2}$ - $v$ grafiği ve $\log i_p^a$ - $\log v$ grafiği iç grafik). .....                          | 36 |
| Şekil 4.4 : $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ürik asidin $\text{Al}_2\text{O}_3$ - NP - KPE' de pH 5,0 fosfat tamponunda farklı tarama hızlarında alınan dönüşümlü voltomogramları (Tarama hızının logaritmasının pik potansiyeline etkisini gösteren grafik, $i_p^a / v^{1/2}$ - $v$ grafiği ve $\log i_p^a$ - $\log v$ grafiği iç grafik). ..... | 36 |
| Şekil 4.5 : Sade KPE (A) ve $\text{Al}_2\text{O}_3$ - NP - KPE'ta (B) $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ürik asidin farklı pH' larda alınan kare dalga voltamogramları (pik akımlarının pH ile değişimi iç grafik ).  | 38 |
| Şekil 4.6 Ürik asidin $\text{Al}_2\text{O}_3$ - NP - KPE yükseltgenme mekanizması .....   | 40 |
| Şekil 4.7 : $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ürik asit ve AA çözeltilerinin 0,05 M fosfat tamponunda, (A) $\text{Al}_2\text{O}_3$ - NP - KPE (B) sade KPE' de elde edilen dönüşümlü voltomogramları ( $v$ : $0,1 \text{ V s}^{-1}$ , pH 5 ). .....   | 41 |
| Şekil 4.8 : Ürik asidin farklı derişimlerdeki KDV voltamogramları (pH:5,0 Akım-derişim grafiği iç grafik ) .....  | 44 |
| Şekil 4.9 : (A) $3,5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ AA, (B) $5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ AA, (C) $8,5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ AA varlığında ürik asidin farklı derişimlerdeki KDV voltamogramları (pH: 5,0, Akım-derişim grafiği iç grafik ) .....  | 46 |

Şekil 4.10 : Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> - NP - KPE' da KDV yöntemi ile aynı gün, aynı çözeltide art arda yapılan ölçümlere ait voltamogramlar (C<sub>ürük asit</sub>: 1,0×10<sup>-4</sup> molL<sup>-1</sup>, pH: 5,0)..... 52

Şekil 4.11 : Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-NP-KPE' da KDV yöntemi ile farklı gün, farklı çözeltilerde yapılan ölçümlere ait voltamogramlar (C<sub>ürük asit</sub>: 1,0×10<sup>-4</sup> molL<sup>-1</sup>, pH: 5,0)..... 53

## SİMGELER DİZİNİ

|                 |   |
|-----------------|---|
| AA              | : Askorbik asit   |
| A               | : Elektrotun Alanı  |
| BSS             | : Bağlı Standart Sapma  |
| $\beta$         | ...: Anodik yük aktarım katsayısı   |
| C               | : Ana Çözeltideki Elektroaktif Maddenin Analitik Derişimi, mol/cm <sup>3</sup> , molL <sup>-1</sup> |
| DV              | : Dönüşümlü Voltametri  |
| D               | : Difüzyon Katsayısı, cm <sup>2</sup> s <sup>-1</sup>   |
| DPV             | : Diferansiyel Puls Voltametri  |
| E               | : Uygulanan Potansiyel V  |
| E <sup>0</sup>  | : Standart Potansiyel, V  |
| E <sub>p</sub>  | : Pik Potansiyeli, V  |
| E <sub>pa</sub> | : Anodik Pik Potansiyeli, V   |
| f               | : Kare Dalganın Frekansı, s <sup>-1</sup>   |
| F               | : Faraday Sabiti, 96485 C/mol e <sup>-</sup>  |
| $\dot{I}_{nd}$  | : İndirgenmiş Tür   |
| i <sub>p</sub>  | : Pik Akımı, A  |
| i <sub>pa</sub> | : Anodik Pik Akımı, A   |
| KDV             | : Kare Dalga Voltametrisi   |
| n               | : Aktarılan Elektron Sayısı   |
| m               | : Kalibrasyon eğimi   |
| R               | : Gaz Sabiti, 8,314 joule/mol K   |
| s               | : Standart Sapma  |
| T               | : Mutlak Sıcaklık   |
| t               | : Zaman   |
| $\alpha$        | : Elektrot Reaksiyonunun Yük Transfer Katsayısı   |
| $\Delta E_a$    | : Puls Genliği, V   |

|                   |   |
|-------------------|---|
| $\Delta E_s$      | : Kare Dalga Voltametrisinde Uyarma Sinyalinin Basamak Yüksekliği           |
| $\Delta E_p$      | : Pik Potansiyelleri Arasındaki Fark, V                                     |
| $\Delta I$        | : Net Akım, A   |
| $\Delta I_{puls}$ | : Puls Voltameteilerinde Puls Öcesi ve Puls Sonrası Ölçülen Akımların Farkı |
| $\pi$             | : Pi Sayısı   |
| $\nu$             | : Tarama Hızı, $Vs^{-1}$ , $mVs^{-1}$                                       |

## ÖNSÖZ

Askorbik asit varlığında alüminyum oksit nanopartikülleri ile modifiye edilmiş karbon pasta elektrotta ürik asit tayini başlıklı proje Namık Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi tarafından desteklenen NKUBAP.00.10.AR.12.12 nolu projesi olup tüm çalışmalar Namık Kemal Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Analitik Kimya Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Bize her türlü maddi destek ve kolaylığı sağlayan Namık Kemal Üniversitesi Rektörlüğüne, Namık Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimine, birim çalışanlarına, Fen-Edebiyat Fakültesi Dekanlığına ve Kimya Bölüm Başkanlığına, tez konumun belirlenmesinde, planlamasında ve yürütülmesinde yardım, emek ve ilgisini esirgemeyen, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren değerli danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Funda ÖZTÜRK' e ve tecrübeleriyle yol gösteren Prof. Dr. Esmâ KILIÇ' a, numune çalışmalarında destek veren Tekirdağ devlet hastanesi Biyokimya laboratuvarından Dr. Devrim Aslı UZUN' a ve tüm arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca, bugünlere gelmemde büyük emeği olan, her koşulda yanımda olan sevgili Ailem'e tüm kalbimle teşekkür ederim.

Ekim, 2016

Rüveyda BARSBUĞA

## 1. GİRİŞ

Ürik asit (2, 6, 8 - trihidroksi pürin) insan metabolizmasında pürin türevlerinin son ürünü olarak oluşur. Serumdaki normal ürik asit seviyesi 240 ve 520  $\mu\text{molL}^{-1}$  arasındadır. Biyolojik sıvılardaki anormal ürik asit seviyesi; gut, renal hastalıklar, hiperürisemi ve Lesch-Nyhan sendromu gibi çeşitli hastalıklara sebep olur. Yapılan çalışmalar, serumdaki ürik asit seviyesinin yükselmesiyle kardiyovasküler hastalıkların meydana gelme oranının arttığını kanıtlamaktadır. Aynı zamanda ürik asit seviyesi hipertansiyon ile ilişkilendirilmektedir. Ayrıca ürik asit insan vücudunda antioksidan özellik gösterir. Tüm bu özelliklerinden dolayı biyolojik sıvılardaki ürik asit miktarının hızlı ve güvenilir bir şekilde tayini son derece önemlidir.

Ürik asit tayini için; literatürde, kimyasal yöntem (Pileggi vd. 1972), kemilüminesans (Hong ve Huang 2003, He vd. 2005), floresans (Galban vd. 2001), HPLC-kütle spektrometrisi (Perello vd. 2005), kapiler elektroforez - amperometri (Xu vd. 1997), voltametri (Ye vd. 2003, Tehrani ve Ghani 2009), kolorimetri (Bhargava vd. 1999) gibi çeşitli yöntemlerin uygulandığı çalışmalar rapor edilmiştir. Literatürde belirtilen bu yöntemleri çoğu zahmetli, pahalı, zaman alıcı ve uygulaması karmaşık tekniklerdir.

C vitamini olarak da adlandırılan askorbik asit (AA) insan beslenmesinde zorunlu bir bileşen olup bitkilerden ve hayvan bünyelerinden elde edilir. Bununla birlikte insan organizmasında lökositlerde de askorbik asit bulunabilir. C vitamini bağışıklığın artırılmasında, iskorbüt, soğuk algınlığı, mental hastalıklar ve kanserlerin tedavisinde kullanılır. AA özellikleri iyi tanımlanmış bir antioksidandır ve gıda sektöründe indirgeyici ajan, ters yükseltgenme amaçlı olarak kullanılır. Askorbik asidin gıdalardaki ve farmasötiklerdeki derişimi üretim ve depolama adımlarındaki kalitenin belirlenmesi için son derece önemlidir.

Elektrokimyasal yöntemler, farklı yükseltgenme basamağına sahip türlerin tayini çalışmalarında yaygın biçimde kullanılmaktadır. Bu yöntemler seçimli, ucuz, basit ve az zaman gerektirmesi nedeniyle diğer yöntemlerden daha avantajlıdır.

AA ve ürik asit serum, kan, idrar gibi biyolojik sıvılarda genellikle bir arada bulunur. AA ve ürik asidin elektrokimyasal tekniklerle tayininin de ana problem iki bileşene ait yükseltgenme piklerinin yaklaşık olarak aynı potansiyelde görülmesidir. Bu nedenle AA ve

ürük asidin yükseltgenme potansiyellerini birbirinden etkili bir şekilde ayırmak büyük önem taşır. Bu çalışmada askorbik asit varlığında ürik asidin tayini için  $Al_2O_3$  nano partikülleri ile modifiye edilmiş karbon pasta elektrot ( $Al_2O_3$ -NP-KPE) kullanılarak kare dalga voltametri yöntemi geliştirildi. Askorbik asidin girişim etkisini azaltarak serumda ürik asit tayininin yapıldığı bu çalışmanın literatüre katkı sağlayacağı düşünülmektedir.



## 2. KURAMSAL TEMELLER

### 2.1. Askorbik Asit

IUPAC adı (5R) - [(1S) - 1,2 - dihidroksietil] - 3,4 – dihidroksifuran - 2(5H) diğer adı C vitamini olan askorbik asit ( AA ) kimyasal yapısı diğer altı karbonlu monosakkaritlere benzeyen bir ketolaktondur (Şekil 2.1). C vitamini kimyasal olarak askorbik asidin ışığı sola döndüren enantiyomeridir. İnsan kan plazmasında AA yaklaşık 0,1 mmol L<sup>-1</sup> düzeyinde bulunmaktadır.(Thiagaraja ve Chen 2007).

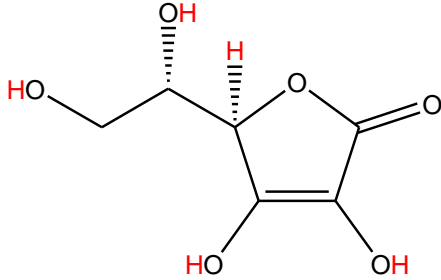
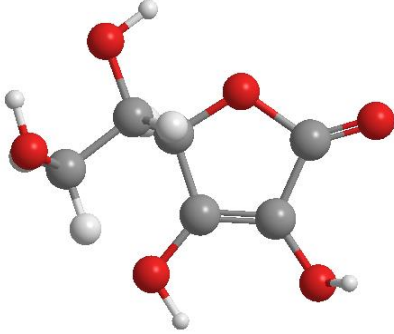
1907' de Holst ve Frolich isimli iki araştırmacı tarafından AA üzerinde ilk bilimsel araştırmalar gerçekleştirildi. Bu iki araştırmacı başta yeşil sebzeler ve meyveler olmak üzere çeşitli besin maddelerinde iskorbüt hastalığını önleyici etkilerinin olduğunu belirledi. C. Funk 1912' de iskorbüt hastalığının besinlerde bulunan bir faktörün eksikliği sonucu ortaya çıktığını tespit etti ve bu maddeye antiskorbutik vitamin adını verdi. Drummond 1920' de yapmış olduğu çalışmalarında antiskorbutik vitamini için Vitamin C adını kullandı. Zilva ve arkadaşları (1918 - 1929) antiskorbutik faktörü üzerinde yapmış oldukları çalışmalarında limondan hemen hemen saf olarak AA izole ederek, bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerini belirledi (Xu ve ark. 2007).

Szent – Gyorki 1928' deki çalışmalarında hayvanların adrenal bezlerinden, portakal ve lahanada AA' i ayırdı. Ancak 1932 yılına kadar AA'in antiskorbüt vitamini olduğunu anlayamadı. Daha sonra bağımsız birçok araştırmacı özellikle Tillmans, Vedder, Nelson, Harris ve Von Vargha yapmış oldukları çalışmalarlarıyla vitaminin kimliğini belirlediler ve glikozdan AA sentezi gerçekleştirildi. AA ismi Szent-Gyorki'e ithafen verildi.

L – ksiloaskorbik asidin günümüzde yaygın olarak kullanılan isimleri, AA ve C vitamini. Tarihsel gelişimi sırasında cevitamik asit, antiskorbutik vitamin, heksuronik asit, skorbutamin ve redoxon olarak da adlandırılmaktadırlar.

**Çizelge 2.1** Askorbik asidin özellikleri

---

|                           |   |
|---------------------------|---|
| <b>Molekül adı</b>        | Askorbik Asit   |
| <b>Kapalı formülü</b>     | $C_6H_8O_6$   |
| <b>Açık formülü</b>       |   |
| <b>3D görüntüsü</b>       |  |
| <b>Molekül ağırlığı</b>   | $176,12 \text{ g mol}^{-1}$   |
| <b>Erime noktası</b>      | $193 \text{ }^\circ\text{C}$  |
| <b>KAYNAMA NOKTASI</b>    | parçalanma  |
| <b>Sudaki çözünürlüğü</b> | $330 \text{ g L}^{-1}$  |

---

### 2.1.1. AA'nın insan sağlığı için önemi

Vücudumuzda C vitaminin, dokulara sağlamlık veren kolajenin üretiminden, alyuvarların işlenmesine kadar çeşitli görevleri vardır. C vitamininin aşırı eksikliğinde ortaya çıkan hastalığa iskorbüt adı verilir. İskorbüt hastalığının; halsizlik, kolayca kanayan dişetleri,

ciltte morluklar, eklemlerde ağrı yaygın belirtilerindendir. C vitaminin aşırı eksikliğinde oluşan iskorbüt hastalığı günde 50-100 mg C vitamini alınarak tedavi edilebilmektedir. (Karasakal 2007).

Beyin fonksiyonları, yağ asidi metabolizması, enfeksiyona duyarlılık ve yorgunluk hissi üzerinde C vitamininin etkileri vardır. Metal iyonlarının geçişi ile ilişkisi, indirgeyici özelliği ve oksijenin serbest radikal türevleri ile reaksiyonu biyolojik fonksiyonlarının temelini oluşturur.

L – askorbik asit eksikliğinde dalaktan diğer dokulara demir aktarımının yavaşlamasına sebep olur. Demir yükleme tedavisinde ek olarak L- askorbik asit kullanımı demirin vücut depolarından diğer dokulara aktarılmasını arttırmaktadır. Bu sebep ile anemi tedavisinde AA önemli bir vitamindir (Dülger 2012).

DNA'ya zarar veren serbest radikalleri indirgemekte, katarakta neden olan oksidanları etkisiz hale getirmekte ve hücrel faaliyet bozukluklarını önlemekte C vitaminin önemli etkileri vardır. Ayrıca AA ve E vitamini ikili olarak tokoferoksil adı verilen serbest radikali vücutta etkisiz hale getirmekte ve vücuda zarar veren süperoksit (O<sub>2</sub>) ve hidroksil (OH) radikalleri ile reaksiyona girerek onların etkilerini azaltmaktadır.

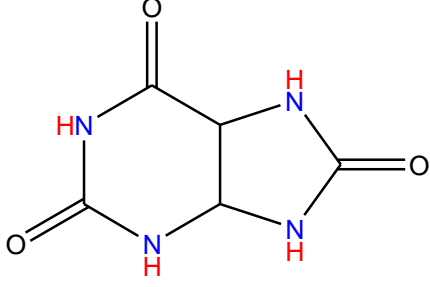
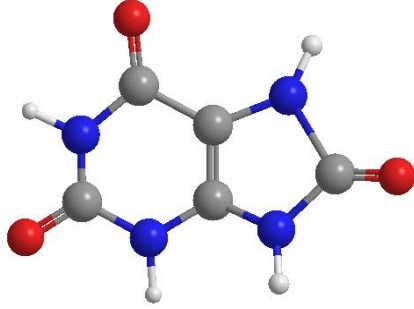
C vitamini özellikle turunçgillerde, çeşitli sebze ve meyvelerde bol miktarda bulunur. Buna karşılık, hayvansal ürünlerde sadece süt ve ciğerde, düşük düzeyde bulunmaktadır (Menevşeoğlu 2012).

## **2.2. Ürik Asit**

IUPAC ismi 7,9-dihydro - 1H – pürine – 2,6,8(3H) trion olan ürik asit, hidrojen, oksijen, karbon ve nitrojenden oluşan bir organik bileşiktir

Ürik asit, ksantin oksidazın oksipürünleri (ksantin, hipoksantin gibi) oksitlemesi ile oluşur. İnsan ve gelişmiş primatlarda pürin metabolizmasının son ürünüdür. Primatlar dışındaki memelilerde ürikaz enzimi ürik asidi'i oksitleyerek allantoina dönüştürür (Culleton ve ark. 1999).

Çizelge 2.2 . Ürik asidin özellikleri

|                           |   |
|---------------------------|---|
| <b>Molekül adı</b>        | Ürik Asit   |
| <b>Kapalı formülü</b>     | $C_5H_4N_4O_3$  |
| <b>Açık formülü</b>       |   |
| <b>3D görüntüsü</b>       |  |
| <b>Molekül ağırlığı</b>   | $168,1103 \text{ g mol}^{-1}$   |
| <b>Erime noktası</b>      | $> 300 \text{ }^\circ\text{C}$  |
| <b>Kaynama noktası</b>    | parçalanma  |
| <b>Sudaki çözünürlüğü</b> | $60,0 \text{ g/ 100 mL}$  |

### 2.2.2. Ürik asidin insan vücudu için önemi

Vücutta üretilen ürik asidin yaklaşık 2/3' si böbrekler ile atılırken 1/3' de sindirim sistemi kanalı ile atılır. Kandaki ürik asit seviyeleri günden güne ve mevsim değişimleri ile farklılık gösterirken, stres, açlık, vücut kitlesindeki artış da kandaki ürik asit seviyesinin artmasına sebep olmaktadır. (Tabanlıgil 2010). Ürik asit özellikle hidroksil, süperoksit ve peroksinitrit, singlet oksijen radikallerini bastırmada etkilidir ve lipid peroksidasyonunun önlenmesinde koruyucu bir fizyolojik rolü vardır. Ürik asit, demir ve bakır iyonlarını

bağlayarak hidroksil oluşumunu sınırlandırır. Ayrıca eritrositlerin membran bütünlüklerinin korunmasında etkilidir (Kızıltunç 2008).

Ürik asit derişiminin kanda bulunan seviyesinden yüksek veya düşük olması durumunda, çeşitli hastalıklar meydana gelmektedir. Kandaki normal seviyesinden yüksek olması halinde ürik asit kristallerinin başta eklem sıvıları olmak üzere çeşitli dokularda biriktiği düşünölmektedir. Eklem sıvılarında biriken ürik asit kristalleri GUT adı verilen ağrılı bir hastalığa sebep olmaktadır. Bu nedenle kandaki ürik asit seviyesinin belirlenmesi, gut hastalığı tanı ve tedavisinin takibi için son derece önemlidir. Ürik asit seviyesinin azalması ile Wilson hastalığı, fankoni sendromu, ksantinüri gibi birçok hastalık sıralanabilir. Bazı ilaçlar da (ACTH, allopurinol, kumarin vb.) ürik asit seviyesinin düşmesine sebep olur (Tabanlıgil 2010).

Ayrıca kemoterapi alan ve böbrek fonksiyon bozukluğundan şüphelenilen hastaların takibinde de kandaki ürik asit seviyesinin belirlenmesi önemlidir. Ürik asit kristallerinin böbreklerde birikmesi böbrek yetmezliğine sebep olur.

Sonuç olarak, ürik asit kararlılığı pürin biyosentezi ve katabolizmasının karışıklığı ile sebep olan hastalıkların teşhisinde çok önemlidir.

