



**AMONYUM TAYİNİ İÇİN POTANSİYOMETRİK
SENSÖR GELİŞTİRİLMESİ**

Ayşe Nur TOKMAK

Yüksek Lisans Tezi

Kimya Anabilim Dalı

Analitik Kimya Programı

Prof. Dr. İbrahim YILMAZ

Ocak-2018

**T.C.
KARAMANOĞLU MEHMETBEY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**AMONYUM TAYİNİ İÇİN POTANSİYOMETRİK
SENSÖR GELİŞTİRİLMESİ**



YÜKSEK LİSANS TEZİ

AYŞE NUR TOKMAK

Anabilim Dalı: Kimya

Programı : Analitik Kimya

Tez Danışmanı: Prof. Dr. İbrahim YILMAZ

KARAMAN-2018

TEZ ONAYI

Ayşe Nur TOKMAK tarafından hazırlanan “**Amonyum tayini için potansiyometrik sensör geliştirilmesi**” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. İbrahim YILMAZ

Juri Üyeleri

İmza

Prof. Dr. İbrahim YILMAZ
(Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi,
Kamil Özdağ Fen Fakültesi, Kimya Bölümü)

Prof. Dr. İbrahim Ender MÜLAZIMOĞLU
(Necmettin Erbakan Üniversitesi,
Ahmet Keleşoğlu Eğitim Fakültesi, Kimya Eğitim Bölümü)

Yrd.Doç. Dr. Aytaç GÜLTEKİN
(Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi,
Mühendislik Fakültesi, Enerji Sistemleri Mühendisliği Bölümü)

Tez Savunma Tarihi: 29/12/2017

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Doç. Dr. Kamil ARI
Enstitü Müdürü V.

TEZ BİLDİRİMİ

Yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

Ayşe Nur TOKMAK

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

AMONYUM TAYİNİ İÇİN POTANSİYOMETRİK SENSÖR GELİŞTİRİLMESİ

Ayşe Nur TOKMAK

**Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı**

**Danışman: Prof. Dr. İbrahim YILMAZ
Ocak 2018, 83 Sayfa**

İki aşamalı olarak planlanan bu çalışmanın ilk aşamasında, yapılarında indazol grubu bulunan iyonofor I ve iyonofor II kodlu bileşikler sentezlenerek karakterize edilmiştir. Karakterizasyon işlemlerinde ¹H NMR, IR, elementel analiz gibi enstrümental yöntemler kullanılmıştır. İkinci aşamasında ise, bu iyonoforlar kullanılarak amonyum iyon-seçici PVC membran elektrotlar geliştirilmiştir. Geliştirilen elektrotların, ömrü, cevap süresi, optimum çalışma aralığı, tayin sınırı, seçicilik katsayısı, çalışılabilir pH aralığı gibi bazı karakteristik özellikleri belirlenmiştir. Elektrotların amonyum iyonuna seçicilik gösterdiği ve eğimin 59,4±0,6 mV/pNH₄ olduğu bulunmuştur. Elektrotların çalışma aralığı 1,0x10⁻¹-1,0x10⁻⁴ M olarak bulunmuştur. Elektrotların cevap süresi yaklaşık 15 saniye ve ömürlerinin 2 aydan fazla olduğu belirlenmiştir.

Hazırlanan elektrotların farklı iyonlara karşı seçicilikleri sabit bozucu yöntemi ve ayrı çözelti yöntemi ile tayin edilmiştir. Elektrotların gerçek bir numunenin analizinde kullanılabilirliği araştırılmış, idrar ve kan gibi gerçek numunelere uygulanarak doğruluğu standart ekleme yöntemi ile kanıtlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Amonyum, İyon seçici elektrot, PVC membran, İndazol, İyonofor

ABSTRACT

Ms Thesis

DEVELOPMENT OF POTENTIOMETRIC SENSOR FOR DETERMINATION OF AMMONIUM

Ayşe Nur TOKMAK

Karamanoğlu Mehmetbey University
Graduate School of Natural and Applied Science
Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. İbrahim YILMAZ
January 2018, 83 pages

In the first stage of this work which was planned in two stages, ionophore I and ionophore II compounds containing indazole group were synthesized and characterized. In the characterization of the ionophores, IR, ^1H NMR spectral techniques and elemental analysis were used. In the second stage, ammonium ion selective PVC membrane electrodes were developed by using synthesized compounds. The life time, response time, linear range, detection limit, selectivity coefficient and suitable pH range of the electrodes were determined. Membrane electrodes synthesized during the course of this work exhibited high selectivity towards Ammonium ion over a wide variety of other cations and yielded nernstian slope of $59,4 \pm 0,6$ mV/pNH₄. The linear range of the electrodes were found to be in $1,0 \times 10^{-1}$ - $1,0 \times 10^{-4}$ M. The response time of the electrodes were determined as 15 seconds and life time of the electrodes more than 2 months. Selectivity coefficients of the electrodes were calculated by using separate solution method and fixed interference method.

The applicability of the electrodes to real samples that contain ammonium were tested. For this reason, the electrodes were successfully applied for the determination of ammonium in urine and blood samples and accuracy of the proposed electrodes were confirmed by standart addition method and results were evaluated statistically.

Keywords: Ammonium, Ion selective electrodes, PVC membrane, Indazole, Ionophore

ÖNSÖZ

Bu çalışma KMÜ Kamil Özdağ Fen Fakültesi Öğretim Üyelerinden Prof. Dr. İbrahim YILMAZ' ın danışmanlığında hazırlanarak Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'ne Yüksek lisans tezi olarak sunulmuştur.

Tez konusunun belirlenmesi, çalışmanın yürütülmesi ve tez yazımı aşamasında beni yönlendiren ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam sayın Prof. Dr. İbrahim YILMAZ' a teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca beni maddi ve manevi anlamda destekleyen ve arkamda güçlerini daima hissettiğim, göstermiş oldukları sabır ve fedakârlıklar için babam Mehmet KESİCİ, annem Penbe KESİCİ, eşim Bilge İbrahim TOKMAK, kardeşim Ömer Sefa KESİCİ' ye ve Karaman' daki ailem Esmâ KOCAOĞLU, Erdem KARATAŞ, Hatun TOKGÖZ, Hacer AZAK ve Muhammed Ali KARAMAN'a teşekkürlerimi sunarım, iyi ki varsınız...

Ayşe Nur TOKMAK

Ocak, 2018

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ÇİZELGELER	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI	5
2.1. Tripodal Reseptörler	5
2.2. Amonyum İyonu ve Karakteristik Özellikleri	10
2.3. Potansiyometri	11
2.3.1. Potansiyometrik Analiz Metodları	13
2.4. Potansiyometrik Tayin İlkesi	14
2.5. Elektrotlar	16
2.5.1. İyon-seçici elektrotlar (İSE)	17
2.5.1.1. Polimer esaslı iyon-seçici elektrotların cevap fonksiyonu (membran potansiyel teorisi)	19
2.5.1.2. İyon-seçici elektrotların sınıflandırılması	23
2.5.1.3. İyon-seçici membranların özellikleri	26
2.5.1.4. İyon seçici elektrotların uygulama alanları	27
2.5.2. İyon seçici elektrotların performans özellikleri	28
2.5.2.1. Seçicilik	28
2.5.2.2. Gözlenebilme sınırı	31
2.5.2.3. Doğrusal çalışma aralığı (DÇA)	33

2.5.2.4. Cevap Süresi	33
2.5.2.5. Elektrot Ömrü	34
2.6. Kaynak Araştırması.....	35
3. MATERYAL VE METOT.....	39
3.1. Kullanılan Cihazlar	39
3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	39
3.3. Kullanılan Çözeltiler	39
3.3.1. Amonyum klorür çözeltisi	39
3.3.2. Tris çözeltisi.....	40
3.3.3. Seçicilik katsayıları tayin edilecek katyonların çözeltileri	40
3.3.4. Britton ve Robinson (BR) tamponunun hazırlanması	40
3.4. Sentez Çalışmaları.....	40
3.4.1. İndazol Türevlerinin Sentezi	41
3.4.2. İyonoforların Sentezi	42
3.5. Potansiyometrik Çalışmalar	43
3.5.1. Membranların Hazırlanması.....	44
3.5.2. İyon Seçici Elektrotların Hazırlanması	44
3.5.3. EMF Ölçümleri	46
3.5.4. İyon Seçici Elektrotların Karakteristik Özelliklerinin Belirlenmesi.....	46
3.5.4.1. İyon-Seçici Elektrotların Membran Bileşiminin Belirlenmesi	46
3.5.4.2. İyon-Seçici Elektrotların Kalibrasyon Eğrilerinin Çizilmesi ve Eğimlerinin Belirlenmesi	47
3.5.4.3. İyon-Seçici Elektrotların Cevap Süresinin Belirlenmesi	47
3.5.4.4. İyon-Seçici Elektrotların Ömrünün Belirlenmesi	47
3.5.4.5.İyon-Seçici Elektrotların Seçicilik Katsayısının Belirlenmesi	48
3.5.4.6. İyon-Seçici Elektrotların Tayin Limitinin Belirlenmesi	48
3.5.4.7. İyon-Seçici Elektrotların Çalışma Aralığının Belirlenmesi	49
3.5.4.8. İyon Seçici Elektrotların Biyolojik Sıvılarda Uygulamaları	49
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	51

4.1.1. İndazol Türevlerinin Sentezi	51
4.1.2. İyonoforların Sentezi	54
4.2. Potansiyometrik Çalışmalar	59
4.2.1. İyon Seçici Elektrotların Karakteristik Özelliklerinin Belirlenmesi.....	59
4.2.2. İyon-Seçici Elektrotların İyonofor:Tuz Oranlarının Belirlenmesi	59
4.2.3. İyon-Seçici Elektrotların Membran Bileşiminin Belirlenmesi.....	60
4.2.4. İyon-Seçici Elektrotların Membran Bileşimi İçin En Uygun Plastikleştiricinin ve Tuzun Belirlenmesi	61
4.2.5. İyon-Seçici Elektrotların Kalibrasyon Eğrilerinin Çizilmesi ve Eğimlerinin Belirlenmesi	63
4.2.6. İyon-Seçici Elektrotların Cevap Süresinin Belirlenmesi	64
4.2.7. İyon-Seçici Elektrotların Ömrünün Belirlenmesi	65
4.2.8. İyon-Seçici Elektrotların Tayin Limitinin Belirlenmesi.....	65
4.2.9. İyon-Seçici Elektrotların Çalışma Aralığının Belirlenmesi	66
4.2.10. pH Aralığının Belirlenmesi	66
4.2.11. İyon Seçici Elektrotların Seçicilik Katsayısının Belirlenmesi	67
4.2.12. İyon Seçici Elektrotların Biyolojik Sıvılarda Uygulamaları.....	70
5. SONUÇ	74
6. KAYNAKLAR	75
ÖZGEÇMİŞ	84

ÇİZELGELER

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2. 1. Katı-hal kristalin elektrotların özellikleri (Wang, 2006)	24
Çizelge 4.1. 1,1',1''-((2,4,6-triethylbenzene-1,3,5-triyl)tris(methylene))tris(1H indazole)'e ait elementel analiz sonuçları	57
Çizelge 4.2. 1,1',1''-((2,4,6-triethylbenzene-1,3,5-triyl)tris(methylene))tris(3-methyl-1H-indazole)'e ait elementel analiz sonuçları	59
Çizelge 4.3. İyonofor:tuz oranını belirlenmesi amacıyla yapılan denemeler	60
Çizelge 4.4. Membran bileşiminin belirlenmesi amacıyla yapılan denemeler	60
Çizelge 4.5. İyonofor I PVC membran İSE performansına plastikleştiricinin etkisi	61
Çizelge 4.6. İyonofor II için membran bileşiminde kullanılacak uygun plastikleştirici seçimi için yapılan denemeler	62
Çizelge 4.7. İndazol I için membran bileşiminde kullanılacak uygun tuzun seçimi için yapılan denemeler	62
Çizelge 4.8. İndazol II için membran bileşiminde kullanılacak uygun tuzun seçimi için yapılan denemeler	63
Çizelge 4.9. Elektrotların tayin limitleri, çalışma aralıkları ve eğimleri	66
Çizelge 4.10. Amonyum iyon seçici elektrotların farklı katyonlara karşı seçicilik katsayıları	71
Çizelge 4.11. Amonyum iyon seçici elektrotlar ile kan örneklerinde amonyum tayini ..	72
Çizelge 4.12. Amonyum iyon seçici elektrotlar ile idrar örneklerinde amonyum tayini	73

