



**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**p-AMİNOFENOL TAYİNİ İÇİN DUYARLI
GRAFEN BAZLI ELEKTROKİMYASAL SENSÖR**

Gamze ÇETİNTAŞ

Kimya Anabilim Dalı

Analitik Kimya Programı

Danışman

Prof. Dr. Hayati FİLİK

Ekim, 2013

İSTANBUL



**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**p-AMİNOFENOL TAYİNİ İÇİN DUYARLI
GRAFEN BAZLI ELEKTROKİMYASAL SENSÖR**

Gamze ÇETİNTAŞ

Kimya Anabilim Dalı

Analitik Kimya Programı

Danışman

Prof. Dr. Hayati FİLİK

Ekim, 2013

İSTANBUL

Bu çalışma 10/10/2013 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı Analitik Kimya programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi



Prof. Dr. Hayati FİLİK (Danışman)
İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi



Prof. Dr. Reşat APAK
İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi



Prof. Dr. Süleyman TANYOLAÇ
İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi



Prof. Dr. Esma TÜTEM
İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi

Doç. Dr. Hüsnü CANKURTARAN
Yıldız Teknik Üniversitesi
Fen Edebiyat Fakültesi



Bu alışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliđinin 26533 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Yüksek lisans çalışmalarım süresince danışmanım olarak, her zaman beni yönlendiren, yol gösteren her konuda desteğini gördüğüm, bilgisini, tecrübesini benden esirgemeyen değerli hocam *Prof. Dr. Hayati FİLİK' e*

Tüm hayatım boyunca desteklerini benden esirgemeyen babam *Kamil ÇETİNTAŞ*, annem *Naile ÇETİNTAŞ* ve kardeşim *Gözde ÇETİNTAŞ' a*,

Yüksek lisans öğrenimim süresince yardımlarını esirgemeyen ve her zaman yanımda olan sevgili arkadaşlarım *Aydan ÇETİNKAYA*, *Derya GİRAY*, *Asiye Aslıhan AVAN* ve *Sevda AYDAR'a*

Çalışmamın uygulama kısmını destekleyen *İ.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne* teşekkürlerimi sunarım.

Ekim, 2013

Gamze ÇETİNTAŞ

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
ŞEKİL LİSTESİ.....	iv
TABLO LİSTESİ	vi
SEMBOL LİSTESİ.....	vii
ÖZET.....	viii
SUMMARY	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL KISIMLAR	4
2.1. p-AMİNOFENOL İLE İLGİLİ BİLGİLER.....	4
2.2 GRAFEN İLE İLGİLİ BİLGİLER.....	5
2.3. ELEKTROANALİTİK YÖNTEM VE HÜCRE SİSTEMİ.....	6
2.4. VOLTAMETRİK YÖNTEMLER	7
2.4.1. Döngülü Voltametri	8
2.4.1.1 Döngülü voltametriden elde edilen voltamogramda pik akımlarının hesaplanması	9
2.4.2. Diferansiyel Puls Voltametri	10
2.4.3.Voltamogram	11
2.5. VOLTAMETRİDE KULLANILAN ELEKTROT VE ÖN İŞLEMLER.....	12
2.5.1. Camsı Karbon Elektrot	12

2.5.2. Elektrotlara Uygulanan Ön İşlemler	12
3. MALZEME VE YÖNTEM	13
3.1. CİHAZLAR.....	13
3.2. KULLANILAN KİMYASAL MADDELER VE ÇÖZELTİLER	13
3.3. ÖRNEK HAZIRLAMA	14
3.4. NAFYON-GRAFEN MODİFİYE ELEKTROT HAZIRLANMASI.....	15
3.5. DENEYSEL PROSEDÜR	15
4. BULGULAR	16
4.1. GRAFEN KARAKTERİZASYONU.....	16
4.2. NAFYON / GRAFEN MİKTARI ETKİSİ	18
4.3. 4-AP' NİN ELEKTROKİMYASAL DAVRANIŞI.....	19
4.4. NAFYON/ GR/ GCE ÜZERİNDE 4-AP'NİN REDOKS MEKANİZMASI.....	21
4.5. pH ETKİSİ	22
4.6. 4-AP' NİN VOLTAMETRİK BELİRLENMESİ.....	24
4.7. TEKRARLANABİLİRLİK, TEKRAR KULLANILABİLİRLİK VE STABİLİTE	27
4.8. GİRİŞİM DENEMELERİ.....	27
4.9. ANALİTİK UYGULAMALAR	28
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	31
KAYNAKLAR	32
ÖZGEÇMİŞ.....	39

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1 : Tek tabakalı grafen yapısı	5
Şekil 2.2 : Genel elektrokimyasal hücre şeması	7
Şekil 2.3 : Döngülü voltametri için potansiyel-zaman değişimi	9
Şekil 2.4 : 4-AP için döngülü voltamogramda pik hesabı gösterimi.....	10
Şekil 2.5 : Diferansiyel puls voltametri için potansiyel-zaman değişimi	11
Şekil 4.1 : Grafit (a) ve grafen oksit (b) için XRD sonuçları	16
Şekil 4.2 : GCE yüzeyindeki GR filmin SEM görüntüsü.....	17
Şekil 4.3 : GCE yüzeyindeki Nafyon-GR filmin SEM görüntüsü	17
Şekil 4.4 : Grafit, grafen oksit ve indirgenmiş grafenin FTIR spektrumları. Saptama (cm^{-1}): Graphene oksit için 1720 C=O (karbonil/karboksi); 1619 C=C (aromatik); 1405 C-O (karboksi); 1220 C-O (epoksi); 1060 C-O (alkoksi). Karşılaştırma pikleri oksijenli fonksiyonel gruplar nedeniyle indirgenmiş grafen oksitte hemen hemen tamamen kaybolmuştur.	18
Şekil 4.5 : Yalın GCE (c), Nafyon/GCE (b) ve Nafyon/ GR/ GCE (a) ile 0,1M asetat tampon çözeltisi (pH=5,5) içerisinde 0,1mM 4-AP olan ortam için döngülü voltamogramlar. Tarama hızı: 200mV s^{-1}	20
Şekil 4.6 : Yalın GCE (c), Nafyon/GCE (b) ve Nafyon/ GR/ GCE (a) ile 0,1M asetat tampon çözeltisi (pH=5,5) içerisinde 0,1mM 4-AP olan ortam için döngülü voltamogramlar. Tarama hızı: 200mV s^{-1}	20
Şekil 4.7 : 25 - 500mV s^{-1} aralığında (25, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 ve 500mV s^{-1}) değişik tarama hızlarında 0,1 M asetat tampon çözeltisi (pH=5,5) içerisinde 0,1 mM 4-AP için Nafyon/ GR/ GCE ile elde edilen döngülü voltamogramlar. Tarama hızına karşı pik akım grafiği şekil içinde görülmektedir.....	22
Şekil 4.8 : Nafion/ GR/ GCE ile 200mV s^{-1} tarama hızında 0,1 mM 4-AP için çeşitli pH değerlerinde asetat tampon çözeltileri ile elde edilen döngülü voltamogramlar. Asetat tampon çözeltisi pH değerleri: a, 3,6; b, 4,0; c, 4,5; d, 5,0; e, 5,5; f, 6,0; g, 7,0 Formal potansiyelin pH değerlerine karşı çizilmiş grafiği şeklin iç kısmında yer almaktadır.	23
Şekil 4.10 : Nafion/ GR/ GCE ile 0,5-200 μM aralığında çeşitli konsantrasyonlarda 4-AP için asetat tampon çözeltisi (pH:5,5) ile elde edilen diferansiyel puls voltamogramları. Step size, pulse size ve pulse time sırasıyla $8,0\text{ mV s}^{-1}$, 50 mV ve 50 ms olarak kullanılmıştır. Konsantrasyona karşı akım değerleri ile çizilmiş grafik şeklin iç kısmında yer almaktadır.	25

- Şekil 4.11** : 4-AP'nin farklı konsantrasyonlarını (0,5; 0,8; 1,0; 5,0 μM) ihtiva eden 0,1M asetat tampon çözeltisi (pH5,5) kullanılarak Nafyon/ GR/ GCE ile elde edilen diferansiyel puls voltamogramları. 25
- Şekil 4.12** : Nafion/ GR/ GCE ile 200mV s⁻¹ tarama hızında asetat tampon çözeltisi (pH:5,5) ile elde edilen döngülü voltamogramlar. (a) Sadece 4-AP (0,1 mM) ile elde edilen döngülü voltamogram. (b) 4-AP ve PCT ikili karışımına ait döngülü voltamogram. (0,1 mM 4-AP ve 0,1mM PCT (1:1)). (c) 4-AP ve PCT ikili karışımına ait döngülü voltamogram. (0,1 mM 4-AP ve 0,5 mM PCT (1:5)). 26
- Şekil 4.13** : (a) Sadece 4-AP (10 μM) ile elde edilen diferansiyel puls voltamogramı. (b) 4-AP ve PCT ikili karışımına ait diferansiyel puls voltamogramı (50 μM 4-AP ve 50 μM PCT (1:1)). Step size, pulse size ve pulse time sırasıyla 8,0 mV s⁻¹, 50 mV ve 50 ms olarak kullanılmıştır. 26
- Şekil 4.14** : (a) Nafion/ GR/ GCE kullanılarak sadece asetat tampon çözeltisi (pH:5,5) ile elde edilen diferansiyel puls voltamogramı. (b) Sadece 4-AP (10 μM) ile elde edilen diferansiyel puls voltamogramı. (c) PCT almış kişiye ait idrar örneği ile elde edilen diferansiyel puls voltamogramı. (d) PCT almış kişiye ait idrar örneğine 4-AP (10 μM) ilavesi ile elde edilen diferansiyel puls voltamogramı. Step size, pulse size ve pulse time sırasıyla 8,0 mV s⁻¹, 50 mV ve 50 ms olarak kullanılmıştır. 28

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 4.1 : 4-AP'nin su numunelerinde tayini (N=4).	29
Tablo 4.2 : 4-AP'nin idrar numunelerinde tayini (N=4).	29
Tablo 4.3 : Parasetamol tablet numunelerinde 4-AP tayini (N=4).	30
Tablo 4.4 : 4-AP sensörlerinin performans karşılaştırması.	31

SEMBOL LİSTESİ

Ag/AgCl	: Gümüş/ Gümüşklorür
Al	: Alüminyum
AP	: Aminofenol
Ca	: Kalsiyum
Cd	: Kadmiyum
CE	: Kapiler Elektroforez
CME	: Kimyasal Modifiye Elektrot
CNT	: Karbonnanotüp
Co	: Kobalt
CR-GO	: Grafen Oksit Kimyasal Redüksiyonu
CV	: Döngülü Voltametri
DPV	: Diferansiyel Puls Voltametri
ER-GO	: Grafen Oksit Elektrokimyasal Redüksiyonu
FTIR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
GCE	: Camsı Karbon Elektrot
GME	: Grafen Modifiye Elektrot
GR	: Grafen
GR-PANI	: Grafen-Polianilin
Mg	: Magnezyum
Mn	: Mangan
Ni	: Nikel
PAP	: p-Aminofenol
Pb	: Kurşun
PCT	: Parasetamol
Pt	: Platin
SCE	: Doymuş Kalomel Elektrot
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
TiO₂	: Titanyumdioksit
XRD	: X Işını Kırınım Yöntemi
Zn	: Çinko

ÖZET

p-AMİNOFENOL TAYİNİ İÇİN DUYARLI GRAFEN BAZLI ELEKTROKİMYASAL SENSÖR

Camsı karbon elektrodun Nafyon-grafen (Nafyon-GR) nanokompozit film ile modifikasyonu basit bir damlatma metodu ile yapıldı ve bu elektrot p-aminofenol (4-AP) tayininde sensör olarak kullanıldı. Büyük yüzey alanı, grafenin iyi bir iletken olması ve nafyonun iyi afinite göstermesi nedeniyle sensör, 4-AP oksidasyonu için mükemmel elektrokatalitik aktivite gösterdi. 4-AP' ün elektrokimyasal davranışı Nafyon-GR filmi ile modifiye edilmiş camsı karbon elektrot üzerinde döngülü voltametri ve diferansiyel puls voltametri ile incelendi. Kalibrasyon eğrisi aynı matris üzerinde oluşturulup, idrar gibi bileşimi bilinmeyen örneklerin analizi sağlandı. Nafyon-GR modifiye elektrodun 4-AP konsantrasyonları için oldukça duyarlı olduğu görüldü. Diferansiyel puls voltametri çalışmaları sonucu 4-AP için lineer analitik eğri 0,5-200 μM arasında olup dedeksiyon limiti 0,051 μM elde edildi. Nafyon-grafen nanokompozit modifiye elektrot saf grafen modifiye elektroda göre daha iyi tekrar kullanılabilirlik sergiledi. Bu prosedür parasetamol varlığında bozunma ürünü olan p-aminofenol tayini için kullanılabilir özellik gösterdi. Son olarak, önerilen yöntem idrar numuneleri, farmasötik preparatlar ve yerel şebeke suyu örneklerinde p-aminofenol belirlemek için başarılı şekilde kullanıldı.

SUMMARY

A GRAPHENE-BASED ELECTROCHEMICAL SENSOR FOR SENSITIVE DETECTION OF p-AMINOPHENOL

A Nafion-graphene (Nafion/GR) nanocomposite film modified glassy carbon electrode was fabricated by a simple drop-casting method, and used in the electrochemical detection of p-aminophenol (4-AP). Owing to the large surface area, good conductivity of GR and good affinity of Nafion, the sensor exhibited excellent electrocatalytic activity for the oxidation of 4-AP. The electrochemical behaviors of 4-AP on Nafion/GR film modified glassy carbon electrodes were investigated by cyclic voltammetry and differential pulse voltammetry. A calibration curve is constructed in the same matrix, urine, as the unknown samples to be analyzed. The Nafion-GR film modified electrode was linearly dependent on the 4-AP concentration and the linear analytical curve was obtained in the ranges of 0.5–200 μM with differential pulse voltammetry (DPV) and the detection limit was 0.051 μM . The Nafion-graphene nanocomposite modified electrode exhibited good reusability than pure graphene modified GCE. This procedure can be used for the determination of p-aminophenol in the presence of its degradation products and paracetamol. Finally, the proposed method was successfully used to determine p-aminophenol in local tap water samples in urine samples and pharmaceutical preparations.