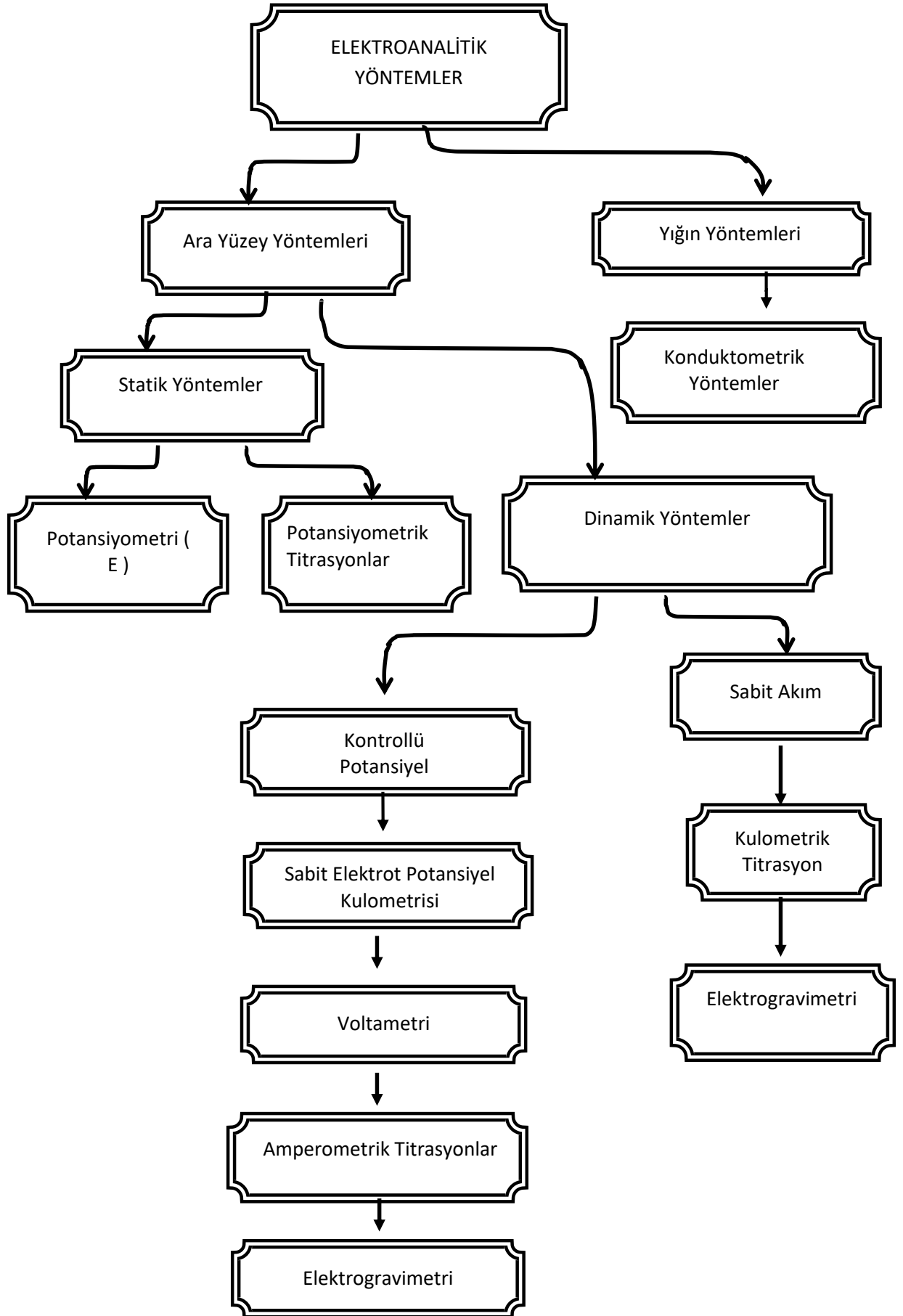
### **2.3 Elektrokimyasal Yöntemler**

Elektroanalitik yöntemler, maddelerin elektrokimyasal özelliklerinden faydalanılarak kalitatif ve kantitatif analizlerin yapıldığı yöntemlerdir. Elektroanalitik yöntemler, farklı yükseltgenme basamağında bulunan türlerin bir arada tayini, bu yöntemlerin uygulanmasını sağlayan ticari cihazların kromatografik ve spektrofotometrik cihazlara göre daha ucuz olması gibi üstün özelliklere sahiptir (Henden vd.,2001).

Elektroanalitik yöntemler akım, potansiyel veya yük gibi elektrokimyasal büyüklükleri ölçerek ve onların kimyasal parametrelerle aralarındaki ilişkilerini araştırarak elektrik ve kimyanın birbiriyle etkileşimini inceler. Elektrokimyasal yöntemlerin çoğu potansiyel, zaman ve akım parametrelerini içermektedir. Bu parametreler ile, yöntemin adı birlikte kullanılır, örneğin; voltametri, kronoamperometri, kronokulometri gibi adları sırasıyla potansiyel-akım, zaman-akım ve zaman-yük parametrelerinden yöntem teknikleri hakkında bilgi edinilebilir.

Elektrokimyasal tekniklerde, elektrot - çözücü sistemine bir elektriksel etki yapılarak sistemin verdiği cevap ölçülür, cevap ile sistemin özellikleri hakkında bilgi sahibi olunur. Bir elektrokimyasal yöntemin adından yararlanarak, elektriksel etkinin ve sistemin verdiği cevabın türü tam belirlenemeyebilir. (Skoog ve ark., 1998 a).

Elektriksel ölçümlerin, analitik amaçlı kullanımı, çevresel görüntüleme, endüstriyel kalite kontrol ve biyomedikal analiz olmak üzere çok yaygın uygulama alanı bulunmaktadır. Kimyasal ölçümlerin çoğu homojen çözeltilerinde yapılırken, elektrokimyasal çalışmalar elektrot - çözelti ara yüzeyinde gerçekleştirilmektedir. Yaygın olarak kullanılan elektroanalitik tekniklerin sınıflandırılması Şekil 2.1 de görülmektedir.



Şekil 2.1. Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılması

## 2.4 Voltametri

Voltametri, çekoslovak kimyacı Jaroslav Heyrovsky tarafından 1922 yılında voltametrinin özel bir türü olan polarografiden geliştirildi (Bockris ve ark. 1970).

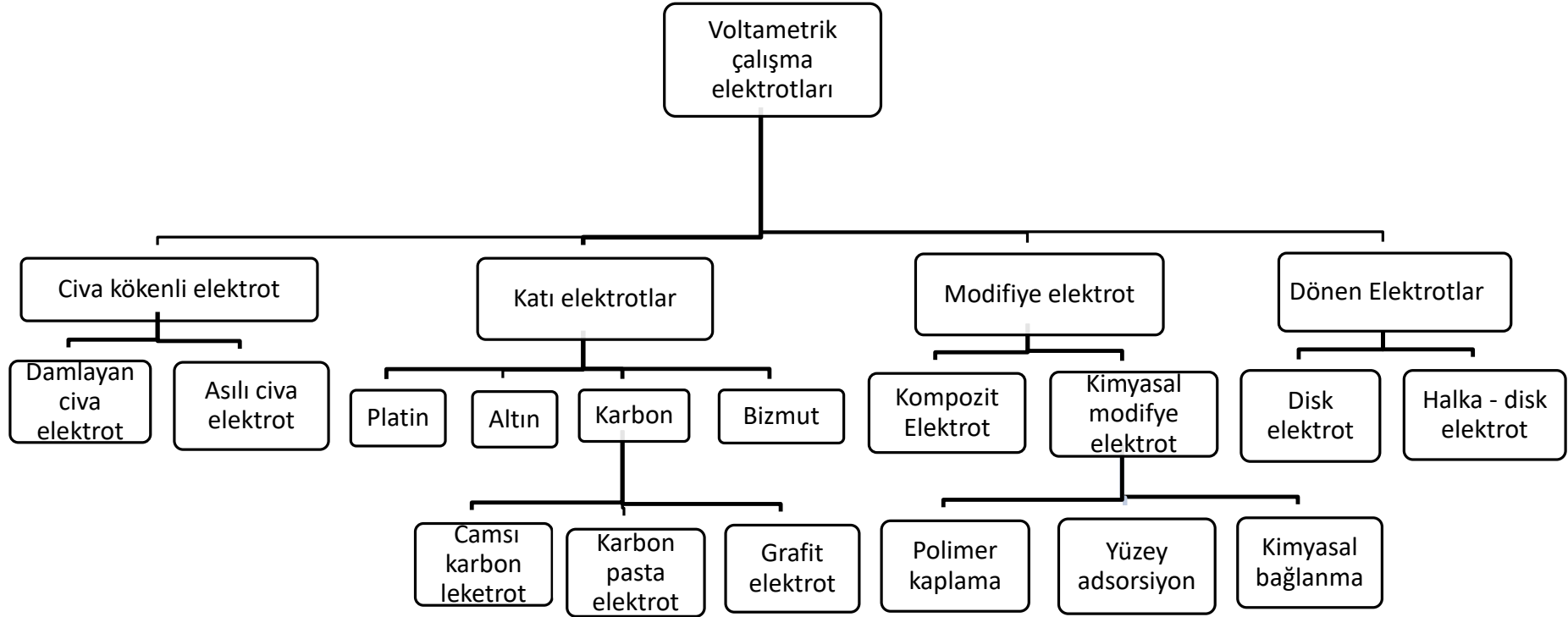
Voltametrinin, bir elektrokimyasal hücrede, polarize olabilen bir indikatör elektrodu ile referans elektrodu arasına potansiyelin zamanla değiştirilmesi sonucu elde edilen akımın, üç elektrotlu hücrelerde çalışma elektrodu ile referans elektrot, iki elektrotlu hücrelerde ise çalışma elektrodu ile karşılaştırma elektrodu arasında ölçülmesine dayanır. (Yıldız, 1993 ve Bond, 1980).

Voltametri ile bazı metallerin (Pd, Cd, Cu, Zn, Hg, As gibi) veya bir ligand ile kompleks oluşturarak elektrot yüzeyine adsorplanabilen metal iyonlarının (Ni ve Co gibi), anyonların ( $S_2^{2-}$ ,  $CN^-$ ,  $Cl^-$ ,  $F^-$  gibi);  $IO_3^-$ ,  $NO_2^-$ ,  $SCN^-$ ,  $S_2O_3^{2-}$   $SO_3^{2-}$  ve  $SO_2$  gibi inorganik bileşiklerin; aromatik maddelerin, çeşitli organik bileşiklerin analizleri yapılmaktadır. Ayrıca farklı yükseltgenme basamağına sahip iyonların türleme çalışmaları da yapılmaktadır (Gündüz, 1990).

### 2.4.1. Voltametrik ölçüm yönteminde kullanılan elektrotlar

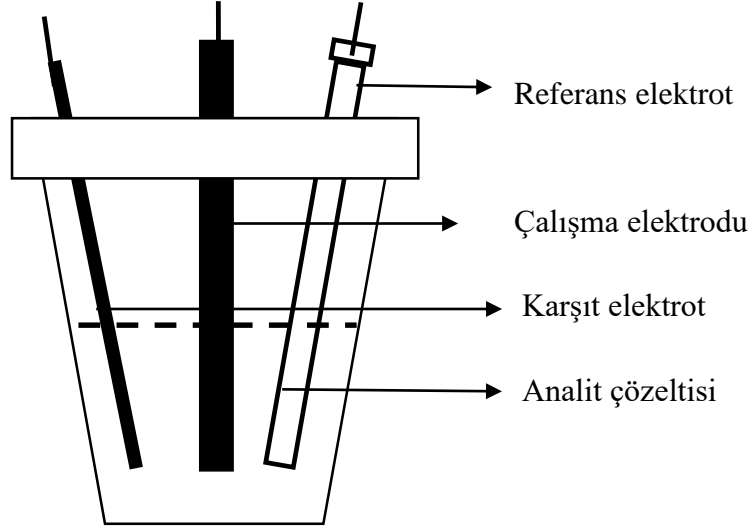
Doğrusal taramalı voltametri ölçümleri yapmak için kullanılan hücre, analit ve elektrolitin aşırısını içeren destek elektrolit çözeltisine daldırılmış ikili veya üçlü elektrot sistemlerinden oluşur. Üç elektrotlu sistemlerde kullanılan çalışma elektrodu zamanla potansiyeli doğrusal olarak değişen bir mikro elektrotur. Kullanılan çalışma elektrotunun polarizasyonunu artırmak için söz konusu elektrotun boyutları küçük tutulur. Referans elektrot potansiyeli ölçüm süresince sabit olan elektrotur. Üçlü elektrot sisteminde yer alan bir diğer elektrot karşı elektrotur. Bu elektrot, genellikle platin gibi inert bir metalden yapılmış geniş yüzeyli bir elektrotur. Karşı elektrot kaynaktan çözeltiliye, oradan da mikroelektrota geçirgenliği sağlamaktadır.





Şekil 2.2. Voltametrik ölçüm yönteminde kullanılan elektrot çeşitleri

Çalışma elektrotu; üzerinde elektrokimyasal reaksiyonun gerçekleştiği elektrottur Bu elektrot yüzeyinde incelenen maddelerin indirgenmesi sonucu oluşan akıma katodik akım, yükseltgenmesi ile oluşan akıma ise anodik akım denir. Voltametri deneylerinde çalışma elektrotuna uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak okunan akım değerleri kullanılarak, analit hakkında bilgi edinilir. Elektrokimyasal yöntemlerde çalışma elektrotu olarak platin, altın, civa, camsı karbon, karbon pasta gibi çeşitli tür ve şekildeki elektrotlar kullanılır.



Şekil 2.3 Elektrokimyasal çalışmalarda kullanılan üç elektrotlu hücre sistemi

Bir çalışma elektrotunun özellikleri,

- İletken olmalı,
- Çalışılan potansiyel aralığında inert olmalı,
- Negatif potansiyel sınırı yüksek olmalı,
- İstenilen geometrik şekil kolaylıkla verilebilir ve kolay işlenebilir olmalıdır.

Voltametri referans elektrot olarak ikinci sınıf metal-metal iyonu elektrotları kullanılır. Bu elektrotlar küçük akım şiddetlerinde polarlanmazlar. Akım şiddeti artınca ideal konumlarında saparlar olur. En sık kullanılan referans elektrotlar kalomel elektrot ve Ag / AgCl referans elektrotudur. İdeal bir referans elektrot,

- Analit çözeltisinin derişiminden bağımsız sabit bir potansiyeli olmalı,
- Nerst eşitliğine uymalı ve tersinir olmalı,
- Küçük bir akıma maruz kaldıktan çok kısa bir süre sonra tekrar orijinal potansiyeline geri dönebilmelidir.
- Sıcaklık değişimlerine çok az etkilenmelidir (Doğan 2005).

Karşıt elektrot ise genellikle inert metallere seçilir. Karşıt elektrotun görevi, elektronlar için kaynak oluşturmak ve böylece akımın geçmesini sağlamaktır.

#### **2.4.2. Voltametri için kullanılan çözücüler ve destek elektrolitler**

Elektrokimya, deneylere başlamadan önce uygun destek elektrolit ve çözücü sistemi belirlenir. Belirlenen çözücünün elektrokimyasal inertlik, elektriksel iletkenlik, çözme gücü, kimyasal inertlik, viskozite, kolay bulunabilirliği, ucuz olması ve saflaştırılmasının kolay olması gibi çeşitli özelliklerinin bilinmesi gereklidir.

Elektrokimyasal çalışmalarda yaygın olarak kullanılan organik çözücüler; dimetilformamid (DMF), dimetilsülfoksit (DMSO) ve asetonitril ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ), etanol ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ) metanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ) ve sudur. Elektrokimyasal çalışmalarda en çok kullanılan çözücü sudur. Bu çözücüye ait özellikler aşağıda belirtilmiştir.

$\text{H}_2\text{O}$ , yüksek dielektrik sabiti olan, polar, kolay saflaştırılabilen, bol bulunan, ucuz ve zararsız bir çözücüdür. Analitik çalışmalarda kullanılacak suyun analitik saflıkta olması istenir. Bazı katyon ve koloidal olarak bulunan metaller ve organik maddeler suda safsızlığa neden olmaktadır.

#### **2.4.3. Voltametri analizleri etkileyen faktörler**

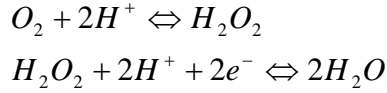
Elektrokimyasal ölçümler, destek elektrolit içeren çözelti sistemlerinde yapılır. Analitin söz konusu çözücü sisteminde çözünürlüğünün iyi olması istenir. Kullanılan çözücü sistemi analitle reaksiyona girmemeli ayrıca çalışma potansiyel aralığının geniş olması gerekir. Belirli potansiyel aralıklarındaki uygulamalarda çözeltinin direncini düşürmek, elektromigrasyon etkilerini azaltmak ve iyon şiddetini sabit tutmak için destek elektrolit gereklidir.

Organik moleküllerin çoğunun elektrot tepkimelerinde protonun yer almasından dolayı, akım - potansiyel ilişkileri pH' a bağlıdır. Voltametri çalışmalarda pH ile oluşan hataları önlemek için çözeltilerin tamponlanması gerekir. Seçilen tampon çözeltilerin çalışma penceresine uygun özellikte olması gerekir. Analit dalgalarının örtüşmesi halinde, bunların

birbirinden ayrılabilmesi için analitlerin akım potansiyel ilişkilerinin pH' a bağıllığı göz önüne alınarak, destek elektrolit çözeltisinin pH' sı ayarlanmalıdır (Karabudak 2013 ).

Sıcaklık kontrolü voltametrik analizleri etkileyen bir diğer faktördür. Sıcaklık ile maddenin difüzyon katsayısı (D) değerinde farklılıklar meydana gelir ve bununla birlikte ölçülen akım değeri de değişiklik gösterir. Bu sebep ile yapılan çalışmalar termostatik koşullarda gerçekleştirilmeli ve sıcaklık  $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$  aralığında sabit tutulmalıdır. Ceketli hücre kullanılarak sıcaklığın sabit kalması sağlanılabilir.

$\text{O}_2$  içeren çözeltilerde oksijenin elektrokimyasal indirgenmesi iki basamakta gerçekleşir. Birinci basamakta oksijen 2 elektron, 2 proton varlığında hidrojen peroksit indirgenirken, ikinci basamakta, oluşan hidrojen peroksidin suya indirgenmesine karşı gelir.



Birinci ve ikinci basamaklarda gerçekleşen indirgenme reaksiyonlarına ait yarı dalga potansiyelleri, doygun kalomel elektrot karşı yaklaşık olarak -0,1 ve -0,9 V dur. Geniş bir aralıkta indirgenme dalgaları vermesi ve güçlü bir yükseltgen olması nedenleriyle, oksijen voltametrik çalışmalarda sorunlara yol açmaktadır (Günaydın 2012 ). Bu yüzden voltametrik çalışmalarda ölçüm alınmadan önce ortamdan azot veya helyum gibi inert bir gaz geçirilerek oksijen ortamdan uzaklaştırılır.

#### **2.4.4. Voltametrde uyarı sinyalleri**

Voltametrde, maddenin elektrokimyasal davranışını incelemek için elektroda uygulanabilecek potansiyel penceresi, tercih edilen çalışma elektrotu, çözücü ve elektrolit çeşitlerine bağlıdır. Elektrokimyasal bir hücrenin çalışması sırasında elektrot yüzeyine madde aktarımı üç yolla gerçekleştirilir. Bu yollar, elektriksel göç (migrasyon), difüzyon ve karıştırma (konveksiyon) olarak adlandırılır.

Elektrokimyasal hücredeki katot ile anot arasında oluşan potansiyel fark bir elektriksel alan oluşturur. Oluşan elektriksel alanda pozitif yüklü iyonlar negatif elektrota, negatif yüklü iyonlar pozitif yüklü elektrota doğru hareket etmeye başlar. Böylece elektriksel göç ile madde aktarımı gerçekleşir. İyonların bu alandaki hareket hızları, iyon yüküne, büyüklüğüne ve

çalışma ortamında yönlenme şekline bağlıdır. Deneysel şartlara bağlı olarak bu olaylar kütle aktarımını sağlayabilir. Hücredeki elektrotta tüketilen elektroaktif maddenin ara yüzeyde azalan derişimini arttırmak üzere, çözeltilen elektrot yüzeyine madde aktarımı olayı difüzyon olarak adlandırılır. Difüzyonla kütle aktarımının hızı, ara yüzeyle çözeltilenin iç kesimleri arasındaki derişim farkına ve elektroaktif madde ile çözücünün türlerine bağlıdır. Her maddeye özgü difüzyon hızını belirten bir difüzyon katsayısı,  $D$ , vardır.

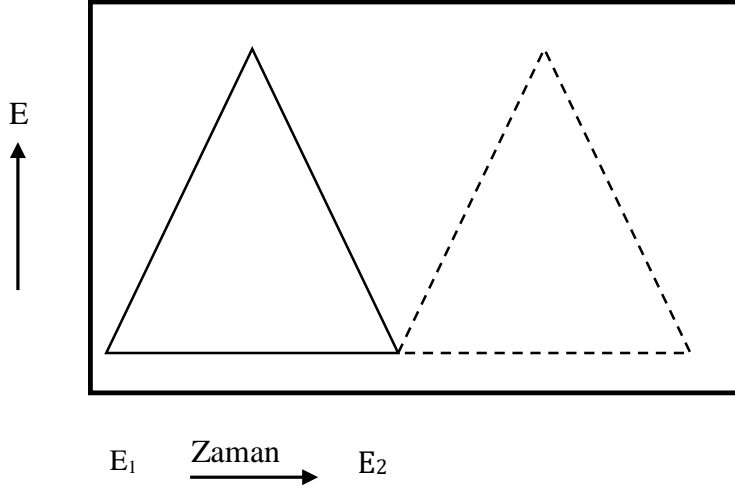
Çözeltilenin karıştırılmasıyla elektrot ara yüzeyine konveksiyon yolu ile madde aktarımı sağlanır. Voltametri bir mikrolektrot içeren elektrokimyasal hücreye farklı potansiyellerde uyarma sinyalleri uygulanır. Uygulana uyarma sinyali yöntemin temelini oluşturan karakteristik akım cevaplarını oluşturur (Skoog ve ark. 1998c).

## 2.5 Voltametrik Yöntemler

Elektrokimyasal bir yöntem olan voltametrimin çalışma prensibi, durgun bir ortamda çalışma elektrotuna uygulana potansiyel ile elektrotta oluşan akım cevabının incelenmesine dayanır. Son yıllarda korozyon ile elektrokatalizör sentezi, alternatif enerji kaynaklarının tespiti ve bazı maddelerin redoks özelliklerinin belirlenmesi gibi birçok geniş uygulama alanı mevcuttur. Aşağıda voltametri yaygın olarak kullanılan uyarma sinyalleri ve kimyasal sistemlerin incelenmesinde çeşitli elektrokimyasal yöntemler kısaca anlatılmaktadır.