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. İyonofor I ve iyonofor II tripodal reseptörlerin formülleri	6
Şekil 2.2. İyonlarla seçici bir biçimde etkileşime giren bir reseptör içeren kemosenörün fiziksel sinyalindeki değişimin kullanılarak bağlanmanın okunma metodu	7
Şekil 2.3. Tripodal reseptörler a) polinükleer kompleks oluştururken b) ya da yüzeyinde tek metal merkez oluştururken her üç kolda koordinasyon sağlayabilir.....	7
Şekil 2.4. Potansiyometrenin çalışma prensibinin şematik olarak gösterimi	12
Şekil 2.5. Basit bir potansiyometrik sistem	13
Şekil 2.6. Membran-çözelti ara yüzeyindeki iyon değişimi (cam membran).....	16
Şekil 2.7. Potansiyometrik ölçümün yapıldığı hücrenin şematik gösterimi	17
Şekil 2.8. İç ve dış (numune) çözeltilerindeki analit iyonunun aktivitesinin değişimine karşılık değişen membran potansiyeli.....	19
Şekil 2.9. Tek yüklü bir iyon için tipik bir kalibrasyon grafiği	22
Şekil 2.10. Kaplanmış-tel iyon-seçici elektrodun genel görünümü	25
Şekil 2.11. Seçicilik katsayısının kalibrasyon grafiği ile gösterimi.....	31
Şekil 2.12. İyon-seçici elektrotların gözlenebilme sınırının tayini	32
Şekil 2.13. EİSE değerinin zamanla değişim eğrisi	34
Şekil 3. 1. Sentez reaksiyonlarının gerçekleştirildiği havasız ortam düzeneği.....	42
Şekil 3. 2. İyonofor I ve İyonofor II moleküllerinin formülleri	44
Şekil 3.3. Kullanılan amonyum PVC membran iyon seçici elektrotlar	45
Şekil 3.4. İyon seçici elektrotların ölçüm sistemi	50
Şekil 3.5. İyon seçici elektrotların ölçümlerinin yapıldığı programdan bir kesit.....	50
Şekil 4.1. 1H- indazol bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu	52
Şekil 4.2. 1H- indazol bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu	52
Şekil 4.3. 3-Metil-1H-Indazol bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu	53
Şekil 4.4. 3-Metil-1H-Indazol bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu	54
Şekil 4.5. 1,1',1''-((2,4,6-triethylbenzene-1,3,5-triyl)tris(methylene))tris(1H-indazole)'e ait IR spektrumu.....	55

Şekil 4.6. 1,1',1''-((2,4,6-triethylbenzene-1,3,5-triyl)tris(methylene))tris(1H-indazole)'e ait ¹ H NMR spektrumu.....	56
Şekil 4.7. 1,1',1''-((2,4,6-triethylbenzene-1,3,5-triyl)tris(methylene))tris(3-methyl-1H-indazole)'e ait IR spektrumu.....	57
Şekil 4.8. 1,1',1''-((2,4,6-triethylbenzene-1,3,5-triyl)tris(methylene))tris(3-methyl-1H-indazole)'e ait ¹ H-NMR spektrumu.....	58
Şekil 4.9. İyonofor I kullanılarak yapılan amonyum iyon seçici elektrotun kalibrasyon eğrisi.....	64
Şekil 4.10. İyonofor II kullanılarak yapılan amonyum iyon seçici elektrotun kalibrasyon eğrisi.....	64
Şekil 4.11. Elektrot ömrünün belirlenmesi çalışmaları (eğim-gün grafiği).....	65
Şekil 4.12. İyonofor I' in farklı pH larda amonyum iyonuna cevabı (♦: pH:9.0, ×: pH:7.4,.....)	67
Şekil 4.13. İyonofor II'nin farklı pH larda amonyum iyonuna cevabı (♦: pH:7.4, ■: pH:8).....	67
Şekil 4.14. İyonofor I in amonyumunun FIM metoduyla potasyuma karşı seçiciliği	69

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

Açıklama

E^0	Standart elektrot potansiyeli
E_s	Faz sınır potansiyeli
K_{ij}^{pot}	Potansiyometrik seçicilik katsayısı
E	İndikatör elektrot potansiyeli
R	Gaz sabiti, 8,314 J.mol ⁻¹ .K ⁻¹
T	Sıcaklık, kelvin (0 °C için 273,15 K)
F	Faraday sabiti = 96486 J.volt ⁻¹

Kısaltmalar

Açıklama

AISE	Amonyum iyon seçici elektrot
CGE	Kaplanmış grafit elektrot
CPE	Karbon pasta elektrot
CWE	Kaplanmış tel elektrot
DBP	Dibütil ftalat
DEHA	Di(2-etilhekzil) adipat
DEHS	Bis (2-etilhekzil) sebakat
DKE	Doygun kalomel elektrot
DOP	Dioktil ftalat
DOS	Bis(2-etilhekzil) sebakat (Dioktil sebakat)
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
EMK	Elektromotor kuvveti
FIM	Sabit girişim metodu
IUPAC	Uluslararası Saf ve Uygulamalı Kimya Birliği
ICP-OES	İndüktif eşleşmiş plazma-optik emisyon spektroskopisi
ISE	İyon-seçici elektrot
KTpCIPB	Potasyum tetrakis(p klorfenilborat)
LOD	Gözlenebilme sınırı
LOQ	Tayin sınırı

NaTPB	Sodyum tetrafenilborat
NaTFPB	Sodyum tetrakis[3,5-bis (triflorometil) fenil] borat
<i>o</i>-NPOE	2-nitrofeniloktyleter
<i>o</i>-NPPE	2-nitrofenilpentyleter
pH	Hidrojen iyonu derişiminin eksi logaritması
PME	Polimerik membran elektrot
PVC	Poli(vinil klorür)
PVC-COOH	Karboksilat grupları içeren PVC
SSM	Ayrı çözelti metodu
TBATFB	Tetrabütülamonyum tetrafloroborat
THF	Tetrahidrofuran
TRİS	Tris-(hidroksimetil)aminometan

1. GİRİŞ

Sensörler, fiziksel bir özelliği algılayan veya ölçen sonra kayıt altına alan, gösteren ya da başka bir şekilde cevap oluşturan cihazlardır. Burun, kulak, göz, dil ve parmaklarımız sensörü ifade eden en temel örneklerdir. Laboratuvarlarda kullanılan turnusol kâğıdı en iyi bilinen sensör türüdür, ortamın asitlik ve bazlığı hakkında bilgi verir. Daha kesin bir pH ölçümü için spesifik indikatörler kullanılır. Bununla beraber, ortamın asitliğini ölçen en iyi metot elektriksel cevapla pH yı ölçen bir pH metredir. Sonuçta bu yöntemlerde asitliğin derecesine göre cevap veren sensör, ya bir kimyasal madde ya da pH metredeki cam membran elektrottur. Oluşan kimyasal ya da elektriksel cevaplar genellikle gözlerimizle görebileceğimiz bir sinyale dönüştürülür.

Sensörler üç sınıfa ayrılmaktadır. Bunlar:

- Basınç, sıcaklık, kütle, uzaklık gibi özellikleri ölçen fiziksel sensörler,
- Kimyasal ya da fiziksel cevaplar ile kimyasal maddeleri ölçen kimyasal sensörler,
- Biyolojik bileşenleri kullanarak kimyasal maddeleri ölçen biyosensörlerdir.

Kimyasal sensörler; kimyasal bileşiklere ya da iyonlara seçici ve tersinir bir şekilde cevap veren ve konsantrasyona bağımlı elektriksel sinyaller oluşturan küçültülmüş cihazlara verilen addır (Camman ve ark., 1991). Diğer bir tanımda ise kimyasal sensörler, bir tanımlayıcı bileşen, bir çevirici bileşen ve sürekli ve tersinir bir şekilde kimyasal bir konsantrasyonu bildiren bir sinyal üreticisinden oluşan küçük boyutta aletlerdir (Wolfbeis 1990). Bu tanıma göre cihazın tam bir sensör olarak çalışabilmesi için, konsantrasyonun her iki yöndeki değişiminin de izlenebiliyor olması gerekir.

Kimyasal sensörlerin genel olarak taşıması gereken özellikler:

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

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

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

Kimyasal sensörlerdeki buluşlar, 1966’da kalsiyum, flor, gümüş ve sülfür iyonları için, iyon seçici elektrotların geliştirilmesi, buna 1967’de potasyum iyonunun katılması ile devam etmiştir. Birçok iyon seçici membranların geliştirilmesi ve polimer ile elektronik teknolojisinde bir araya gelmesi ile doğrudan potansiyometrik ölçümlerle sonuç veren elektrotlar piyasaya sürülmüştür (Camman ve ark., 1991). Kimyasal sensörler genel olarak 4’e ayrılmaktadır:

1. Elektrokimyasal Sensörler
2. Gaz Sensörler
3. Gravimetrik Sensörler
4. Biyosensörler

Elektrokimyasal sensörler doğrudan doğruya elektrik sinyalleri üretirler. Bu elektrokimyasal sensörlerin hem en önemli avantajlarından biri hem de kimyasal sensörlerle elektrokimya alanları arasındaki yakın bağın nedenlerinden biridir. En basit haliyle elektrokimyasal sensör zayıf bir elektrolit kaplamayla ayrılmış algılayıcı ve karşıtı olmak üzere iki elektrottan oluşmaktadır. Bu yapı likit, jel ve son zamanlarda kullanılan haliyle katı formda olabilir. Ölçüm sonuçları lineer, kesin ve çok hassastır. Cevap verme süreleri 30 ile 60 saniye arasındadır. Çok küçük ppm değerlerinde bile ölçüm büyük bir başarıyla yapılır. Ömürleri genellikle 2-3 yıl kadardır. Oksijen sensörü ömrü hızlı oksidasyon ve elektrolitin daha hızlı tükenmesi nedeniyle daha kısadır ve genellikle 1-2 yıldır. Sensör ömürleri ölçülen gaza, gazın konsantrasyonuna ve ölçüm yapılma sıklığına göre değişkenlik gösterebilir. Elektrokimyasal sensörler birkaç yanıcı gaz dışında genellikle zehirli gazların algılanmasında kullanılmaktadır. Sıcaklık ve nemli ortamlar sensör hassasiyetini düşürebilmektedir, bu yüzden tasarımlarda sıcaklığı sabit tutacak düzenekler kullanılması daha iyi ölçüm sonuçları için tavsiye edilmektedir.

Elektrokimyasal sensörler genel olarak 4 başlık altında toplanmaktadır:

1. Voltametrik sensörler
2. Amperometrik sensörler
3. Kondüktometrik sensörler
4. Potansiyometrik sensörler

Reseptör, analitin şekil ve boyutunu tamamlamada organize olan çeşitli fonksiyonellikler içerebilir. Reseptörün topolojisi reseptör-iyon etkileşimlerinin ayrıntılarını tanımlamada önemlidir. Her bir kolu hedef iyon ile koordine olabilen bir fonksiyonel grup taşıyan çok kollu tripodal reseptörler, asiklik iyonoforların özel bir türünü oluşturur. Tanıma motifi olarak tripodal temelli reseptörler iyon seçici elektrot membranlarında (Sasaki ve ark., 2001a; Kim ve ark., 2002a; Kim ve ark., 2002b; Reinoso-Garcia ve ark., 2005; Reinoso-Garcia ve ark., 2006) ve optik sensörlerde (Wiskur ve ark., 2001; Niikura ve ark., 1999; Wei ve ark., 2005; Schmuck ve Schwegmann, 2006) tanıma bileşeni olarak başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Katyon ve anyonlara duyarlı ve seçici tanıma gösteren bu yapılar, çevresel kontrol ve endüstriyel amaçlardan klinik teşhislere kadar birçok alanda önemlidir.