1. GİRİŞ

p-aminofenol veya 4-aminofenol (4-AP) petrol, yem maddeleri, kauçuk, kükürt ve azo boyaları, tıp, fotoğrafçılık gibi çeşitli alanlarda yaygın olarak kullanılan önemli bir kimyasal maddedir [1-3]. 4-AP birçok alanda kullanıldığından çevre için büyük tehdit oluşturabilir. Ayrıca, 4-AP dünya çapında en çok üretilen ilaç olan parasetamol (PCT) için ana malzeme olarak kullanılmaktadır. p-aminofenol insan vücudunda ve tıbbi preparatların depolanması sırasında parasetamolden ayrılan bir ara üründür. Parasetamol sulu çözeltide p-aminofenole hidrolize olmaya eğilimlidir ve bu kinon kendi kendine parçalanabilir [4].

Toksikoloji ve işçi sağlığı alanlarında, aniline maruz kalan insanlarda p-aminofenol biyolojik belirteç olarak kullanılır [1-3]. Alınan idrar örneklerinde p-aminofenol (PAP) konsantrasyonu, anilin maruziyetini saptamak için oldukça önemlidir. Bu nedenle, su örnekleri, farmasötik preparatlar, ve idrar örneklerinde p-aminofenol belirlenmesi için basit, hassas ve doğru bir analitik yöntem geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır.

Biyolojik sıvılar ve farmasötik preparatlarda 4-AP belirlenmesi için sayısız yöntem kullanılabilir. Titrimetri, spektrofotometri, kromatografi, klasik kapiler elektroforez (CE), enzim bazlı analiz yöntemleri 4-AP belirlenmesi için kullanılan yöntemlerdendir [5]. Bu yöntemlerin analiz süreleri genellikle uzundur ve rutin başucu ölçümleri için uygunluğu hantal analitik cihazlar nedeniyle oldukça zordur. Çoğu elektroanalitik teknik geniş bir aralıkta hızlı sonuç verdiği, ucuz, son derece hassas ve seçici olduğundan elektroaktif özelliğe sahip olan 4-AP ün tayini için elektrokimyasal teknikler alternatif olarak kullanılabilir.

Bazı karbon veya karbon nanotüp (CNT) modifiye elektrotların (CME) elektrokatalitik özellikleri p-aminofenol ve miktarının belirlenmesi için kullanılmaktadır [6-10]. Kimyasal olarak modifiye edilmiş elektrotlar (CME) elektrot sistemleri için oldukça modern bir yaklaşım içermektedir. Kimyasal olarak modifiye edilen elektrotlara (CME) olan ilgi son on yılda büyük artış göstermiştir.

Kimyasal modifikasyon tabakaları elektrokimyasal dönüştürücülere yüksek derecede seçicilik kazandırmak amacıyla kullanılabilir. Bir elektrodun tayin hızı ve seçiciliği modifikasyon yüzeyi değiştirilerek kontrol edilebilir. Son zamanlarda, karbon malzemesinin bir formu olan grafen CME alanında büyük ilgi görmektedir. Grafen sadece bir atom kalınlığındaki malzemelerin yeni bir sınıfını temsil etmektedir ve bu temelde uygulamalar için verimli bir zemin sağlamaktadır [11-14].

Grafen bazlı kimyasal sensörler ilk çalışanlar tarafından aminofenol izomerlerinin belirlenmesi için kullanılmıştır. Kang ve grubu döngülü ve kare dalga voltametri metodlarını kullanarak grafen modifiye elektrot (GME) üzerinde parasetamolün elektrokimyasal davranışını incelemiştir. Elde edilen sonuçlarda, grafen modifiye elektrodun alkali ortamda (pH=9) parasetamol için mükemmel elektrokatalitik aktivite gösterdiği görülmektedir [15]. Bahramipur ve Jalali grafen pasta elektrot ile parasetamolün elektrokimyasal davranışını incelemiştir [16]. Yin ve arkadaşları camı karbon elektrodu grafen-chitosan kompozit film ile modifiye etmiş ve 4-AP tayini için kullanmıştır [17]. Bu çalışmada, bir aminopolisakkarid olan chitosan elektrot yüzeyine filmin yapışmasını sağlamak amaçlı polimer bağlayıcı madde olarak kullanılmıştır. Fan ve arkadaşları 4-AP'ün voltametrik tayini için grafen-polianilin (GR-PANI) nanokompozit film bazlı elektrokimyasal bir sensör bildirmiştir [18]. PANI yüksek iletkenlik sergilemektedir, onun oksitlenmiş / protonlanmış formu ise yüksek düzeyde kararlılık ve iyi bir elektrokimyasal reversibiliteye sahiptir [19-22]. Fan ve diğerleri Nafion/ TiO₂-GR/GCE nanokompozit film modifikasyonunu kullanarak parasetamol tayini için ticari tablet formülasyonu da geliştirmiştir [23]. Li ve grubu grafenoksit modifiye elektrot kullanarak 4-AP tayini için yüksek performanslı elektrokimyasal sensör elde etmeyi amaçlamışlardır. Elektrot olarak camı karbon elektrot (GCE) kullanılmış ve grafenoksit elektrokimyasal redüksiyona uğratılmıştır. Bu elektrot yapay atık su örneklerinde 4-AP belirlemek amaçlı kullanılmıştır [24].

Bu çalışmada, camı karbon elektrot (GCE) Nafyon-GR nanokompozit film ile modifiye edildi ve bu elektrot p-aminofenolün (PAP) karakterizasyonu ve eser miktarda tayini için elektrokimyasal sensör olarak kullanıldı. Günümüze kadar, pek çok

çalışmada Nafyon-GR kompozitinin elektrokimyasal sensör olarak geliştirildiği rapor edilmiştir [25-31].

Bu çalışmada grafenoksit kimyasal redüksiyona (CR-GO) uğratıldı ve Nafyon ile birlikte camı karbon elektrot modifikasyonunda (Nafyon-GR/GCE) nanokompozit film oluşturmak amaçlı kullanıldı. Nafyon hidrofobik floro temelli ve hidrofilik sülfonik asit grubu içeren amfifilik bir polimerdir. Nafyon, grafen nanokompozit modifiye elektrot üretiminde etkin bir çözücü madde gibi davranır [23]. Buna ek olarak, Nafyon kuvvetli hidrofobik etkisi sebebiyle grafen yüzey alanı üzerine adsorbe olur ve elektrostatik mekanizma ile grafeni temizler. İletken polimer önemli bir bileşeni olduğu hibrid kompozit malzemenin özelliklerini geliştirir. Nafyon yüksek iyonik iletkenliğe ve mükemmel elektrokimyasal stabiliteye sahiptir [24]. Hazırlanan Nafyon-GR kompozit filmin metal iyonu tespiti için geliştirilmiş olduğu ancak sadece bunun için hassasiyet sergilemediği görülmüştür, kompozit filmin aynı zamanda grafen ve nafyonun sinerjik etkisinden dolayı etkileşimleri azalttığı tespit edilmiştir [25].

Organik bileşiklerin varlığı proton (H^+) hareketliliğini desteklemek için nafyon kompozit film içinde ilave alanlar sağlamak ve böylece nafyon ince filmin iletkenlik ve sensör kabiliyetini geliştirmektedir. Böylece, Grafen-Nafyon film 4-AP tespitinin duyarlılığını arttırmaktadır. Nafyon bazlı sensör sistemindeki zorluk nafyon filmin iletkenliğinin film içerisindeki neme bağlı olmasıdır. Filmde nem içeriği çok düşük olduğunda ince nafyon film iletkenlik kaybeder ve bu durum sensör performansını olumsuz etkileyebilir [32]. Elde edilen sonuçlarda, Nafyon/ GR/ GC elektrodun 4-AP tayini için iyi performans sergilediği görüldü. Sensör farmasötik ürünlerde (örneğin, parasetamol tablet), yerel musluk suyu ve idrar örneklerinde 4-AP'ün hassas olarak tayininde kullanıldı.

2. GENEL KISIMLAR

2.1. p-AMİNOFENOL İLE İLGİLİ BİLGİLER

Endüstriyel ve teknolojik gelişmelere paralel olarak, özellikle gelişmiş toplumlar, giderek artan bir biçimde çeşitli kimyasal maddelerin etkisi altında kalmaktadır.

Dünyada ve ülkemizde 80'li yıllardan sonra hızlı bir endüstriyel değişim meydana gelmiştir. Bu değişimle birlikte öncelik üretime verilmiş, ancak çevreye verilen atıkların çevre ve canlı hayatı üzerine etkileri pek fazla düşünülmemiştir. Çevreye atılan endüstriyel atıkların artmasıyla birlikte bir çok atık türünde doygunluğa ulaşılmış ve zararları görülmeye başlanmıştır. Bu atıklardan en önemlilerinden biriside fenol ve fenol türevleridir. Önemli bir endüstriyel atık olan fenolün dünyadaki ve ülkemizdeki kullanım alanlarından en önemlisi fenolik reçine üretimidir. Fenolik reçineler, kâğıt endüstrisi, kauçuk işletme endüstrisi ile yalıtım ve yüksek sürtünmeye dayanıklı malzeme üretiminde kullanılmaktadır. Bunun dışında fenol, ilaç endüstrisinde, temizlik ürünlerinin imalatında kullanılmaktadır. Fenolün bütün türevleri mikrop öldürücü yapıda olup, bu özellik halkada alkil grubu olduğu zaman daha da artmaktadır [33].

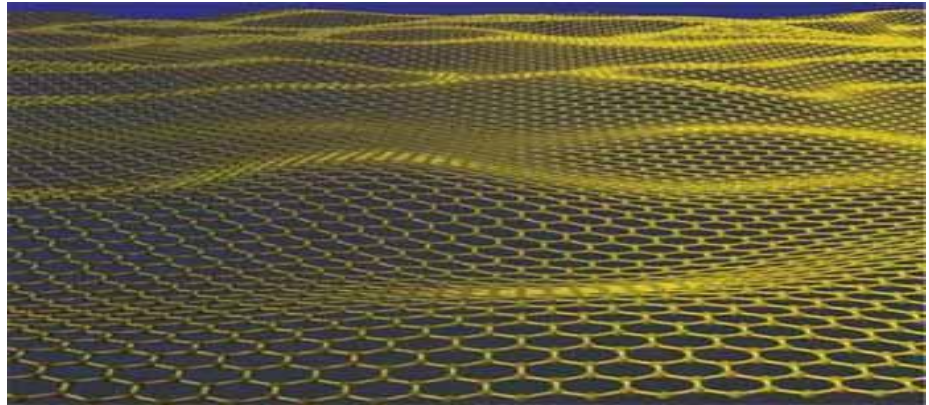
Fenol bileşikleri ve homologlarının çoğu zehirli maddelerdir. Besinle alınan doğal bileşikler dışında kalan ve çeşitli yollardan insan vücuduna alınan kimyasal maddeler vücutta çeşitli enzimlerin etkisi ile değişime uğrarlar. Bu değişim sırasında ortaya çıkan reaktif ara metabolitler, hücre yaşamında fonksiyonel önemi olan yapılarla birleşerek toksik hasar oluştururlar [34, 35].

p-Aminofenol, kuvvetli nefrotoksik bir bileşiktir ve methemoglobinemi'ye yol açtığı bilinmektedir. Antipretik ve analjezik etkinliği olmasına karşın ilaç olarak kullanıldığında oldukça toksiktir. Bu nedenle parasetamol gibi türevleri ilaç olarak kullanılmaktadır. p-Aminofenol bu bileşiklerin metaboliti olması nedeniyle, deneysel analjezik toksite çalışmalarında model olarak kullanılmaktadır [36-40].

2.2 GRAFEN İLE İLGİLİ BİLGİLER

Nanokarbonlar, istenilen özelliklerine ulaşabilmek için farklı yollarla bağlanmış moleküllerlerden oluşan karbon bazlı malzemelerdir. Karbon nanoyapılar, moleküler olarak aşağıdan yukarıya sentez sürecinde kusursuza yakın sentezlenebildiği ve eşsiz özellikleri birarada barındırabildiği için, bu sistemlerin yapılmasında şimdilik tek aday durumundadır. Nanobileşenler yüksek alan-hacim oranına sahiptirler ve kimyasal reaksiyon gerçekleştirmek için yüksek alana sahiptirler. Bu sayede sensör gibi birçok uygulama alanı için oldukça uygundur.

Grafenin keşfiyle, şimdiye kadar bilinmeyen bir malzeme sınıfı ortaya çıkmıştır. Keşfedilen bu yeni sınıftaki ilk malzeme, tek atomlu karbon tabakasına sahip grafendir. İlk önceleri tek tabaka grafit olarak adlandırılan bu malzeme daha sonraları grafen adını almıştır. Bu malzeme için, tek atom kalınlığında ince bir zar tanımı da yapılabilir. Grafen zar içinde hareketli elektron bulunmadığı durumlarda bile grafenin elektrik iletkenliğinin belli bir alt sınırdan daha aşağı inmediği belirlenmiştir. Bu, şimdiye kadar kabul görmüş bilgilerle çelişmektedir. Tüm bilinen sistemlerde yük taşıyıcılar ortadan kalktığında iletkenlik de kaybolmasına rağmen, grafende sistem iletkenlik göstermeye devam etmektedir[41].



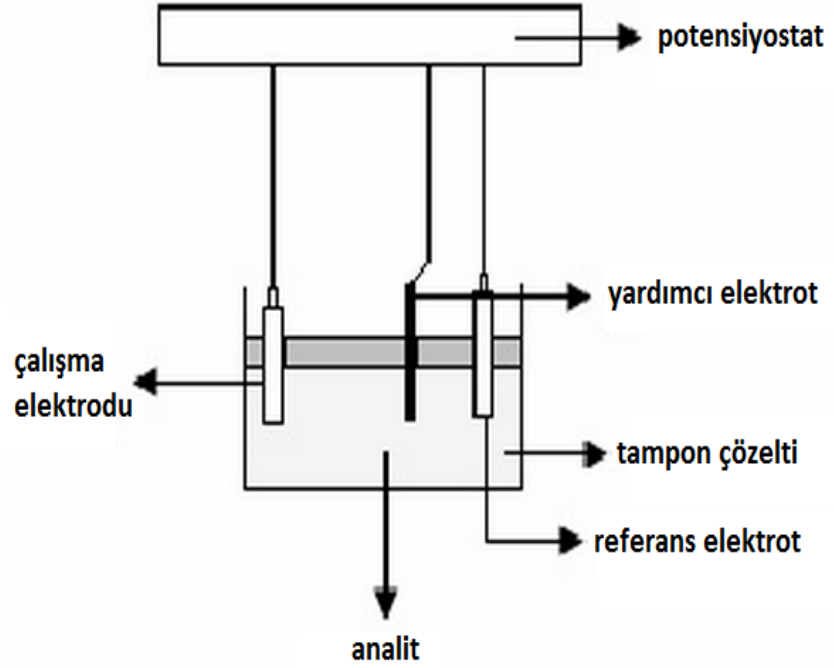
Şekil 2.1 : Tek tabakalı grafen yapısı [42].