### 2.5.1 Dönüşümlü voltametri (DV)

Şekil 2.4 görüldüğü gibi DV yönteminde potansiyelin, üçgensel potansiyel döngüsü,  $E_1$ 'den  $E_2$ 'ye ileri ve  $E_2$ 'den  $E_1$ 'e geri yönde doğrusal olarak taranırken oluşan akım ölçülür. Hücrede oluşan akımın, potansiyelin fonksiyonu olarak kaydedilmesiyle oluşan akım-potansiyel eğrilerine dönüşümlü voltamogram denir. Bu şekilde,  $Yük + ne^- \rightarrow ind$  reaksiyonu için çözeltilde sadece Yük'ün bulunduğu çeşitli dönüşümlü voltamogram örnekleri görülmektedir



**Şekil 2.4** Dönüşümlü voltametri için uyarılma sinyalinin dalga şekli

DV, sulu ve susuz ortamlarda en yaygın kullanılan elektrokimyasal yöntemlerden biridir. Özellikle, kararsız bir ara ürün veya ürün içeren elektrot reaksiyonlarının incelenmesinde faydalıdır. Elde edilen voltamogramların incelenmesiyle reaksiyon mekanizmalarını tahmin edebilir ve kararsız türlerin termodinamik ve kinetik özellikleri belirlenebilir. Elektrokimyasal ve kimyasal reaksiyonların her birinin farklı reaksiyon hızları ve tersinirlikleri vardır. Bu özelliklerin hepsi alınan voltomograma yansımaktadır. Potansiyel aralığı, tarama hızı, elektrot cinsi, çözelti türü gibi parametreler değiştirilerek elektrot reaksiyonunun dönüşümlü voltamogramları alınır ve elde edilen voltomogram şekilleri analiz edilerek elektrot reaksiyonu hakkında bilgi edinilebilir (Izutsu 2002b).

DV tekniğinin, nicel bilgi edinilmesinde çok tercih edilmez iken, nitel amaçlı bilgilerin edinilmesinde en çok tercih edilen teknik olmaktadır. Bunun nedeni ise, adsorpsiyon olayları, redoks olaylarının termodinamiği, takip eden kimyasal reaksiyonlar, ve heterojen elektron - transfer reaksiyonlarının kinetiği hakkında hızlı ve güvenilir olarak bilgilerin elde edilmesidir. DV yöntemi elektroanalitik çalışmalarda çoğunlukla ilk uygulanan deneysel basamaktır. Bu teknik özellikle elektroaktif türlerin redoks potansiyellerinin kolayca belirlenmesine yardımcı olmaktadır (Wang 2000a).

### **2.5.2 Diferansiyel puls voltametri (DPV)**

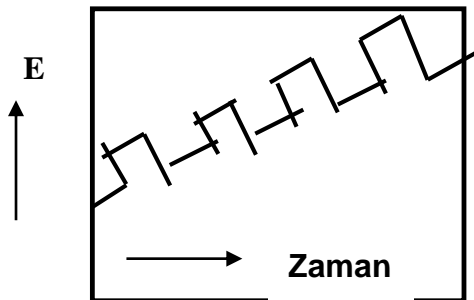
1952 yılında Barker ve Jenkin isimli iki araştırmacı tarafından, voltametrik çalışmalarda gözlenebilme sınırını düşürmek için, puls voltametri teknikleri önerilmiştir. Bu düşünce ile faradayik ve faradayik olmayan akım arasındaki oranı arttırarak gözlenebilme sınırını  $10^{-8}$  mol L<sup>-1</sup>'ye kadar düşürülmüştür. DPV tekniği organik ve inorganik türlerin miktarlarının belirlenmesinde kullanılan bir yöntemdir. DPV' de doğrusal potansiyel artışına ayarlanmış sabit büyüklükte pulsalar (dE/dt) belirli bir süre çalışma elektrotuna uygulanır ve iki kere akım ölçümü yapılır (Şekil 2.5 ). ilk akım ölçümünde tam potansiyel artışı olmadan pulsun başladığı anda, ikinci akım ölçümde pulsun bitmesine yakın bir bölgeden alınır. Ölçülen iki akım arasındaki fark  $\Delta I_{puls}$  olarak ifade edilir. Son olarak uygulanan potansiyele karşı akım farkının grafiğe geçirilmesiyle diferansiyel puls voltamogramı oluşturulur (Monk 2001, Wang 2000b).

Oluşturulan voltamogramların pik akımlarının yüksekliği, aşağıdaki eşitlikte (Eşitlik 2.1) de görüleceği gibi ilgili analitin derişimiyle doğru orantılıdır:

$$i_p \equiv \frac{nFACD^{1/2}}{\sqrt{\pi t}} \left( \frac{1-\sigma}{1+\sigma} \right) \quad (2.1)$$

$$\text{Burada, } \sigma = \exp[(nF/RT)(\Delta E/2)] \text{ ' dir ve } \Delta E \text{ puls genişliğidir.} \quad (2.2)$$

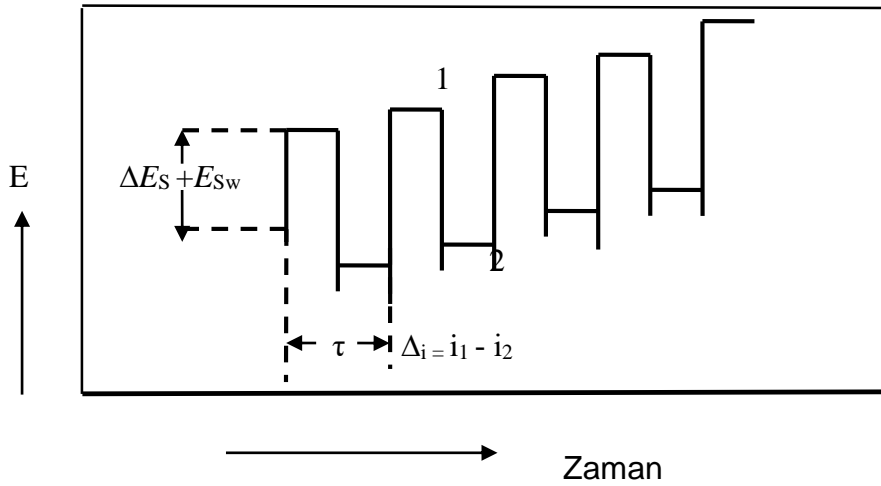
En yaygın kullanılan elektroanalitik yöntemlerden biri de DPV' dir. Normal puls voltametriyle karşılaştırıldığında iki üstün özelliği vardır. Birincisi, her bir analitin analitik pikleri birbirinden kolayca ayırt edilebildiği için birçok analitin belirlenmesini tek bir voltamogramda sağlamaktadır. İkinci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



Şekil 2.5 DPV' de puls tipi uyarma sinyali

### 2.5.3. Kare dalga voltametri (KDV)

Sık kullanılan diğer bir elektroanalitik yöntemde KDV' dir. Çalışma elektrotuna uygulanan potansiyel, büyük genişlikli bir diferansiyel teknik olmasını sağlayan simetrik kare dalgalar şeklindedir. Her bir kare dalga döngüsü boyunca, akım iki kez ölçülür. Birincisi, ileri yöndeki pulsun sonunda ( $t_1$ ) ikincisi ise geri yöndeki pulsun sonundadır ( $t_2$ ). Şekil 2.2' de görüldüğü ölçülen iki akım arasındaki fark, uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak grafiğe geçirilerek kare dalga voltamogramları elde edilir.



Şekil 2.6 KDV' de puls tipi uyarma sinyalinin dalga şekli

KDV yönteminin üstün özelliklerinden biri de hızlı olmasıdır. Kare dalganın frekansı ( $f$ ) ve basamak yüksekliği ( $\Delta E_s$ ) değiştirilerek etkin tarama hızı, belirlenir ve birkaç saniye içinde voltamogramlar kaydedilebilir. KDV'nin, ölçüm süresi yaklaşık iki -üç dakika olan DP voltamogramının tamamlanmasına ile karşılaştırıldığında, KDV'nin ölçüm süresini göstergesidir (Wang 2000).

KDV yönteminin ikinci büyük üstünlüğü de, kare dalga yoluyla toplam akıma kapasitif katkıların minimuma indirilmiş olmasıdır. Böylece, tarama hızı etkili bir şekilde artırılabilir,  $1 \text{ Vs}^{-1}$  'lik tarama hızına kolaylıkla ulaşılabilir. KDV'de net akım ( $\Delta I$ ) hem ileri hem de geri puls akımlarından daha büyüktür. Bu sebeple, elde edilen voltametrik pik oldukça kolay okunulabilir. Böylece KDV'nin doğruluğunu arttırılarak, DPV' den daha yüksek duyarlılıkta elde edilmesi sağlamaktadır (Monk 2001). Yaklaşık  $1,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$  a olan çok



düşük tayin sınırlarına inilmektedir. Tersinir ve tersinmez sistemler için KDV ve DPV yöntemleri kıyaslanırsa, kare dalga akımlarının diferansiyel puls akım cevaplarından, sırasıyla 4 ve 3,3 kat daha yüksek olduğu söylenebilir (Borman 1982).

## 2.6 Elektrokimyasal Mekanizmalar

### 2.6.1 Tersinir mekanizmalar

Tersinir bir çift için pik akımı (25°C), Randles-Sevcik eşitliğiyle verilir (Eşitlik 2.3).

$$i_p = (2,69 \times 10^5) n \frac{3}{2} ACD^{1/2} v^{1/2} \quad (2.3)$$

Burada  $n$ , aktarılan elektron sayısı;  $A$ , elektrodun alanı ( $\text{cm}^2$ ),  $C$ , derişim ( $\text{mol}/\text{cm}^3$ ),  $D$ , difüzyon katsayısı ( $\text{cm}^2/\text{s}$ ) ve  $v$ , tarama hızıdır ( $\text{V}/\text{s}$ ). Buna göre akım, derişimle doğru orantılıdır ve tarama hızının kareköküyle artar. Basit bir tersinir çift için, anodik pik akımı katodik pik akımına hemen hemen eşittir. Potansiyel eksenindeki piklerin konumu, redoks çiftlerinin formal potansiyeline bağlıdır. Tersinir bir sistem için formal potansiyel, aşağıdaki gibi verilir (Eşitlik 2.4).

$$E^0 = \frac{E_p^a + E_p^k}{2} \quad (2.4)$$

Tersinir bir sistemde, pik potansiyelleri arasındaki fark Eşitlik 2.5.'te verilmiştir.

$$\Delta E_p = E_p^a - E_p^k = \frac{0,059}{n} V \quad (2.5)$$

Pik potansiyelleri farkı, aktarılan elektron sayısının hesaplanmasında ve redoks çiftinin Nerst davranışı gösterip göstermediğinin belirlenmesinde kullanılır. Buna göre, 1 elektronlu tersinir bir pik için anodik ve katodik pik potansiyelleri arasındaki fark 59 mV'tur. Katodik ve anodik piklerin her ikisi de tarama hızından bağımsızdır.

Bir reaksiyonun tersinir olduğunun belirlenmesinde, DV deneylerinden yararlanılır ve aşağıdaki kriterlerin sağlanması elektrot reaksiyonunun tersinir olduğunu gösterir.

- $E_p^k - E_p^a = 59/n$  mV veya  $E_p - E_p/2 = 57/n$  mV'tur.
- $E_p$  tarama hızı ile değişmez.
- $i_{pa} / i_{pk} = 1$ 'dir ve bu oran tarama hızıyla değişmez.

- $i_p/v^{1/2}$ , tarama hızıyla değişmez.
- Dalga şekli tarama hızıyla değişmez.

## 2.6.2 Tersinmez ve yarı tersinir reaksiyonlar

Elektron transferinin yavaş olduğu tersinmez sistemler için, piklerin büyüklüğü tersinir sistemlere göre azdır (Wang 2000). Bu sistemlerde, pik potansiyeli tarama hızına bağlıdır (Eşitlik 2.6).

$$E_p = E^o - \frac{RT}{\alpha n_\alpha F} \left[ 0,78 - \ln \frac{k^o}{D^{1/2}} + \ln \left( \frac{\alpha n_\alpha F v}{RT} \right)^{1/2} \right] \quad (2.6)$$

Burada,  $\alpha$ , transfer katsayısıdır ve  $n$  yük-transfer basamağındaki elektron sayısıdır. Bu yüzden,  $E_p$ ,  $E^o$ 'dan daha yüksek potansiyelerde oluşur. Pik potansiyeli, yarı-pik potansiyelinden  $48/n$  mV kadar farklı olur. Pik akımı, Eşitlik 2.7'den görüldüğü gibi, çözeltinin derişimi ile orantılıdır fakat transfer katsayısına bağlı olarak pik yüksekliği daha düşüktür.

$$i_p = (2,99 \times 10^5) n (\alpha n_\alpha)^{1/2} A C D^{1/2} v^{1/2} \quad (2.7)$$

Standart hız sabitinin  $10^{-1} > k^0 > 10^{-5}$  cm/s olduğu yarı-tersinir sistemler için akım, hem yük transferi hem de kütle aktarımıyla kontrol edilir. Dönüşümlü voltamogramın şekli,  $k^0/D$ 'nin bir fonksiyonudur ( $= nFv/RT$ ).  $k^0/D$  arttıkça, sistem tersinirliğe yaklaşır.  $k^0/D$ 'nin yüksek tarama hızlarındaki küçük değerleri için sistem tersinmez davranış gösterir. Yarı-tersinir sistemlerde, pik potansiyelleri, tersinir sistemlerle karşılaştırıldığında, birbirinden oldukça ayırır.

Bir reaksiyonun yarı-tersinir olduğunun belirlenmesinde de DV çalışmalarından elde edilen verilerden yararlanılır. Yarı tersinir bir reaksiyonun özellikleri aşağıda verildi. (Greef ve ark. 1990, Bard ve Faulkner 2001).

- $i_p/v^{1/2}$  tarama hızına bağlı değildir.
- $i_p^a / i_p^k = 1$ 'dir. ( $= 0,5$  ise)

- $E_p^k$  tarama hızı ile değişir. Bu değişme genellikle tarama hızının artması ile negatif değerlere kayma yönündedir.
- $E_p^k - E_p^a$  farkı düşük tarama hızlarında  $59/n$ 'e yaklaşır. Yüksek tarama hızlarında bu değerden daha büyüktür ve tarama hızı ile artar.
- Tarama hızı arttıkça pik genişlemesi olur (Kaçar 2010).

## 2.7 Kaynak Araştırması

Dong vd. (2015 ) çalışmalarında Ag nanoprizma ürik asidin morfolojik geçişi kullanılarak basit ve etkili bir kolorimetri yöntemi tasarlamışlardır. Ürikaz varlığında ürik asidin  $H_2O_2$  üretilmesiyle oksitlemiştir. Ag nanoprizma yüzeyi  $H_2O_2$  ile aşındırılarak rezonans spektral bandı ile 120 nm mavi dalga boyundan kaydığı gözlemlendi. Ürik asit konsantrasyonunun değiştirilmesiyle soluk mavi - mor arasında renk değişimi çıplak gözle görülmektedir.  $1 \times 10^{-6}$  -  $4 \times 10^{-5}$  molL<sup>-1</sup> ürik asit derişim aralığında ve Ag nanoprizma piklerinin mavi renk dalga boyundan kayması arasında doğrusal ilişkisi olduğu tespit edilmiştir. Ürik asidin alt tayin sınırı  $7 \times 10^{-7}$  molL<sup>-1</sup> olduğu belirlenmiştir. İnterferanslar ( AA, DA , glukoz, hipoksantin ve diğer amino asitler ) insan serumu örneklerinde yapılan çalışmalarda girişim etkileri gözlenmemiştir. Ag nanoprizma - ürikaz algılama sistemine serum numuneleri doğrudan eklenebilir ve 1 saat içerisinde tayin edilebilir. Önerilen çalışma sisteminde serum numunelerinde % 95 geri kazanım ile uygulama başarılı sonuçlar vermiştir.

Erden vd. (2015 ) bu çalışmada, ürik asit biyosensörü camsı karbon elektrotu polimer poli ( vinilferrosen ) (PVF) , karboksilat çok duvarlı karbon nanotüp ( C-MWCNT )ve jelatin (GEL ) içeren ferrosene göre modifiye edilmiştir. Ürikaz enzimi (UOx) C-MWCNT / GEL / PVF / GCE üzerinde N-etil-N-(3-dimetilaminopropil ) karbodimid (EDC ) ve N-hidroksil süksinamid (NHS) kimyasal olarak kovalent bağlanarak sabitlenmiştir.. C - MWCNT / GEL / PVF kompoziti elektron mikroskopisi , dönüşümlü voltametri ve elektrokimyasal impedans spektroskopisi ile karakterize edilmiştir. Çeşitli deneysel parametreler pH, potansiyel, enzim yüklemesi, PVF ve C - MWCNT konsantrasyonları detaylı olarak incelenmiştir. Optimum koşullar altında ürik asidin doğrusal dinamik aralığı  $2 \times 10^{-7}$  -  $7,1 \times 10^{-4}$  molL<sup>-1</sup> (  $R^2 = 0,9993$  ) , tanınma limiti  $2,3 \times 10^{-8}$  molL<sup>-1</sup> olarak tespit edilmiştir. Hassas ve iyi seçicilik özelliği olan biyosensör ile insan serum numunelerinde ürik asit tayini başarılı şekilde gerçekleştirilmiştir. Biyosensör sonuçları standart metotlar ile elde edilen sonuçlarla uyumlu olduğu saptanmıştır.

Bu nedenle sunulan sensörün gerçek örneklerin pratik uygulamaları için umut verici olduğu söylenmiştir.

Jiang vd. (2007) iyonik sıvıda (1-etil-3-metylimidazol-etilsülfat) sentezlenmiş poli(anilin) ile modifiye ürik asit biyosensörü hazırlamışlardır. Negatif yüklü ürikaz enzimi yükseltgenmiş formdaki poli(anilin) filme dop edilmiştir. Poli(anilin)-ürikaz biyosensörü FT-IR ve UV-Vis ölçümleri kullanılarak karakterize edilmiştir. Cevap akımı +0,20–0,50 V aralığında artan potansiyelle artmış ve cevap zamanı kısalmış, optimum çalışma potansiyeli olarak +0,40 V seçilmiştir. Bu potansiyelde cevap zamanı 5 saniye olarak rapor edilmiştir. pH 2–12 aralığında cevap akımı artan pH ile arttığından optimum pH bulunamamıştır. Elektrot cevabı  $1,0 \times 10^{-3}$ -1,0 mmol dm<sup>-3</sup> aralığında doğrusaldır. Sıcaklığın cevap akımı üzerine etkisi incelendiğinde 275,15–312,15 K aralığında cevap akımının sıcaklıkla arttığı belirtilmiştir. 260 günlük bekletilme süresi sonunda biyosensör başlangıç aktivitesinin %50'sinden fazlasını korumuştur.

Kejida vd. (2015) Ürik asit tayini için nikel hekzasiyano ferrat ile modifiye edilmiş edilmiş KPE kullanılmıştır. Nikel hekzasiyano ferrat modifiye KPE ile ürik asidin elektrokimyasal davranışı fosfat tamponu pH 9 kullanılarak DV ve DPV yöntemleriyle incelenmiştir. Modifiye KPE ile anodik pik akımında artış gözlemlendi. Sensör /analit ara yüzeyinde tersinir olmayan 2 e<sup>-</sup> transferinin olduğu tespit edilmiştir. Her iki yöntem için optimum parametreleri , % 20 nikel hekzasiyano, % 55 grafit tozu ve % 25 parafin yağı ile oluşturulan elektrot karışımıyla gerçekleştirilmiştir. Önerilen yöntemin ürik asit için doğrusal çalışma aralığı 2- 12 µmolL<sup>-1</sup>, tanınma limiti  $1,87 \times 10^{-7}$  molL<sup>-1</sup> ve kolerasyon katsayısı R<sup>2</sup> = 0,9977'dir. İdrar örneklerinde standart ekleme metodu ile elde edilen sonuçlar %95,87 - %98,5 arasında geri kazanım sonuçları elde edilmiştir. Modifiye KPE ile idrar örneklerinde ürik asit tayini gerçekleştirilebilir sonucuna varılmıştır.

Perello vd. ( 2005 ) çalışmalarında yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ve kütle spektroskopisi ile çeşitli biyolojik matrikslerde basit ve doğrudan ürik asit tayin yöntemi geliştirilmişlerdir. Kromatografik ayırma 1 mL / dakika akış hızında mobil faz % 50 asetonitril ve % 50 sodyum sitrat ,1 mM pH 6,5 ile sabit faz olarak Zorbax Sax kolunu (150mm×4.6mm i.d.) bir anyon değiştirici reçine 5 µM partikül boyutu (supplied by Agilent Technologies, Madrid, Spain) birlikte 12.5mm×4.6mm i.d. guard kolunu (supplied by Agilent Technologies, Madrid, Spain)kullanılarak yapıldı . Dedektör urat anyonuna karşılık

gelen m/z 167,1 izleyerek seçilen iyon monitörü (SIM) ile negatif iyonlar sayıldı. Günler içi %1,1 - %1,5, günler arası ölçümlerde ise %1,3 - %2,8 (n = 3) arasında değişmektedir. Standart katma yöntemiyle yapılan geri kazanım çalışmaları idrar örneklerinde %95,4 - %107,2, tükürük örneklerinde ise %96,4 - %109,2 arasında olarak başarıyla gerçekleştirilmiş ve kantitatif tayin limiti 70 µg L<sup>-1</sup> bulunmuştur.

Temerk vd. ( 2016 ) CeO<sub>2</sub> nano partikülleri ile modifiye edilmiş GCE ile ürik asidin elektrokimyasal davranışı incelenmiştir. CeO<sub>2</sub> nano partikülleri X - ışını kırınımı, enerji dispersif X-ışını spektrometri (EDS) ve transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ile karakterize edilmiştir. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve DV yöntemleri kullanılarak modifiye elektrot yüzeyinin analizi için kullanılmıştır. CeO<sub>2</sub> nano partikülleri ile modifiye edilmiş GCE, CeO<sub>2</sub> nano partikülleri karşılaştırıldığında, modifiye elektrotun daha etkili yüzey alanı, mükemmel elektrokatalitik aktivitesi sergilediği belirlenmiştir. Hazırlanan In-CeO<sub>2</sub> /GCE ürik asidin doğrusal konsantrasyon aralığı 7,90×10<sup>-8</sup> - 1,48×10<sup>-5</sup> molL<sup>-1</sup> ve alt tayin sınırı 7,40×10<sup>-9</sup> molL<sup>-1</sup> olduğu saptanmıştır. Fizyolojik interferans ( adenin, guanin, ksantin ) karşı anti - interferans özelliği gösterildiği tespit edilmiştir. İdrar örneklerinde %98,53 - %102,31 arasında geri kazanım sonuçları elde edilmiştir. İdrar örneklerinde ürik asit tayini başarıyla gerçekleştirilmiştir.