Çok kollu tripodal reseptörler, hedef anyonlarla koordine olabilen ligantları içeren asiklik iyonoforların özel bir sınıfını oluşturmaktadırlar. Anyon ve katyonların yapay reseptörlere karşı duyarlılığı ve seçici tanınması, onların birçok alandaki potansiyel uygulamalarından dolayı son zamanlarda önemli bir araştırma konusu olarak ilgi çekici hale gelmiştir (Antonisse ve Reinhoudt, 1998; Antonisse ve Reinhoudt, 1999; Beer ve Gale, 2001; Diamond ve Nolan, 2001; Ludwig ve Dzung, 2002).

Amonyum; zayıf bir asittir. Doğada amonyum proteinlerde bulunur. Bu nedenle deniz ürünleri başta olmak üzere birçok canlının bir kısmında amonyum kökü mevcuttur. Amonyum tayini fizyolojik, çevresel kontrol ve klinik analizler gibi çok çeşitli bilimsel alanlarda oldukça önemlidir (Buhlmann ve ark., 1998). Amonyum, üre ve kreatin gibi önemli hastalık belirteçlerinin bozulması şeklinde vücutta gerçekleşen bir çok enzimatik proseslerde önemli bir metabolittir (Davies ve ark., 1988; Karakuş ve ark., 2006). İdrar ve kan gibi vücut sıvılarında küçük konsantrasyonlarda amonyum bulunmaktadır.

Amonyum tayini amacıyla amonyum iyon seçici elektrotların geliştirilmesi için bir takım çalışmalar yapılmıştır fakat iyi sonuçlar alınamamıştır (Yasuda ve ark., 1984; Pranitis ve Meyerhoff, 1987; Hall, 1990; Alegret ve ark., 1993; Liu ve ark., 1993; Stamm ve ark., 1993; Borchardt ve ark., 1995; Shin ve ark., 1998). Bunun temel nedeni, amonyum iyonuna seçiciliği yüksek bir iyonofor sentezlenememesidir.

Bu çalışmada, amonyum iyonuna karşı yüksek seçiciliğe sahip iyonofor I ve iyonofor II tripodal reseptörleri kullanılarak iyon seçici membran elektrotlar geliştirilmiştir. Geliştirilen elektrotların ömrü, cevap süresi, optimum çalışma aralığı, tayin limiti, seçicilik katsayısı ve diğer cevap karakteristikleri araştırılmıştır. Ayrıca, bu elektrodun çeşitli analitik amaçlarla kullanılıp kullanılmayacağını belirlemek amacıyla kan ve idrar örneklerinde uygulamaları yapılmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI

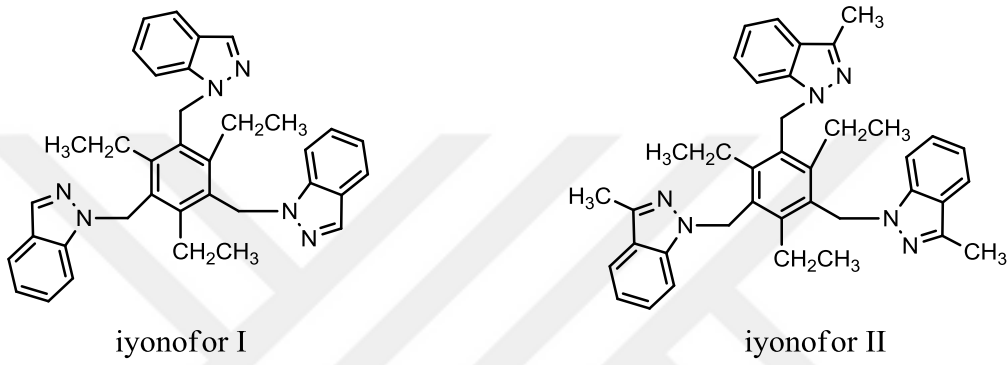
2.1. Tripodal Reseptörler

Anyon ve katyonların yapay reseptörlere karşı duyarlılığı ve seçici tanınması, onların birçok alandaki potansiyel uygulamalarından dolayı son zamanlarda önemli bir araştırma konusu olarak ilgi çekici hale gelmiştir (Antonisse ve Reinhoudt, 1998; Antonisse ve Reinhoudt, 1999; Beer ve Gale, 2001; Diamond ve Nolan, 2001; Ludwig ve Dzung, 2002). Spesifik bir analite karşı seçici özellik gösteren yapay bir reseptör geliştirilirken tamamlayıcı bir şekilde host ve guest arasındaki çoklu etkileşimler göz önünde bulundurulmalıdır. Özel bir iyonla karşı optimal seçicilik gösteren bir yapay reseptörün dizaynında birkaç strateji izlenebilir. Reseptör, analitin şekil ve boyutunu tamamlamada organize olan çeşitli fonksiyonellikler içerebilir. Reseptörün topolojisi reseptör-iyon etkileşimlerinin ayrıntılarını tanımlamada önemlidir. Her bir kolu hedef iyon ile koordine olabilen bir fonksiyonel grup taşıyan çok kollu tripodal reseptörler, asiklik iyonoforların özel bir türünü oluşturur. Ön organizasyona (preorganizasyon) göre siklik ile asiklik ligandlar arasında oldukları varsayılan tripodal reseptörler, benzer asiklik reseptörlere göre, iyonlar ile daha etkili kompleks yapabildikleri bilinmektedir (Berocal ve ark., 2000). Bu çalışma ya katyon (Reinoso-Garcia ve ark., 2005) ya da anyon (Kim ve ark., 2002) analitlere karşı çoklu etkileşimler sağlayan reseptörler olan tripodal reseptörlere odaklanmıştır.

Tripodal moleküler platform, ligand gruplarının bağlanabildiği üç kol sağlamaktadır. Moleküler dizayn; seçicilik, kararlılık ve kompleksleşme gibi bağlanma özelliklerinin kontrol edilmesine izin verir. Bir tripodal reseptörün seçiciliği büyük oranda kollarının rijitliği ve kavite büyüklüğüyle ilişkilidir (Ballester ve ark., 1999; Sato ve ark., 1999; Fan ve ark., 2002). Tripodal reseptörlerin veya ligandların, monopodal ve hatta bipodal reseptörlere göre birkaç avantajının var olduğu bilinmektedir.

Bu avantajlar: (1) Artan şelat etkisinden dolayı tripodal reseptörler genellikle metal iyonlarına çok güçlü bir şekilde bağlanabilir. (2) Tripodal ligandların hacimliliği, metal iyonuna karşı reaktiviteyi kontrol edebilecek şekilde hacimsel ayarlamalara imkan verir.

Bu ayırt edici özelliklerinden dolayı yapay tripodal reseptör sisteminin dizaynı ve geliştirilmesi supramoleküler kimyada aktif bir çalışma alanıdır (Berocal ve ark., 2000; Reinoso-Garcia ve ark., 2005). Dahası bunlardan çok azı iyon duyarlılığı uygulamalarından bahsetmektedir. Bu çalışmaların çoğu iyon seçici elektrodlar (ISEs) kullanan potansiyometrik metot ve optik sensörler üzerine yoğunlaşmıştır. Bu tez çalışmasında iyon seçici elektrot uygulamaları için sentezlenen tripodal reseptörlerin formülleri aşağıda (Şekil 2.1) verilmiştir.



Şekil 2.1. İyonofor I ve iyonofor II tripodal reseptörlerin formülleri

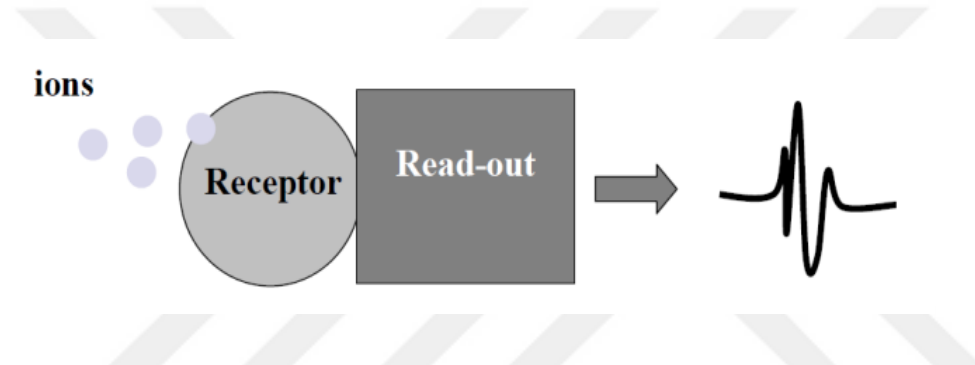
Katyon Tanıma

Bir katyon ya da anyon için kemosensör dizaynında, katyon ya da anyon ile seçici olarak etkileşen bir reseptör birimi veya ligand ve fiziksel sinyal değişimlerini kullanarak bağlanmayı gösteren bir metot gereklidir (Şekil 2.2) (Martinez-Manez ve Sancenon, 2003). Donor-atom içeren üç esnek zincire sahip özel yapılarından dolayı tripodal reseptörler, alkali ya da toprak alkali metallere kadar birçok katyonla kompleks oluşturabilirler. Bir tripodal reseptör, kollarının kimyasal modifikasyonu ile (örneğin zincir uzunluğu veya donör atomu değiştirerek) ve belirli deneysel koşullar altında metal iyonlarla seçici olarak kompleks yapabilir (Lu ve ark., 2001; Goodall ve ark., 1997). Tripodal bir katyon reseptörü dizayn etmenin temel gereklilikleri şunlardır:

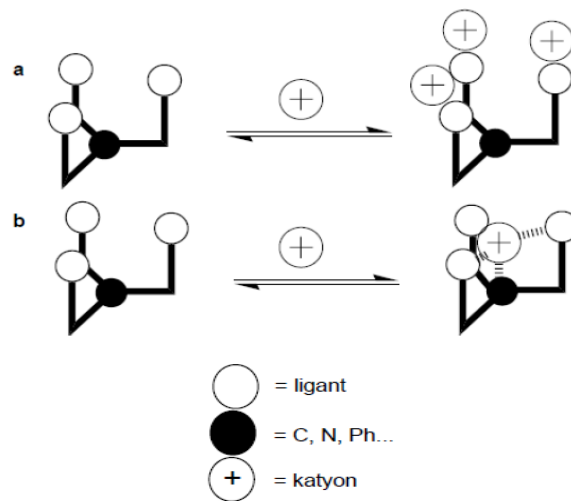
- i) Koordinasyon sayısını karşılamak için ligandda yeterli sayıda donör atom olmalıdır.
- ii) Kavitenin büyüklüğü metal katyonunu içine alacak yeterlilikte olmalıdır.
- iii) Donör atom içeren kollar, koordinasyon küresi oluşturabilecek kadar yeterince esnek olmalıdır.

iv) Şelatlama veya çözünen donör gruplar, bir tripodal reseptör içinde birleştiğinde kompleksleşme mekanizmasında, örneğin iyon değişirme veya iyon çiftleşmesi gibi mekanizmalar dikkate alınmalıdır.

Tripodal reseptörler, sıra dışı koordinasyon özelliği yüksek termodinamik kararlılık ve kinetik, inertlik gösteren metal iyonlarıyla kompleks oluşturabilirler (Teulade-Fichou, ve ark., 1996, Amendola ve ark., 2000, Ge ve ark., 2005). Bu tripodal reseptörler tek bir metal merkezine yüzeysel bir şekilde metal iyonlarının etrafında toplar oktahedral kompleksler oluşturacak veya çok çekirdekli kompleksler oluşturacak şekilde üç boyutlu olarak bağlanabilir (Şekil 2.2) (Ge ve ark., 2005).