2.3. ELEKTROANALİTİK YÖNTEM VE HÜCRE SİSTEMİ

Elektroanalitik metotların hepsinde elektrot-çözelti sistemine elektriksel etki yapılarak sistemin verdiği cevap ölçülür. Bu cevap sistemin özellikleri hakkında bilgi verir. Genel olarak bütün elektrokimyasal tekniklerde akım, potansiyel ve zaman parametreleri bulunur ve bu parametreler tekniğin adını belirler. Mesela, voltametri, kronoamperometri ve kronokulometri gibi tekniklerde sırası ile potansiyel-akım, zaman-akım ve zaman-yük parametreleri arasındaki ilişki anlatılmaktadır.

Elektroanalitik metotlar genel olarak net akımın sıfır olduğu denge durumundaki statik metotlar ve denge durumundan uzakta net akımın gözlemlendiği dinamik metotlar olmak üzere ikiye ayrılır. Elektroanalitik tekniklerin çok büyük bir kısmı net akımın sıfır olmadığı dinamik metotlardır ve bunlar da potansiyel kontrollü veya akım kontrollüdür. Akım kontrollü teknikler kronopotansiyometri ve kulometrik titrasyonlar olmak üzere iki kısımda incelenir. İyon seçici elektrotların kullanıldığı metotlar akımın sıfır olduğu statik elektroanalitik metotlardır.

Elektroanalitik yöntemlerin çoğunda üçlü elektrot sistemi kullanılmaktadır. Üç elektrottan birisi zamanla potansiyeli değiştirilen indikatör elektrot veya çalışma elektrodudur. Çalışma elektrodu olarak, civa, platin, altın, paladyum, karbon elektrot (grafit, karbon pasta elektrot, camsı karbon) gibi elektrotlar yaygın olarak kullanılmaktadır. Elektrot sistemindeki ikinci elektrot, potansiyeli deney süresince sabit kalan referans elektrottur. Referans elektrot genellikle Ag/AgCl veya doymuş kalomel elektrottur. Elektrot sistemindeki üçüncü elektrot ise karşıt veya yardımcı elektrottur. Karşıt elektrot olarak ise genellikle Pt tel kullanılır. Sistemde akım, çalışma elektrodu üzerinde maddelerin indirgenmesi veya yükseltgenmesi sonucunda oluşur. İndirgenmeden dolayı oluşan akıma katodik akım, yükseltgenmeden dolayı oluşan akıma ise anodik akım denir.



Şekil 2.2 : Genel elektrokimyasal hücre şeması [43].

2.4. VOLTAMETRİK YÖNTEMLER

Voltametri, bir indikatör veya çalışma elektrotunun polarize olduğu şartlar altında, uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak akımın ölçülmesinden faydalanarak, analit hakkında bilgi edinilen, elektrot potansiyelinin değiştirilmesi ile elektrolitik hücreden geçen akımın değişmesine dayanan elektroanalitik metotların genel adıdır.

Voltametri, çeşitli ortamlarda meydana gelen yükseltgenme-indirgenme olaylarının, yüzeylerdeki adsorpsiyon olaylarının ve kimyasal olarak modifiye edilmiş elektrot yüzeylerindeki elektron aktarım mekanizmalarının temel çalışmalarını kapsayan ve çok başvurulan duyarlı ve güvenilir bir yöntemdir. Voltametride akım, çalışma elektrodu üzerinde maddelerin indirgenmesi veya yükseltgenmesi sonucunda oluşur. İndirgenmeden dolayı oluşan akıma katodik akım, yükseltgenmeden dolayı oluşan akıma ise anodik akım adı verilir. Geleneksel olarak, katodik akımlar daima pozitif, anodik akımlar ise negatif işaretlerle gösterilir [44].

2.4.1. Döngülü Voltametri

İleri voltametrik teknikler genellikle kapasitif akım etkisi azaltılarak duyarlılığı arttırmak amaçlıdır. Fakat döngüsel voltametri, tayin duyarlılığını arttırmak için değil elektrokimyasal mekanizmanın aydınlatılması için kullanılır. Döngülü voltametri elektrokimyasal tepkimeler hakkındaki nitel bilginin hızla elde edilebilmesi sebebiyle ilk başvurulan tekniktir.

Bu teknikte küçük ve sabit bir elektroda zamanla doğrusal olarak değişen bir potansiyel uygulanır. Başlangıç potansiyeli olarak genellikle indirgenme yükseltgenme tepkimesinin olmadığı bir potansiyel aralığı seçilir ve potansiyel redoks tepkimesinin gerçekleştiği yönde E_1 ve E_2 sınırları arasında belirli bir hızda taranır. Bu tekniğin doğrusal taramalı voltametriden ayrılan yanı E_2 potansiyeline ulaşıldığında taramanın ters yöne çevrilmesidir. Bu sayede yeniden başlangıç potansiyeline ulaşılabilir, potansiyel taraması kesilebilir, tekrar geri çevrilebilir ya da bir E_3 değerine kadar tarama sürdürülebilir. Kullanılan potansiyel-zaman dalga formu Şekil 2.3' te gösterilmiştir.

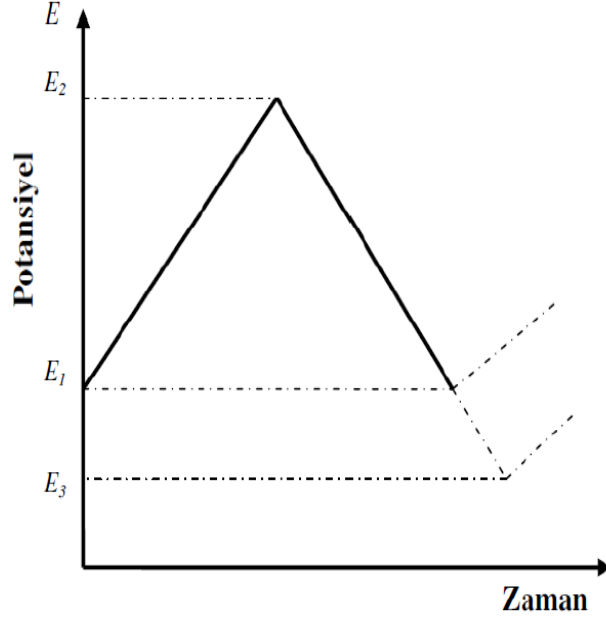
Bu teknik sayesinde bir anlamda elektrokimyasal spektrum denilebilecek bir voltamogram hızı elde edilebilir. Bu yolla tarama hızına bağımlılıktan yararlanılarak, eşleşmiş homojen tepkimeler kolaylıkla aydınlatılabilir ve adsorpsiyon gibi olaylar da tanımlanabilir.

Döngülü voltametrinde çalışma elektrodunda gerçekleşen elektrokimyasal tepkimeler sonucunda oluşan akım, uyarıcı sinyal olan potansiyelin bir fonksiyonu olarak kaydedilir. Potansiyel tarama hızı sabit olduğundan bu eksen aynı zamanda zaman eksenidir. Tarama hızı birkaç mV/s ile birkaç yüz V/s aralığında değişir.

Döngülü voltamogramlarda akım-potansiyel değişimi genel olarak pik şeklindedir. Potansiyel sınırları ve tarama hızı değiştirildikçe bu piklerin belirmesi ve kaybolması izlenir.

Voltamogramların oluşumu incelenirken model olarak tersinir bir indirgenme $Ox + ne^- \rightarrow Red$ tepkimesi ele alınır. Başlangıçta çözeltide sadece Ox türünün bulunduğu varsayılarak, sisteme çok yavaş değişen bir potansiyel taraması uygulanırsa,

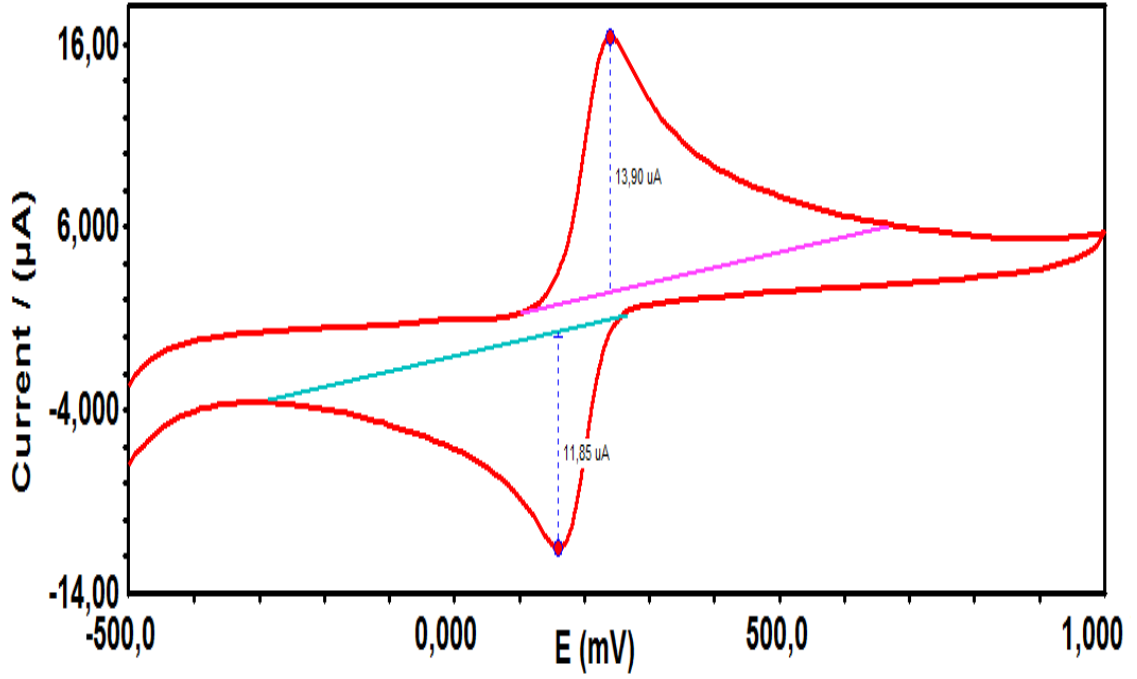
voltamogram kararlı hal eğrisi biçiminde gösterilir. Tarama hızı arttıkça, giderek artan yükseklikte bir pik ortaya çıkar. Bu değişim potansiyelin bir fonksiyonu olarak derişim profilleri gözönüne alınarak açıklanabilir [45].



Şekil 2.3 : Döngülü voltametri için potansiyel-zaman değişimi.

2.4.1.1 Döngülü voltametriden elde edilen voltamogramda pik akımlarının hesaplanması

Döngülü voltametri ile yapılan tüm deneysel çalışmalarda önce anodik yönde sonra katodik yönde dönüşüm sağlanmıştır. Pikler isimlendirilirken tarama yönü dikkate alınmıştır. Her iki tarama yönünde voltamogramın temel çizgileri belirlendikten sonra pik maksimumları işaretlenerek pik akımları, maksimum pik akımları ve pik potansiyelleri Echem Analyst programıyla hesaplanmıştır.



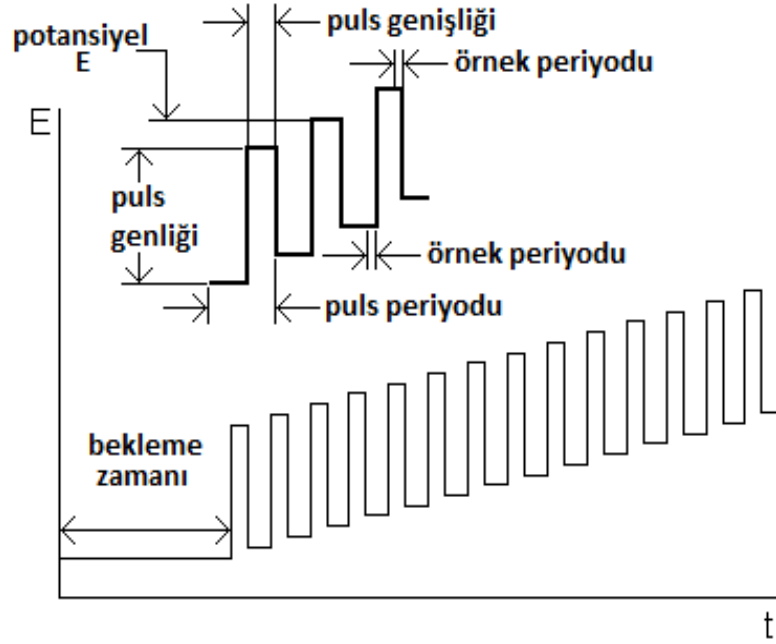
Şekil 2.4 : 4-AP için döngülü voltamogramda pik hesabı gösterimi.

2.4.2. Diferansiyel Puls Voltametri

Diferansiyel puls teknikleri bir çok elektroaktif türün eser miktarlarının tayininde sıklıkla kullanılmaktadır. En çok tercih edilen puls tekniği diferansiyel puls polarografisi veya voltametri olup, bu teknikte yavaşça yükselen bir doğrusal akım sinyali üzerine yükseklikleri sabit voltaj pulslarının üst üste bindirilmesiyle oluşan uyarıcı sinyal kullanılmaktadır. Akım, pulstan hemen önce ve pulsun sonuna doğru iki kere ölçülerek bunların farkı sinyal olarak kaydedilmektedir.

Puls genişliğinin artması ile pik akımı artarken, aynı zamanda pik genişliği de artar. Bu nedenle pratikte genişliği 25 – 30 mV düzeyinde olan puls akımı ve tarama hızı 5 mVs^{-1} olan doğru akım kullanılır. Bu teknik normal puls tekniğinden daha duyarlı olup, duyarlılığı 10^{-7} – 10^{-8} M düzeyindedir. Ayrıca seçimliliği de yüksektir.

Doğrusal akım ve normal puls polarografilerinde yan yana analizler için, genelde yarı dalga potansiyelleri arasındaki farkın 120 – 240 mV olması gerekirken, diferansiyel puls polarografisinde bu farkın, alternatif akım polarografisinde olduğu gibi, 30 – 60 mV kadar olması yeterlidir[46] .



Şekil 2.5 : Diferansiyel puls voltametri için potansiyel-zaman değişimi.

2.4.3.Voltamogram

Bu çalışma yönteminde elektrokimyasal hücrede bulunan, polarize olabilen bir çalışma elektrodu ile karşılaştırma elektrodu arasındaki gerilim değeri zamanla değiştirilir. Üç elektrotlu hücrelerde çalışma elektrodu ile yardımcı elektrot, iki elektrotlu hücrelerde ise çalışma elektrodu ile karşılaştırma elektrodu arasındaki akımın ölçülmesine dayanır.

Uygulanan gerilimin ölçülen akım değerlerine karşı çizilen grafiğine “voltamogram” adı verilir. Analizi yapılacak çözelti içindeki elektroaktif maddelerin yükseltgenbilme, indirgenbilme özelliklerine göre elektroliz tepkimesi, çalışma elektroduna ait gerilim aralığının belirli bir noktasında olur. Bu yüzden voltamogram, çözeltideki elektroaktif maddelerin nitel ve nicel özelliklerini yansıtır [44].