Wang vd. (2007) tarafından poli(maleimidostiren) ve poli(stiren) modifiye altın elektroda ürikaz immobilize edilerek amperometrik bir ürik asit biyosensörü hazırlanmıştır. Çalışmada çözeltiye ürik asidin eklenmesi durumunda oksijenin indirgenme akımının düşmesinden yararlanılmış, poli(stiren) membran oksijen geçirgen membran olarak, poli(maleimidostiren) ise enzimi poli(stiren) membranda dağıtıcı olarak rol oynamıştır. Elektrot 0,01 M pH 8,5 fosfat tamponunda 30 °C' da Ag / AgCl elektroda karşı -700 mV sabit potansiyelde ürik aside 1 dakikadan daha az bir cevap zamanı ile 5 - 1,05 µmolL<sup>-1</sup> aralığında doğrusal cevap göstermiştir. 35 µmolL<sup>-1</sup> sabit ürik asit derişiminde 10 ölçümün bağıl standart sapması %2,8 olarak bulunmuştur. Elektrot günlük depolama süreci sonunda başlangıç aktivitesinin %87'sini korumuştur. Çalışılan negatif potansiyelde askorbik asidin herhangi bir bozucu etkisi gözlenmemiştir.

Xi vd. ( 2015 ) yılında yaptıkları çalışmalarında UV algılama ve HPLC yöntemleri kullanılarak insan tırnak örneklerinde ürik asit miktarlarının tayinin için hızlı ve basit bir analitik yöntem geliştirmişlerdir. 20 dakika boyunca 90 ° C 'de insan tırnakları metanol 2:98

(v/v) 74 mmolL<sup>-1</sup> fosfat tamponu pH 2.2 Inerstil ODS - 2 kolunu ( 250 x 4,6 mm I.D, 50 µmolL<sup>-1</sup> GL Sciences ) üzerinde ekstrakte edildi. UV dedektörü kullanılarak 284 nm dalga boyunda gözlenmiştir. Optimize edilmiş ölçüm koşullarında deney sonuçları 8 dakika içinde elde edilmiş ve iyi bir doğrusallık göstermiştir. 1,0 – 10000 ng ürik asit derişim aralığında kalibrasyon eğrisi ( R<sup>2</sup>>0,99 ), algılama sınırı ( S / N = 3 ) 2 pg olarak tespit edilmiştir. Ürik asit ilavesi yapılarak insan tırnağında % 101,95 geri kazanım elde edilmiştir.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Cihazlar ve Malzemeler

##### 3.1.1. Elektrokimyasal analiz cihazı

Ürik asit ve AA'nın elektrokimyasal davranışlarının incelendiği çalışmalar Dropsens  $\mu$  statt 400 (İspanya) marka elektrokimyasal çalışma sistemi kullanılarak yapıldı. Bu elektrokimyasal sisteme BAS C3 elektrot hücre standı (Şekil 3.1) bağlanarak tüm deneyler bu hücrelerde gerçekleştirildi. Uygulanan teknikleri otomatik olarak gerçekleştirmek ve bilgisayar kontrollü olan bu elektrokimyasal ölçme sisteminden elde edilen verileri değerlendirmek için ana üniteye bağlı bilgisayar sistemindeki Dropsens yazılımından yararlanıldı.

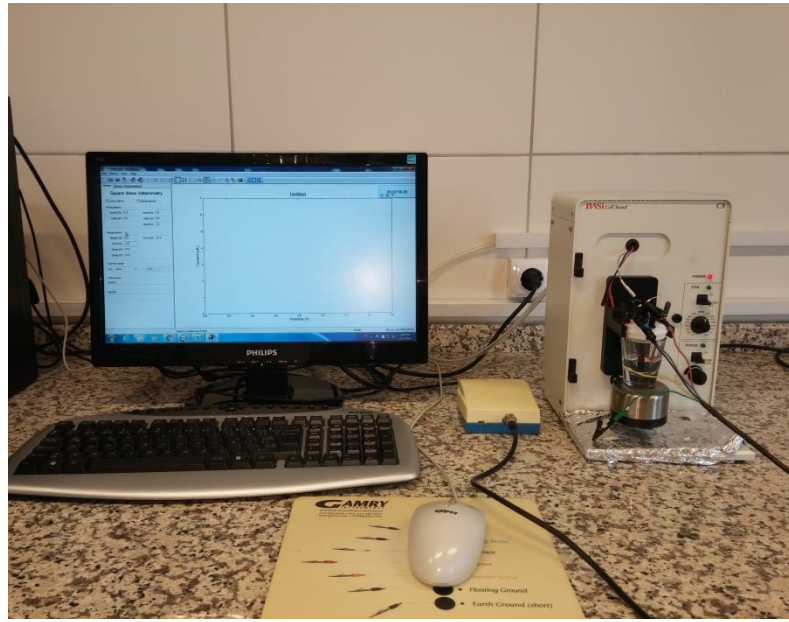


Şekil 3.1 BASi C3 hücre standı

Elektrokimyasal sistemde, deneye başlamadan önce hazırlanan çözeltilerden gaz geçirilmesi ve çözeltilerin karıştırılması otomatik olarak yapılabilmektedir. Uygun görülen deney parametreleri sisteme girilip onaylandıktan sonra deney tamamlandığında deney verileri, grafik olarak elde edilebilmekte ve grafikler, daha önce elde edilen grafiklerle üst üste çakıştırılarak karşılaştırılabilmektedir. Ayrıca, kullanılan yazılımlar, gerektiğinde deney verilerinin kopyalanarak başka bilgisayarlara aktarılıp Microsoft Excel, PowerPoint, Paint gibi programlardan yararlanma olanağı sağlamaktadır.

### 3.1.2. Kullanılan hücre ve elektrotlar

Voltametrik ölçüm deneylerinde Şekil 3.2 verilen üç elektrotlu sistem kullanıldı. Deneylerde, çalışma elektrodu olarak 15 mg iç hacimli karbon pasta elektrot, karşıt elektrot olarak Pt telden (BAS MW-1034) yararlanıldı. Sulu ortamda gerçekleştirilen elektrokimyasal çalışmalarda, Ag / AgCl referans elektrodu (BAS MF-2052 ) kullanıldı. Çalışmada kullanılan Ag / AgCl referans elektrotu kullanılmadığı zaman 3,0 M KCl çözeltisinde saklandı.



Şekil 3.2 Kullanılan üçlü elektrot sistemi ve dropsens marka elektrokimyasal ölçme cihazı

### 3.1.3. Kullanılan diğer cihaz ve malzemeler

Sulu ortam çalışmalarında ortamın pH'sını ölçmek için HANNA Instruments HI 2211 marka pH metre kullanıldı. pH 4,0 pH 7,0 ve pH 10,0 VWR marka tampon çözeltileri kullanılarak pH metre 25 °C de kalibre edildi.

Çözeltilerin hazırlanması ve karıştırılması için WİSD Laboratory Instrument MHS-20 D Wise Stir manyetik karıştırıcı kullanıldı.

Ortamdaki oksijeni uzaklaştırmak amacıyla HABAŞ marka yüksek saflıktaki (%99,99) azot gazı içeren tüp kullanıldı.

Sulu çözeltiler PURELAB Option Q DV 25 marka saf su cihazından alınan bi distile su ile hazırlandı. Tartımlar OHAUS Pioneer marka 0,1 mg duyarlılıkta tartım yapan hassas



terazi ile yapıldı. Sulu çözeltilerin ilavesinde ve ölçümlere hazırlanması için AXYGEN 0,5-10 µL, ISOLAB CAPP 100-1000 µL marka mikro pipetler kullanıldı.

### 3.1.4. Kullanılan kimyasal malzemeler

Kullanılan kimyasal maddeler temin edildikleri firma, saflık dereceleri belirtilerek, çizelge 3.1’de alfabetik sırayla verildi.

**Çizelge 3.1** Çalışmada kullanılan kimyasal maddelerin temin edildiği firma ve saflık dereceleri

| Kullanılan kimyasal maddeler                               | Temin edildiği firma | Saflık derecesi % |
|--|----------------------|-------------------|
| Asetik asit  | Sigma Aldrich        | 99,8              |
| Azot gazı  | Yüksel Ltd. Şti      | 99,9              |
| Borik asit   | Sigma Aldrich        | 99,5              |
| Fosforik asit  | Sigma Aldrich        | 85,0              |
| Hidroklorik asit   | Sigma Aldrich        | ≥37,0             |
| Lityum karbonat  | Sigma Aldrich        | 99,0              |
| Etanol   | Sigma Aldrich        | 99,9              |
| Ürik asit  | Sigma Aldrich        | 99,0              |
| Askorbik asit  | Sigma Aldrich        | 99,0              |
| Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> nanopartikül ( 4nm×2800nm ) | Sigma Aldrich        | 99,8              |
| Sodyum hidroksit   | Sigma Aldrich        | ≥98,0             |

### 3.2 Karbon Pasta Elektrotların Hazırlanması

Çalışmada çalışma elektrodu olarak sade karbon pasta elektrot (KPE) ve Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nano partikülleri ile modifiye edilmiş karbon pasta elektrot (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> – NP - KPE) kullanıldı. Sade KPE, 15,00 mg grafit tozu ve 10,00 µL parafin yağının homojen karışım elde edilinceye kadar ezilerek 15 mg iç hacimli karbon pasta elektrot gövdesine sıkı bir şekilde doldurulmasıyla oluşturuldu. Daha sonra düz bir kağıt üzerinde elektrot yüzeyi pürüzsüz hale getirilerek karbon pasta elektrotlar hazırlandı.

Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> – NP - KPE ise 3,00 mg Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nano partikülleri ve 12,00 mg grafit tozu üzerine 10,00 µL parafin yağı eklenerek yukarıda anlatıldığı şekilde hazırlandı ve karbon pasta elektrot gövdesine doldurularak yüzeyi pürüzsüz hale getirildi.

### 3.3 Çözeltilerin Hazırlanması

#### 3.3.1 Ürik asit ve askorbik asidin çözünürlüğünün belirlenmesi

Ürik asidin farklı çözücülerde (su, metanol, etanol, aseton) çözünürlüğü araştırıldı ve suda  $\text{Li}_2\text{CO}_3$  varlığında tamamen çözündüğü belirlendi.

Askorbik asidin farklı çözücülerde (su, metanol, etanol, aseton) çözünürlüğü araştırıldı ve suda tamamen çözündüğü belirlendi.

#### 3.3.2 Fosfat tamponunun hazırlanması

pH 5 0.05 M fosfat tampon çözeltisi hazırlanması için gerekli hesaplamalar yapıldı ve 26,7 mg  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ , 2,98 g  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  tartılarak 1 litrelik balon joje hacmine saf su ile tamamlanarak hazırlandı. Hazırlanan bu çözeltilerden alınan belli miktardaki kısımlar üzerine pellet NaOH ilave edilerek istenilen pH'a sahip çözeltiler hazırlandı.

#### 3.3.3 AA ve ürik asit çözeltilerinin hazırlanması

Çalışmada kullanılan ürik asit stok çözeltisi, toplam hacmi 10 mL, derişimi  $1,00 \times 10^{-2}$  mol  $\text{L}^{-1}$  olacak şekilde, hesaplanan miktarlarda ürik asit ve  $\text{Li}_2\text{CO}_3$  tartılarak saf su ile hazırlandı.

Çalışmada kullanılan AA stok çözeltisi; toplam hacmi 10 ml derişimi  $1,00 \times 10^{-2}$  mol  $\text{L}^{-1}$  olacak şekilde, hesaplanan miktarda AA tartılarak saf su ile hazırlandı.

Çalışmada kalibrasyon eğrisi için kullanılan çözeltiler stok çözeltilerin pH 5,0 fosfat tamponu ile seyreltilmesiyle hazırlandı.

#### 3.3.4 Girişim çalışmalarında kullanılan çözeltilerinin hazırlanması

İnsan kan serumunda bulunan bazı türlerin hazırlanan  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -NP-KPE yüzeyinde girişim etkisini incelemek için bu türlerin stok çözeltileri hazırlanıp elektrokimyasal hücreye ilave edildi. Bu çözeltiler aşağıda verildiği şekilde hazırlandı.

Ksantin, üre, glikoz, askorbik asit, glutamik asit ve oksalik asit katılarından belirli miktar tartılarak derişimleri  $1 \times 10^{-2}$  mol  $\text{L}^{-1}$  olacak şekilde 10 mL stok çözeltileri hazırlandı.

Girişim çalışmalarında verilen maddelerin fizyolojik derişimleri, stok çözeltilerinin hesaplanan derişimlerde ilaveler yapılarak içinde pH 5,0 PBS tamponu bulunan elektrokimyasal hücreye katılmasıyla elde edildi.

### **3.3.5 Serum numunelerinin analize hazırlanması**

Serum çözeltilerinin hazırlanmasında hastaneden sağlıklı insanlardan temin edilen ve ürik asit miktarı hastane tarafından beckman au 680 marka cihaz ile fotometrik yöntem ile belirlenmiş serum örnekleri alındı ve -18 °C saklandı. Serum proteinlerini çöktürmek için belirli miktar (1:1 ) metanol kullanıldı. Çöken proteinler 5000 devir / dakika hızla 5 dakika santrifüjlenerek serumdan ayrıldı. Proteini çöktürölüp ayrılan serum örneğinden 1 mL alındı ve içerisinde 9,0 mL tamponlanmış PBS (pH 5,0) çözeltisi bulunan hücreye eklenerek serum çözeltisi hazırlandı.

## **3.4. Deneylerin Yapılışı**

### **3.4.1. Dönüşümlü voltametri deneyleri**

Ürik asidin dönüşümlü voltametri (DV) deneyleri için Bölüm 3.1’de belirtilen elektrokimyasal hücre standı ve bölüm 3.2’de anlatıldığı gibi hazırlanan çalışma elektrodu, referans elektrot ve karşıt elektrot kullanılarak üçlü elektrot sistemi oluşturuldu. Çalışma elektrodu olarak sade KPE ve Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-NP-KPE modifiye elektrot, referans elektrot Ag / AgCl ve karşıt elektrot olarak platin tel kullanıldı. DV deneylerinde, destek elektrolit olarak seçilen pH 5,0’ a ayarlanmış fosfat tamponundan belirli miktarda hücreye konuldu. Çözeltiden 1 dakika azot gazı geçirilerek ortamdan oksijenin uzaklaşması sağlandıktan sonra farklı potansiyel aralıklarında dönüşümlü voltamogramları alındı ve sistemin potansiyel penceresi belirlendi.

Ürik asidin voltamogramlarına tarama hızının etkisini incelemek amacıyla, deney çözeltilerinin, farklı tarama hızlarında ve her tarama hızı çalışmasından önce çözeltiden belirli bir süre azot gazı geçirilerek voltamogramları alındı.

### **3.4.2. Kare dalga voltametrisi deneyleri**

AA ve ürik asidin KDV çalışmaları, Bölüm 3.3.3’de anlatıldığı gibi hazırlanan çözeltilerinde gerçekleştirildi. Daha önceden belirlenen potansiyel aralığında, kare dalga

voltametri yöntem parametreleri değiştirilerek voltamogramlar kaydedildi. Pik akımı ve pik şekli dikkate alınarak basamaklı adım yüksekliği 0,01 V, sinyal genliği 0,01 V ve sinyalin frekansı 10 Hz olarak yöntemin optimum parametreleri belirlendi. Pik akımının derişimle ilişkisini incelemek amacıyla, Bölüm 3.3.3' de belirtildiği gibi hazırlanan farklı derişimlerdeki ürik asit çözeltisi için elde edilen pik akımları derişime karşı grafiğe geçirilerek kalibrasyon eğrileri çizildi.

### **3.4.3. Kalibrasyon eğrilerinin hazırlanması**

KDV yöntemi ile çeşitli derişimler de AA ve ürik asit çözeltisinin belirlenen optimum koşullarda ayrı ayrı voltamogramları alındı. Ayrıca AA varlığında ürik asit tayini için kanda bulunan değer aralıklarında AA ve ürik asit karışımları hazırlanarak voltomogramlar kaydedildi ve pik potansiyelleri belirlendi. Ölçülen pik akımları, ürik asit derişimlerine karşı grafiğe geçirilip kalibrasyon grafikleri oluşturularak çizilen eğriden doğrusal çalışma aralığı, alt tayin sınırı ve gözlenebilme sınırları hesaplandı.

## **3.5. Validasyon Parametrelerinin Belirlenmesi**

### **3.5.1. Doğrusal çalışma aralığı**

Bölüm 3.4.3'te belirtildiği şekilde elde edilen kalibrasyon grafiklerinin regresyon katsayısının  $R^2=0,98..$  olduğu derişim aralığı doğrusal çalışma aralığı olarak belirlendi.

### **3.5.2. Doğruluk**

Serum numunelerinde eklenen madde miktarları ( $\mu$ ) ile voltametrik yöntemler kullanılarak bulunan ortalama miktarlardan ( $x$ ) yararlanarak % geri kazanım değerleri Eşitlik 3.1 kullanılarak hazırlandı.

$$\%GK = \frac{x}{\mu} \times 100 \quad (3.1)$$

### **3.5.3. Tekrarlanabilirlik**

Pik akımı ve pik potansiyeli tekrarlanabilirliklerinin belirlenmesi için aynı çözelti kullanılarak aynı gün içerisinde ve aynı şekilde hazırlanmış farklı çözeltiler kullanılarak farklı

günler içerisinde optimum şartlarda voltamogramlar kaydedildi, belirtilen parametreler için bağıl standart sapma değerleri en az üç ölçüm için hesaplandı.

#### 3.5.4. Duyarlılık

Bölüm 3.4.3' de belirtildiği şekilde hazırlanan kalibrasyon grafiklerinin eğimi (birim derişim başına sinyal) yöntemin duyarlılığı olarak değerlendirildi.

#### 3.5.5. Gözlenebilme sınırı (LOD)

Bölüm 3.4.3'te belirtildiği şekilde hazırlanan kalibrasyon grafikleri en küçük kareler yöntemiyle değerlendirildi ve Eşitlik 3.2 ve Eşitlik 3.3 kullanılarak gözlenebilme sınırı (LOD) ve alt tayin sınırı (LOQ) hesaplandı.

$$LOD = \frac{3s_b}{m} \quad (3.2)$$

$$LOQ = \frac{10s_b}{m} \quad (3.3)$$

Burada  $S_b$ , kalibrasyon doğrusunda başlangıç ordinatının standart sapması,  $m$  ise kalibrasyon doğrusunun eğimidir.

#### 3.5.6. Aktarılan elektron sayısı ( $n$ ) ile yük aktarım katsayısının ( $\beta$ ) çarpımının bulunması

Aktarılan elektron sayısı  $n$  ve yükseltgenme reaksiyonu için anodik yük aktarım katsayısı  $\beta$ 'nin çarpımı, dönüşümlü voltametri çalışmalarında pik potansiyeli ile yarı-pik potansiyeli arasındaki fark literatürlerde verilen (Aşangil ve ark. 2012, Taşdemir 2011) aşağıdaki eşitliğin kullanılması sonucu hesaplandı.

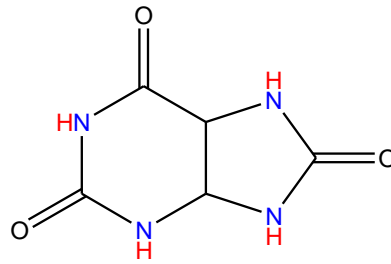
$$E_p = k + \frac{RT}{(n\beta)F} \ln v \quad (3.4)$$

Burada  $E_p$ , pik potansiyelini (mV),  $E_{p,h}$  yarı pik potansiyelini (mV),  $T$  mutlak sıcaklığı (K),  $R$ , ideal gaz sabitini (J/molK;  $n$ , aktarılan elektron sayısını (mol elektron / mol molekül);  $\beta$ , anodik yük aktarım katsayısını,  $F$  faraday sabitini (K / mol elektron) ifade etmektedir.

Ayrıca aktarılan elektron sayısı,  $n$  ve yükseltgenme reaksiyonu için anodik yük aktarım sayısı  $\beta$ 'nin çarpımı DV çalışmalarında pik potansiyelinin tarama hızının logaritması ile değişimi kullanılarak, KDV çalışmalarında ise, pik potansiyelinin frekansın logaritması ile değişimi kullanılarak hesaplandı.

#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Bu çalışmanın birinci bölümünde, Şekil 4.1’de verilen ürik asidin sade KPE ve Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> - NP - KPE yüzeylerinde fosfat tamponunda elektrokimyasal davranışları incelendi. Yapılan voltametrik deneysel çalışmalar ve teorik hesaplamalar sonucunda, ürik asidin adsorpsiyon özellikleri incelenerek yükseltgenme reaksiyonlarında aktarılan elektron sayısı hesaplandı ve ürik asidin molekül yapısında bulunan yükseltgenme tepkimeleri için elverişli fonksiyonel gruplardan yola çıkarak olası elektrot reaksiyon mekanizması önerildi.



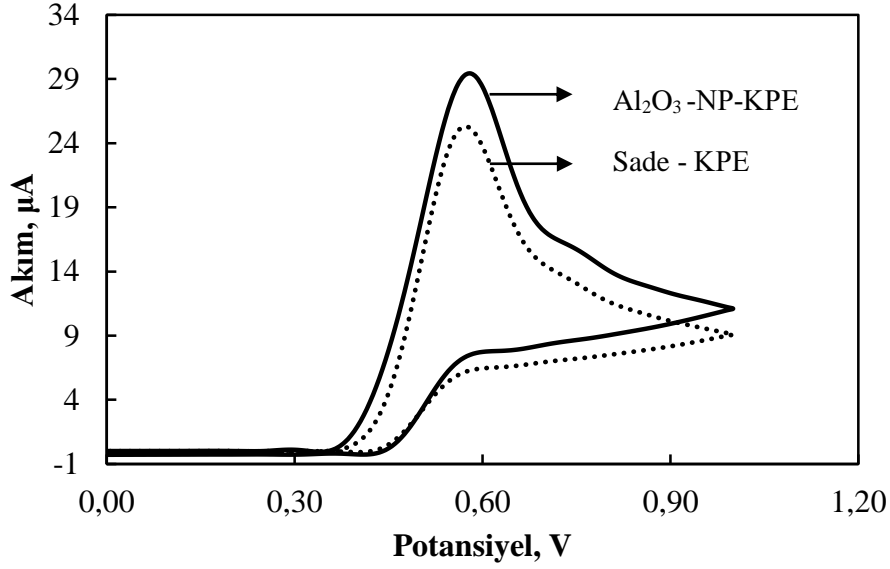
Şekil 4.1 Ürik asidin molekül yapısı

Çalışmanın ikinci bölümünde, AA varlığında ürik asit tayini için Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> - NP - KPE’lar hazırlanarak uygun elektrot bileşimi ve çalışma şartları belirlendi. Elde edilen araştırma bulguları ve yorumları aşağıda verildi.