Şekil 2.2. İyonlarla seçici bir biçimde etkileşime giren bir reseptör içeren kemosensörün fiziksel sinyalindeki değişimin kullanılarak bağlanmanın okunma metodu



Şekil 2.3. Tripodal reseptörler a) polinükleer kompleks oluştururken b) ya da yüzeyinde tek metal merkez oluştururken her üç kolda koordinasyon sağlayabilir

Kimyasal sensörler, numunedeki iyonların ya da spesifik bileşiklerin varlığı hakkında direkt veya dolaylı olarak bilgi verirler. Kimyasal sensörler alanında en çok uygulama alanı bulan iyon seçici membranlar (elektrotlar) laboratuvar analizlerinde, proses kontrollerinde, fizyolojik ölçümlerde, çevresel izlemelerde en önemli anahtar bileşendir ve iyon seçici membranlar günümüzde, analitik kimyanın başlıca araştırma alanlarından bir tanesidir. Değişik iyonlara karşı duyarlılık gösteren iyon seçici elektrotların (İSE) geliştirilmesi ve bunların uygulamaları 1960'lı yılların sonlarından beri devam etmektedir (Bakker ve ark., 1997). Pratik uygulama alanlarının çoğunluğu, bu konuya olan ilginin artmasının en önemli nedenlerinden birisidir. İyon seçici elektrotlarla ilgili 1990'dan beri 7000'den fazla makale yayınlanmıştır (Bühlmann ve ark., 1998). İSE'lerle ilgili temel ilgi özellikle klinik kimyadan kaynaklanmaktadır, örneğin, sadece klinik kimya laboratuvarlarında kandaki elektrolitlerin tayininde dünya çapında İSE'lerle senede bir milyardan üzerinde ölçüm yapıldığı tespit edilmiştir. Özellikle analitik kimyada (klinik kimyada) geniş bir uygulama alanı bulan iyon seçici elektrotların hazırlanmasında farklı iyonlar için yüksek seçicilik gösteren iyonoforlar kullanılmaktadır. İSE'lerle okunan örnek sulu çözelti halinde, organik çözültide ya da katı halde olabilir. Bu nedenle farklı çeşitlikte membranlar olması gerekir. Özel uygulamalar için her tip membranın kendine has karakteristik özellikleri olmalıdır ve kullanılan membran tipleri, cam, katı hal, sıvı iyon değiştiricili PVC membran ya da gaz duyarlı prob şeklinde olabilir. Özellikle sıvı iyon değiştiricili ve nötral taşıyıcılı elektrot yapımında kullanılan membranda bulunan iyonoforun bağlandığı grubun büyük ve iyon aktif bir grup olması istenir. Genellikle hidrofobik özellikteki bu grup, iyonoforun organik fazda kalmasını sağlayarak, polar özellikteki iyon aktif uçların organik fazla suyun oluşturduğu ara yüzeye yönelmesiyle sulu fazdaki iyonları bağlayabilmektedir. Büyük hidrofobik grup olarak genellikle uzun zincirli alkil grupları tercih edilmektedir. 1985 yılında Richard Smalley, Robert Curl, Harry Kroto tarafından keşfedilen (Kroto ve ark., 1985) fullerenerler (C₆₀, C₇₀, vs.) büyük hidrofobik gruplardır ve bu amaç için kullanılabilirler.

Taç eterler (Crown eter) İSE'lerin gelişmesinde önemli bir rol oynayan ve nötral taşıyıcılı olarak nitelendirilen, bir kimyasal madde grubundadır. Taç eterlerde bulunan bağ yapmamış elektron çiftlerinin metalleri koordine etme özellikleri vardır ve genellikle 1:1 metal:ligand kompleksleri verirler. Ayrıca ligandın daha büyükçe bir

metal iyonunu sararak oluşturduğu 1:2 metal:ligand kompleksleri de (Sandviç kompleksler) mevcuttur. Taç eterlerin bu özelliklerinden dolayı bir çok çalışmacı, bu ligandları İSE yapımında iyonofor olarak kullanmışlardır (Zhou ve ark., 1988; Blair ve ark., 1989).

Moleküllerin iyonofor özelliği

Moleküllerin iyonofor özelliği büyük ölçüde sahip olduğu heteroatomlar, halka sayısı, çeşitli ligandların bağ yapıları ve uzaysal yerleşimleri ile ilgilidir (Graf ve ark., 1982; Jon ve ark., 2001). Sadece çok az iyonoforda fonksiyonel grubun analitle etkileşimi çok büyük, fakat bozucu iyonlar için bu etkileşim ihmal edilebilir düzeydedir. Sadece bir tek analit ile etkileşen bir iyonoforun bulunması mümkün görünmemektedir. Çoğu durumda, analit ile çok fazla etkileşen fakat bozucu iyonlarla daha az etkileşen bir iyonoforu tasarlamak yeterlidir. Öte yandan, çoğu durumda, iyonofor ve bozucu iyonlar arasındaki istenmeyen etkileşimleri tamamen ortadan kaldırmanın tek yöntemi, imkan dahilinde bağlanan fonksiyonel gruba bozucu iyonun girişini sterik olarak engellemektir. İdeal durumda, iyonofor analit iyonu mükemmel bir şekilde sarmalıdır. Analit iyonundan daha geniş olan bir bozucu iyon, iyonofor boşluğuna giremeyecek kadar büyüktür. Bu tip iyonoforlara örnek olarak birkaç sentetik kaliksaren, yüksek sterik engelli crown eter ve metalloporfirinler ve ayrıca valinomisin ve nonaktin gibi doğal antibiyotikler verilebilir.

Bu yaklaşım, analit iyonundan küçük olan her bozucu iyonun hâlâ böyle bir iyonofor boşluğuna girebilmesi gibi sınırlamalara sahiptir. Bir analit bağlayan boşluğa sahip iyonoforla, bu tip küçük bozucu iyonlar arasındaki etkileşimin büyümesini sınırlayan iki yol mevcuttur:

- İyonofor kalitesinin, bozucu iyonla uyuşmak amacıyla şeklini değiştirmesini önleyecek şekilde iyonoforu rigid yaparak, iyonofor ve bozucu iyon arasındaki etkileşimden sakınmak,
- Az sayıda güçlü etkileşim uçlarından çok, çeşitli zayıf etkileşim uçlarını kullanmak (Demirel, 2004).

Bu gibi temel prensipleri göz önüne alarak dizayn ettiğimiz moleküllerde merkezde altı sübstitüentli bir benzen halkası ki, bu altı sübstitüentten üçü sterik olarak potasyumun altı koordinasyonunu sağlamasını engelleyecek, diğer üç sübstitüent ise indazol moleküllerinden oluşmaktadır ki, bunlar da amonyum iyonu ile üç ayaklı bir kompleks oluşturacaktır.

2.2. Amonyum İyonu ve Karakteristik Özellikleri

Azotun bir formu olan amonyum, NH_4^+ formülüyle gösterilen bir katyon köktür. Amonyumun molar kütlesi 18.05'dir. Güçsüz bir asit olan amonyum doğada proteinlerde bulunur. Bu nedenle deniz ürünleri başta olmak üzere birçok canlının bir kısmında amonyum kökü mevcuttur. Yine çürükçül canlılar amonyum üretir.



Amonyum iyonu, çevresel tarım alanlarında ve nehirlerde de çok yaygın olarak bulunan bir katyondur. Çevresel örneklerde amonyum iyonunun varlığı doğal suların ötrifikasyonu ve kirliliğin boyutlarını göstermektedir. Çevresel amonyumun yüksek seviyesi çiftçilerin tarlaları aşırı şekilde gübrelemesi ve fabrika ve endüstrinin kirletmesi sonucu oluşmaktadır (Goldman ve ark., 2010; Escandarin ve Shariati, 2011; Timmer ve ark., 2005). Amonyum tayini için amonyum iyon seçici elektrotların geliştirilmesi için bir takım çalışmalar yapılmıştır fakat iyi sonuçlar alınamamıştır (Yasuda ve ark., 1984; Pranitis ve Meyerhoff, 1987; Hall, 1990; Alegret ve ark., 1993; Liu ve ark., 1993; Stamm ve ark., 1993; Borchardt ve ark., 1995; Shin ve ark., 1998). Bunun temel nedeni, seçiciliği yüksek bir iyonofor sentezlenememesidir.

Amonyum tayini fizyolojik, çevresel kontrol ve klinik analizler gibi çok çeşitli bilimsel alanlarda oldukça önemlidir (Buhlmann ve ark., 1998). Amonyum, üre ve kreatin gibi önemli hastalık belirteçlerinin bozulması şeklinde vücutta gerçekleşen bir çok enzimatik proseslerde önemli bir metabolittir (Davies ve ark., 1988; Karakuş ve ark., 2006). İdrar ve kan gibi vücut sıvılarında küçük konsantrasyonlarda amonyum bulunmaktadır. Kanda amonyum iyonu pH düzenlenmesinde büyük rol oynamaktadır.

Spesifik olarak, kanda amonyum bulunması kan hücrelerinin içinde ve dışındaki pH 'ı düzenler (Jacobs, 1922). In situ amonyum iyonunun takibi sağlık ve sıhhat için oldukça önemli bir değerlendirmedir (Kamer ve Halperin, 2006). Amonyum ISE (iyon seçici elektrot) lerin bir çoğu amonyak tayin etmek için geliştirilmiştir. Bununla birlikte insan vücudunun fizyolojik pH ında amonyak-amonyum arasındaki denge büyük ölçüde amonyum lehinedir. Bunun anlamı amonyum seçici elektrotlar vücuttaki amonyak konsantrasyonunu dolaylı olarak takip edebilmektedir. Artan amonyak konsantrasyonu hepatit coma ve Reye's sendromu ile ilişkilendirilmektedir ki bu ölümcül bir çocuk hastalığıdır. Amonyum seçici elektrot ile amonyak konsantrasyonunun takibi böbrek rahatsızlığının ve mide ülserinin teşhisinde de önemlidir. Çünkü artan amonyum miktarı bu problemlerle ilgilidir (Meyerhoff ve ark., 1982). Gerçekte, böbrek tarafından üretilen amonyum idrar ve kan yoluyla dışarı atılır. Dolayısıyla bu her iki biyolojik sıvıların klinik analizleri bireysel sağlık için çok önemlidir (Adeva ve Souto, 2011).

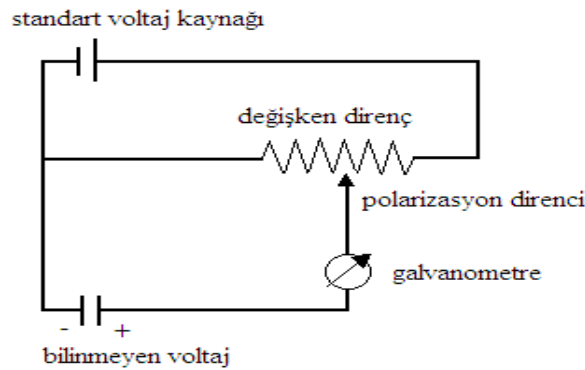
2.3. Potansiyometri

Genel olarak, potansiyometrik analiz yöntemleri bir elektrokimyasal hücreden bir akım geçmezken yapılan potansiyel ölçümlere dayanan yöntemlerdir. 20. yüzyılın başından beri potansiyometrik teknikler, titrimetrik analiz yöntemlerinde dönüm noktasının belirlenmesi amacıyla kullanılmaktadır. Daha sonraları ise bu yöntemlerle iyon seçici bir membran elektrodun doğrudan potansiyeli ölçülerek iyon derişimi belirlenmesi çalışmalarının da yapıldığı görülmüştür. Bu tür elektrotlar ile önemli ölçüde girişimler olmaksızın pek çok sayıda farklı anyon ve katyonun kantitatif tayini hızlı ve doğru olarak yapılabilir (Skoog, 1998).

Potansiyometride bir numunenin bileşimine dair bilgiler iki elektrot arasında oluşan potansiyel ile elde edilmektedir. Potansiyometri, kökleri 20. yy öncesine dayanan klasik bir analitik tekniktir. Günümüzde ise yeni seçici elektrotların hızlı gelişiminin yanında hassas ve kararlılığı yüksek elektronik bileşenlerin 1970'lerden bu yana kullanımının artması ile potansiyometrik ölçümlerin analitik uygulamaları ile ilgili alan daha da genişlemiştir.