2.5. VOLTAMETRİDE KULLANILAN ELEKTROT VE ÖN İŞLEMLER

2.5.1. Camsı Karbon Elektrot

Camsı karbon elektrotlar özel bir yöntemle gözenek büyüklüğü azaltılarak elde edilir. Camsı karbon bazı polimerlerin yaklaşık 1800 °C de ısıl bozundurulmaları sonucunda oluşturulur. Bu malzemeler sert olduğu için her deneme öncesinde parlatılabilirler.

2.5.2. Elektrotlara Uygulanan Ön İşlemler

Katı elektrotlar elektro yükseltgenmede kullanılabilmelerine karşın yüzey, adsorplanabilen maddelerle kaplandığından veya elektrotların kendileri yükseltgendiklerinden ve oksitle kaplandıklarından tekrar edilebilirliğin sağlanması için her deneyden önce aynı yüzey halinin oluşturulması gerekmektedir. Aksi takdirde katı elektrotlar son derece düzensiz davranış gösterirler.

Katı elektrotlarda, elektrot yüzeyinin yenilenmesi söz konusu olmadığından tekrar edilebilir sonuçların alınabilmesi için katı elektrotların yüzeyinin her ölçümden önce temizlenmesi gerekir. Bu işleme ön işlem denilmektedir. Ön işlem hem elektrodun cinsine, hem de deney çözeltisinin bileşimine bağlıdır [45].

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. CİHAZLAR

Voltametik deneylerde hücre sisteminde çalışma elektrodu olarak camsı karbon elektrot (3 mm çapında), karşıt elektrot olarak platin tel ve referans elektrot olarak doymuş kalomel elektrot (SCE) kullanıldı. Voltametik deneylerde Gamry Referans 600 Potansiyostat (Gamry, USA) cihazı kullanıldı. Tüm denemeler oda sıcaklığında (25°C'de) gerçekleştirildi. Her bir deneyde öncelikle elektrot 0,05µm büyüklüğünde alüminyumoksit partikülleri içeren malzeme ile 5 dakika boyunca temizlendi. Temizleme esnasında elektrot yüzeyinde kalan alüminyumoksit partiküllerini uzaklaştırmak için elektrot yıkandı ve etanol:propanol (1:1) karışımı içerisinde ultrasonik banyoda 5 dakika bekletildi.

Taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri FEI - QUANTA FEG 450 SEM cihazı kullanılarak elde edildi. Grafit ve grafenoksidin kristalografik yapıları Cu Kα radyasyonlu Rigaku D/max-2200 Ultima X-Ray difraktometre cihazı kullanılarak aydınlatıldı.

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

3.2. KULLANILAN KİMYASAL MADDELER VE ÇÖZELTİLER

Çalışmalarda mevcut olan en yüksek kalitede ticari reaktifler temin edildi. Parasetamol ve p-aminofenol Sigma'dan (St. Louis, MO, ABD) satın alındı ve hepsi alındığı gibi kullanıldı. $1,0 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹ p-aminofenol (4-AP) stok çözeltisi hazırlandı ve seyreltmeler için kullanıldı. $1,0 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹ p-aminofenol (4-AP) stok çözeltisi ethanol ile çözüldü. Bozulmasını önlemek için, stok ve çalışma standartları her kullanımdan önce günlük olarak ve kahverengi cam balonjojede hazırlandı.

Örnek çözeltileri, istenilen konsantrasyona distile su ile seyreltildi. İdrar ile uygun seyreltmeler yapılarak stok çözeltilerden çeşitli konsantrasyonlarda 4-AP çalışma çözeltileri hazırlandı.

Ticari olarak mevcut olan su-izopropanol çözeltisi içerisinde ağırlıkça %5 Nafyon içeren (eşdeğer ağırlığı 1100g/mol sülfonik asit grupları) çözelti kullanıldı. Ağırlıkça %1 olan nafyon çözeltisi ağırlıkça %5 olan nafyon çözeltisinden izopropil alkol ile seyreltilerek hazırlandı.

Grafen oksit Hummers ve Offeman yöntemine göre grafitten sentezlenmiştir [11, 47]. Bu deneyde kullanılan grafen, grafen oksitin kimyasal redüksiyonu (CR-GO) ile hazırlandı. Redüksiyon hidrazin hidrat ile gerçekleştirildi [48]. Tüm ölçümler oda sıcaklığında gerçekleştirildi.

3.3. ÖRNEK HAZIRLAMA

Üç tablet ya da kapsül (her bir tablet 500 mg parasetamol içermektedir) bir havan içerisinde ince toz haline gelene kadar dövüldü ve ardından hassas olarak her bir numuneden 0,1 gram olarak tartıldı. Ultrasonik banyoda 15 dakika boyunca etanol ile ekstrakte edildi ve süspansiyon 5 dakika süreyle santrifüj edildi. Toplanan örnekler 0,45 µm selüloz asetat membran ile filtre edildi. Filtrelenmiş örnek çözeltileri istenilen konsantrasyona seyreltildi. Kullanmadan önce, tüm örnek çözeltileri 4°C' de buzdolabında muhafaza edildi [49].

İdrar örnekleri, aniline maruz kalmamış gönüllü sağlıklı yetişkinlerden alındı ve bu kişiler 500 mg oral doz parasetamol aldılar. İdrar numuneleri iyi kapaklı kaplarda katkı maddesi olmadan karanlıkta ve soğukta muhafaza edildi. Hemen test edilemeyen idrar numuneleri dondurularak saklandı.

3.4. NAFYON-GRAFEN MODİFİYE ELEKTROT HAZIRLANMASI

GCE yüzeyi ($d=3\text{mm}$) $0,05\mu\text{m}$ gama alümina ile 5 dakika boyunca temizlendi. Ultrasonik banyoda etanol:propanol (1:1) çözeltisi içerisinde 5 dakika bekletilerek yüzeyde kalabilecek alümina partiküllerinden arındırıldı, distile su ile yıkandıktan sonra oda sıcaklığında kurutuldu.

Grafen (GR) 30 dakika boyunca ya da tamamen dağılım gerçekleşinceye kadar destile su içerisinde ($1,0\text{ mg ml}^{-1}$) disperse edildi. $1,0\text{ mg ml}^{-1}$ grafen çözeltisinden $50\ \mu\text{L}$ ve ağırlıkça %1,0 Nafion-izopropil alkol çözeltisinden $10\mu\text{L}$ alınarak 30 dakika boyunca ultrasonik banyoda bekletildi. Daha sonra karışımdan $10\mu\text{L}$ alınarak Nafion / GR / GCE elektrot elde etmek için camı karbon elektrot yüzeyi kaplandı. Çözücünün buharlaşması için elektrot oda sıcaklığında bekletildi. Çözücü buharlaştıktan sonra elektrot yüzeyi hareketli modifiyeyi uzaklaştırmak için distile su ile yıkandı ve havada kurutuldu.

3.5. DENEYSEL PROSEDÜR

Deney koşulları altında, p-aminofenolün çeşitli konsantrasyonları asetat tampon çözeltisi ($\text{pH}=5,5$) içinde CV ve DPV ile incelendi. 4-AP için döngülü voltametri (CV) ve diferansiyel puls voltametri (DPV) sonuçları kaydedildi. CV ile çalışma -500 ile 1000 mV potansiyel aralığında ve 200 mV s^{-1} tarama hızında gerçekleştirildi. Diferansiyel puls voltamogramları ise -200 ile 600 mV potansiyel aralığında (DPV parametreleri; step size, 8 mV s^{-1} ; pulse size, 50 mV ; pulse time, 50 ms) kantitatif analiz sonuçlarına ulaşmak için kaydedildi.

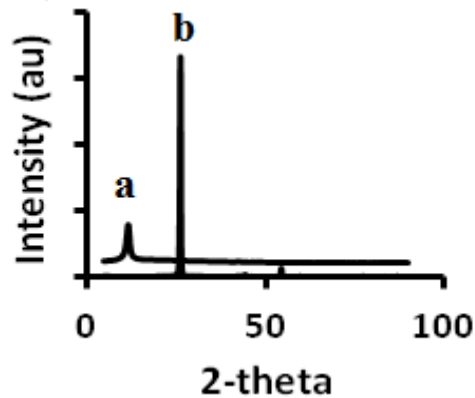
4. BULGULAR

4.1. GRAFEN KARAKTERİZASYONU

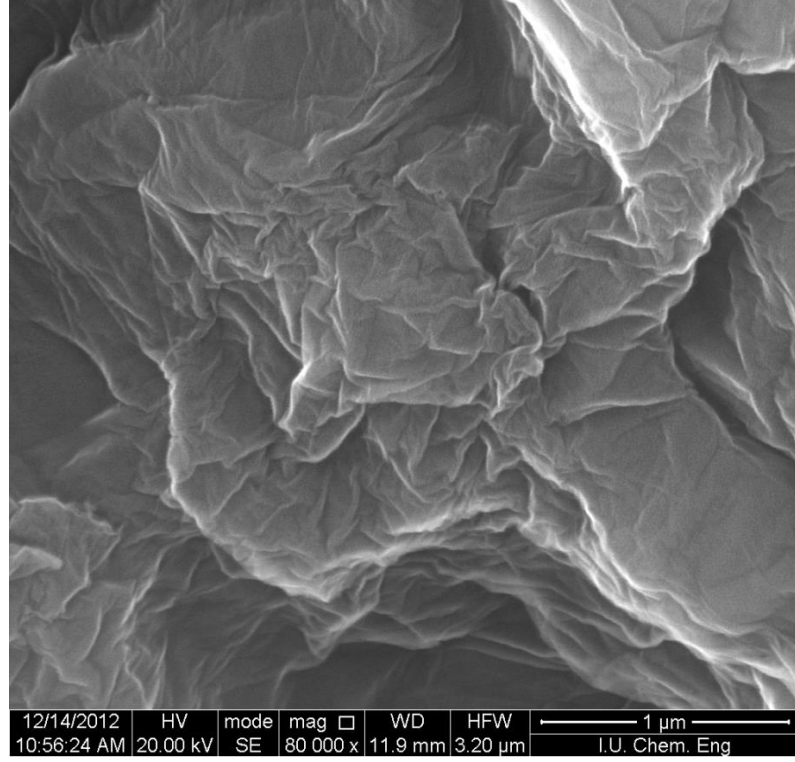
XRD sonuçları reaksiyonun ilerleyişini izlemek için kullanılmıştır. Grafit ve grafen oksit XRD sonuçları, sırasıyla, Şekil 4.1’ de gösterilmiştir. Grafitin karakteristik piki $2\theta=26,4^\circ$ ve $54,6^\circ$ ‘de odaklanmıştır. Tabakalar arası boşluk $2\theta=26,4^\circ$ ‘de $3,37 \text{ \AA}$ olarak bulunmuştur. Oksidasyon sonrası grafit tabakalarının karakteristik piki kaybolmuş ancak $2\theta=11,8^\circ$ ‘de tabakalar arası boşluğu $7,49 \text{ \AA}$ olan yeni bir pik görülmüştür.

Hazırlanan Grafen ve Nafyon-GR nanokompozitinin biçimsel özellikleri taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile elde edilmiştir. Şekil 4.2 ve 4.3’ de GCE yüzeyindeki GR ve Nafyon-GR ‘nin SEM görüntüleri görülmektedir. GCE yüzeyi üzerinde grafen filmin buruşuk ve tabakalı bir yapı gösterdiği görülmektedir.

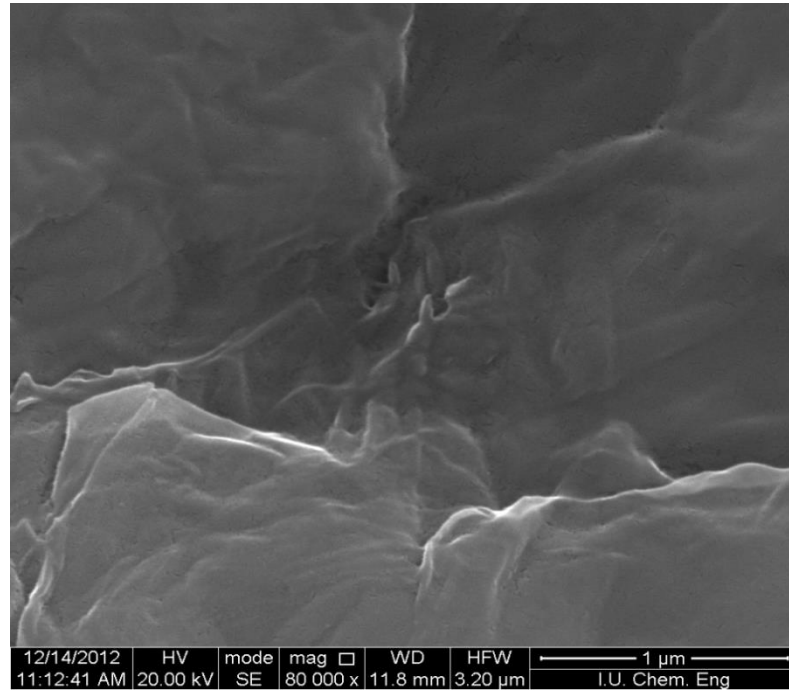
Hazırlanan grafenin biçimsel özellikleri FTIR spektrumları ile elde edilmiştir. Şekil 4.4’ de grafit, grafen oksit ve indirgenmiş grafenin FTIR spektrumları görülmektedir.



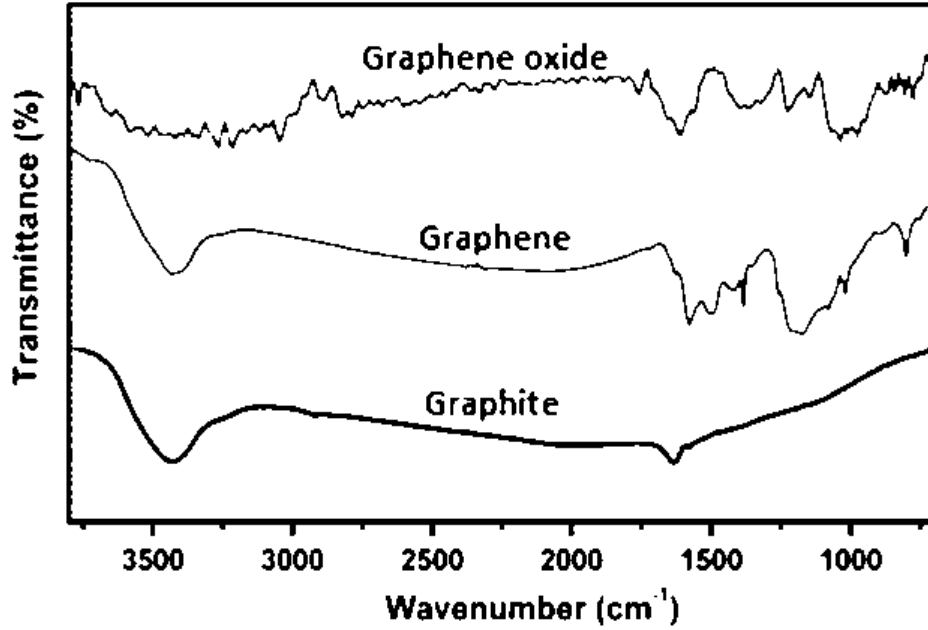
Şekil 4.1 : Grafit (a) ve grafen oksit (b) için XRD sonuçları.