#### 4.1 Ürik asidin Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi

##### 4.1.1 Dönüşümlü voltametri çalışmalar

Ürik asidin yükseltgenme davranışını incelenmeden önce çalışma ortamı için uygun potansiyel aralığı belirlendi. Bu amaçla, hem pH 5,0’de hazırlanan 0,05 M fosfat tamponunun, hem de 0,05 M fosfat tamponunda  $1,0 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> ürik asit çözeltisinin sade KPE ve Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> - NP - KPE yüzeyinde dönüşümlü voltamogramı alındı (Şekil 4.2 ). Şekil 4.2’ de görüldüğü gibi 0 - 1,0 V aralığında çözücü sisteme ait herhangi bir yükseltgenme - indirgenme pikine rastlanmadı. Bu nedenle, çalışmaya uygun potansiyel penceresinin 0 ile +1,0 V olarak seçilmesine karar verildi.



**Şekil 4.2.**  $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$  ürik asidin,  $0,05 \text{ M}$  fosfat tamponu ortamında,  $\text{Al}_2\text{O}_3$  - NP - KPE ve sade KPE’ de elde edilen dönüşümlü voltomogramları (  $v$ :  $0,1 \text{ V s}^{-1}$ ,  $\text{pH } 5$  )

Belirlenen potansiyel aralığında  $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$  ürik asidin sade KPE ve,  $\text{Al}_2\text{O}_3$  - NP - KPE yüzeylerinde sırasıyla  $+0,57 \text{ V}$  ve  $+0,58 \text{ V}$  potansiyel değerlerinde yükseltgenme pikine rastlandı (Şekil 4.2). Şekil 4.2 incelendiğinde  $\text{Al}_2\text{O}_3$  - NP - KPE’ da alınan dönüşümlü voltomogramlardan elde edilen pik akımlarının sade KPE’ da elde edilen pik akımlarından daha keskin ve yüksek olduğu gözlemlendi. Voltomogramda belirgin bir indirgenme pikinin gözlenmemesi, ürik asidin yükseltgenmesinin tersinir olmadığı düşündürdü.

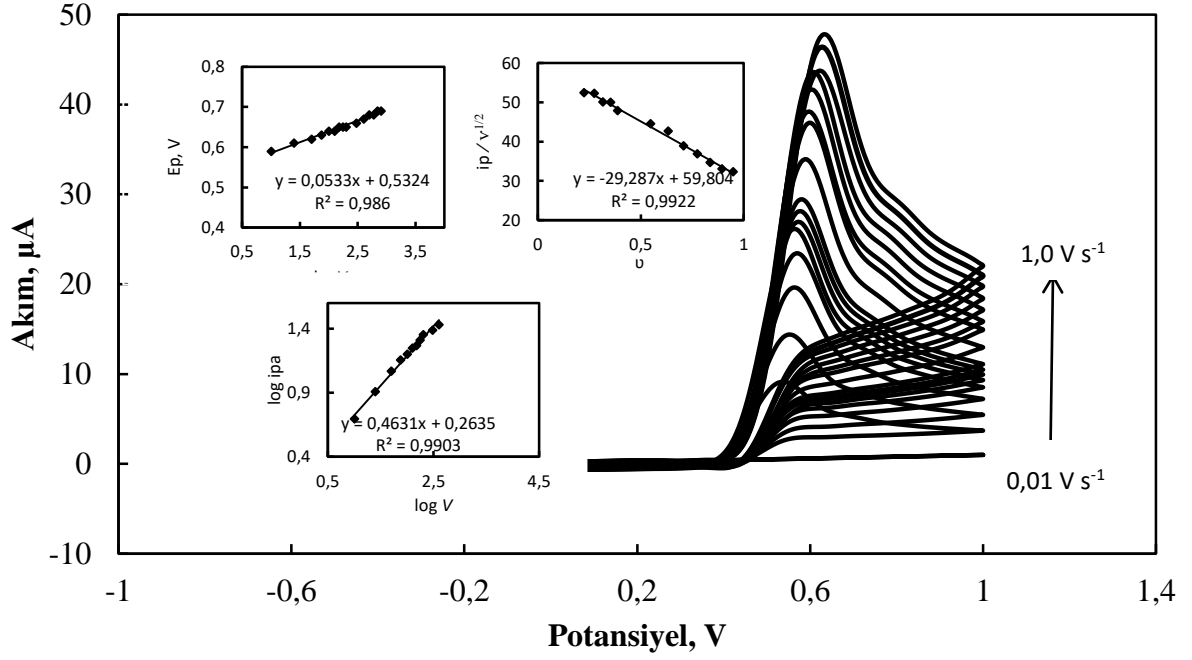
Bir molekülün elektrokimyasal davranışının belirlenmesinde DV yöntemi sık sık kullanılır. Bu amaçla, ürik asidin yükseltgenme reaksiyonunun tersinir, yarı tersinir veya tersinmez olduğunu belirlemek için ürik asidin  $+0,0 - 1,0 \text{ V}$  aralığında alınan dönüşümlü voltamogramlarından yararlanıldı. Yapılan geri taramada belirgin bir indirgenme piki gözlemlenmedi. Bu sonuç ürik asidin sade KPE ve  $\text{Al}_2\text{O}_3$  - NP - KPE yüzeylerindeki yükseltgenme reaksiyonunun tersinir olmadığını düşündürdü. Farklı tarama hızlarında alınan dönüşümlü voltomogramlardan yararlanarak bu düşüncemiz doğrulandı.(Şekil 4.3 ve Şekil 4.4).  $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$  ürik asit  $0,05 \text{ M}$  fosfat tamponunda, sade KPE ve  $\text{Al}_2\text{O}_3$  - NP - KPE’ da  $0,01 - 1,0 \text{ Vs}^{-1}$  arasında farklı tarama hızlarından alınan dönüşümlü voltamogramlarında, tarama hızı arttıkça pik akımlarının arttığı ve pik potansiyellerinin daha pozitif kaydığı görüldü. (Çizelge 4.1). Tarama hızını değişmesi ile pik akımlarının artması ve pik potansiyellerinin kayması elektrot reaksiyonunun tersinir olmadığını bir göstergesidir. (Brett 2000). Ayrıca, ürik aside ait yükseltgenme reaksiyonunun tersinir olup olmadığı, akım



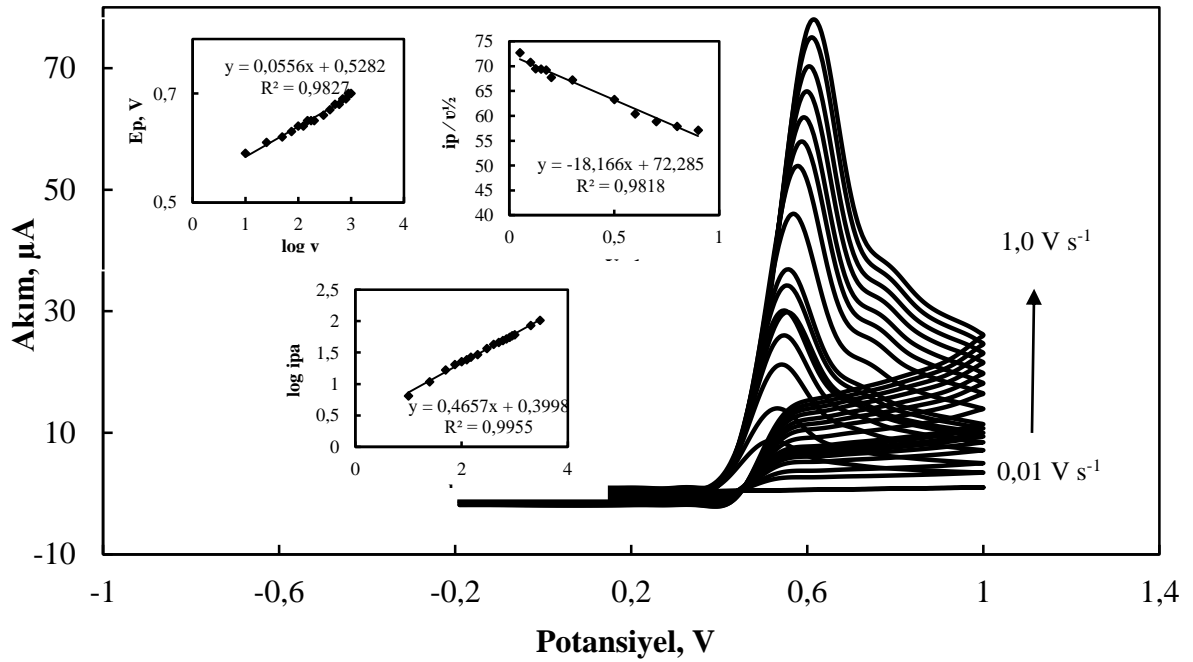
fonksiyonunun ( $i_p^a / \nu^{1/2}$ ) tarama hızı ile ( $\nu$ ) değişimi ile incelendi. Akım fonksiyonun, tarama hızına bağlı olması sistemin tersinir olmadığını bir diğer göstergesidir. (Şekil 4.3, 4.4) (Nicholson ve Shain 1964, Gref ve ark. 1990, Bard ve Faulkner 2001 ). Elde edilen sonuçlar, ürik asidin sade KPE ve Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> - NP - KPE yüzeyindeki yükseltgenme reaksiyonunun tersinir olmadığını gösterdi.

**Çizelge 4.1** Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> - NP - KPE'nin pH 5,0 fosfat ortamında  $1 \times 10^{-3}$  molL<sup>-1</sup> ürik asit ve  $1 \times 10^{-3}$  molL<sup>-1</sup> AA maddelerine ait dönüşümlü voltomogramlardan elde edilen pik potansiyellerinin ve pik akımlarının tarama hızına ile değişimi.

| Madde     | $\nu$ ( V s <sup>-1</sup> ) | $E_p^a$ ( V ) | $I_p$ ( $\mu$ A ) |
|-----------|-----------------------------|---------------|-------------------|
| Ürik asit | 0,01                        | 0,53          | 6,720             |
|           | 0,05                        | 0,56          | 16,142            |
|           | 0,1                         | 0,58          | 23,367            |
|           | 0,15                        | 0,59          | 26,689            |
|           | 0,30                        | 0,63          | 36,927            |
|           | 0,50                        | 0,65          | 45,421            |
|           | 0,70                        | 0,67          | 49,103            |
|           | 1,00                        | 0,69          | 55,747            |
| AA        | 0,01                        | 0,38          | 4,053             |
|           | 0,05                        | 0,42          | 9,392             |
|           | 0,1                         | 0,44          | 12,998            |
|           | 0,15                        | 0,46          | 15,425            |
|           | 0,30                        | 0,47          | 19,456            |
|           | 0,50                        | 0,54          | 22,067            |
|           | 0,70                        | 0,55          | 27,289            |
|           | 1,00                        | 0,57          | 30,138            |



**Şekil 4.3.**  $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$  ürik asidin sade KPE’de pH 5,0 fosfat tamponunda farklı tarama hızlarında alınan dönüşümlü voltomogramları ( Tarama hızının logaritmasının pik potansiyeline etkisini gösteren grafik,  $i_p^a / v^{1/2} - v$  grafiği ve  $\log i_p^a - \log v$  grafiği iç grafik olarak verildi).



**Şekil 4.4.**  $1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$  ürik asidin  $\text{Al}_2\text{O}_3 - \text{NP} - \text{KPE}$ ’ de pH 5,0 fosfat tamponunda farklı tarama hızlarında alınan dönüşümlü voltomogramları (Tarama hızının logaritmasının pik potansiyeline etkisini gösteren grafik,  $i_p^a / v^{1/2} - v$  grafiği ve  $\log i_p^a - \log v$  grafiği iç grafik olarak verildi

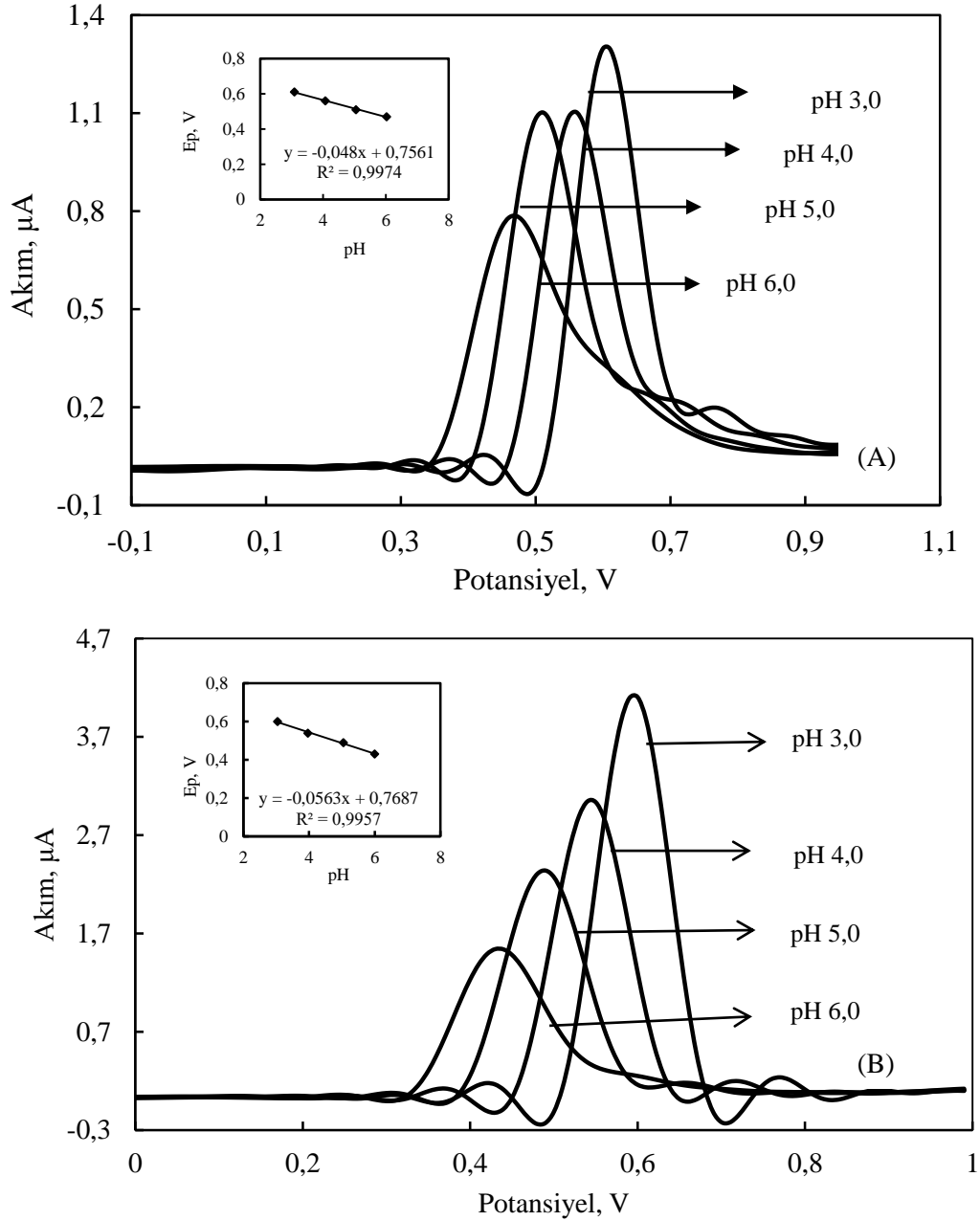
#### 4.1.2. Ürik asidin adsorpsiyon özellikleri

Büyük moleküllü organik maddelerin büyük bir bölümü elektrot yüzeyine adsorbe olur. Böyle moleküllerin elektrot yüzeyine adsorbe olması elektrot reaksiyonlarını önemli ölçüde etkiler. Farklı voltametrik yöntemler için geliştirilmiş olan difüzyon eşitlikleri ise, adsorpsiyon olayı söz konusu olduğunda geçerli olmaz. Bu nedenle, maddelerin, elektrot yüzeyinde adsorplanıp adsorplanmadığının belirlenmesi gerekir. Bu amaçla kullanılan en önemli elektrokimyasal yöntem, dönüşümlü voltametridir. İncelenen maddelerin elektrot yüzeyinde adsorplanıp adsorplanmadığını anlamının en kolay yolu, indirgenme veya yükseltgenme pikinden daha negatif veya pozitif potansiyellerde farklı bir pikin gözlenmesidir. Ürik asidin sade KPE ve Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> - NP - KPE yüzeylerinde alınan dönüşümlü voltamogramlarında bir ön pik veya arka pike rastlanmaması elektrot reaksiyonunda kuvvetli adsorpsiyon olayının olmadığını gösterdi. Ayrıca, ürik asidin, sade KPE ve Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> - NP - KPE yüzeylerinde adsorbe olup olmadığını belirlemede farklı tarama hızlarında alınan dönüşümlü voltametri deneylerinden yararlanıldı. Bu amaçla  $\log i_p^a - \log v$  grafikleri çizildi (Şekil 4.3 ve Şekil 4.4 iç grafik olarak verildi). Bilindiği gibi, difüzyon dikate alınarak türetilen ve dönüşümlü voltamogramdaki pik akımını veren Randless - Sevcik eşitliğinden,  $\log i_p^a - \log v$  arasında, eğimi 0,5 olan bir doğru elde edilir. Maddenin elektrot yüzeyinde adsorpsiyonu söz konusu ise, bu eşitlikten ve dolayısıyla 0,5'den sapmalar meydana gelir. Genellikle bu durumda grafiklerin eğimi 0,5'den büyük olur (Bard and Faulkner 2001b). Şekil 4.3 ve Şekil 4.4 iç grafik olarak verilen  $\log i_p^a - \log v$  grafiklerinin eğimlerinin 0,5'ten küçük olması ürik asidin her iki elektrot yüzeyine de adsorbe olmadığını gösterdi.

#### 4.1.3 Elektrot reaksiyonunda yer alan H<sup>+</sup> sayısının bulunması ve pH' nın pik potansiyeline etkisi

Çalışmaların yapıldığı ortamda bulunan H<sup>+</sup> iyonları derişiminin bir ölçüsü olan pH değeri, elektrokimyasal sinyalin konumu (E<sub>p</sub>) ve şiddetini (i<sub>p</sub>) değiştirebilen en önemli parametrelerden birisidir. Bu nedenle H<sup>+</sup> iyonlarının ürik asidin sade KPE ve Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> - NP - KPE yüzeylerinde elektrokimyasal reaksiyonuna olan etkisi incelendi (Kaçar 2000). Ürik asidin sade KPE ve Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> - NP - KPE yüzeylerinde pik akımı ve pik potansiyeline pH' nin etkisini incelemek amacı ile KDV yönteminden yararlanıldı. 0,05 M fosfat tamponu ve pellet NaOH kullanılarak farklı pH' lar da hazırlanan 1,0 × 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup> ürik asit çözeltilerinde KD voltomogramları alındı. 0,05 M fosfat tamponunda pH 3,0 - 8,0 aralığında sade KPE ve Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

- NP - KPE yüzeylerinde pik potansiyellerinin negatif değerlere kaydığı, pik akımlarının azaldığı ve pH 6,0'da piklerin genişleyerek bozulduğu gözlemlendi. Pik potansiyelinin ve pik akımının değişmesi, elektrot reaksiyonunda H<sup>+</sup> iyonunun ( protonun ) yer aldığını gösterdi. (Malik 1982, Kameswara Rao ve ark. 1988, İsmail 1991, El-Hallag ve ark. 2000).



**Şekil 4.5.** Sade KPE (A ) ve Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> - NP - KPE' ta ( B )  $1,0 \times 10^{-4}$  molL<sup>-1</sup> ürik asidin farklı pH' larda alınan kare dalga voltamogramları (pik potansiyellerinin pH ile değişimi iç grafik olarak verildi).

Pik potansiyellerinin pH ile değişim incelendiğinde, artan pH ile pik potansiyellerinin dzenli olarak katodik değerlere kaydığı gözlendi (Şekil 4.5). Pik potansiyelinin pH ile değişmesi elektrot reaksiyonunda protonun yer aldığını gösterdi. Pik potansiyelinin pH ile değişimi grafiğinin eğiminden yararlanarak ürik asidin sade KPE ve Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> - NP - KPE yüzeylerinde gerçekleşen yükseltgenme reaksiyonuna eşlik eden proton sayısı eşitlik 4.1'den hesaplandı (Wang et. al, 2006).

$$E_p = E^0 + \frac{RT}{nF} \ln \left[ \frac{[Q]}{[R]} \right] - \frac{\partial RT}{nF} \ln [H^+] \quad (4.1)$$

Bu eşitlikte '∂' ile ifade edilen terim mekanizmaya eşlik eden proton sayısı, *n* ise elektrokimyasal reaksiyonda aktarılan elektron sayısıdır. Eşitlikte verilen diğer bilinen büyüklüklerin değerleri ile birlikte pik potansiyelinin ortamın pH değeri ile değişimi grafiğinin (Şekil 4.5, iç grafik) eğimi kullanıldığında proton sayısının elektron sayısına oranı sade KPE' ta 0,813, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> - NP - KPE yüzeyinde 0,954 olarak bulundu. Elde edilen bu sonuçlara göre elektrokimyasal basamakta aktarılan her elektrona karşı eşit sayıda H<sup>+</sup> iyonunun mekanizmaya katıldığı anlaşıldı.