Seçici potansiyometrik elektrotlar günümüzde, klinik tanı ve teşhis, kan, serum ve üründeki iyonların doğrudan tayini, endüstriyel proseslerin kontrolü ve çevresel analizler gibi birçok alanda yaygın olarak faaliyet göstermektedir. Örneğin; bu cihazlar dünya çapında neredeyse bütün hastanelerde, kanda bulunan önemli elektrolitlerin (K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , H^+ , Cl^-) tayini için kullanılmaktadır. Analitik kimyacıların hızlı, düşük maliyetli ve doğru analizlere olan ihtiyacının potansiyometrik ölçümlerle karşılanabilmesi bu alandaki hızlı gelişimin nedenlerinden biri olarak göstermektedir (Konopka ve ark., 2006; Wang, 2006; De Marco ve ark., 2007; Köseoğlu, 2011).

Elektrokimyasal hücredeki çözeltiden akımın hiç geçmediği veya minimal düzeyde geçtiği durumlarda, indikatör elektrotla referans elektrot arasında ortamdaki iyonların aktivitelerine bağlı olarak değişen potansiyel farkın ölçüldüğü bir tayin yöntemidir. Potansiyel ölçümlerinde genellikle iki tür cihaz kullanılır. Bunlar potansiyometre ve pH metredir. Potansiyometre düşük dirençli devre ölçümleri için kullanılırken, pH metre yüksek dirençli cam elektrotların kullanımı için yapılmıştır. Cam elektrotla pH ölçümleri, potansiyel ölçümünü de içine almaktadır. Şekil 2.4' te bir potansiyometrenin çalışma prensibi şematik olarak gösterilmiştir. Değişken direncin ayarlanması ile, standart voltajın bilinen kısmı bilinmeyen voltaja karşı işaretlenir. İki voltaj eşit olduğunda, galvanometreden herhangi bir akım geçmez. Böylece bilinmeyen voltaj, değişken direncin pozisyonundan okunabilir.

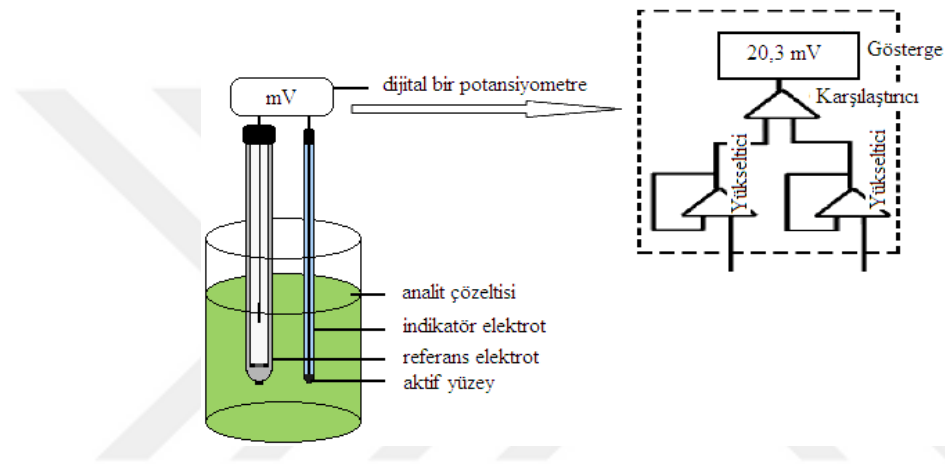


Şekil 2.4. Potansiyometrenin çalışma prensibinin şematik olarak gösterimi

Potansiyometrik sistem, bir test hücresi (elektrolitik çözelti), buna bağlantılı olan indikatör elektrot (değişken potansiyel) ve referans elektrot (sabit potansiyel) ile kararlı

bir potansiyometreden oluşur. Bunlara “potansiyometrik hücre elemanları” da denir. İyon seçici elektrotlar bir çeşit potansiyometrik sensördür ve akımın sıfıra yakın olduğu ve referans elektrotun bulunduğu bir sistemde, çözeltideki bir iyonun aktivitesindeki değişimine bağlı olarak değişen potansiyelin ölçülmesini sağlamaktadır (Morf, 1981).

Analit çözeltisine daldırılan indikatör elektrotta, mevcut iyon veya iyonların derişimine bağlı olan bir potansiyel değişimi meydana gelmektedir. Dolayısıyla potansiyel değişimi ölçülerek iyonların derişimleri tayin edilebilir hale gelmektedir.



Şekil 2.5. Basit bir potansiyometrik sistem

2.3.1. Potansiyometrik Analiz Metotları

İyon seçici elektrotların ortaya çıkmasıyla potansiyometri, elektrot mekanizmalarının aydınlatılması, biyokimyasal ve biyomedikal uygulamaların yanında klinik ve kirlilik analizleri gibi birçok farklı alanlarda kullanılır hale gelmiştir. İyon seçici elektrotlar, birçok iyonik, moleküler ve gaz türlerinin tayininde geniş bir kullanım alanına ve özgün özelliklere sahiptir. İyon seçici elektrotlarla ilgili yapılan araştırmaların önemli bir kısmını birçok iyon yanında sadece bir iyon seçicilik gösteren elektrotlar oluşturmaktadır. İyon seçici elektrotlarla ilgili uygulamalar ve tayin edilebilecek türlerin sayıları gün geçtikçe daha da artmaktadır. Bu nedenle bugün çok sayıda anyon ve katyona duyarlı iyon seçici membran elektrot geliştirilmiştir. Günümüzde de piyasada bakır, kadmiyum, kurşun, sodyum, potasyum, klorür, bromür, sülfat,

amonyak, karbon dioksit duyarlı elektrotlar gibi çok sayıda iyon seçici membran elektrot bulunmaktadır. Bu elektrotlar, hem duyarlı oldukları türlerin doğrudan tayininde, hem de dolaylı olarak başka türlerin tayininde de kullanılabilir (Dalkıran ve ark., 2010).

2.4. Potansiyometrik Tayin İlkesi

İyon seçici elektrotta iyon-seçici membran, iç standart ve test çözeltisindeki iyonları birbirinden ayırır. Elektronlar, basit iyonlar veya test edilen iyonun yüklü ya da nötral kompleksleri, membranın iç kısımlarına doğru iç standart çözeltinin kompozisyonuyla orantılı olarak taşınmaktadır. Böylece oluşan elektrostatik potansiyel (EMF), standart referans elektrot yarı hücresiyle membran elektrot yarı hücresi birleştirilerek ölçülür. Konsantrasyon ile elektrot potansiyeli arasındaki ilişki aşağıdaki eşitlik (2.1)' deki gibidir.



Eşitlik (2.1)' deki tersinir yarı reaksiyonu incelendiğinde, bir elektrodun potansiyel farkı (E), Nernst (Nernstian) eşitliğiyle (2.2) de verilmiştir (Deelder R.S. ve ark., 1981).

$$E = E^0 \pm \frac{RT}{nF} \ln \frac{a_C^c a_D^d \dots}{a_A^a a_B^b \dots} \quad (2.2)$$

E = İndikatör elektrot potansiyeli

E^0 = Standart elektrot potansiyeli

R = Gaz sabiti, $8,314 \text{ J.mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$

T = Sıcaklık, kelvin (0°C için $273,15 \text{ K}$)

F = Faraday sabiti = $96.486 \text{ J.volt}^{-1}$

$$\frac{a_C^c a_D^d \dots}{a_A^a a_B^b \dots} \quad (2.3)$$

Elektrotta hissedilen iyon aktiviteleri

n = Alınan-verilen elektron sayısı veya membrandaki aktif iyon yüküdür.

a = iyon aktivitesi olmak üzere,

eşitlik tek bir iyon için yazılırsa, aşağıdaki (2.4) hali alır.

$$E = E^0 \pm \frac{RT}{nF} \ln_i a_i \quad (2.4)$$

(\pm) ; Anyonlar için (-), katyonlar için (+) olur.

Eğer iyon aktivitesi a_1 'den a_2 'ye değişirse potansiyel değişimi aşağıdaki gibi olur.

$$E = E^0 \pm \frac{RT}{nF} \ln \frac{a_2}{a_1} \quad (2.5)$$

Eşitlik (2.5)'e göre, çözeltilerde iyon aktivitesinin artması sonucu elektrodun cevabı logaritmik olarak gözlenir.

$$E = E^0 \pm \frac{2.303RT}{nF} \ln \frac{a_2}{a_1} \quad (2.6)$$

Eğer ölçümler 25°C de yapılırsa, sabit sayılar yerine yazıldığında yukarıdaki Nernst eşitliği aşağıdaki eşitlik (2.7) halini alır.

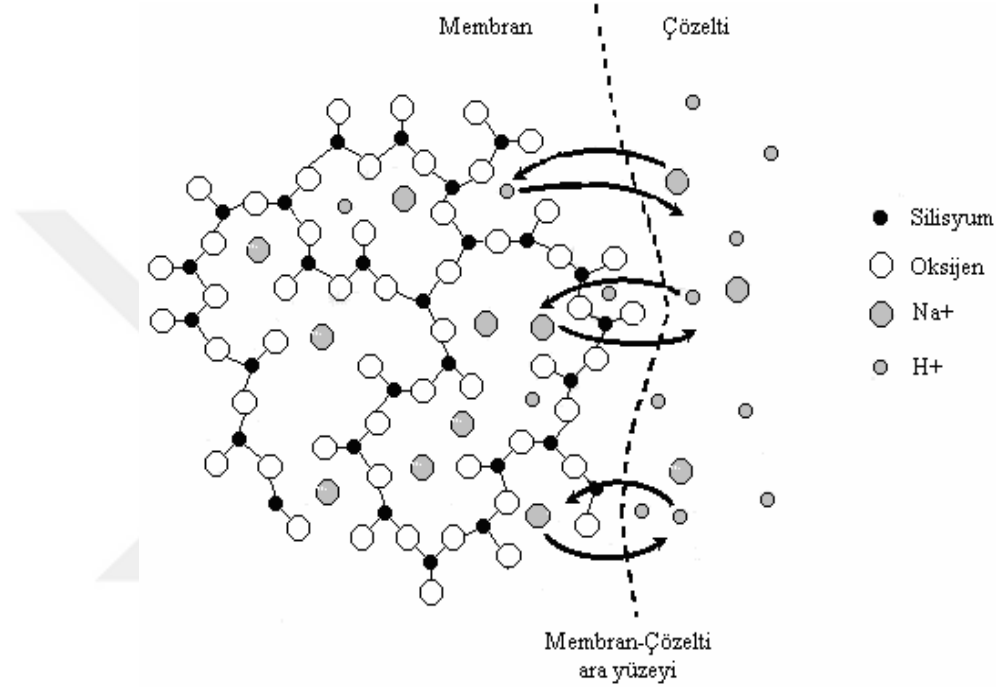
$$E = E^0 \pm \frac{0.0592}{n} \log \frac{a_2}{a_1} \quad (2.7)$$

Buna göre 25°C 'de E - $\log(a)$ ilişkisinin teorik değişimi n yüklü iyonlar için $59.2/n$ mV' tur. Bu değişim genel olarak katyonlar için pozitif, anyonlar için negatiftir. Bundan dolayıdır ki tek yüklü, iki yüklü ve üç yüklü iyonlar için bu değer sırasıyla 59.2, 29.6 ve 19.8 mV' tur (Suzuki K. ve ark., 1987).

Bir iyon-seçici elektrot hücresi aşağıdaki gibi şematik olarak gösterilebilmektedir.

İç referans elektrot / İç referans çözelti // İyon-seçici membran elektrot // Test çözeltisi / Dış referans elektrot

Örnek olarak, Şekil 2.6'da cam membran için membran-çözelti ara yüzeyinde iyon değişiminin nasıl oluşturduğu görülmektedir. Protonlar cam membranın silikat yapısındaki hareketli hidrojen ve sodyum iyonlarıyla yer değiştirir. Böylece membranın iç ve dış yüzeyindeki H^+ konsantrasyonu değişimiyle potansiyel farkı oluşur. Dolayısıyla oluşan bu potansiyel farkı ölçülerek Nernst Eşitliğinden H^+ konsantrasyonu (pH) kolaylıkla hesaplanabilir (Yetik, 2012).