Şekil 4.2 : GCE yüzeyindeki GR filmin SEM görüntüsü.



Şekil 4.3 : GCE yüzeyindeki Nafyon-GR filmin SEM görüntüsü.



Şekil 4.4 : Grafit, grafen oksit ve indirgenmiş grafenin FTIR spektrumları. Saptama (cm^{-1}): Graphene oksit için 1720 C=O (karbonil/karboksi); 1619 C=C (aromatik); 1405 C-O (karboksi); 1220 C-O (epoksi); 1060 C-O (alkoksi) [50, 52]. Karşılaştırma pikleri oksijenli fonksiyonel gruplar nedeniyle indirgenmiş grafen oksitte hemen hemen tamamen kaybolmuştur.

4.2. NAFYON / GRAFEN MİKTARI ETKİSİ

Nafyon: Grafen miktarı 1:1 ve 1:5 oranları arasında CV yöntemiyle araştırıldı. Bu çalışmada Nafyon:Grafen oranının 1:5 olduğu durumda en iyi sonucu verdiği tespit edildi. 1:5 Nafyon / Grafen oranından daha yüksek oranlar için 4-AP'nin verdiği pikin giderek düştüğü saptandı. İletken filmler son derece kararlı Nafion- grafen dispersiyon (GR-Nafion = 5:1) kullanılarak hazırlandı. Hazırlanan Nafyon-grafen filmler, pürüzsüz ve homojen yüzeye sahiptir (Şekil 4.3). En önemlisi, Nafyon/ grafen son derece kimyasal ve elektrokimyasal kararlılık sergiler. Nafyon-grafen filmler kullanılmadan önce ortam koşullarında 2 saat kurumaya bırakıldı. Sensör 24 saatten daha uzun süre kurutulduğunda, 4-AP'ün verdiği pikin düştüğü görüldü. Nafyon filmin iletkenliği filmin nemine bağlıdır [32].

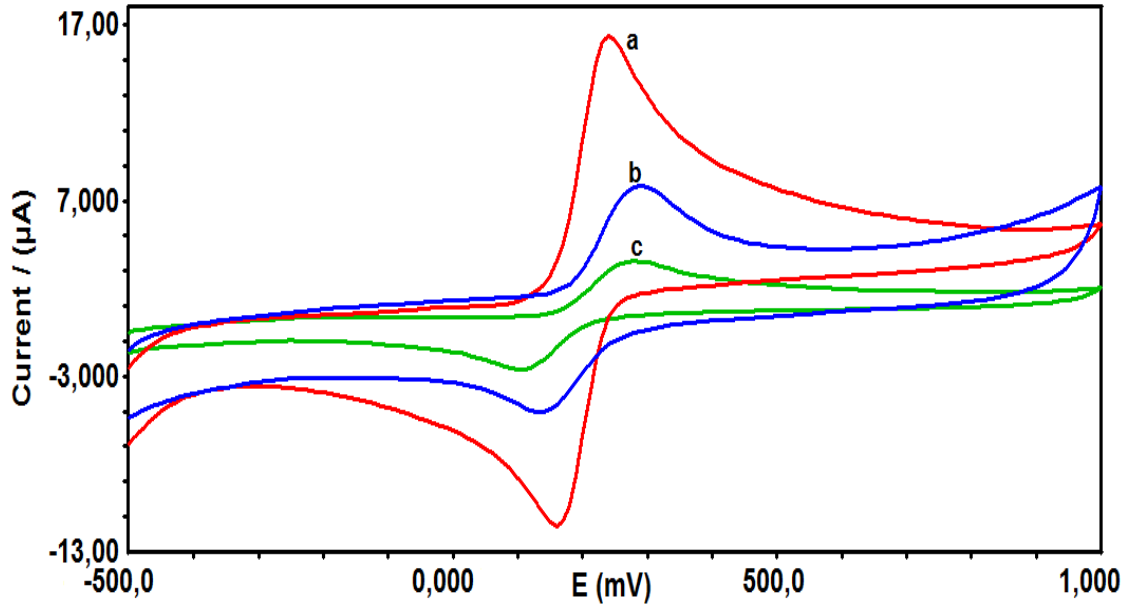
4.3. 4-AP'NİN ELEKTROKİMYASAL DAVRANIŞI

4-AP'nin elektrokimyasal davranışını incelemek için asetat tampon çözeltisi içerisinde GCE ve Nafyon / GR / GCE ile 200 mV/s^{-1} tarama hızında döngülü voltametri çalışmaları yapıldı. Şekil 4.5' da yalnız GCE (Şekil 4.5c), Nafyon / GCE (Şekil 4.5b) ve Nafyon / GR / GCE (Şekil 4.5a) ile 0,1 M asetat tampon çözeltisi içerisinde (pH=5,5), 0,1 mM 4-AP olan ortamda elde edilen elektrokimyasal davranışlar gösterildi. Şekil 4.6' da 0,1M asetat tampon çözeltisi (pH=5,5) içerisinde, yalnız GCE ile herhangi bir sinyal gözlenmedi (Şekil 4.6c), fakat Nafyon / GR / GCE' nin etkin yüzeyi sayesinde daha büyük bir akım sergilediği görüldü (Şekil 4.6a).

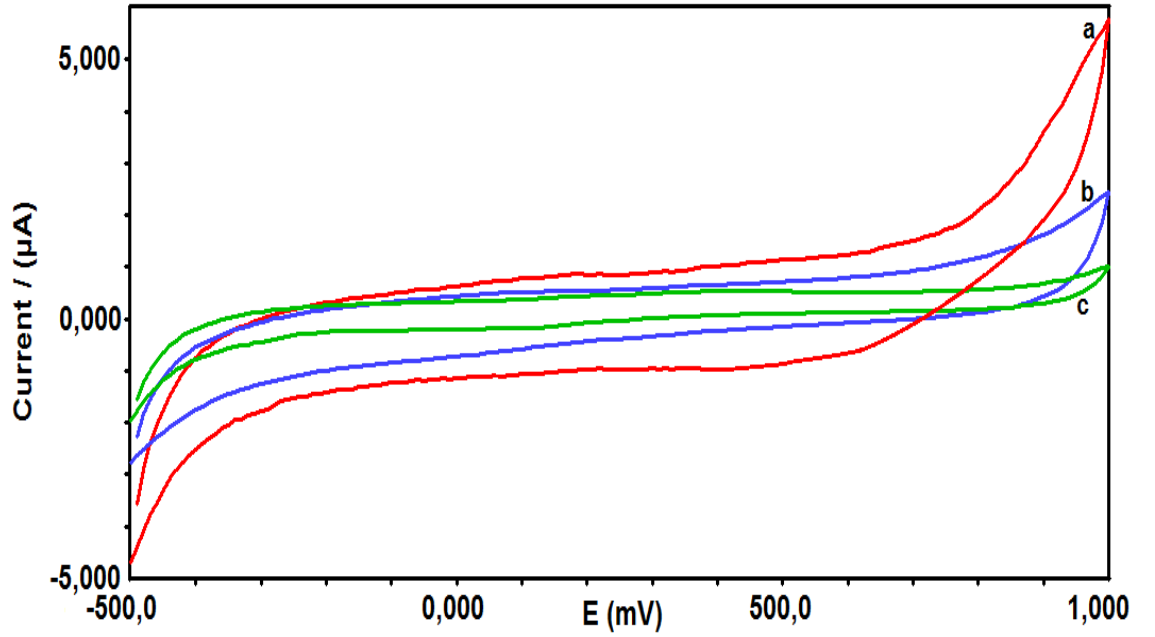
Yalnız GCE üzerinde, polimerik ürün oluşumu olmadan p-aminofenol için yarı tersinir redoks çift ile bir döngülü voltamogram elde edildi ($E_{pa}= 0,370 \text{ V}$ ve $E_{pk}=0,090 \text{ V}$ vs. SCE). Pik potansiyel ayrımı ($\Delta E_p=E_{pa}-E_{pk}$) 280 mV kadar büyük bulundu (Şekil 4.5c). Modifiye edilmemiş GCE üzerinde 4-AP oksidasyonu reversibilitesi nispeten zayıf elde edildi.

Deney sonuçlarına göre, Nafyon /GR / GCE ile 4-AP oksidasyon piki negatif yöne kaydı ve 220 mV' da görüldü, redüksiyon piki ise pozitif yönde kayma gösterdi ve 140 mV' da görüldü (Şekil 4.5a). Nafyon /GR /GCE ile elde edilen ΔE_p değerinin 80 mV'a düştüğü ve 4-AP için elde edilen oksidasyon pikinin daha tersinir hale geldiği açıkça gözlemlendi.

Nicholson teorisine göre, ΔE_p değerinin azalması elektron transfer hızının arttığını göstermektedir [52]. Yani, Nafyon/ GR/ GCE ile 4-AP redoks pik akımları, redüksiyon ve oksidasyon potansiyelleri ve elektron aktarım hızı büyük ölçüde arttı. Nafyon/ GR/ GCE'nin yüksek verimli elektrokimyasal aktivite gösterdiği belirlendi.



Şekil 4.5 : Yalın GCE (c), Nafyon/GCE (b) ve Nafyon/ GR/ GCE (a) ile 0,1M asetat tampon çözeltisi (pH=5,5) içerisinde 0,1mM 4-AP olan ortam için döngülü voltamogramlar.
Tarama hızı: 200mV s⁻¹



Şekil 4.6 : Yalın GCE (c), Nafyon/GCE (b) ve Nafyon/ GR/ GCE (a) ile 0,1M asetat tampon çözeltisi (pH=5,5) içerisinde 0,1mM 4-AP olan ortam için döngülü voltamogramlar.
Tarama hızı: 200mV s⁻¹

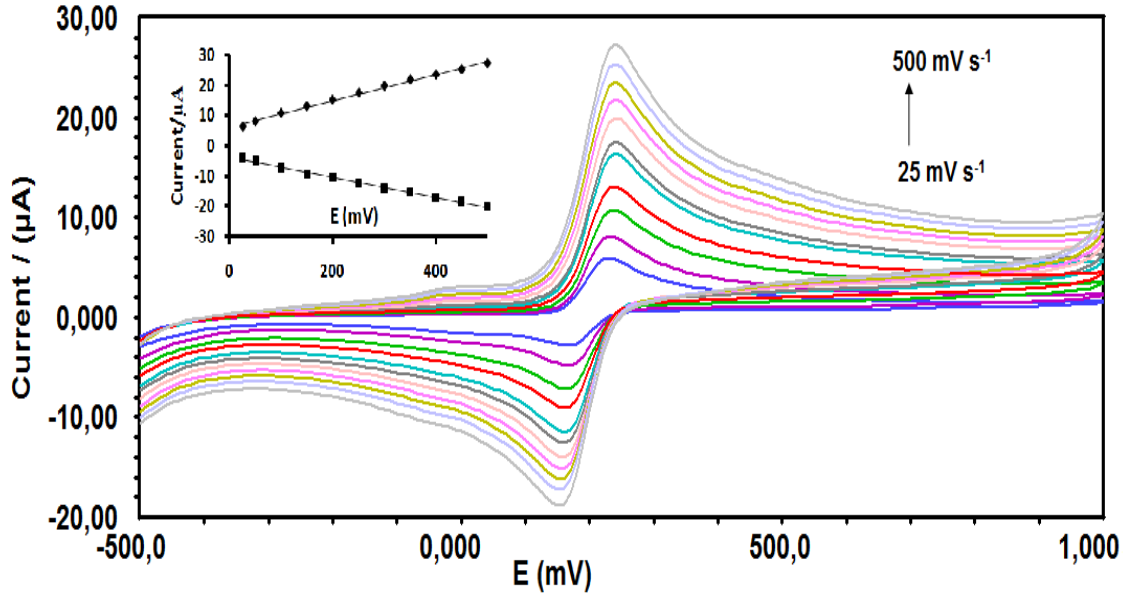
4.4. NAFYON/ GR/ GCE ÜZERİNDE 4-AP'NİN REDOKS MEKANİZMASI

pH 5,5 asetat tampon çözeltisi içerisinde Nafyon/ GR/ GCE ile 0,1 mM 4-AP' nin değişik tarama hızlarında elde edilen oksidatif ve redüktif pikleri döngülü voltametri ile araştırıldı. Şekil 4.7' de Nafyon/ GR/ GCE ile 0,1 M pH 5,5 asetat tampon çözeltisi içerisinde 4-AP' nin değişik tarama hızlarında elde edilen voltamogramları görülmektedir. Şekil 4.7' de gösterildiği gibi, 25 ile 500 mV s⁻¹ aralığında tarama hızı arttıkça anodik ve katodik pik sinyalleri lineer orantılı olarak artmaktadır.

Pik akımı ve tarama hızı arasındaki doğrusal ilişki lineer regresyon denklemi ile ifade edilebilir: $I_{pa}(\mu A) = 0,0434v + 6,2828$ (R=0,9947) ve $I_{pc}(\mu A) = -0,0331v - 3,7156$ (R=0,9954). Elde edilen sonuçlar, 4-AP' nin elektrokimyasal redoks reaksiyonunun Nafyon-GR film üzerinde yüzey kontrollü bir süreç olduğuna işaret etmektedir.

Anodik pik akımının katodik pik akımına oranı $I_{pa} / I_{pc} \approx 1$ olarak bulunmaktadır. Grafen film elektrokimyasal reaksiyonu hızlandırmaktadır ve 4-AP redoks reaksiyonu tersinir olarak gerçekleşmektedir.

Tarama hızları logaritmasının E_{pa} ve E_{pc} lineer regresyon denklemleri $E_{pa} = 0,3127 + 0,0671 \log v$ (R = 0,9910) ve $E_{pc} = 0,02670 - 0,0479 \log v$ (R = 0,9951) olarak sırasıyla verilebilir. Modifiye edilmiş elektrot ile 4-AP'nin elde edilen elektrokimyasal parametreleri Laviron model kullanılarak hesaplanmıştır[53]: $RT/(1-\alpha) nF$ ve $-(RT/\alpha nF)$ çizgilerin eğimine dayanarak, yük transferi katsayısı (α) ve elektron transferi sayısı (n) sırasıyla 0,55 ve 2,0 olduğu tahmin edilmiştir.