Ürik asidin elektrot tepkimesinde hız belirleyen basamakta aktarılan elektron sayısını belirlemek için eşitlik 3.4' den yararlanıldı. (Wang ve ark. 2006, Öztürk ve ark. 2010, Taşdemir ve ark. 2011).

Bu eşitlikte: *E<sub>p</sub>* : Pik potansiyeli, V, *R*:ideal gaz sabiti, J/(mol K), *T*:mutlak sıcaklık, K, *n*:hız belirleyen basamakta aktarılan elektron sayısı, mol elektron / mol molekül, *F*:Faraday sabiti, C / mol elektron, β:anodik yük aktarım katsayısı *v*: tarama hızı, Vs<sup>-1</sup>, *k*:sabit'i ifade etmektedir.

$$E_p = k + \frac{RT}{(n\beta)F} \ln v \quad (4.2)$$

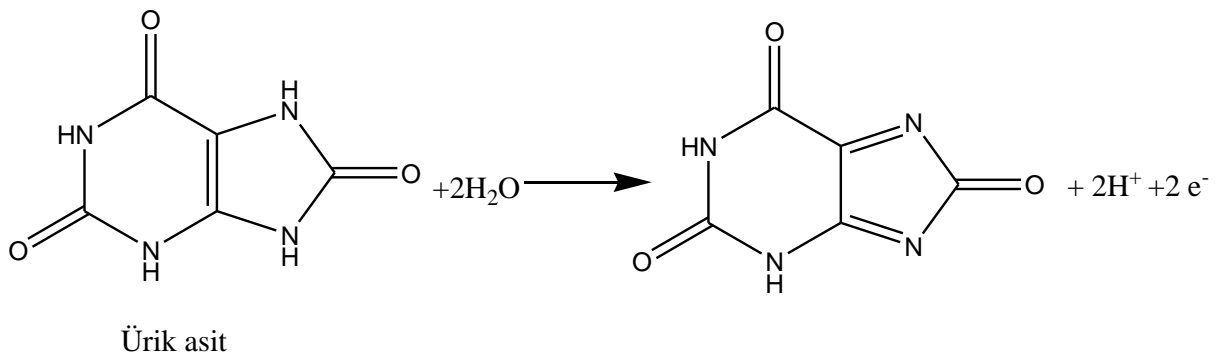
Sade KPE ve Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> - NP - KPE' ta yapılan tarama hızı çalışmalarında, tarama hızının pik potansiyeline etkisini değerlendirmek için tarama hızının logaritmasına karşı, pik potansiyeli grafiğe geçirildi ve pik potansiyelinin tarama hızının logaritması ile

$E_p = 0,055 \ln v + 0,528$   $R^2=0,98$  eşitliğini sağlayacak şekilde değiştiği görüldü (Şekil 4.3 ve Şekil 4.4 iç grafik). Bu grafiklere ait eğim değerleri Eşitlik 4.2' de yerine konulduğunda anodik yük aktarım katsayısı olan  $\beta$  ile elektrot tepkimesinin hız belirleyen basamağında aktarılan elektron sayısının ( $n$ ) çarpımı ( $n \times \beta$ ) değeri sırasıyla sade KPE için 1,15,  $Al_2O_3$  - NP - KPE için 1.05 olarak hesaplandı. Yük aktarım katsayısının 0 ile 1 arasında değer alabileceği (Brett ve Brett 1994) ve birçok çalışma elektrotu için bu parametrenin 0,50 olduğu düşünüldüğünde ürik asidin yükseltgenme mekanizmasındaki hız belirleyen basamakta sade KPE ve  $Al_2O_3$  - NP - KPE yüzeylerinde iki elektron aktarıldığı söylenebilir.

Literatürde incelendiğinde ürik asidin sulu ortam çalışmalarında 2 elektron 2 proton aktarımı ile yükseltgenmenin gerçekleştiği görüldü (Kejida ve ark. 2015, Zonghua ve ark. 2012, Majid ve Morassa 2014) Elde edilen sonuçların literatürle uyum içinde olduğu görüldü. Elde edilen veriler değerlendirildiğinde ürik asidin sade KPE ve  $Al_2O_3$ -NP-KPE yüzeyinde;

- Yükseltgenmesinin tersinmez olduğuna
- Yükseltgenme reaksiyonunda protonunda yer aldığına,
- Yükseltgenme reaksiyonunda hız belirleyici basamakta aktarılan elektron sayısının 2 olduğuna,
- Yükseltgenme tepkimesinin çözelti elektrot ara yüzeyinde difüzyon kontrollü olarak gerçekleştiğine karar verildi.

Buna göre gerçekleşen elektrokimyasal yükseltgenmede amin grubundaki proton yapıdan ayrılırken deprotonasyona uğrayan yapının elektron aktararak aktifleşmiş kompleks oluşturduğu sonra hızlı bir şekilde 2 proton 2 elektron aktarımı ile yükseltgenmenin tamamlandığı sonucuna varıldı. Olası yükseltgenme mekanizması Şekil 4.6' de verildi.

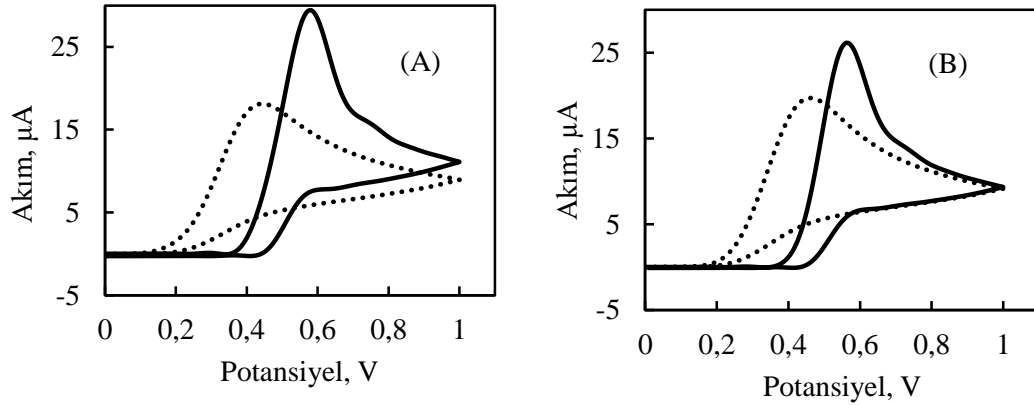


**Şekil 4.6.** Ürik asidin  $Al_2O_3$  - NP - KPE yükseltgenme mekanizması

## 4.2 AA Varlığında Ürik Asidin KDV Yöntemi ile Tayini için Yöntem Geliştirme

Bu tez çalışmasının ikinci bölümünde Bölüm 4.1' de sade KPE ve  $\text{Al}_2\text{O}_3$  - NP - KPE yüzeylerinde elektrokimyasal davranışı incelenen ürik asidin serumda en büyük girişimcisi olan AA varlığında 0,05 M pH 5,0 fosfat tamponunda tayini için  $\text{Al}_2\text{O}_3$  - NP - KPE yüzeyinde KDV yöntemi geliştirildi. Elde edilen bulgular aşağıda tartışıldı.

Bu amaçla, pH 5,0 fosfat tamponunda  $1,0 \times 10^{-3}$  mol  $\text{L}^{-1}$  AA ve  $1,0 \times 10^{-3}$  mol  $\text{L}^{-1}$  ürik asit çözeltilerinin sade KPE ve  $\text{Al}_2\text{O}_3$  - NP - KPE yüzeylerinde dönüşümlü voltamogramları kaydedildi (Şekil 4.7). Bu voltamogramlardan elde edilen akım ve potansiyel değerleri Çizelge 4.2' de verildi. Çizelge 4.2 incelendiğinde sade KPE' de  $1,0 \times 10^{-3}$  mol  $\text{L}^{-1}$  AA ve  $1,0 \times 10^{-3}$  mol  $\text{L}^{-1}$  ürik asit çözeltilerinin yükseltgenme potansiyelleri arasında 110 mV fark gözlemlenirken  $\text{Al}_2\text{O}_3$  - NP - KPE yüzeyinde söz konusu türlerin yükseltgenme potansiyel değerleri arasında 140 mV' luk fark bulunmuştur. Ayrıca ürik asit çözeltisine ait yükseltgenme pik şiddeti  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -NP-KPE yüzeyinde belirgin şekilde artarken, AA' e ait yükseltgenme pik şiddetinin her iki elektrot yüzeyinde de değişmediği görüldü. Bu bulgulara göre AA varlığında ürik asit tayini için  $\text{Al}_2\text{O}_3$  - NP - KPE yüzeyinin daha uygun olduğu sonucuna varıldı. Çalışmalara  $\text{Al}_2\text{O}_3$  - NP - KPE yüzeyinde devam edildi.



**Şekil 4.7**  $1,0 \times 10^{-3}$  mol  $\text{L}^{-1}$  ürik asit ve  $1,0 \times 10^{-3}$  mol  $\text{L}^{-1}$  AA çözeltilerinin 0,05 M fosfat tamponunda, (A)  $\text{Al}_2\text{O}_3$  - NP - KPE (B) sade KPE' de elde edilen dönüşümlü voltamogramları ( v: 0,1  $\text{V s}^{-1}$ , pH 5 )

**Çizelge 4.2** Ürik asit ve AA çözeltilerinin dönüşümlü voltomogramlarından elde edilen pik potansiyelleri ve pik akımı değerleri ( $C_{\text{ürük asit}}:1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ,  $C_{\text{AA}}:1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , tarama hızı:  $0,1 \text{ V s}^{-1}$ )

| Çalışma elektrodu                      | UA      |               | AA      |               |
|--|---------|---------------|---------|---------------|
|  | $E_p^a$ | $\dot{I}_p^a$ | $E_p^a$ | $\dot{I}_p^a$ |
| SADE KPE                               | 0,570   | 20,307        | 0,460   | 14,561        |
| Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> -NP-KPE | 0,580   | 23,367        | 0,440   | 12,997        |

#### 4.2.1 Cihaz parametrelerinin optimizasyonu

Voltametik ölçümler, önemli ölçüde cihaz parametrelerine bağlıdır. Bundan dolayı bu parametrelerin de optimize edilmesi gereklidir. Bu amaçla pik şekli ve pik akımları dikkate alınarak Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> - NP - KPE yüzeyinde ürik asit çözeltilerinin cihaz parametreleri optimize edildi. Ayrıca ürik asidin serumda hızlı, güvenilir, tekrarlanabilir ve yüksek doğrulukta tayin edilebilmesi için KDV ile yöntem geliştirilmesine çalışıldı. Belirlenen optimum cihaz ve yöntem parametreleri Çizelge 4.3’de verildi.

**Çizelge 4.3.** KDV yöntemi için optimum cihaz ve yöntem parametreleri

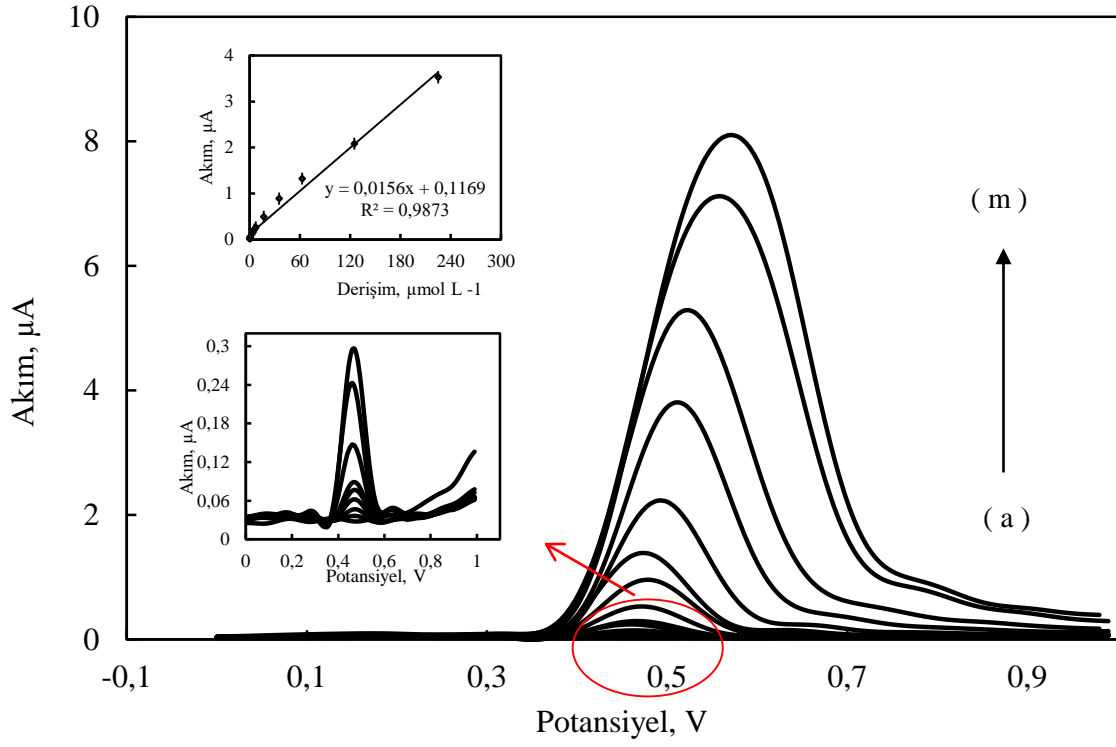
| Parametre  | KDV            |
|--|----------------|
| Başlangıç Potansiyeli, V                         | 0,0            |
| Bitiş Potansiyeli, V                             | 1,0            |
| Genlik Frekansı, m Vs <sup>-1</sup>              | 10,0           |
| Basamak Potansiyeli, V                           | 0,01           |
| Durulma süresi, s                                | 3              |
| Destek elektrolit                                | Fosfat tamponu |
| Destek elektrolitin derişimi, molL <sup>-1</sup> | 0,05           |
| pH   | 5,0            |



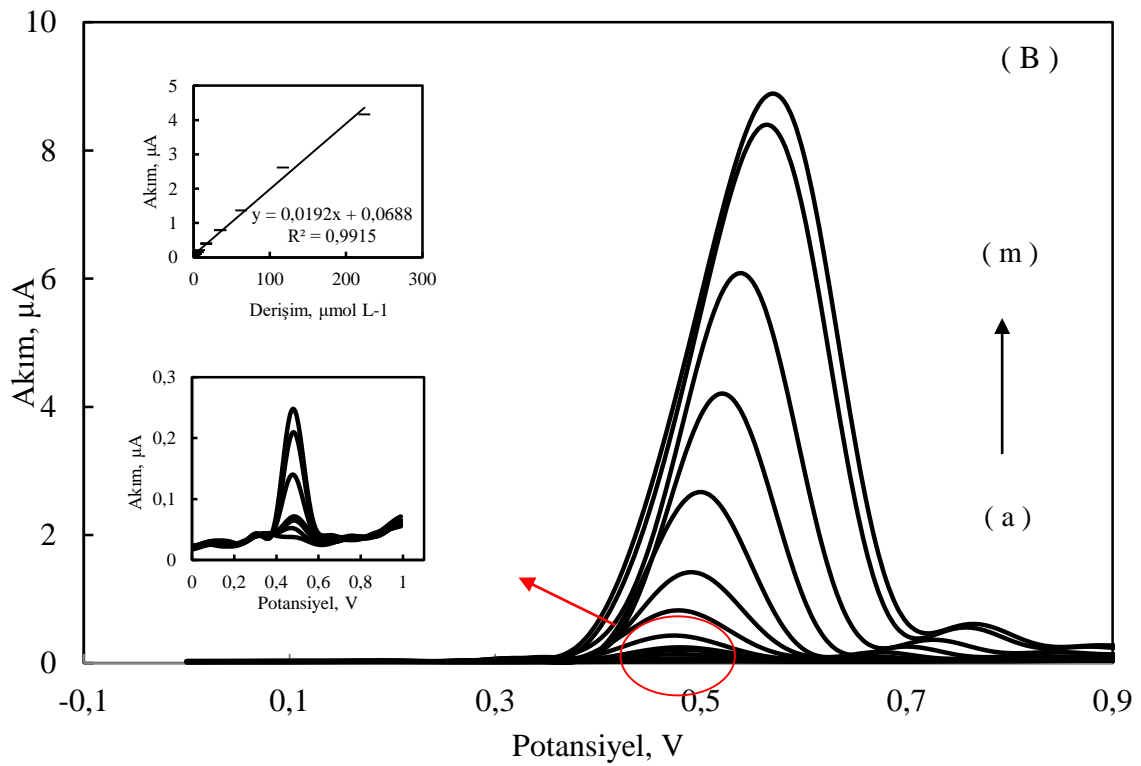
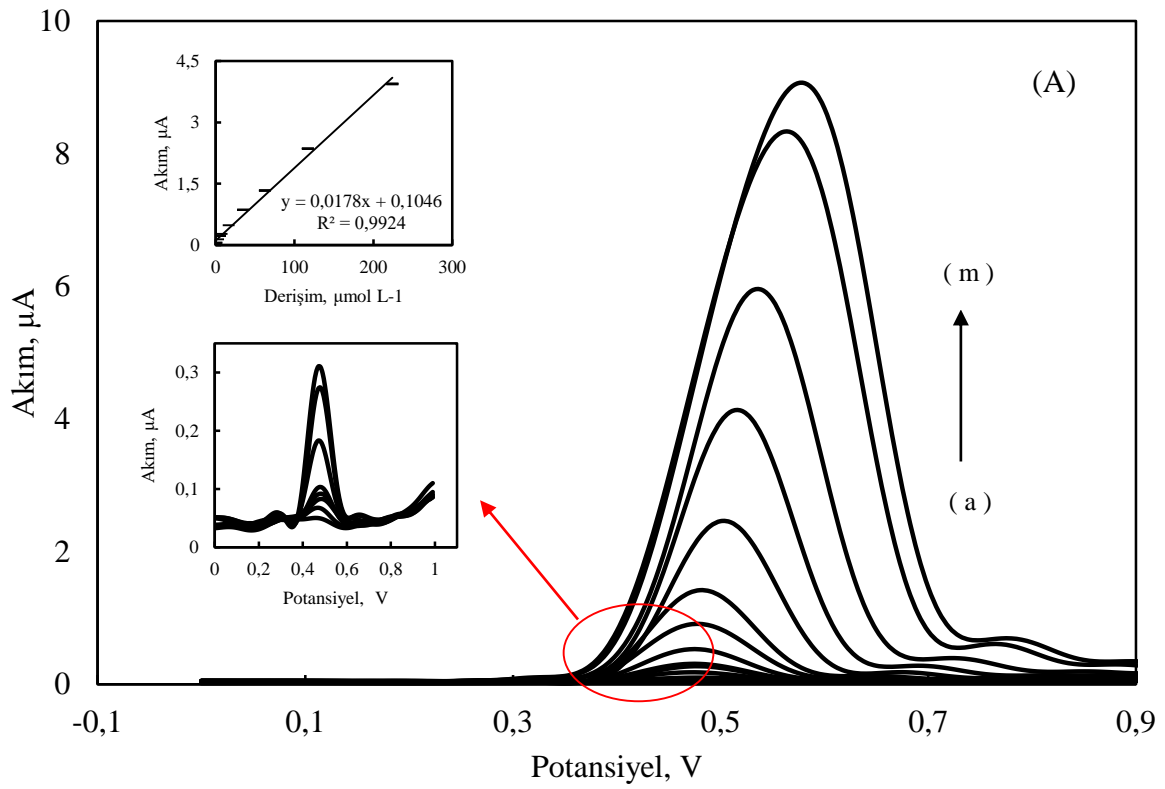
### 4.3 KDV Yönteminin Analitik Uygulamaları

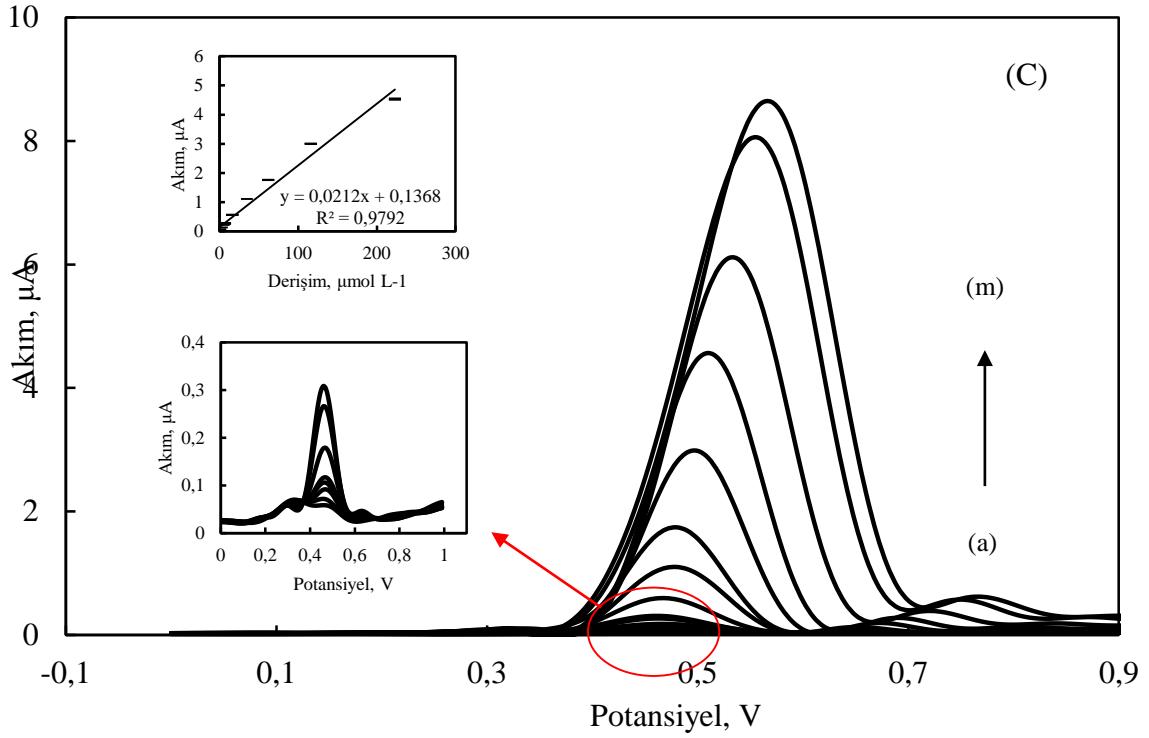
#### 4.3.1 Ürik Asit Derişim çalışmaları

Geliştirilen KDV yöntemi için Çizelge 4.3’de verilen optimum cihaz ve yöntem parametreleri kullanılarak derişim çalışmaları yapıldı. Yapılan derişim çalışmaları sonucunda doğrusal çalışma aralığı ve yönteme ait bazı kalibrasyon parametreleri hesaplandı. Derişim çalışmalarının birinci bölümünde, içerisinde pH’ sı 5,0’ e ayarlanmış, bilinen hacimde 0,05 M fosfat tamponu bulunan elektrokimyasal hücreye, Bölüm 3.3.3’de anlatılan stok çözeltiler kullanılarak ( $1 \times 10^{-7} \text{ molL}^{-1}$  ve  $2,25 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$ ) bilinen miktarlarda ilaveler yapıldı. Her bir ilaveden sonra hücredeki hacim değişimleri de dikkate alınarak ürik asit çözeltilerinin derişimleri hesaplandı ve KDV yöntemi ile alınan voltamogramlar her bir derişim için ayrı ayrı kaydedildi (Şekil 4.8). Derişime karşı elde edilen voltamogramlardan okunan pik akım değerleri grafiğe geçilerek kalibrasyon eğrisi elde edildi .(Şekil 4.8 iç grafik olarak verildi). Derişim çalışmalarının ikinci bölümünde ise, içerisinde pH’sı 5,0’ e ayarlanmış, bilinen hacimde 0,05 M fosfat ve bilinen derişimlerde AA çözeltileri içeren elektrokimyasal hücreye Bölüm 3.3.3’de anlatılan stok çözeltiler kullanılarak ( $1 \times 10^{-7} \text{ molL}^{-1}$  ve  $2,25 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$ ) bilinen miktarlarda ilaveler yapıldı. Elde edilen eğrilerin istatistiksel değerlendirilmesi yapıldı. Şekil 4.8 - Şekil 4.9 incelendiğinde AA varlığında ve AA yokken elde edilen kalibrasyon eğrilerinin eğimleri arasında belirgin bir farklılık olmadığı görüldü. Bu sonuç,  $\text{Al}_2\text{O}_3$  - NP - KPE yüzeyinde pH 5,0 fosfat tamponu kullanılarak geliştirilen KDV yöntemi ile AA varlığında yüksek doğrulukla ürik asit tayininin yapılabileceğini gösterdi.