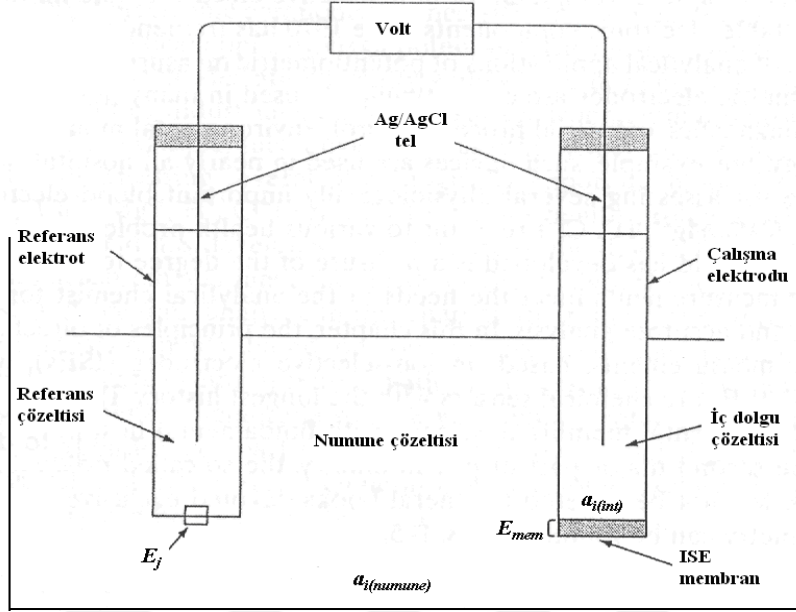


Şekil 2.6. Membran-çözelti ara yüzeyindeki iyon değişimi (cam membran)

2.5. Elektrotlar

Doğrudan potansiyometrik ölçümler için gerekli olan ekipmanlar bir iyon seçici elektrot, bir referans elektrodu ve bir potansiyel ölçüm cihazından (0,2 mV değerinde veya daha iyi okuma yapabilen bir pH/milivolt metre) oluşmaktadır. Tipik bir membran elektrot hücresinin şematik gösterimi Şekil 2.7'de verilmiştir. Konvansiyonel voltmetreler çok küçük akımlar ile çalıştığından dolayı tercih edilmezler. Referans elektrodu, uzun zaman periyotlarında oldukça yüksek kararlılıklı potansiyel sağlayabilmelidir. İyon seçici elektrot, esas ya da analit iyonu

olarak da bilinen belirli iyonik türlerin aktivitesinin seçici ölçümünü yapabilen bir indikatör elektrottur (Wang, 2006).



Şekil 2.7. Potansiyometrik ölçümün yapıldığı hücrenin şematik gösterimi

2.5.1. İyon-seçici elektrotlar (ISE)

İyon seçici elektrotlar uzun geçmişe sahip kimyasal sensörlerdir. İSE alanı temel membran bilimi ile temel kimya arasında bir köprü oluşturur (Wang, 2006). Son yıllarda membran indikatör elektrotlar ile ilgili çalışmalar hız kazanmıştır. Bu yönde yapılan çalışmalarda, bazı anyon ya da katyonlara seçici membranlar geliştirilmiştir. Bu tür elektrotlarla konsantrasyon yerine aktivite bulunduğu için membranlara pİyon ya da pX elektrotları da denilmektedir (örneğin, pCu, pNO₃ gibi). Membran indikatör elektrotlar kristalin olanlar ve olmayanlar olarak da iki gruba ayrılmaktadır. Kristalin olan membran elektrotlara, F⁻ iyonu tayini için kullanılan LaF₃ tek kristali ve polikristalin veya karışık kristalli olanlardan S²⁻ ve Ag⁺ iyonlarını tayin etmede kullanılan Ag₂S kristali örnek olarak verilebilir. Kristalin olmayan membran elektrotlara ise, H⁺ ve Na⁺ iyonlarını tayin etmede kullanılan silikat camları ve Ca²⁺ tayininde kullanılan sıvı iyon değıştiriciler örnek olarak verilebilir (Gündüz, 2004).

İyon seçici elektrotlar 1960'lı yılların sonlarından itibaren analitik kimyadaki en önemli gelişme olarak adlandırılabilir. Özellikle de medikal ve çevre kimyası alanındaki pratik uygulamalarda kullanılan iyon sensörleri üzerinde çalışılmaktadır. İyon seçici elektrotlar kimya alanında interdisipliner çalışmaların en yoğun şekilde yapıldığı alanlardan bir tanesidir (Morf, 1981).

İyon taşıyıcılı polimerik membran esaslı iyon-seçici elektrotlar, halen tıbbi, çevresel ve zirai analizlerin pek çok alanında kullanılmak üzere hazırlanan analitik araçlardır. 1960'ların sonlarından bu yana, belirli iyonlar için yüksek seçiciliğe sahip birçok iyon-taşıyıcı, hazırlama kolaylığı, hızlı ölçüm, daha iyi seçicilik, geniş konsantrasyon aralığı ve düşük maliyet gibi birçok avantaj sunmakta ve çeşitli çevresel örneklerde farklı iyonik türlerin tayininde kullanılmaktadır (Bühlmann ve ark., 1998; Yu ve ark., 2007; Mahajan ve ark., 2009).

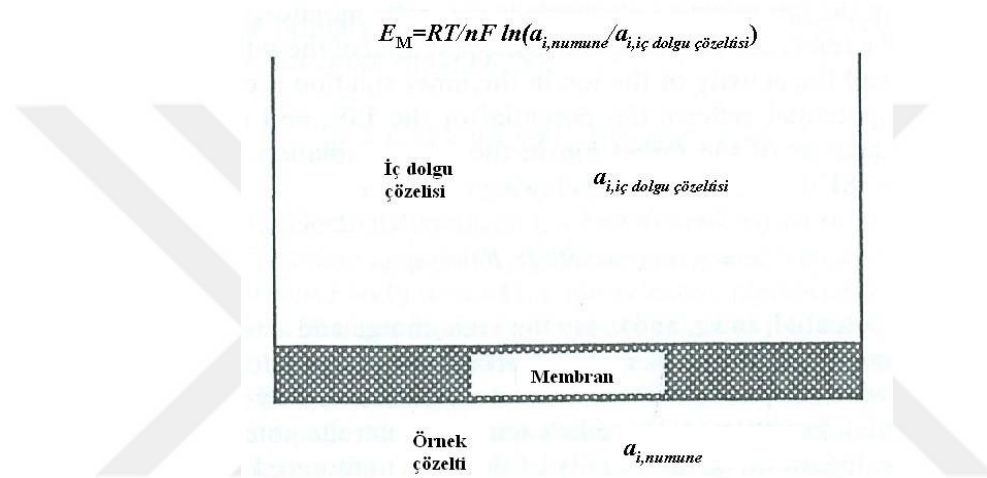
İSE'lar, sulu çözeltilerde diğer iyonların varlığında belirli bir iyonun aktivitesinin potansiyometrik tayinini sağlayan elektrokimyasal sensörlerdir. Renk ve bulanıklıktan etkilenmeyen, bozunmayan ve oldukça ucuz olan bu elektrotlar, geniş bir aralıkta doğrusallık sağlar ve hızlı cevap verirler (Wang, 2006).

Bu tür bir elektrot bir galvanik yarı hücreden, bir iç dolgu çözeltisinden ve bir iç referans elektrodundan oluşmaktadır. Eğer elektrot tamamıyla katı hal elektrot ise bu durumdaki tek fark iç dolgu çözeltisinin bulunmamasıdır. Bu bileşenler pratik kullanım kolaylığı açısından tekli bir yapı içerisinde konumlandırılırlar. Diğer yarı hücre (referans elektrot) referans elektrolitin içine daldırılır. İki yarı hücre arasındaki temas tuz köprüsüyle sağlanır (Morf, 1981).

Modern iyon seçici elektrot hücreleri üzerinden gerçekleştirilen EMF ölçümlerinin tekrarlanabilirliği genellikle 0,1 mV değerindedir. Buradan yola çıkarak aktivitenin tayininin % 1'den daha iyi olduğu söylenebilir. Her ne kadar iyon seçici elektrot kullanılarak doğrudan potansiyometrik ölçüm yapmak çok keskin bir analitik teknik olarak kabul edilemese de bu ölçümün avantajları sayesinde bu durum göz ardı edilebilmektedir (Morf, 1981).

2.5.1.1. Polimer esaslı iyon-seçici elektrotların cevap fonksiyonu (membran potansiyel teorisi)

İSE' ların analitik tekniği, potansiyel-aktivite ilişkilerinin uygulanabilirliği üzerine dayanmaktadır (Morf, 1981). Membran elektrotlarda gözlenen potansiyel, analit çözeltisini referans çözeltiliden ayıran bir membran boyunca gelişen bir temas potansiyelidir (Skoog ve ark., 1998).



Şekil 2.8. İç ve dış (numune) çözeltilerindeki analit iyonunun aktivitesinin değişimine karşılık değişen membran potansiyeli

İyon seçici elektrotlar, çeşitli şekillerde ve ebatlarda oluşturulabilirler. Özel olarak tasarımlanan hücreler, akım veya mikrolitre analizlerine olanak sağlar. İyon seçici elektrotlar; numuneyi elektrodun iç kısmından ayıran seçici iyon iletici maddelerden oluşan membran bazlı cihazlardır. Elektrodun içinde, sabit aktiviteye sahip, ilgili iyonun bulunduğu bir dolgu çözeltisi bulunmaktadır. Membran ise genellikle gözeneksiz, suda çözünmez ve mekanik olarak kararlı yapıdadır. Membran bileşimi, ilgili iyonla ilgili potansiyeli seçici bağlanma prosesi ile (örneğin, membran-çözelti ara fazında gerçekleşen iyon değişimi yolu ile) verebilmek için tasarımlanır. Yüksek seçicilik sağlamak için farklı iyonları tanımlama özelliklerine sahip membran materyalleri geliştirilmiştir. İSE' ların cevabı, potansiyometrik hücrenin elektromotor kuvvetinde (EMK) yer alan diğer faktörlerin sabit olmasından dolayı faz sınır

potansiyeli (E_s) ile ifade edilmektedir. Faz sınır potansiyeli ile numune-membran arayüzeyi boyunca iyonların kendiliğinden denge oluşturma yönünde dağılması birbiriyle ilişkilidir. Faz sınırı potansiyelinin, her iki fazdaki termodinamik dengeler ve elektronötrallik şartı gereği, sulu faz ve organik membran fazının arayüzeyinde ortaya çıktığı savunulmaktadır. İyon tanımlama prosesinde membran numune ara fazında bir faz sınır potansiyeli oluşmaktadır (Eşitlik 2.8).

$$E_s = \frac{RT}{z_i F} \ln k_i + \frac{RT}{z_i F} \ln \frac{a_i(aq)}{a_i(org)} \quad (2.8)$$

Burada;

R : evrensel gaz sabiti ($8,314 \text{ J.K}^{-1}.\text{mol}^{-1}$)

F : faraday sabiti

T : mutlak sıcaklık

z_i : analitin yükü

$a_i(aq)$: ana iyonun sulu çözeltideki aktivitesi

$a_i(org)$: ana iyonun iletken organik faz sınırındaki aktivitesi

k_i : hem numune hem de membran fazındaki solvasyonun göreceli serbest enerjilerinin fonksiyonu

Eşitlikte sağ taraftaki ilk terim standart potansiyeli (E°) vermektedir. Standart potansiyel belirli bir iyon için sabittir, ancak iyondan iyona değişiklik göstermektedir. Faz sınırı potansiyeli analit iyonlarının sınır boyunca eşit olmayan dağılımı sonucu ortaya çıkmaktadır. Faz sınır potansiyeli, birçok durumda, kompleks oluşum dengeleri ve kütle ve yük denklikleri dikkate alınarak membranda kompleksleşmemiş iyonun, $a_i(org)$, aktivitesini hesaplamak için kullanılmıştır. $a_i(org)$ büyüklüğü, $a_i(aq)$ büyüklüğüne bağlı değilse iyon seçici elektrodun cevabı Nernst eğimi olan $59/z$ mV/pX değerine sahiptir. Bu değişim genel olarak katyonlar için pozitif, anyonlar için negatiftir (Nägele ve ark., 1999; Wang, 2006).