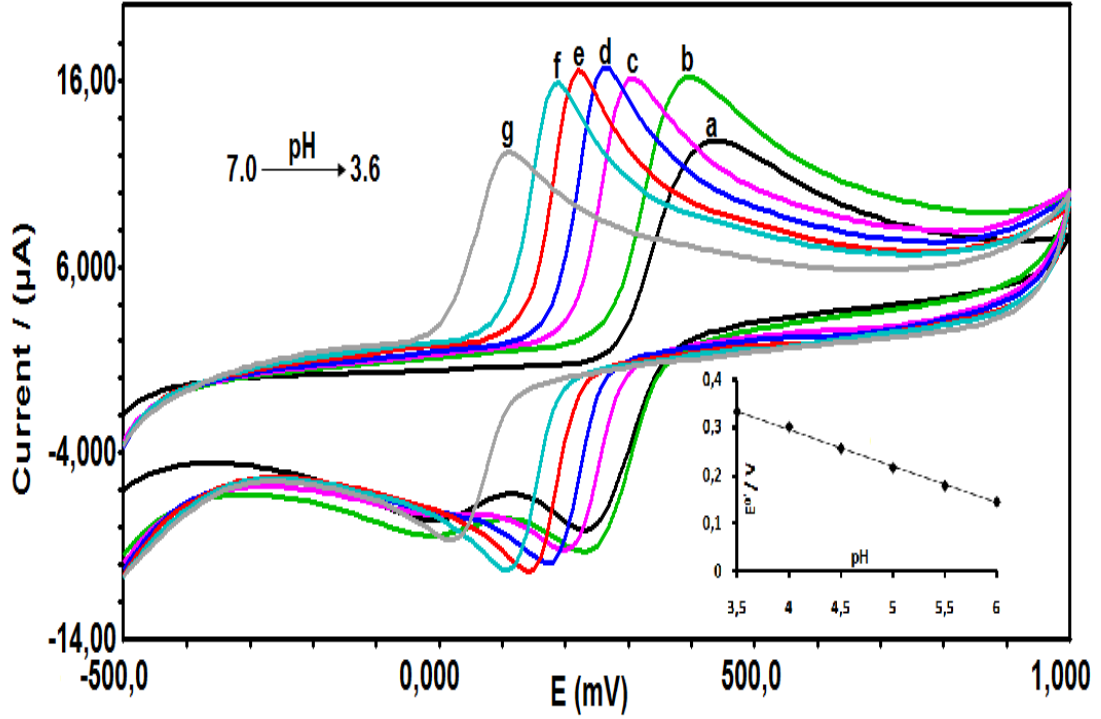
Şekil 4.7 : 25 - 500mV s⁻¹ aralığında (25, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 ve 500mV s⁻¹) değişik tarama hızlarında 0,1 M asetat tampon çözeltisi (pH=5,5) içerisinde 0,1 mM 4-AP için Nafyon/ GR/ GCE ile elde edilen döngülü voltamogramlar. Tarama hızına karşı pik akım grafiği şekil içinde görülmektedir.

4.5. pH ETKİSİ

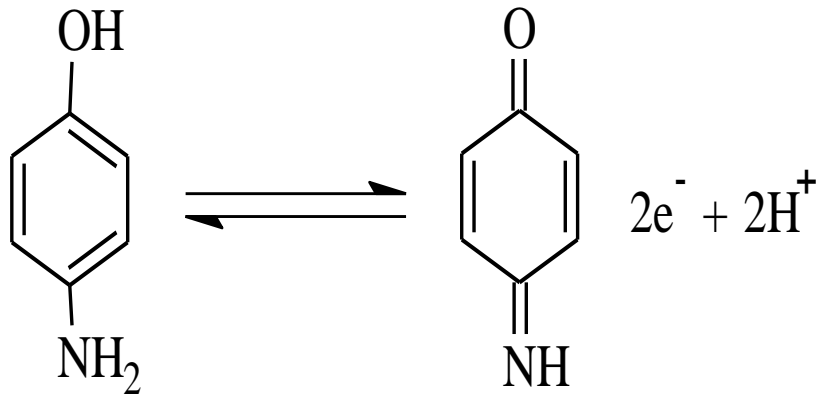
Nafyon/ GR/ GCE üzerinde 4-AP redoks reaksiyonu pH 3,6-7,0 aralığında ve -0,5 ile 1,0 V potansiyel aralığında taranarak incelendi. Şekil 4.8' de görüldüğü gibi 4-AP redoks pik akımı pH 3,6'dan 5'e kadar artmış ve pH 5,5' da sabit kalmıştır. pH değeri 5,5'dan daha yüksek olduğunda 4-AP'nin pik akım sinyal değeri giderek azalma göstermektedir. Ayrıca 3,6'dan 7,0'a çözeltinin pH değeri arttıkça, 4-AP redoks pik potansiyelleri negatif yönde kaymaktadır. pH 5,5'da, hassasiyeti ve pik akım profili için daha iyi sonuç elde edilmektedir. Bu nedenle pH 5,5' te 0,1 M asetat tampon çözeltisi yapılacak denemeler için destekleyici elektrolit olarak seçilmiştir.

pH 4,0-6,0 aralığında $E^{o'} = (E_{pa} + E_{pc}) / 2$ formal potansiyel eşitliği pH'ın bir fonksiyonu olarak ve lineer olarak değişmektedir: $E^{o'}/V = 0,5085 - 0,0598 \text{ pH}$ ($R = 0,9929$). $-59,8 \text{ mV pH}^{-1}$ eğim değeri Nernst denklemi teorik değeri -59 mV pH^{-1} 'e oldukça yakın bulunmaktadır. Bunun anlamı, 4-AP redoks işleminde eşit sayıda proton ve elektron rol oynamaktadır.

Tarama hızı ve pH çalışmalarında elde edilen sonuçlar entegre edildiğinde, 4-AP'nin elektrokimyasal oksidasyonu sonucu kinona dönüşümünde iki proton ve iki elektronun yer aldığı sonucu ortaya çıkmaktadır. 4-AP oksidasyon mekanizması Şekil 4.9.'da önerilmiştir. Bu bulgu literatürle uyum göstermektedir [17, 18].



Şekil 4.8 : Nafion/ GR/ GCE ile 200mV s^{-1} tarama hızında 0,1 mM 4-AP için çeşitli pH değerlerinde asetat tampon çözeltileri ile elde edilen döngülü voltamogramlar. Asetat tampon çözeltisi pH değerleri: a, 3,6; b, 4,0; c, 4,5; d, 5,0; e, 5,5; f, 6,0; g, 7,0 Formal potansiyelin pH değerlerine karşı çizilmiş grafiği şeklin iç kısmında yer almaktadır.



Şekil 4.9 : 4-AP elektrooksidasyon mekanizması

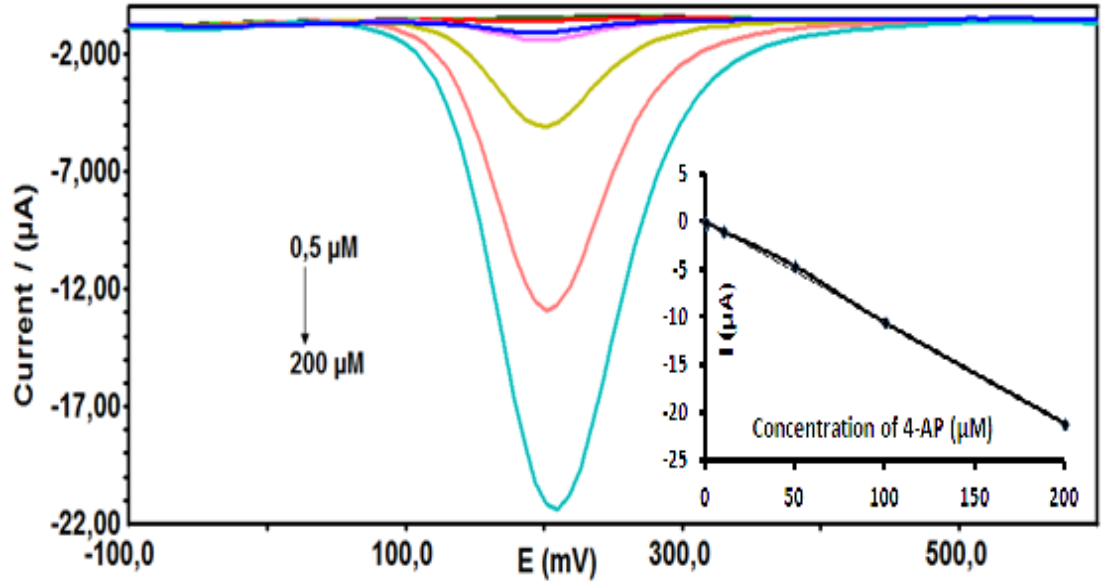
4.6. 4-AP' NİN VOLTAMETRİK BELİRLENMESİ

4-AP konsantrasyonu ve pik akımı arasındaki ilişkiyi araştırmak için, yüksek duyarlılık göstermesi nedeniyle diferansiyel puls voltametri kullanıldı. Şekil 4.10' da 4-AP'nin çeşitli konsantrasyonlarının diferansiyel puls voltamogramları görülmektedir. Şekil 4.11' de 4-AP' nin düşük konsantrasyonları için elde edilen diferansiyel puls voltamogramları görülmektedir. Döngülü voltametri en iyi akım sonuçlarının elde edildiği pH5,5 diferansiyel puls voltametri denemelerinde de kullanılmıştır.

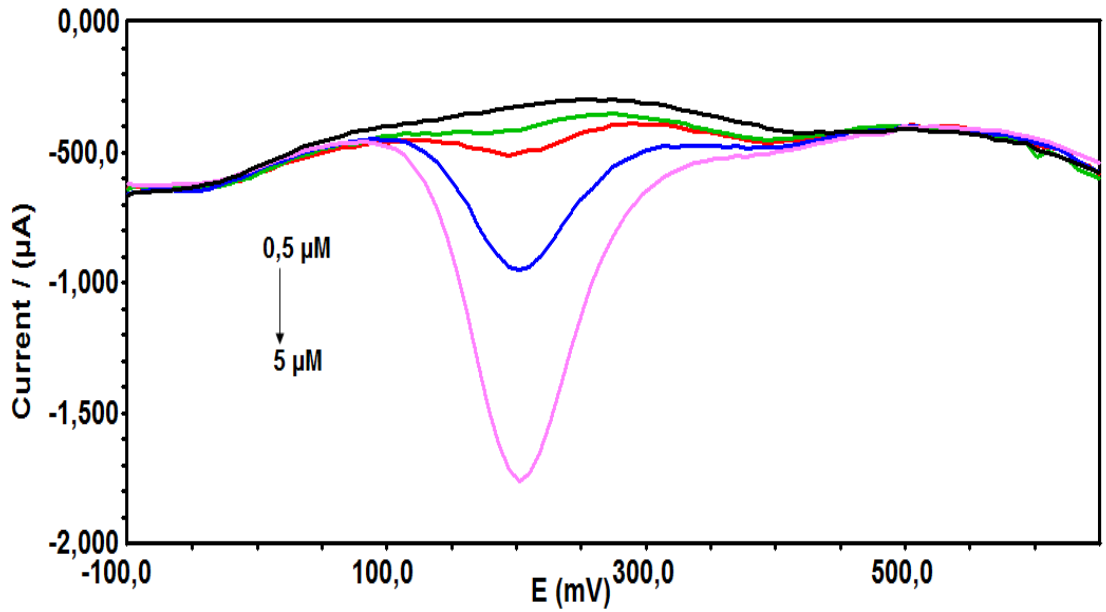
4-AP'nin oksidasyon pik akımı, 4-AP'nin 0,5-200 μM aralığındaki konsantrasyonları ile orantılıdır, elde edilen denklem: $I(\mu\text{A}) = -0,1087 C (\mu\text{M}) + 0,0354$ ($R = 0,9991$). $C_L = 3S_{y/x}/b$ olarak tanımlanan dedeksiyon limiti [54], ($S_{y/x}$ -standart sapması ve b -kalibrasyon çizgisinin eğimi) 0,051 μM olup, GCE'nin dedeksiyon limitinden (1,4 μM) çok daha düşüktür.

Parasetamol örneklerine 4-AP eklendiğinde, iki oksidasyon piki elde edildi ve 4-AP ve PCT için pik potansiyelleri sırasıyla 220 ve 525 olarak bulundu (Şekil 4.13). Şekil 4.12'de döngülü voltamogramda ve Şekil 4.13' de diferansiyel puls voltamogramında görüldüğü gibi 4-AP ana bileşiğe (PCT) göre daha düşük bir oksidasyon potansiyeline sahiptir.

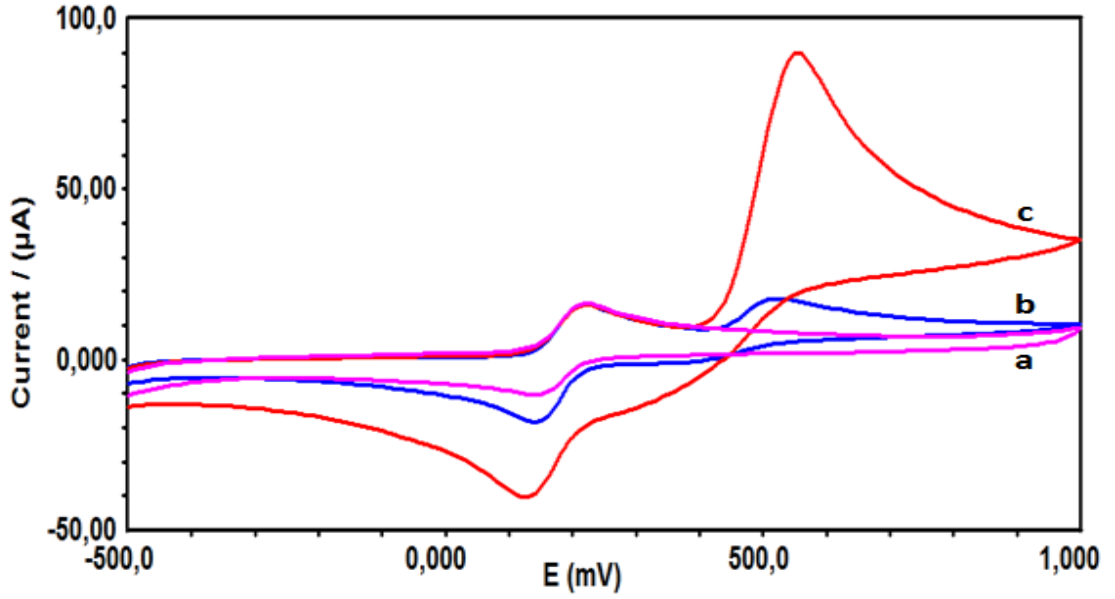
4-AP ve PCT pikleri arasındaki potansiyel farkı 305 mV olup bu potansiyel bu iki maddenin eş zamanlı tayini için yeterince büyüktür[55]. CV ve DPV metodları ile elde edilen deneysel sonuçlarda, 4-AP'nin elektrokimyasal oksidasyon pik akımlarının 4-AP konsantrasyonu ile orantılı olduğu ve 4-AP'nin elektrokimyasal tayini için analitik sinyallerin kullanılabileceği görüldü.