**Şekil 4.8.** Ürik asidin farklı derişimlerdeki KDV voltamogramları (pH:5,0 Akım-derişim grafiği iç grafik olarak verildi. (a):  $9,99 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ , (b):  $2,99 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ , (c):  $5,96 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ , (d):  $7,94 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ , (e):  $9,99 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ , (f):  $2,91 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ , (g):  $5,71 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ , (h):  $7,41 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ , (i) :  $1,7 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ , (j):  $3,51 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ , (k):  $6,26 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ , (l):  $1,25 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ , (m):  $2,25 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$





**Şekil 4.9.** (A)  $3,5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  AA, (B)  $5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  AA, (C)  $8,5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  AA varlığında ürik asidin farklı derişimlerdeki KDV voltamogramları (pH: 5,0, Akım-derişim grafiği iç grafik olarak verildi. (a):  $9,99 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ , (b):  $2,99 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ , (c):  $5,96 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ , (d):  $7,94 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ , (e):  $9,99 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ , (f):  $2,91 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ , (g):  $5,71 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ , (h):  $7,41 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ , (i):  $1,7 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ , (j):  $3,51 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ , (k):  $6,26 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ , (l):  $1,25 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ , (m):  $2,25 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ,

#### 4.3.2. Girişim Çalışması

Bölüm 3.2' de anlatıldığı şekilde hazırlanan  $\text{Al}_2\text{O}_3$  - NP - KPE ve sade KPE kullanılarak,  $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ,  $4,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  ürik asit derişimlerinde elde edilen pik akımlarına biyolojik sıvılarda var olan ve girişim etkisi yapabileceği düşünölen türlerin etkisi incelendi.

Temel girişimci olduğu düşünölen AA' nın sade KPE ve  $\text{Al}_2\text{O}_3$  - NP - KPE' nin cevabına etkisini incelemek üzere ürik asit derişiminin  $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$   $4,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  olduğu çözeltilerinin, optimum şartlarda 0,0V - 1,0V potansiyel aralığında KD

voltamogramları kaydedilerek pik akım değerleri her elektrot için ayrı ayrı ölçüldü. Bu çözeltiye çeşitli derişimlerde, AA ilave edildi ve toplam pik akımı ölçüldü. AA ve ürik aside ait toplam pik akımından, sadece ürik aside ait pik akımı çıkarılıp toplam akıma oranlanarak girişim yapan türün girişim yüzdeleri belirlendi (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4' de görüldüğü gibi, kan serumu örneklerinde bulunabilecek düşük ve yüksek derişimde askorbik asit içeren çözeltilerde girişim etkisinin modifiye KPE' de sırasıyla %0,86 - %2,60 ve %0,20 - %2,99, sade KPE' de ise %6,77 - %11,85 ve %4,31 - %10,16 değiştigi belirlendi. Bu sonuçlar, çalışma elektrotu olarak sade KPE yerine Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> - NP - KPE kullanılmasının ürik asit tayininde AA' in girişim etkisinin önemli ölçüde azalttığını gösterdi.

AA dışında girişim yapacağı düşünölen türlerin Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-NP-KPE'nin cevabına etkisini incelemek üzere ürik asit derişiminin  $2,5 \times 10^{-5}$  molL<sup>-1</sup> olduğu çözeltiye çeşitli derişimlerde glikoz, ksantin, üre, glutamik asit, oksalik asit türleri ilave edildi ve girişim etkileri yukarıda anlatıldığı şekilde incelendi. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.5' de verildi.

Çizelge 4.5 incelendiğinde AA'da olduğu gibi, girişim etkisi incelenen diğer türler olan glukoz, ksantin, üre, glutamik asit, oksalik asidin literatürde (Goyal vd, 2005) verilen derişim değerleri kullanılarak ilaveler yapıldı. Bu deneyler sonucu söz konusu türlere ait girişim yüzdelerinin oldukça düşük olduğu görüldü.

**Çizelge 4.4** Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> - NP - KP ve sade KP elektrotun cevabına AA' in etkisi (0,05 M pH 5,0 fosfat tamponu)

| <b>Sade KPE</b>                               |  |   |                               |  |                           |
|---|--|---|-------------------------------|--|---------------------------|
| <b>Girişim yapan tür</b>                      | <b>Ürik Asit derişimleri, mol L<sup>-1</sup></b> | <b>Girişim yapan tür derişimi, mol L<sup>-1</sup></b> | <b>Toplam cevap akımı, µA</b> | <b>Girişim yapan türün cevap akımı, µA</b> | <b>Girişim yüzdesi, %</b> |
| <b>Askorbik Asit</b>                          | 2,5 × 10 <sup>-4</sup>                           | 3,5 × 10 <sup>-5</sup>                                | 3,375                         | 0,245                                      | 6,77                      |
|   |  | 5,0 × 10 <sup>-5</sup>                                | 3,268                         | 0,352                                      | 9,74                      |
|   |  | 7,0 × 10 <sup>-5</sup>                                | 3,223                         | 0,397                                      | 10,97                     |
|   |  | 8,0 × 10 <sup>-5</sup>                                | 3,191                         | 0,429                                      | 11,85                     |
|   | 4,0 × 10 <sup>-4</sup>                           | 3,5 × 10 <sup>-5</sup>                                | 4,233                         | 0,190                                      | 4,31                      |
|   |  | 5,0 × 10 <sup>-5</sup>                                | 4,147                         | 0,276                                      | 6,25                      |
|   |  | 7,0 × 10 <sup>-5</sup>                                | 4,041                         | 0,383                                      | 8,66                      |
|   |  | 8,0 × 10 <sup>-5</sup>                                | 3,974                         | 0,449                                      | 10,16                     |
| <b>Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> - NP - KPE</b> |  |   |                               |  |                           |
| <b>Askorbik Asit</b>                          | 2,5 × 10 <sup>-4</sup>                           | 3,5 × 10 <sup>-5</sup>                                | 6,503                         | -0,09                                      | 0,86                      |
|   |  | 5,0 × 10 <sup>-5</sup>                                | 6,465                         | -0,04                                      | 0,88                      |
|   |  | 7,0 × 10 <sup>-5</sup>                                | 6,393                         | 0,04                                       | 1,65                      |
|   |  | 8,0 × 10 <sup>-5</sup>                                | 6,270                         | 0,14                                       | 2,60                      |
|   | 4,0 × 10 <sup>-4</sup>                           | 3,5 × 10 <sup>-5</sup>                                | 6,503                         | -0,039                                     | 0,20                      |
|   |  | 5,0 × 10 <sup>-5</sup>                                | 6,465                         | -0,001                                     | 0,38                      |
|   |  | 7,0 × 10 <sup>-5</sup>                                | 6,393                         | 0,071                                      | 1,51                      |
|   |  | 8,0 × 10 <sup>-5</sup>                                | 6,270                         | 0,193                                      | 2,99                      |

**Çizelge 4.5** Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> - NP - KPE elektrotun cevabına girişim yapan türlerin etkisi (0,05 M, pH 5,0 fosfat tamponu)

| Girişim yapan tür    | Ürik Asit derişimleri mol L <sup>-1</sup> | Girişim yapan tür derişimi, mol L <sup>-1</sup> | Toplam cevap akımı, µA | Girişim yapan türün cevap akımı, µA | Girişim yüzdesi, % |
|----------------------|---|---|------------------------|-------------------------------------|--------------------|
| <b>Ksantin</b>       | 2,5 × 10 <sup>-5</sup>                    | 1,0 × 10 <sup>-5</sup>                          | 0,747                  | 0,016                               | 2,138              |
|                      |   | 2,5 × 10 <sup>-5</sup>                          | 0,601                  | 0,024                               | 3,786              |
|                      |   | 5,0 × 10 <sup>-5</sup>                          | 0,535                  | 0,023                               | 4,064              |
|                      |   | 1,0 × 10 <sup>-4</sup>                          | 0,536                  | 0,039                               | 6,886              |
|                      |   | 1,0 × 10 <sup>-48</sup>                         |                        |                                     |                    |
| <b>Üre</b>           | 2,5 × 10 <sup>-5</sup>                    | 1,0 × 10 <sup>-5</sup>                          | 1,227                  | 0,007                               | 0,621              |
|                      |   | 2,5 × 10 <sup>-5</sup>                          | 0,822                  | 0,025                               | 3,178              |
|                      |   | 5,0 × 10 <sup>-5</sup>                          | 1,346                  | 0,047                               | 3,396              |
|                      |   | 1,0 × 10 <sup>-4</sup>                          | 1,251                  | -0,044                              | 3,702              |
|                      |   | 1,0 × 10 <sup>-4</sup>                          |                        |                                     |                    |
| <b>Glikoz</b>        | 2,5 × 10 <sup>-5</sup>                    | 1,0 × 10 <sup>-5</sup>                          | 0,661                  | -0,021                              | 3,279              |
|                      |   | 2,5 × 10 <sup>-5</sup>                          | 0,975                  | -0,039                              | 4,205              |
|                      |   | 5,0 × 10 <sup>-5</sup>                          | 1,005                  | -0,043                              | 4,432              |
|                      |   | 1,0 × 10 <sup>-4</sup>                          | 0,979                  | -0,042                              | 4,481              |
|                      |   | 1,0 × 10 <sup>-4</sup>                          |                        |                                     |                    |
| <b>Glutamik asit</b> | 2,5 × 10 <sup>-5</sup>                    | 1,0 × 10 <sup>-5</sup>                          | 0,915                  | -0,001                              | 0,073              |
|                      |   | 2,5 × 10 <sup>-5</sup>                          | 0,891                  | -0,004                              | 0,451              |
|                      |   | 5,0 × 10 <sup>-5</sup>                          | 0,846                  | -0,019                              | 2,379              |
|                      |   | 1,0 × 10 <sup>-4</sup>                          | 0,973                  | -0,029                              | 3,073              |
|                      |   | 1,0 × 10 <sup>-4</sup>                          |                        |                                     |                    |
| <b>Oksalik asit</b>  | 2,5 × 10 <sup>-5</sup>                    | 1,0 × 10 <sup>-5</sup>                          | 0,916                  | -0,01                               | 1,103              |
|                      |   | 2,5 × 10 <sup>-5</sup>                          | 1,047                  | -0,020                              | 2,013              |
|                      |   | 5,0 × 10 <sup>-5</sup>                          | 0,972                  | -0,032                              | 3,364              |
|                      |   | 1,0 × 10 <sup>-4</sup>                          | 0,977                  | -0,033                              | 3,496              |
|                      |   | 1,0 × 10 <sup>-4</sup>                          |                        |                                     |                    |

### 4.3.3 Standart katma yöntemi kullanılarak serum örneklerinden ürik asit miktar tayini

Geliştirilen KDV yönteminin doğruluk ve kesinliğini kontrol etmek amacı ile Çizelge 4.1’de verilen optimum cihaz ve yöntem koşullarında ve Bölüm 4.3.1’de verilen kalibrasyon çalışmalarının analitik parametreleri kullanılarak serum örneklerinde standart katma yöntemi kullanılarak geri kazanım çalışmaları yapıldı. Stok çözeltileri, ürik asit stok çözeltisinden ( $1,0 \times 10^{-2} \text{ molL}^{-1}$ ) uygun miktarlarda alınıp çeşitli derişimlerde olacak şekilde 0,05 M pH 5,0 fosfat tamponu ile seyreltilerek hazırlandı. Doğrusallık aralığını saptamak için elektrokimyasal hücreye Bölüm 3.3.5’de anlatıldığı gibi hazırlanan serum çözeltisinden ekleme yapıldı. Bu işlemde sonra, optimum deney ve cihaz parametrelerinde, artan derişimlerde standart çözeltilerden eklenerek voltamogramlar kaydedildi. Derişime karşı pik akımı değerleri grafiğe geçilerek kalibrasyon eğrileri çizildi. Elde edilen sonuçlar hastaneden alınan becmann au 680 marka cihaz ile fotometrik yöntemle elde edilen ürik asidin geri kazanım sonuçları ve istatistik değerlendirmeleri ise Çizelge 4.6’ de verildi.

**Çizelge 4.6.**  $\text{Al}_2\text{O}_3$  - NP - KPE kullanılarak kan numunelerinde tayin edilen ürik asit derişimi

|   | Ürik asit derişimi mg / dL |            | $t_{\text{deneysel}}$ | $t_{\text{kritik}}$ |
|---|----------------------------|------------|-----------------------|---------------------|
|   | KDV yöntemi                | Fotometrik |                       |                     |
|   | Yöntem                     |            |                       |                     |
| 1 | 4,3±0,41                   | 4,2        | 0,27                  | 4,30                |
| 2 | 4,2±0,50                   | 4,1        | 0,32                  | 4,30                |

Çalışmada geliştirilen yöntem ve hastane tarafından kullanılan fotometrik yöntemin arasında bir fark olup olmadığının araştırılması için elde edilen sonuçlara t testi uygulandı. Eşitlik 4.3 kullanılarak  $t_d$  değerleri hesaplandı. Elde edilen  $t_d$  değerleri, % 95 güven seviyesinde 4,30 olan  $t_k$  değeri ile karşılaştırıldı ve yöntemler arasında anlamlı bir fark olmadığı görüldü. Hesaplanan değerler Çizelge 4.6’ de verildi.

$$t_{\text{deneysel}} = \frac{\bar{x} - \mu}{\frac{s}{\sqrt{N}}} \quad (4.3)$$

### 4.4 Geliştirilen Yöntemin Validasyon Parametrelerinin İncelenmesi



Analitik yöntem geliştirilmesinde, geliştirilen yöntemin performans karakteristiklerinin belirlenmesi önemlidir. Bu amaçla ürik asit miktar tayini için geliştirilen KDV yönteminin aşağıdaki parametreler değerlendirilerek validasyonu yapıldı.

#### **4.4.1 Doğrusal çalışma aralığı**

Farklı derişimlerde ürik asit için, pH 5,0 fosfat tamponunda KDV yöntemi ile elde edilen akımların derişime karşı grafiğe geçirilmesiyle elde edilen eğri incelendiğinde pik akımlarının  $1,00 \times 10^{-7}$  ile  $2,25 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> arasında doğrusal olarak değiştiği görüldü.

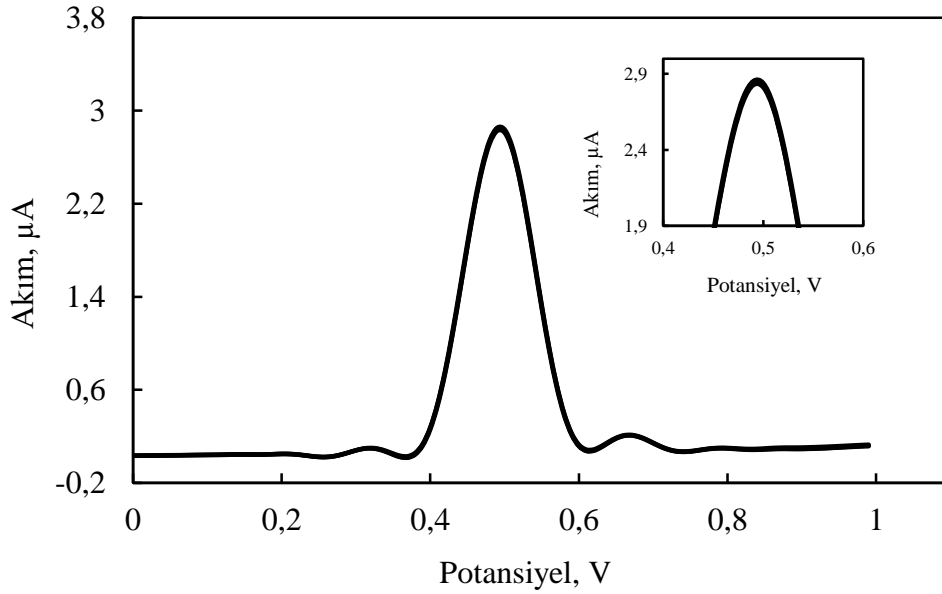
#### **4.4.2 Yöntemin doğruluğu**

Yapılan analitik uygulamalar ile geliştirilen yöntemin doğruluğu araştırıldı. İki farklı serum örneğinde bulunan ürik asit miktarı standart katma yöntemi ile belirlendi. Her iki serum örneği için de bulunan değerler hastane değerleri ile t testi kullanılarak karşılaştırıldı. İki yöntem arasında anlamlı bir fark olmadığı görüldü (Çizelge4.6). Sonuç olarak, geliştirilen yöntemin doğruluğunun yüksek olduğu ve girişim etkisinin olmadığı sonucuna varıldı.

#### **4.4.3 Tekrarlanabilirlik**

##### **4.4.3.1 Aynı çözeltide (gün içi) pik akımı ve pik potansiyeli için tekrarlanabilirlik**

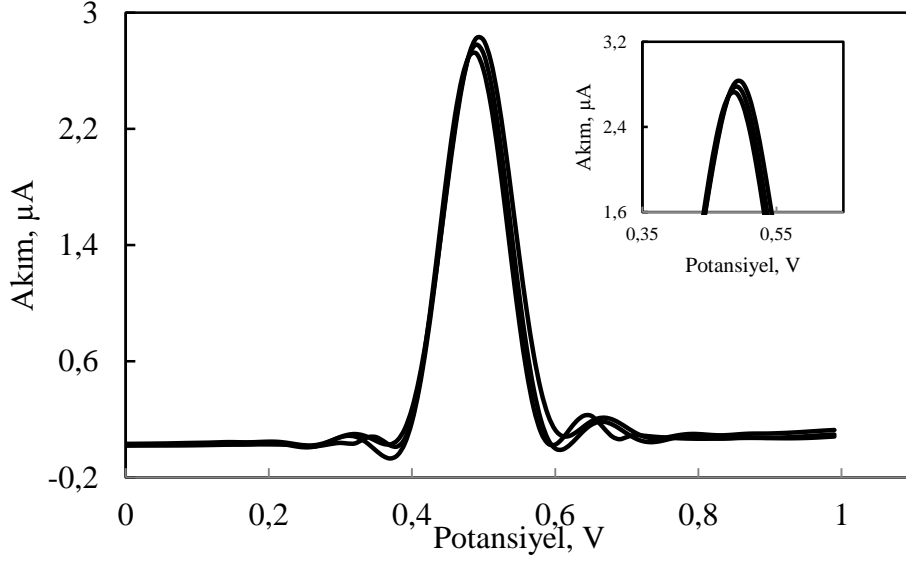
$1,00 \times 10^{-4}$  molL<sup>-1</sup> ürik asidin, pH 5,0'de optimum koşullarda voltamogramları alındı. Aynı gün, aynı çözeltide art arda üç defa alınan voltamogramlarından elde edilen pik akımlarının ve pik potansiyellerinin bağıl standart sapma (BSS) değerleri hesaplandı. Aynı gün aynı çözeltide art arda üç defa alınan voltamogramlardan elde edilen pik potansiyelleri ve pik akımları için BSS değerleri sırasıyla %0,00 ve % 0,56 olarak hesaplandı. Sonuç olarak, KDV yöntemi ile elde edilen piklerinin akım ve potansiyel değerlerindeki tekrarlanabilirliğin oldukça iyi olduğu belirlendi (Şekil 4.10).



**Şekil 4.10.** Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> - NP - KPE’ da KDV yöntemi ile aynı gün, aynı çözeltide art arda yapılan ölçümlere ait voltamogramlar (C<sub>ürük asit</sub>: 1,0×10<sup>-4</sup> molL<sup>-1</sup>, pH: 5,0).