$$E = \frac{RT}{nF} \ln(a_{i,numune} / a_{i,i\check{c}.\check{c}ozelti}) \quad (2.9)$$

İyon-seçici elektrodun potansiyeli genellikle referans elektrodun potansiyeli ile ilişkili olarak izlenmektedir. Referans elektrodun potansiyeli ve iç dolgu çözeltisindeki iyonun aktivitesi sabit olduğundan dolayı ölçülen hücre potansiyeli değeri, İSE'un potansiyelini dolayısıyla da numunedeki ölçülmek istenen iyonun aktivitesini vermektedir. İdeal olarak İSE'un cevabı aşağıdaki eşitliğe uygun olmalıdır.

$$E = K + \left(\frac{2.303RT}{z_i F}\right) \log a_i \quad (2.10)$$

Burada, E, potansiyel; z_i ve a_i sırasıyla iyonun iyonik yükü ve aktivitesi, K sabiti, numuneden bağımsız olarak potansiyele etki eden tüm faktörleri içerir. K sabiti iyon seçici elektrodun tasarımından etkilenir. Yukarıdaki eşitliğe göre elektrot potansiyeli hedef iyonun aktivitesinin logaritması ile orantılıdır (Eşitlik 2.10). Örneğin, oda sıcaklığında elektrot potansiyelindeki 59,1 mV'luk değişim tek değerlikli bir iyonun ($z=1$) aktivitesinde 10 katlık bir değişime sebep olabilir. İki değerlikli bir iyonunda ise aktivitedeki aynı miktardaki değişim için 29,6 mV'luk bir değişim yeterlidir. Potansiyeldeki 1 mV'luk değişim tek değerlikli ve çift değerlikli iyonlarda sırasıyla %4 ve %8'lik bir değişime karşılık gelmektedir. Bu davranışı karakterize etmek için "Nernst davranışı" terimi kullanılır. Bu durumun tersinde elektrot cevabının eğimi $59,1/z_i$ den çok küçük ise elektrot davranışı "Nernst altı davranış" olarak adlandırılır (Wang, 2006; Sardohan Köseoğlu, 2011). İSE, çözeltideki iyon konsantrasyonundan çok aktiviteye duyarlıdır. Aktivite terimi, iyonun etkin (aktif) konsantrasyonunu tanımlamak için kullanılır. Konsantrasyon ve aktivite arasındaki fark iyonun etkin konsantrasyonunu düşüren iyonik etkileşimlerden (zıt yüklü iyonlar) doğar. Bir çözeltideki iyonun aktivitesi (a_i), aşağıdaki eşitlik uyarınca iyonun konsantrasyonuna (c_i) bağlıdır (Eşitlik 2.11).

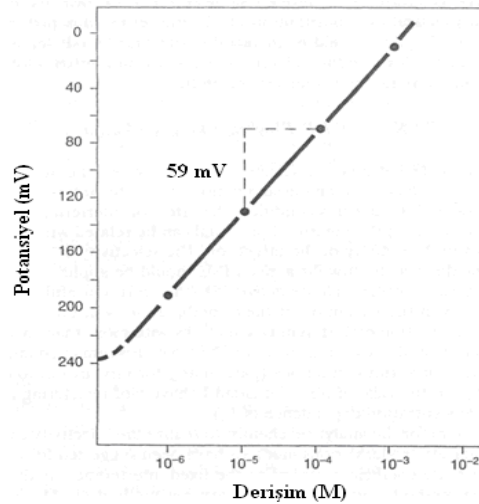
$$a_i = f_i c_i \quad (2.11)$$

Burada, f_i , aktivite katsayısıdır. Aktivite katsayısı, çözeltinin toplam iyonik şiddetine ve mevcut iyonların tiplerine bağlıdır. Aktivite katsayısı, Debye-Hückel eşitliği ile tanımlanmaktadır(Eşitlik 2.12).

$$\log f_i = \frac{-0,51z^2\sqrt{\mu}}{1+\sqrt{\mu}} \quad (25^\circ\text{C}) \quad (2.12)$$

Eşitlikte, μ , iyonik şiddettir. İyonik şiddet çözeltideki bütün iyonların konsantrasyonuna karşılık gelir. Ayrıca iyonik şiddet için iyonların yükleri de dikkate alınır. Böylelikle çok seyreltik çözeltilerde aktivite katsayısı bire yaklaşır ($a_i \approx c_i$). İyonun yükü arttıkça aktivite katsayısı birden uzaklaşır.

Analitik kimyacılar genellikle belirli bir iyonun aktivitesi yerine bu iyonun konsantrasyonunu belirlemekle ilgilenirler. Potansiyometrik ölçümleri aktiviteden konsantrasyona dönüştürmekte kullanılan yaklaşım ampirik bir kalibrasyon eğrisi oluşturma temeline dayanmaktadır (Şekil 2.9). Standart çözeltilerin elektrot potansiyelleri ölçülür ve bu değerler ile konsantrasyona karşı bir eğri çizilir. Sonuçta, ampirik kalibrasyon sayesinde konsantrasyon değerleri elde edilebilir. Çizilen eğri, teorik olarak doğrusal bir çizgi olmalıdır. Elde edilen eğrinin eğimi yaklaşık olarak $59/z_i$ mV (Nernst eğimi) olmalıdır (Wang, 2006).



Şekil 2.9. Tek yüklü bir iyon için tipik bir kalibrasyon grafiği

2.5.1.2. İyon-seçici elektrotların sınıflandırılması

Analitik uygulamalar için geliştirilmiş olan ve hali hazırda ticari olarak kullanılan çok sayıda iyon seçici membran elektrot mevcuttur. Bu elektrotlar membran materyalleri esas alınarak aşağıdaki şekilde sınıflandırılabilir.

a)Katı-hal membran elektrotlar: Bu elektrotlar çeşitli kristal materyallerden oluşmuştur. Yapısında tekli kristaller, döküm veya sinterlenmiş materyaller, preslenmiş polikristal pelletler ve hidrofobik polimer bağlayıcılarına tutunan presipitatların heterojen kombinasyonları gibi materyaller bulunur. Katı hal membranları 1921'den beri iyon seçici elektrotların esasını teşkil etmektedir. Tarihte kullanışlı katı hal membran elektrotları oluşturmak için yapılan denemelerin bazıları başarıya ulaşamamıştır. Bunun nedenleri; kullanılan materyallerin deneysel ve teorik alt yapısının bilinmemesi ve elektronik ölçüm ekipmanlarının 1960'larda kullanılmaya başlanmasıdır. Kristalin materyal bazlı ilk çalışabilir elektrotlar, inert matris içine gömülmüş gümüş iyodür presipitatları kullanılarak Pungor ve Hollos-Rokosinyi (1961) tarafından gerçekleştirilmiştir. (Morf, 1981).

Katı-hal membranlar, tekli kristaller, polikristalin pelletler veya karışık kristallerden oluşabilir. En başarılı katı hal sensöre örnek olarak florür iyon-seçici elektrot verilebilir. Bu tek kristal cihazı bugüne kadar yapılmış en başarılı anyon-seçici elektrot olduğu bulunmuştur.

Aşağıdaki çizelgede ticari kaynaklı bazı katı-hal elektrotların konsantrasyon aralıkları ve bu elektrotlara önemli derecede girişim yapan katyon ve anyonlar verilmiştir (Çizelge 2.1).

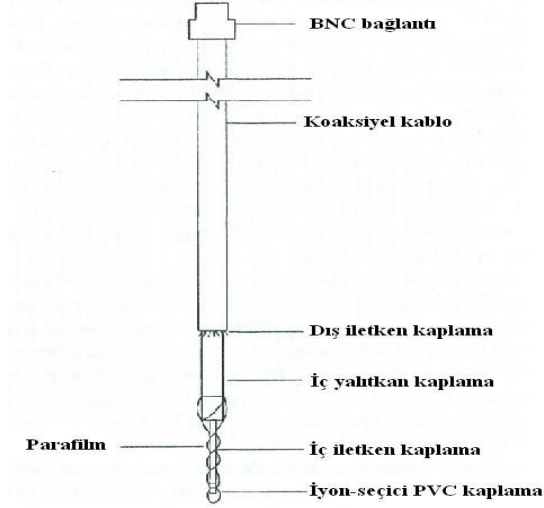
Çizelge 2. 1. Katı-hal kristalin elektrotların özellikleri (Wang, 2006)

<u>Ölçülen İyon</u>	<u>Membran</u>	<u>Ölçüm Aralığı, M</u>	<u>Girişim Yapan İyonlar</u>
F ⁻	LaF ₃	Doygun-1.10 ⁻⁶	OH ⁻
Cl ⁻	AgCl(Ag ₂ S)	10 ⁰ -5.10 ⁻⁵	Br ⁻ , I ⁻ , S ²⁻ , NH ₃ , CN ⁻
Br ⁻	AgBr(Ag ₂ S)	10 ⁰ -5.10 ⁻⁶	I ⁻ , S ²⁻ , NH ₃ , CN ⁻
I ⁻	AgI(Ag ₂ S)	10 ⁰ -5.10 ⁻⁸	S ²⁻ , CN ⁻
SCN ⁻	AgSCN	10 ⁰ -5.10 ⁻⁶	Br ⁻ , I ⁻ , S ²⁻ , NH ₃ , CN ⁻
CN ⁻	AgI	10 ⁻² -1.10 ⁻⁶	I ⁻ , S ²⁻
Cu ²⁺	CuS	10 ⁻¹ -1.10 ⁻⁸	Hg ²⁺ , Ag ⁺
Pb ²⁺	PbS	10 ⁻¹ -1.10 ⁻⁷	Hg ²⁺ , Ag ⁺ , Cu ²⁺
Cd ²⁺	CdS	10 ⁻¹ -1.10 ⁻⁷	Hg ²⁺ , Ag ⁺ , Cu ²⁺
S ²⁻	Ag ⁺ Ag ₂ S	Ag ⁺ : 10 ⁰ -1.10 ⁻⁷	Hg ²⁺

b) İç dolgu çözeltilisiz katı-hal elektrotlar (kaplanmış-tel elektrotlar): 1970'lerin ortalarında Freiser (1987) tarafından ileri sürülen kaplanmış-tel elektrotlar (CWE), bir iletken üzerine doğrudan uygun bir polimerik filmin kaplanmasıyla hazırlanmıştır (Şekil 2.10). İyon-duyarlı membran genellikle poli(vinil klorür) bazlı iken, iletken madde tel veya disk şekillerinde olup metalik (Pt, Ag, Cu) veya grafit bazlı olabilir (Fry ve Langley, 2001).

Kaplanmış-tel elektrotlar, koaksiyel kablunun içinde yer alan gümüş, platin veya bakır tel gibi metal bir tel üzerine iyon seçici membranın doğrudan kaplanmasıyla yapılan basit bir dizayna sahiptir (Şekil 2.10). Dizayn, iç dolgu çözeltilisi içermeyen dip-cast elektrotların dizaynına benzemektedir. Fonksiyonun teorik temeli tamamıyla anlaşılacakla birlikte, kararlı iç referans sistemi üretmek için tel ve membran arasında bazı etkileşimlerin olduğu bilinmektedir (Fry ve Langley, 2001).

Bu elektrotlar geleneksel iyon-seçici elektrotlara kıyasla dayanıklılık, yapım kolaylığı ve sıklıkla ana iyonla karşı yüksek seçicilik gibi avantajlar sunmaktadırlar. Fakat, membran kalınlığına bağlı olarak çözelti içinde membranın dengeye gelmesi belirli bir süre gerektirdiği gibi, bazı durumlarda cevap tekrarlanabilirliği kötü olabilmektedir. Ayrıca, membran bileşenleri nadirde olsa membrandan aktığında ve su membran içine absorbe olduğunda elektrotların verdiği sonuçlarda belirli bir derecede sapma görülebilir.