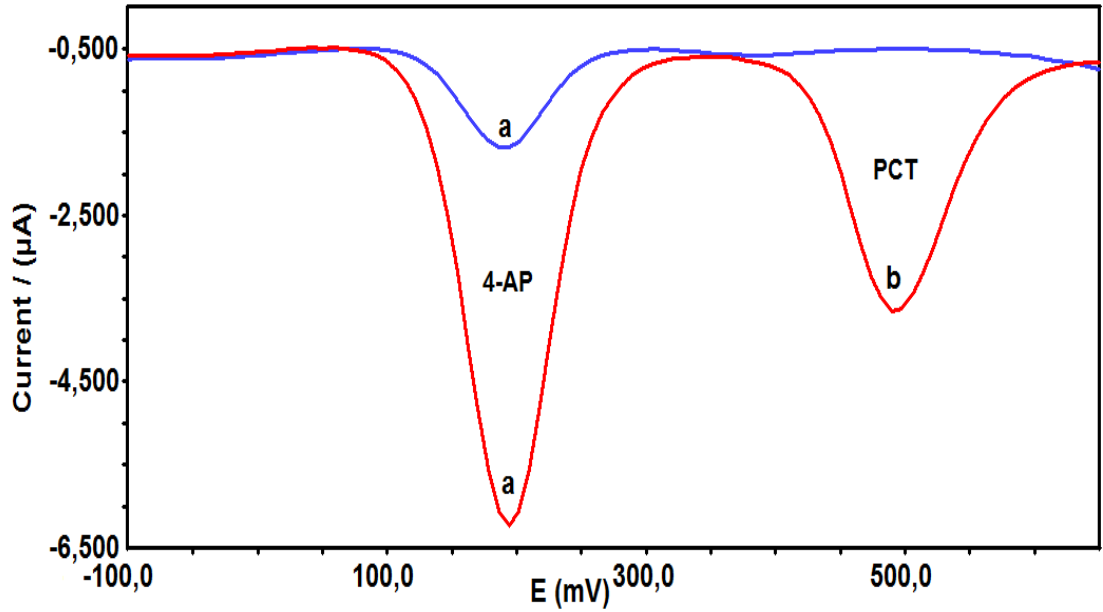
Şekil 4.10 : Nafion/ GR/ GCE ile 0,5-200 µM aralığında çeşitli konsantrasyonlarda 4-AP için asetat tampon çözeltisi (pH:5,5) ile elde edilen diferansiyel puls voltamogramları. Step size, pulse size ve pulse time sırasıyla 8,0 mV s⁻¹, 50 mV ve 50 ms olarak kullanılmıştır. Konsantrasyona karşı akım değerleri ile çizilmiş grafik şeklin iç kısmında yer almaktadır.



Şekil 4.11 : 4-AP'nin farklı konsantrasyonlarını (0,5; 0,8; 1,0; 5,0 µM) ihtiva eden 0,1M asetat tampon çözeltisi (pH5,5) kullanılarak Nafyon/ GR/ GCE ile elde edilen diferansiyel puls voltamogramları.



Şekil 4.12 : Nafion/ GR/ GCE ile 200mV s^{-1} tarama hızında asetat tampon çözeltisi (pH:5,5) ile elde edilen döngülü voltamogramlar. (a) Sadece 4-AP (0,1 mM) ile elde edilen döngülü voltamogram. (b) 4-AP ve PCT ikili karışımına ait döngülü voltamogram. (0,1 mM 4-AP ve 0,1mM PCT (1:1)). (c) 4-AP ve PCT ikili karışımına ait döngülü voltamogram. (0,1 mM 4-AP ve 0,5 mM PCT (1:5)).



Şekil 4.13 : (a) Sadece 4-AP (10 μM) ile elde edilen diferansiyel puls voltamogramı. (b) 4-AP ve PCT ikili karışımına ait diferansiyel puls voltamogramı (50 μM 4-AP ve 50 μM PCT (1:1)) Step size, pulse size ve pulse time sırasıyla $8,0\text{ mV s}^{-1}$, 50 mV ve 50 ms olarak kullanılmıştır.

4.7. TEKRARLANABİLİRLİK, TEKRAR KULLANILABİLİRLİK VE STABİLİTE

Nafyon/ GR/ GCE tek ölçümler için kullanılarak daha iyi tekrarlanabilirlik elde etmek amaçlandı. Bunun için birbirinden bağımsız beş elektrot modifiye edildi ve 50 μ M 4-AP varlığında akım değerleri tespit edildi, %3,8 RSD ile kabul edilebilir bir tekrarlanabilirlik olduğu görüldü. Elektrot 30 günlük süre ile incelenerek uzun süreli stabilite sergilediği tespit edildi.

Modifiye elektrotlar pH 5,5 asetat tamponunda veya destile suda bekletildi ve periyodik olarak ölçümler alındı belirgin bir değişiklik saptanmadı. Elde edilen sonuçlarda Nafyon/ GR elektrodun uzun süreli stabilite gösterdiği, başlangıç değerinin ise %97 doğrulandığı görüldü.

Modifiye elektrot her elektrokimyasal ölçümden sonra 100 mV s⁻¹ tarama hızında 0,1 M asetat tampon çözeltisi içinde -0,5 - 1,0 V potansiyel aralığında 5 döngü CV yöntemi ile temizleme işlemine tabi tutuldu ve 4-AP çözeltisi her kullanımda tazelandı. 4-AP oksidasyonu aynı modifiye elektrot (temizlendikten sonra) üzerinde otuz kez tekrarlandığında elde edilen sonuçlar için RSD %4,5 bulundu. Modifiye elektrodun stabilitesi elektrokimyasal temizlik prosedürüne dayanmaktadır.

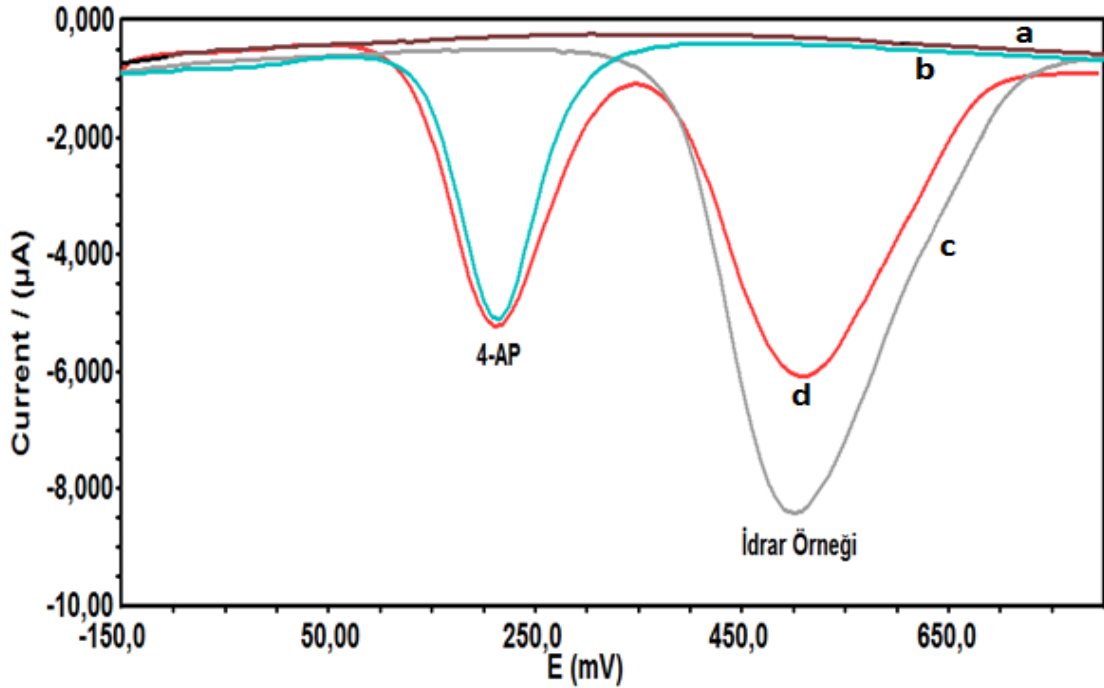
4.8. GİRİŞİM DENEMELERİ

4-AP tayini üzerine bazı inorganik iyon ve organik bileşiklerin etkisi incelendi. İyon müdahale sınırının pik akımını \pm %5 değiştirdiği gözlemlendi. Sonuçlarda, Ca(II), Mg(II), Zn(II), Al(III), Ni(II), Co(II), Mn(II), Cd(II) ve Pb(II)'nin 1000 kat konsantrasyonlarının, m-aminofenol, o-kresol, asetilsalisilik asit, salisilat, benzoik asit, p-aminobenzoik asit, askorbat, indol, triptamin, fenasetin, fenol, aniline, glikoz, askorbik asidin 50 kat konsantrasyonlarının 4-AP tayinine etki etmediği gözlemlendi (pik akım değişimi \pm %5). Ancak, o-aminofenolün 1 kat konsantrasyonunun 4-AP tayinine etki ettiği belirlendi.

4.9. ANALİTİK UYGULAMALAR

Tüm örnekler ile aynı şartlar altında dört kez çalışıldı. 4-AP'nin elektrokimyasal tayini için önerilen metodun uygulanabilirliğini tespit için, metod musluk suyu ve idrar numunelerinin kantitatif analizinde kullanıldı. Musluk suyu ve idrar numunelerinde 4-AP miktarı bilinmediği için, geri kazanım denemeleri yapıldı ve denemeler numunelere 4-AP'nin bilinen konsantrasyonları ilave edilerek, numunenin verdiği cevabın ölçülmesi ile gerçekleştirildi. İdrar numunesi ile yapılan çalışmada diferansiyel puls voltamogramları Şekil 4.14' de verilmiştir.

Deneysel sonuçlar, Tablo 4.1 ve Tablo 4.2'de verilmiştir. Geri kazanım %99,2–%101,7 aralığında olup, sonuç önerilen sensörün 4-AP tayini için uygulanabilirliği ve güvenilirliğini göstermektedir. Deneysel sonuçlara göre, idrardaki p-aminofenolün kantitatif tayini için önerilen metodun hızlı ve kolay bir yöntem olduğu görülmektedir. Bu avantaj toksikoloji ve mesleki tıp klinik laboratuvarlarında kullanılabilir.



Şekil 4.14 : (a) Nafion/ GR/ GCE kullanılarak sadece asetat tampon çözeltisi (pH:5,5) ile elde edilen diferansiyel puls voltamogramı. (b) Sadece 4-AP (10 µM) ile elde edilen diferansiyel puls voltamogramı. (c) PCT almış kişiye ait idrar örneği ile elde edilen diferansiyel puls voltamogramı. (d) PCT almış kişiye ait idrar örneğine 4-AP (10 µM) ilavesi ile elde edilen diferansiyel puls voltamogramı. Step size, pulse size ve pulse time sırasıyla 8,0 mV s⁻¹, 50 mV ve 50 ms olarak kullanılmıştır.

Tablo 4.1 : 4-AP'nin su numunelerinde tayini (N=4).

Numuneler	Katkı (μM)	Bulunan (μM)	RSD (%)	Geri Kazanım (%)
Musluk Suyu A	–	<LOD	–	–
	20,0	20,29	3,45	101,5
	40,0	40,69	3,56	101,7
Musluk Suyu B	–	<LOD	–	–
	20,0	20,18	2,87	100,9
	40,0	40,29	3,77	100,7

Tablo 4.2 : 4-AP'nin idrar numunelerinde tayini (N=4).

Numuneler	Katkı (μM)	Bulunan (μM)	RSD (%)	Geri Kazanım (%)
İdrar A	–	<LOD	–	–
	20,0	20,19	3,34	101,0
	40,0	40,49	2,87	101,2
İdrar B	–	<LOD	–	–
	20,0	19,89	3,57	99,5
	40,0	39,75	2,97	99,2

Tablo 4.3 : Parasetamol tablet numunelerinde 4-AP tayini (N=4).

Numuneler	Katkı (μM)	Bulunan (μM)	RSD (%)	Geri Kazanım (%)
Parasetamol A	–	<LOD	–	–
	20,0	20,18	3,46	100,8
	40,0	40,28	2,89	100,7
Parasetamol B	–	<LOD	–	–
	20,0	20,16	2,76	100,8
	40,0	40,23	2,53	100,5

4-AP, PCT'nin birincil hidrolitik bozunma ürünü olduğu için Amerika Birleşik Devletleri, Avrupa, İngiliz ve Alman Farmakopisi tarafından etkin madde içerisinde 50 ppm'den (0,005% w/w) daha düşük bir seviyede sınırlı kalması gerektiği bildirilmiştir [56]. Bu nedenle, PCT içerisinde bir safsızlık olan 4-AP'nin belirlenmesi için elektrokimyasal sensör gereklidir.

En yaygın formülasyon genellikle tablet başına 500 mg parasetamol içeren tabletler şeklindedir. Parasetamol örneklerinde 4-AP için hiçbir sinyal gözlenemediğinden standart katkı yöntemi kullanıldı. Elde edilen sonuçlar Tablo 4.3'te özetlenerek sunulmuştur. Geri kazanım %100,5–%100,8 aralığında olup, sonuç önerilen sensörün 4-AP tayini için uygulanabilirliği ve güvenilirliğini göstermektedir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Elde edilen sonuçlar, Nafyon-GR filmin 4-AP için etkili bir elektrokimyasal algılama arayüzü olarak kullanılabilirliğini göstermektedir. Üstelik, geliştirilen Nafyon/ GR/ GCE, PCT ve 4-AP'nin eş zamanlı ayrımı için kullanılabilir. Hazırlanan Nafion/ GR/ GCE sensörü diferansiyel puls voltmetrisine dayalı 4-AP tayini için iyi bir performans sergilemiştir.

Modifiye elektrot mükemmel stabilite, tekrarlanabilirlik, duyarlılık, düşük tayin sınırı ve yeterli lineer aralık olmak üzere istenilen özellikleri sergilemektedir. Ayrıca, rutin tayinlerde kullanılmasının mümkün olması, kolay hazırlanması, düşük maliyet gerektirmesi modifiye elektrodun diğer avantajlarındanır.