#### 4.4.3.2 Farklı çözeltilerde (günler arası) pik akımı ve pik potansiyeli için tekrarlanabilirlik

1×10<sup>-4</sup> molL<sup>-1</sup> ürik asit farklı günlerde hazırlanan çözeltilerde optimum koşullarda KDV yöntemi ile voltamogramları alındı. Üç defa tekrarlanan her bir ölçümden elde edilen pik potansiyeli ve pik akımı değerleri kaydedildi. Farklı günlerdeki aynı derişimdeki farklı çözeltiler kullanılarak elde edilen pik akımlarının BSS değerleri pik akımı ve pik potansiyelleri için sırasıyla %0,292 ve % 0,23 olarak hesaplandı. Sonuç olarak, ürik aside ait pikin günler arası tekrarlanabilirliğin oldukça iyi olduğu belirlendi (Şekil 4.11).



**Şekil 4.11.** Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> - NP - KPE’ da KDV yöntemi ile farklı gün, farklı çözeltilerde yapılan ölçümlere ait voltamogramlar (C ürik asit:  $1,0 \times 10^{-4}$  molL<sup>-1</sup>, pH: 5,0).

#### 4.4.4 Yöntemin duyarlılığı

Ürik asit tayini için geliştirilen KDV yönteminin duyarlılığını belirlemek için AA varlığında ve AA yokken elde edilen ürik aside ait kalibrasyon grafiklerinin eğimleri karşılaştırıldı( Şekil 4.8 ve Şekil 4.9 iç grafik). Kalibrasyon eğrilerinin eğimlerinin birbirine çok yakın değerler bulunmasından dolayı AA varlığında ürik asit tayini için Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> - NP - KPE yüzeyinde gerçekleştirilen KDV yönteminin duyarlı bir yöntem olduğu belirlendi.

#### 4.4.5 Gözlenebilme sınırı

Geliştirilen KDV yöntemi için gözlenebilme sınırı  $3 \times \frac{s}{m}$  bağıntısı kullanılarak

hesaplandı. Bu eşitlikte  $s$  başlangıç ordinatının standart sapması,  $m$  ise ilgili kalibrasyon eşitliğinin eğimidir. Bu eşitliğe göre KDV yönteminin gözlenebilme sınırı  $1,1 \times 10^{-7}$  molL<sup>-1</sup> ( $1,85 \times 10^{-2}$  mg L<sup>-1</sup>) olarak hesaplandı.

#### 4.4.6 Alt tayin Sınırı

Benzer şekilde geliştirilen yöntem için alt tayin sınırı  $10 \times \frac{s}{m}$  bağıntısı kullanılarak

hesaplandı. Bu eşitliğe göre KDV için alt tayin sınırı  $3,1 \times 10^{-7}$  molL<sup>-1</sup> ( $5,2 \times 10^{-2}$  mg L<sup>-1</sup>) olarak hesaplandı.

#### 4.4.7 Sağlamlık

Geliştirilen yöntemin performans parametrelerinin, ortam şartlarındaki ve deneysel koşullardaki (oda sıcaklığı, tampon derişimi, pH v.b.) küçük değişikliklerden analiz performansını ciddi şekilde değiştirecek kadar etkilenmemekte olduğu tespit edildi.

**Çizelge 4.7.** Ürik asit tayini için geliştirilen yöntemin bazı validasyon parametreleri

| <b>Validasyon parametreleri</b>                   |  |
|---|--|
| Doğrusal çalışma aralığı, mol L <sup>-1</sup>     | 1,0×10 <sup>-7</sup> - 2,25×10 <sup>-4</sup> |
| Kalibrasyon grafiğinin eğimi A Lmol <sup>-1</sup> | 1,56×10 <sup>-2</sup>                        |
| Başlangıç ordinatı, A                             | 1,17×10 <sup>-7</sup>                        |
| Regresyon standart sapması, sr                    | 1,24×10 <sup>-7</sup>                        |
| Eğimin standart sapması, sm                       | 5,36×10 <sup>-4</sup>                        |
| Başlangıç ordinatının standart sapması            | 3,98×10 <sup>-8</sup>                        |
| Gözlenebilme sınırı, LOD                          | 1,10×10 <sup>-7</sup>                        |
| Alt tayin sınırı, LOQ                             | 3,10×10 <sup>-7</sup>                        |
| Regresyon katsayısı, R <sup>2</sup>               | 0,9878                                       |
| Gün içi akım tekrarlanabilirliği, %BSS            | 0,558  |
| Gün içi potansiyel tekrarlanabilirliği, %BSS      | 0,000  |
| Günler arası akım tekrarlanabilirliği, %BSS       | 0,293  |
| Günler arası potansiyel tekrarlanabilirliği, %BSS | 0,000  |

**Çizelge 4.8** Ürik asit tayininde kullanılan bazı elektrokimyasal yöntemlerinin karşılaştırılması

| <b>Kullanılan Yöntem</b>     | <b>pH</b> | <b>Doğrusal çalışma aralığı, mol L<sup>-1</sup></b> | <b>Gözlenebilme sınırı, mol L<sup>-1</sup></b> | <b>Geri kazanım serum, %</b> | <b>Kaynak</b>                |
|------------------------------|-----------|---|--|------------------------------|------------------------------|
| Kare Dalga Voltametri        | pH 5,0    | $7,9 \times 10^{-8} - 1,48 \times 10^{-5}$          | $7,4 \times 10^{-9}$                           | -                            | Y. temerk ve ark. 2016       |
| Diferansiyel Puls Voltametri | pH 7,0    | $4,0 \times 10^{-6} - 4,0 \times 10^{-4}$           | $1,0 \times 10^{-6}$                           | 98,2                         | H. Zhang ve ark. , 2015      |
| Diferansiyel Puls Voltametri | pH 7,0    | $1,0 \times 10^{-7} - 6,0 \times 10^{-5}$           | $3,0 \times 10^{-9}$                           | -                            | H. Yue ve ark. , 2015        |
| Kare Dalga Voltametri        | pH 7,0    | $1,0 \times 10^{-7} - 1,0 \times 10^{-5}$           | $5,0 \times 10^{-8}$                           | 98,3                         | Z.Zhang ve ark. , 2014       |
| Kare Dalga Voltametri        | pH 6,0    | $6,0 \times 10^{-7} - 1,0 \times 10^{-4}$           | $1,3 \times 10^{-7}$                           | 94,0 - 105,9                 | M. Arvand ve ark., 2014      |
| Amperometrik                 | pH7,4     | $2,0 \times 10^{-5} - 4,5 \times 10^{-3}$           | $7,0 \times 10^{-6}$                           | 98,3 - 99,6                  | Z. Sun ve ark , 2013         |
| Amperometrik                 | pH 8,5    | $3,0 \times 10^{-5} - 3,0 \times 10^{-4}$           | $1,0 \times 10^{-5}$                           | 100,0 - 105, 0               | S. Piermarini ve ark. , 2013 |
| Diferansiyel Puls Voltametri | pH 7,2    | $4,0 \times 10^{-8} - 1,0 \times 10^{-4}$           | $5,2 \times 10^{-10}$                          | 94,0 - 105,9                 | S.B: Revin ve ark. , 2012    |

|                              |        |   |                      |       |                            |
|------------------------------|--------|---|----------------------|-------|----------------------------|
| Diferansiyel Puls Voltametri | pH 6,5 | $1,0 \times 10^{-7} - 1,0 \times 10^{-3}$ | $2,0 \times 10^{-8}$ | -     | Z. Wang ve ark. , 2012     |
| Diferansiyel Puls Voltametri | pH 2   | $5,0 \times 10^8 - 1,0 \times 10^{-5}$    | $1,5 \times 10^9$    | -     | A. Özcan ve ark. , 2010    |
| Diferansiyel Puls Voltametri | pH 7,2 | $5,0 \times 10^{-7} - 1,1 \times 10^{-5}$ | $2,8 \times 10^{-7}$ | -     | X. Lin ve ark. , 2006      |
| Amperometrik                 | pH7,5  | $1,0 \times 10^{-7} - 5,0 \times 10^{-7}$ | $1,0 \times 10^{-7}$ | -     | E. Akyılmaz ve ark. , 2003 |
| Florometrik-Enzimatik        | pH 9,0 | $3,0 \times 10^{-5} - 6,0 \times 10^{-4}$ | -                    | 102,0 | J. Galban ve ark. , 2001   |
| KDV                          | pH 5,0 | $1,0 \times 10^{-7} - 2,2 \times 10^{-4}$ | $1,1 \times 10^{-7}$ | 102,4 | Bu çalışmada               |

## 5. SONUÇ

Bu tez çalışmasında ürik asidin sade KPE ve  $Al_2O_3$  - NP - KPE yüzeylerinde fosfat tamponunda elektrokimyasal davranışları incelenmiş, ürik asidin molekül yapısında bulunan fonksiyonel gruplardan yola çıkarak olası elektrot reaksiyon mekanizması önerilmiştir. Ayrıca askorbik asit varlığında kan serumu örneklerinde ürik asit tayini için voltametrik tayin yöntemi geliştirilmiş ve analitik uygulamaları yapılmıştır. Tez çalışmasında elde edilen sonuçlar aşağıda verilmiştir.

- Ürik asidin, sade KPE ve  $Al_2O_3$ -NP-KPE yüzeylerinde, fosfat tamponu pH 5,00'de  $2e^-/2H^+$  aktarımı sonucunda tersinmez olduğuna ve çözelti elektrot ara yüzeyinde difüzyon kontrollü olarak yükseltgendiği belirlenmiştir.
- Serumda en büyük girişimcisi olan AA varlığında ürik asidin pH 5,0 fosfat tamponunda tayini için  $Al_2O_3$  - NP - KPE yüzeyinde KDV yöntemi geliştirildi.
- Geliştirilen yöntemin doğruluğunu belirlemek için, serum örneklerinde geri kazanım çalışmaları yapıldı. Serum örneklerinde bulunabilecek diğer türlerin herhangi bir etkisinin olmadığı sonucuna varıldı.
- Gün içi ve günler arası tekrarlanabilirliğin BSS değerlerinin %5,0 değerinin altında olduğu bulundu. Geliştirilen yöntemin kesinliğinin oldukça iyi olduğu sonucuna varıldı.
- Geliştirilen yöntemle ile elde edilen sonuçların spektroskopik yöntem ile ürik asit tayini için elde edilen sonuçlarla %95,0 güven seviyesinde uyumlu olduğu görüldü.
- Geliştirilen yöntemin, doğrusal çalışma aralığı, gözlenebilme sınırı, geri kazanım değerleri gibi değerleri literatürlerde bulunan sonuçlarla uyumlu olduğu gözlemlendi.
- Geliştirilen yöntemin, ekonomik, hızlı, duyarlı olması, az miktarda numune ile çalışılması ve ayırma gibi zaman alıcı işlemlere gerek duyulmadan analiz yapılabilmesi gibi üstünlüklerinden dolayı literatürde verilen yöntemlere alternatif olabileceği sonucuna varıldı.

## KAYNAKLAR

- Akyüz E (2011). Ürik asit tayini için yeni bir biyosensör geliştirilmesi tez çalışması. 84:17-18
- B.F. Culleton, M.G. Larson, W.B. Kannel, D. Levy (1999). Serum uric acid and risk for cardiovascular disease and death: the Framingham Heart Study, *Ann. Intern. Med.*, 131: 7-13.
- B.F. Culleton, M.G. Larson, W.B. Kannel, D. Levy (1999). Serum uric acid and risk for cardiovascular disease and death: the Framingham Heart Study, *Ann. Intern. Med.* 131: 7-13.
- Bard, A.J. and Faulkner, L.R. (2001). *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*. John Wiley and Sons. Inc. New York.
- Bard, A.J. and Faulkner, L.R. (2001). *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*. John Wiley and Sons. Inc. New York.
- Bhargava, A. K., Lal, .H. and Pundir, C. S. 1999. Discrete analysis of serum uric acid with immobilized uricase and peroxidase. *J. Biochem. Biophys. Methods*, 39, 125–136.
- Bockris JOM, Reddy AKN (1970). *Modern Electrochemistry, Volume 2*, Mc Donald Company Limited, London
- Bond, A.M. (1980). *Modern Polarographic Methods in Analytical Chemistry*. Marcel Dekker Inc. N.Y.
- Borman, S.A., Osteryoung, R.A., Osteryoung J.G. and O'Dea, J.J. (1982). *Anal. Chem, Pulse Voltammetry - Today and Tomorrow, Pittsburgh Conference*, 54, 698.
- Brett CMA, Brett, AMO (1994). *Electrochemistry, Principles, Methods and Applications*. Oxford University Press, New York, USA.
- Copeland, T.R. and Skogerboe, R.K (1974). Anodic stripping voltammetry. *Anal. Chem.* 46, 205.
- Doğan B, Özkan SA, Uslu, B (2005). Electrochemical Characterization of Flupenthixol and Rapid Determination of the Drug in Human Serum and Pharmaceuticals by Voltammetry. *Analytical Letters*, 38: 641-656.
- Dong W, Hai F.L, He X, Juan W, Cheng M. W, Zang Q,(2015). Uricase-stimulated etching of silver nanoprisms for highly selective and sensitive colorimetric detection of uric acid in human serum. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 221: 1433 - 1440
- Dülger Ö (2012). Renkli materyallerde askorbik asidin spektrofotometrik yöntemiyle tayini, 157, 20



- El-Hallag IS, El-Hefnawy GB, Moharram YI, Ghoneim EM (2000). Electrochemical Studies of Schiff Base Compounds Derived from Antipyrinenucleus in Ethanolic Buffer Solutions. *Can. J. Chemistry*, 78: 1170-1177.
- Erden P, Kaçar C, Öztürk F, Kılıç E, (2015). Amperometric uric acid biosensor based on poly(vinylferrocene)-gelatin-carboxylated multiwalled carbon nanotube modified glassy carbon electrode. *Talanta*, 134: 488–495
- G. Xu, M. Xu, J. Zhang, S. Kim, Z. Bae (2007). Electropolymerization of negatively charged Ni(II) complex for the selective determination of dopamine in the presence of ascorbic acid. *Bioelectrochemistry*, 72: 87-93.
- G. Xu, M. Xu, J. Zhang, S. Kim, Z. Bae (2007). Electropolymerization of negatively charged Ni(II) complex for the selective determination of dopamine in the presence of ascorbic acid. *Bioelectrochemistry*, 72: 87-93.
- Galben J, Yolanda A, M.J. Almenara, Susana M, (2001) Direct determination of uric acid in serum by fluorometric-enzymatic method based on uricase. *Talanta*, 54: 847–854
- Garrido, J.A., Rodriguez, R.M., Bastida, R.M. and Brillas, E. (1992). Study by cyclic voltametry of a reversible surface charge transfer reaction when the reactant diffuses of the electrode. *J. Electroanal. Chem*, 324:19-32.
- Greef, R., Peat, R., Peter, L.M., Pletcher, D. and Robinson, J. (1990). *Instrumental methods in electrochemistry*. Ellis Horwood Ltd., New York.
- Greef, R., Peat, R., Peter, L.M., Pletcher, D. and Robinson, J. (1990). *Instrumental Methods in Electrochemistry*, Ellis Horwood, New York.
- Gündüz T, *Enstrümental Analiz*, Ankara (1990) p. 419.
- Henden, E., Gökçel, H.İ., Ertaç, F.N. 2001. *Eser Analiz Yaz Okulu*, Ege Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Analitik Kimya Anabilim Dalı, 151-160, İzmir
- Hong, H-C. and Huang H-J. (2003). Flow injection analysis of uric acid with uricase-and horseradish peroxidase-coupled Sepharose column based luminol chemiluminescence system. *Anal. Chim. Acta*, 499: 41-46.
- Izutsu, K. (2002). *Electrochemistry in nonaqueous solutions*. Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim.
- Jiang, Y., Wang, A. and Kan, J. (2007). Selective uricase biosensor based on polyaniline synthesized in ionic liquid. *Sensors and Actuators B*, 124: 529-534.
- Kaçar C (2010). *Trazodon'un Elektrokimyasal Davranışı ve Adsorptif Sıyırma Yöntemleriyle Tayini*. Yüksek lisans tezi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

- Kameswara V, Venkatachalam CS, Kalidas C (1988). Electrochemical Reduction of Hydrazono Compounds Derived from Meldrum's acid in Methanolwater Mixtures. *Indian Journal of Chemistry*, 26: 202–204.
- Karasakal A (2007). Kuşburnu bitkisinde spektrofotometrik yöntemle askorbik asit tayini, 67-68
- Kedija A, Tadele H, Mekonen T, Rishi P & R. C. Saini (2015). Electrochemical determination of uric acid in human urine using nickel hexa-cyano ferrate modified carbon paste electrode. *International Journal of Pure and Applied Researches*; 1:43 - 60
- Kızıltunç M (2008). Aktif sporcularda antrenman öncesi ve antrenman sonrası ksantin oksidaz (xo) ve ürik asitin (üa) antioksidan özelliklerinin araştırılması, 70, 2
- Malik WU, Jain R, Agarwal S (1982). Redox Behavior of Some 2 benzothiazolyhydrazones of Ethyl 2-cyanoethanoate. *Procedure Indian National Science Academy. Part A: Physical Sciences* 48: 85-91.
- Menevşeoğlu A (2012). Çilek suyu konsantresi üretim aşamalarında ve depolama sürecinde polifenoller, askorbik asit ve antioksidan aktivitedeki değişimler. 70 : 9-10
- Monk, P.S.M. (2001). *Fundamentals of Electroanalytical Chemistry*. John Wiley and Sons. Ltd., New York.
- Öztürk, F., Taşdemir, İ.H., Durmuş, Z. and Kılıç, E. (2010). Electrochemical behavior of disopyramide and its adsorptive stripping determination in pharmaceutical dosage forms and biological fluids. *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*, 75: 685-702.
- Perello J, Sanchis P, Grases F (2005). Determination of uric acid in urine, saliva and calcium oxalate renal calculi by high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 824: 175-180
- Piermarini S, Davide M, Giulia V, Renato M, Andrea P, Claudio C, Giuseppe P, (2013). Uricase biosensor based on a screen-printed electrode modified with Prussian blue for detection of uric acid in human blood serum. *Sensors and Actuators B*, 179:170– 174
- Pileggi, V.J., Digiorio J. and Wybenga R.A. (1972). One tube serum uric acid method using phosphotungstic acid as a protein precipitant and colour reagent. *Clin. Chim. Acta*, 37: 141–150.
- S. Thiagarajan, S. Chen, (2007). Preparation and characterization of Pt Au hybrid film modified electrodes and their use in simultaneous determination of dopamine, ascorbic acid and uric acid, *Talanta*, 74, 212-222.
- S. Thiagarajan, S. Chen, (2007). Preparation and characterization of Pt Au hybrid film modified electrodes and their use in simultaneous determination of dopamine, ascorbic acid and uric acid. *Talanta* 74 : 212-222.

- Skoog D.A, West D.M, Holler F.J. Fundamentals of Analytical Chemistry. Çeviri Ed. Kılıç E, Köseoglu F. Bilim Yayıncılık (1996) p. 460-496.
- Tabangil T (2010). Dopamin ve ürik asitin birinin varlığında diğerinin kare voltametri ile tayini. 80: 9-16
- Taşdemir İH (2011). Hipertansiyon Tedavisinde Kullanılan Bazı İlaçlardaki Etken Maddelerin Tayini için Elektrokimyasal Yöntemlerin Geliştirilmesi ve Analitik Uygulamaları. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Tehrani, R.M.A. and Ghani, S.A. (2009). Voltammetric analysis of uric acid by zincnickel nanoalloy coated composite graphite. Sensors and Actuators B Article in press
- Temerk Y, Hossieny I, (2016). A new sensor based on In doped CeO<sub>2</sub>nanoparticles modified glassycarbon paste electrode for sensitive determination of uric acid inbiological fluids. Sensors and Actuators B, 224: 868 - 877
- Wang X, Hagiwara T, Uchiyama S,(2007). Immobilization of uricase within polystyrene using polymaleimidostyrene as a stabilizer and its application to uric acid sensor. Analytica Chimica Acta, 587: 41–46
- Wang, J. 2000. Analytical Electrochemistry. 2nd edition. John Wiley and Sons. Inc. NewYork
- Xi-L. L, Li G, Y- Z Jiang, Dongzhou K, Cheng H J, Q S, Toufeng Jin, K I, K Todoroki, T Toyooka, J Z Min, (2015). Human nails metabolite analysis: A rapid and simple method for quantification of uric acid in human fingernail by high-performance synthesized in ionic liquid. Sensors and Actuators B, 124, 529–534
- Xu, D., Hua, L., Li, Z. and Chen, H. (1997). Identification and quantitative determination of uric acid in human urine and plasma by capillary electrophoresis with amperometric detection. Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications, 624 : 461- 466.
- Ye, J–S. Wen, Y., Zhang, W. D., Gan, L. M., Xu, G. Q. and Sheu, F.- S.( 2003). Selective voltammetric detection of uric acid in the presence of ascorbic acid at well-aligned carbon nanotube electrode. Electroanalysis, 15: 1693-1698.
- Yıldız, A., Genç, Ö. 1993. Enstrümental Analiz. Hacettepe Üniversitesi Yayınları 1. Baskı, 352.
- Zhoumin S, Haiying F, Liu , Jianxiu W, (2013). Redox-active thionine–graphene oxide hybrid nanosheet: One-pot, rapid synthesis, and application as a sensing platform for uric acid. Analytica Chimica Acta, 761: 84– 91
- Zuman P., Brezina, M. (1962). Polarographic Analysis in Pharmacy. Progress in Polarography. Vol. 2th Ed.P. Zuman, I.M. Kolthoff, New York, Intersence Publishers

## **ÖZGEÇMİŞ**

Rüveyda Barsbuğa 17/05/1988 yılında Afyonkarahisar'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini İstanbul'da tamamladı. İstanbul Süleyman Nazif Lisesinden 2005 yılında mezun oldu. 2008-2010 yılları arasında Namık Kemal Üniversitesi Teknik Bilimler Meslek Yüksek okulunda Gıda Teknolojisi bölümü tamamladı. 2010- 2014 yılları arasında da Namık Kemal Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü'den mezun oldu. Aynı sene içinde Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisansa başladı.