Nafyon-GR nanokompozit modifiye elektrot (önemli kaybı olmadan 30 kez) saf grafen modifiye elektroda (8 kez) göre daha iyi yeniden kullanılabilirlik sergilemektedir [24,57]. Nafyon-GR nanokompozit modifiye elektrodun elektrokimyasal davranışları daha önce bildirilen bazı elektrotlar ile karşılaştırılmıştır (Tablo 4.4).

Tablo 4.4 : 4-AP sensörlerinin performans karşılaştırması.

Elektrot	LOD (mol L ⁻¹)	Lineer aralık (µM)	Yeniden kullanılabilirlik	Kaynak
Grafen/Çitosan/GCE	$5,7 \times 10^{-8}$	0,2–550	–	[16]
Grafen/Polianilin/GCE	$6,5 \times 10^{-8}$	0,2–20–100	–	[17]
Grafen (ER-GO)/GCE	$2,9 \times 10^{-9}$	0,01–10	8	[24]
Grafen/Nafyon/GCE	$5,1 \times 10^{-8}$	0,5–200	30	Bu çalışma

KAYNAKLAR

1. MITCHELL, S., 1992, *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, vol. II, 4th ed., Wiley, New York, USA, 580.
2. KHAN, S. A., HAMAYUN, M., AHMED, S., 2006, Degradation of 4-aminophenol by newly isolated *Pseudomonas* sp. strain ST-4, *Enzyme Microb. Technol.*, 38, 10–13.
3. XU, H., DUAN, C.-F., ZHANG, Z.-F., CHEN, J.-Y., LAI, C.-Z., LIAN, M., LIU, L. J., CUI, H., 2005, Flow injection determination of p-aminophenol at trace level using inhibited luminol dimethylsulfoxide–NaOH–EDTA chemiluminescence, *Water Res.*, 39, 396-406.
4. FAIRBROTHER, J. E., 1974, Actaminophen, *Anal Profiles Drug Subst.*, 3, 2-109.
5. BOSCH, M. E., SÁNCHEZ, A. J. R., ROJAS, F. S., OJEDA, C. B., 2006, Determination of paracetamol: Historical evolution, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 42, 291-321.
6. HUANG, W. S., HU, W. B., SONG, J. B., 2003, The use of nano-carbon as an alternative to multi-walled carbon nanotubes in modified electrodes for adsorptive stripping voltammetry, *Talanta*, 61, 411-416.
7. SUN, D., LI, X., ZHANG, H., XIE, X., 2012, An electrochemical sensor for p-aminophenol based on the mesoporous silica modified carbon paste electrode, *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 92, 324-333.
8. BEHPOUR, M., GHOREISHI, S. M., HONARMAND, E., 2010, A Gold Nanoparticle-Modified Carbon Paste Electrode as a Sensor for Simultaneous

- Determination of Acetaminophen and Atenolol. *Int. J. Electrochem. Sci.*, 5, 1922-1933.
9. MEHRETIE, S., ADMASSIE, S., HUNDE, T., TESSEMA, M., SOLOMON, T., 2011, Simultaneous determination of N-acetyl-p-aminophenol and p-aminophenol with poly(3,4-ethylenedioxythiophene) modified glassy carbon electrode, *Talanta*, 85, 1376-1382.
 10. Wang, Y., Chen, Z. Z., 2009, A novel poly(taurine) modified glassy carbon electrode for the simultaneous determination of epinephrine and dopamine, *Colloids Surf. B*, 74, 322-327.
 11. PARK, S., RUOFF, R. S., 2009, Chemical methods for the production of graphenes. *Nat. Nanotechnol.* 4, 217-224.
 12. HUANG, X., YIN, X., WU, S., QI, X., HE, Q., ZHANG, Q., YAN, Q., BOEY, F., ZHANG, H., 2011, Graphene-Based Materials: Synthesis, Characterization, Properties, and Applications, *Small*, 7, 1876-1902.
 13. JIANG, H. J., 2011, Chemical preparation of graphene-based nanomaterials and their applications in chemical and biological sensors, *Small*, 7, 2413-2427.
 14. WANG, Y., LI, Z., WANG, J., LI, J., LIN, Y., 2011, Graphene and graphene oxide: biofunctionalization and applications in biotechnology, *Trends Biotechnol.*, 29, 5205-5212.
 15. KANG, X., WANG, J., WU, H., LIU, J., AKSAY, I. A., LIN, Y., 2010, A graphene-based electrochemical sensor for sensitive detection of paracetamol, *Talanta*, 81, 754-759.
 16. BAHRAMÍPUR, H., JALALÍ, F., 2012, Sensitive determination of paracetamol using a graphene-modified carbon- paste electrode, *African J. Pharm. Pharmacol.*, 6, 1298-1305.

17. YIN, H., MA, Q., ZHOU, Y., AI, S., ZHU, L., 2010, Electrochemical behavior and voltammetric determination of 4-aminophenol based on graphene–chitosan composite film modified glassy carbon electrode, *Electrochim. Acta*, 55, 7102-7108.
18. FAN, Y., LIU, J.-H., YANG, C.-P., YU, M., LIU, P., 2012, Graphene–polyaniline composite film modified electrode for voltammetric determination of 4-aminophenol, *Sens. Actuators B*, 157, 669-674.
19. ZANG, J., WANG, Y., ZHAO, X., XIN, G., SUN, S., QU, X., REN, S., 2012, Electrochemical Synthesis of Polyaniline on Nanodiamond Powder, *Int. J. Electrochem. Sci.* 7, 1677- 1687.
20. CAO, Y., MALLOUK, T. E., 2008, The Morphology of Template-Grown Polyaniline Nanowires and its Effect on the Electrochemical Capacitance of Nanowire Arrays, *Chem. Mater.*, 20, 5260-5265.
21. ZHAO, G. Y., LI, H. L., 2008, Preparation of polyaniline nanowire arrayed electrodes for electrochemical supercapacitors, *Micropor Mesopor Mater.*, 110, 590-594.
22. GHANBARI, K., MOUSAVI, M. F., SHAMSIPUR, M., 2006, Preparation of polyaniline nanofibers and their use as a cathode of aqueous rechargeable batteries, *Electrochim. Acta*, 52, 1514- 1522.
23. FAN, Y., LIU, J.-H., LU, H.-T., ZHANG, Q., 2011, Electrochemical behavior and voltammetric determination of paracetamol on Nafion/TiO₂–graphene modified glassy carbon electrode. *Colloids Surf. B*, 85, 289-292.
24. LI, S.-J., DENG, D.-H. PANG, H., LIU, L., XING, Y., LIU, S.-R., 2012, Preparation of electrochemically reduced graphene oxide-modified electrode and its

- application for determination of p aminophenol, *J. Solid State Electrochem.* DOI 10.1007/s10008-012-1720-9.
25. LI, J., GUO, S., ZHAI, Y., WANG, E., 2009, High-sensitivity determination of lead and cadmium based on the Nafion-graphene composite film, *Anal. Chim. Acta*, 649, 196-201.
26. LI, J., GUO, S., ZHAI, Y., WANG, E., 2009, Nafion-graphene nanocomposite film as enhanced sensing platform for ultrasensitive determination of cadmium, *Electrochem. Commun.*, 11, 1085-1088.
27. GUO, C., SUN, H., ZHAO, X.S., 2012, Myoglobin within graphene oxide sheets and Nafion composite films as highly sensitive biosensor, *Sens. Actuators B: Chemical*, 164, 82-89.
28. YIN, H., ZHOU, Y., MA, Q., AI, S., JU, P., ZHU, L., LU, L., 2010, Electrochemical oxidation behavior of guanine and adenine on graphene-Nafion composite film modified glassy carbon electrode and the simultaneous determination, *Process Biochem.* 45, 1707-1712.
29. CHOI, B. G., IM, J., KIM, H. S., PARK, H.-S., 2011, Flow-injection amperometric glucose biosensors based on graphene/Nafion hybrid electrodes, *Electrochim. Acta*, 56, 9721- 9726.
30. ZHANG, L., CHENG, H., ZHANG, H.-M., QU, L., 2012, Direct electrochemistry and electrocatalysis of horseradish peroxidase immobilized in graphene oxide-Nafion nanocomposite film, *Electrochim. Acta*, 65, 122- 126.
31. LIU, K., WEI, J., WANG, C., 2011, Sensitive detection of frutin based on cyclodextrin@chemically reduced graphene/Nafion composite film, *Electrochim. Acta*, 56, 5189- 5194.

32. HUNTER, G. W., XU, J. C., 2011, Polymer Electrolyte-Based Ambient Temperature Oxygen Microsensors for Environmental Monitoring, *NASA Tech. Briefs*, July, 21.
33. SOKOL, W., 1988, Uptake rate of phenol by *Pseudomonas putida* grown in unsteady state, *Biotech.Bioeng.*, 32, 1097- 1103.
34. KAYAALP, O., 1989, *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Cilt 1. Dördüncü Baskı.*, Ankara, 91- 109, 294- 303.
35. MURRAY, R. K., 1991, *Metabolism In Harper's Biochemistry*, 22th Edith. California. Appleton and Lange, 645- 649.
36. ECKERT, G.K., 1988, The metabolism of aminophenols in erythrocytes, *Xenobiotica*, 18, 1319-1326.
37. GARTLAND, G. P. R., BONNER, F. W., TİBRELL, J. A., NİCHOLSAN, J. K., 1989, Biochemical characterisation of para amino phenol-induced nephrotoxic lesion in the F344 rat., *Arch. Toxicol.*, 63, 97- 106.
38. GİLMAN, G. A., RALL, W. T., NİES, A. S., TAYLOR, P., 1990, *Goodman and Gilman's: The Pharmacological Basis of Theropetics*, Eight edition, Pergamon Press, 13-20, 656-658.
39. SACHİN, N. P., 1986, *Pharmacology In Medicine: Principles and Practise*, Chapter 10.2, Analgesic-Antipyrtics. Paul Mazel (Eds.), SP Press International Inc., 224-233.
40. TARLOFF, J. B., GOLDSTEİN, R. S., MORGAN, D. G., HOOK, J. B., 1991, Acetaminophen and p-aminophenol and fischer 344 rats., *Fudemental and Applied Toxicology*, 12, 78- 91.
41. GEİM, A. K. et al., 2007, Rise of graphene, *Nature Materials*, 6, 183- 191.
42. Meyer, J., Manchester Üniversitesi, Yoğun Madde Fiziği Grubu, (<http://www.condmat.physics.manchester.ac.uk/pictures/>), 15.02.2013.

43. YALÇIN, G., 2007, *Bazı Kimyasal Maddelerin DNA ile Etkileşmesinin Biyosensörler ile Algılanması*, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Eczacılık Analitik Kimya Programı.
44. ORTABOY, S., 2011, *Bazı Kobalt Kompleklerin Elektrokimyasal Davranışı ve Titanyumdioksit Üzerinde Adsorpsiyonu*, Doktora Tezi, Kimya Anabilim Dalı Fiziksel Kimya Programı, İstanbul Üniversitesi.
45. DURSUN, Z., DİLGİN, Y., 2012, *II. Uygulamalı Elektrokimya Yaz Okulu Notları Ege Üniversitesi*, Fen Fakültesi Kimya Bölümü, İzmir, 46
46. TURAL, H., GÖKÇEL, H., Đ., ERTAS, F.N., 2006, *Enstrümental Analiz I Elektroanalitik Yöntemler*, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, 24.
47. HUMMERS, W. S., OFFEMAN, R. E., 1958, Preparation of graphitic oxide, *J. Am. Chem. Soc.*, 80, 1339.
48. REN, P.-G., YAN, D.-X., Jİ, X., CHEN, T., Lİ, Z.-M., 2011, Temperature dependence of graphene oxide reduced by hydrazine hydrate, *Nanotechnol.* 22, 055705–055713.
49. FİLİK, H., ÇETİNTAŞ, G., AVAN, A. A., KOÇ, S. N., BOZ, İ., 2013, Electrochemical Sensing of Acetaminophen on Electrochemically Reduced Graphene Oxide – Nafion Composite Film Modified Electrode, *Int. J. Electrochem. Sci.*, 8, 5724-5737.
50. XU, Y., BAİ, H., LU, Lİ, G.C., SHİ, G., 2008, Flexible Graphene Films via the Filtration of Water-Soluble Noncovalent Functionalized Graphene Sheets, *J. Am. Chem. Soc.*, 130, 5856- 5857.
51. Lİ, D., MÜLLER, M. B., GİLJE, S., KANER, R. B., WALLACE, G. G., 2008, Processable aqueous dispersions of graphene nanosheets, *Nat. Nanotechnol.*, 3, 101-105.

52. NICHOLSON, R. S., SHAIN, I., 1964, Theory of Stationary Electrode Polarography. Single Scan and Cyclic Methods Applied to Reversible, Irreversible, and Kinetic Systems, *Anal. Chem.*, 36, 706-723.
53. LAVIRON, E., 1979, General expression of the linear potential sweep voltammogram in the case of diffusionless electrochemical systems, *J. Electroanal. Chem.*, 101, 19- 28.
54. MILLER, J. C., MILLER, J. N., 1993, *Statistics for Analytical Chemistry*, Ellis Horwood Series, PTR Prentice Hall, London, 67.
55. FİLİK, H., ÇETİNTAŞ, G., AVAN, A. A., AYDAR, S., KOÇ, S. N., BOZ, İ., 2013, Square-wave stripping voltammetric determination of caffeic acid electrochemically reduced graphene oxide- nafion composite film, *Talanta*, 116, 245-250.
56. BLOOMFIELD, M. S., 2002, A sensitive and rapid assay for 4-aminophenol in paracetamol drug and tablet formulation, by flow injection analysis with spectrophotometric detection, *Talanta*, 580, 1301-1310.
57. FİLİK, H., ÇETİNTAŞ, G., KOÇ, S. N., GÜLCE, H., BOZ, İ., Nafion- graphene composite film modified glassy carbon electrode for voltammetric determination of p- aminofenol, *Russian J. Electrochem.*, In Press.

ÖZGEÇMİŞ

17.12.1988 yılında Çerkezköy/ Tekirdağ' da doğdum. 1994 yılında başladığım ilköğrenimimi Atatürk İlköğretim ve 75. Yıl İlköğretim okullarında tamamladıktan sonra 2002 yılında Hacı Fahri Zübül Anadolu Lisesi' nde ortaöğrenimime başladım. Ortaöğrenimimim ardından 2006 yılında İstanbul Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Bölümünü kazandım. 4 yıllık üniversite öğrenimimi tamamlayıp 2010 yılında mezun oldum. 2010 yılı güz döneminde İ.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Analitik Kimya Programı'nda yüksek lisans öğrenimime başladım.