Şekil 2.10. Kaplanmış-tel iyon-seçici elektrodun genel görünümü

c) Cam membran elektrotlar: Bu elektrotlar genellikle lityum oksit, alumina silikat veya çoklu bileşenlerden oluşan camlardan imal edilirler (Morf, 1981). Cam membran elektrotlar, pH ölçümleri için kullanılan ve 1930'lardan beri bilinen en yaygın membran elektrottur. Daha sonraları ise, 1960'lı yıllarda elektrotlarla ilgili çalışmalar hız kazanmış ve H^+ iyonu membran elektrodundan (pH elektrodu) başka Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cu^{2+} , NO_3^- ve F^- gibi çok sayıda anyon ve katyonun tayinine yönelik yeni membran elektrotlar da imal edilmiştir (Pungor, 1992; Gündüz, 2004).

d) Sıvı iyon-değiştirici membran elektrotlar: Hidrofobik asitler, bazlar ve tuzlar gibi mobil iyonik veya iyonojenik bileşenlere eşlik eden organik sıvı fazını içeren membrandan oluşurlar (Morf, 1981). Sıvı membran elektrotlar, suyla karışmayan ve bazı iyonları seçici olarak bağlayan büyük moleküllü sıvı maddelerden hazırlanmaktadır. Bu tür elektrotlar ile özellikle çok yüklü katyonlar direkt olarak tayin edilebilmektedir. Ayrıca bu tür elektrotlardan tek yüklü anyonların ve bazı tek yüklü katyonların tayininde de yararlanılmaktadır. Sıvı membran elektrotlara örnek olarak, önemli bir elektrot olan, kalsiyum-seçici elektrot verilebilir. membran elektrot, sinir iletkenliğinde, kas kasılmalarında ve kalp atışlarında çok önemli bir rol oynadığından fizyolojik çalışmalar için son derece önemlidir (Gündüz, 2004).

e) Nötral taşıyıcı sıvı membran elektrotlar: İnert polimer matrisi içinde tutulan, elektriksel olarak nötral organik bir çözeltilen oluşan bir membrandan oluşurlar.

f) Özel uygulamalar: Bunlara örnek olarak gaza duyarlı elektrotlar ve enzim elektrotları verilebilir (Morf, 1981). Gazlara karşı seçici özellik gösteren membran yaklaşık 20-30 yıldır kullanılmaktadır. Bu tür sistemlere elektrot denilse de, bunlar elektrot değil birer hücre ve hatta hücreden de karışık düzeneklerdir. Bu tür sistemlere genellikle prop adı verilmektedir. Elektrotların içinde bulunduğu hücre, tayin edilecek numuneyle, hücredeki çözeltilenin altına yerleştirilen membran vasıtasıyla temasta bulunmaktadır. Hiçbir zaman, elektrotlar tayini yapılacak numuneyle direkt olarak temas etmezler. Ayrıca tayini yapılacak her gaz için ayrı bir membran kullanılmaktadır (Gündüz, 2004).

g) İyon-seçici alan etki transistörleri: İyon seçici elektrotlar ile metal oksit alan etki transistörlerinin hibritlenmesiyle oluşmuşlardır (Morf, 1981).

2.5.1.3. İyon-seçici membranların özellikleri

Pratikte kullanılan cihazların yapımı için katı haldeki veya diğer iyon değiştirici materyallerin sahip olması gereken özellikler Buck (1974) tarafından özetlenmiştir. İyon-seçici membranların sahip olması gereken bazı özellikler şunlardır:

a) Uygun bir iyon-seçici membranın, daldırıldığı analit çözeltilerindeki çözünürlüğünün neredeyse hiç olmaması gerekmektedir. Bu sebeple birçok membran, büyük moleküllerden, silika camlardan veya polimerik reçinelerden oluşmaktadır (Skoog ark., 1998). Uygun materyaller inorganik çözücülerde neredeyse hiç çözünmemeli, ancak bu çözücüleri belirli bir dereceye kadar absorplayabilmelidir. Membran fazı ile çözelti arasındaki ara fazda gerçekleşen iyon değişimi prosesi hızlı ve geri dönüşümlü olmalıdır. Membran yüzeyindeki iyon değişimi prosesi bölgesel termodinamik dengeyi sürdürür. Daha sonra gerçekleşen kimyasal reaksiyonlar iyon değişimi prosesi üzerinde termodinamik etkiler yaratmaktadır (Morf 1981, Köseoğlu 2011).

b) Uygun bir iyon-seçici membran az da olsa bir miktar elektriksel iletkenlik göstermelidir. Genellikle bu iletkenlik, tek yüklü iyonların membran içinden göçmesi biçiminde olmaktadır. İyonik iletkenlerin direncinin ölçüm aletinin giriş empedansına göre düşük olması gerekmektedir. Membran direncinin azaltılması bazı kimyasal safsızlıklar eklenerek sağlanabilir (lantanyum florür içindeki öropiyum gibi dopantlar) (Morf, 1981; Skoog ve ark., 1998).

c) Bir membran veya membran matrisi içinde yer alan bazı türler analit iyonuna seçici olarak bağlanabilmelidir. Membranın seçiciliğinin yüksek olması gerekmektedir (Skoog ve ark., 1998).

Oda sıcaklığında gerekli özellikleri sağlayabilen katı haldeki materyallerin sayısı sınırlıdır. Bunlardan seçici elektrot uygulamaları için kullanılan veya kullanılması göz önünde bulundurulabilecek olanlar, nadir toprak ve toprak alkali metal florürler, gümüş, kurşun, civa ve talyum(I)'in halojenürleri, sülfidler ve gümüş, bakır, kurşun, civa, kadmiyum ve çinkonun kalkogenitleri, gümüş tiyosiyanat, siyanür, azit, kromat, ve fosfat, gümüş sülfid içeren farklı halojenürler veya kalkogenitlerin karışımlarıdır. Bu materyallerin iyon seçici elektrotlarda bileşen olarak kullanıldığı çalışmalar bazı yayınlarda özetlenmiştir (Frant ve Ross, 1966; Durst, 1969; Moody ve Thomas, 1971; Buck, 1974; Bailey, 1976; Buck, 1978; Koryta ve Stulík, 1983).

Elektrot uygulamaları için seçilen formlar tekli kristaller (Frant ve Ross, 1966; Durst, 1969), eriyiklerden dökülen diskler (Kolthoff ve Sanders, 1937; Siemroth ve ark., 1977), sinterlenmiş materyaller (Hirata ve Higashiyama, 1971), preslenmiş polikristal pelletler (Mascini ve Liberti, 1973) ve hidrofobik polimer bağlayıcılarla tutulmuş presipitatların heterojen kombinasyonlarından oluşmaktadır. Katı hal membran elektrotların analitik uygulamalarının etkin olabilmesi için seçicilik ve tayin limiti gibi farklı parametrelerin belirlenmesi önem taşımaktadır (Morf, 1981)

2.5.1.4. İyon seçici elektrotların uygulama alanları

İyon seçici elektrotların, analitik kimyada geniş uygulamaları bulunmaktadır.

Elektrotlar, kromatografide detektör olarak, çevre analizlerinde, maden analizlerinde, ziraatta toprak analizlerinde, şeker ve deri endüstrisi gibi endüstriyel, klinik ve biyokimyasal analizlerde yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Örneğin, florür elektrot halen yaygın bir şekilde kullanılabilir (Pungor ve Toth, 1972; Pungor ve Toth, 1973). İyon seçici elektrotlarla ilgili uygulamalar ve tayin edilebilecek türlerin sayıları her geçen gün daha da artmaktadır. Bu nedenle bugün çok sayıda anyon ve katyona duyarlı iyon seçici membran elektrot geliştirilmiş ve halen bu alandaki çalışmalar hızla devam etmektedir. Çeşitli yöntemlerle hazırlanan farklı tip iyon seçici elektrotlar, hem duyarlı oldukları türlerin doğrudan tayininde, hem de dolaylı olarak başka türlerin tayininde de sıklıkla tercih edilmektedir. Elektrotlar sadece iyon aktivitesine duyarlı olmalarına rağmen, titrasyon, standart ekleme gibi metotlar vasıtasıyla serbest iyon veya toplam konsantrasyon tayinlerinde de kullanılabilirler. Farklı türde elektrotlar kullanılarak, çeşitli tepkimeler potansiyometrik ölçümler ile izlenebilir. Ayrıca, iyon seçici elektrotlar ile çözünürlük çarpımı ($K_{\text{ç}}$), oluşum sabiti (K_{ol}), reaksiyonun denge sabiti (K_{d}) ve iyonlaşma sabitleri (K_{a} , K_{b}), hücre potansiyellerinin ölçülmesi ile gerekli hesaplamalar yapılabilmektedir.

2.5.2. İyon seçici elektrotların performans özellikleri

İSE'lerin, seçicilik faktörü, düşük gözlenebilme sınırı, cevap süresi, ömür gibi performans özelliklerini belirlemek için kullanılan terimlerin analitik önemi bu faktörlerin kararlılığına bağlıdır. Bu faktörleri kıyaslayabilmek için deneysel metotlar dikkatli bir şekilde seçilmelidir. Bu şartlar altında iyon-seçici elektrotların farklı tiplerinin, performans özelliklerinin kıyaslanmasına olanak sağlayan, analitik olarak yararlı parametreleri elde etmek önemlidir.

2.5.2.1. Seçicilik

Nernst eşitliği (Eşitlik 2.7), elektrodun sadece ilgili iyon (i) cevap verdiği varsayımı üzerine yazılmıştır. Pratikte, hiçbir elektrot sadece tek bir iyon seçici değildir. Ana ve girişim yapan iyonların (sırası ile i ve j) karışımından oluşan ikili bir çözeltinin

asıl cevabı Nernst eşitliğinden türetilen Nikolskii-Eisenman eşitliğinde (Eşitlik 2.13) verilmiştir (Wang, 2006).

$$E = K + \left(\frac{2.303RT}{z_i F} \right) \log a_i + k_{ij} a_j^{z_i/z_j} \quad (2.13)$$

Burada, k_{ij} seçicilik katsayısıdır. Nikolskii-Eisenman eşitliğinde verilen k_{ij}^{pot} potansiyel faktörü bir membran elektrodun potansiyometrik olarak gözlenebilen iyon seçiciliğini tanımladığından dolayı seçicilik katsayısı olarak adlandırılır (Morf, 1981). Bu katsayı elektrodun girişim yapan iyonla karşı ayırım yapabilme yeteneğinin kantitatif bir ölçüsüdür. Eğer elektrot i 'ye j 'den 50 kat daha çok cevap veriyor ise k_{ij} değeri 0,02 değerine sahiptir. $k_{ij}=1,0$ olduğunda elektrot her iki iyon için benzer davranış göstermektedir. $k_{ij} \gg 1$ olduğunda ise, İSE girişim yapan iyonla (j), ana iyondan (i) daha iyi cevap vermektedir. Genellikle $k_{ij} < 1$ 'dir. Bu durumda elektrot girişim yapan iyonlara kıyasla ana iyonla daha seçici olarak cevap verir. k_{ij} değeri düştükçe elektrot daha seçici olmaktadır (Wang, 2006).

Nikolskii-Eisenman eşitliği $z_i \neq z_j$ olduğu durumda tam olarak geçerli değildir. Bu durum, Nikolskii-Eisenman eşitliğinin önemli bir eksikliği olmasına rağmen bozucu türlerin seçicilik katsayılarının ölçülmesinde mevcut olan en iyi metottur ve bu yönde eşitliği geliştirme çalışmaları da mevcuttur. Yük farklılıklarının olduğu, bir, iki ve üç yüklü iyonların bulunduğu sistemlerdeki bozucu türlerin seçicilik katsayısının tayin edilmesi amacıyla daha kompleks bir eşitlik literatürde rapor edilmiştir (Nägele ve ark., 1999).

10^{-5} ten daha düşük seçicilik katsayıları birkaç elektrot için başarılabilmektedir. İdeal bir seçici elektrot için, k_{ij} değeri sifıra eşit olmalıdır (örneğin herhangi bir girişim olmadığında). j 'nin girişiminden kaynaklanan aktivite (a_j) hatası bunların göreceli değerlerine bağlıdır. z_i/z_j terimi, ana ve girişim yapan iyonlar arasındaki olası yük farklılıklarını belirtmek için kullanılır. En ciddi etkileşimler girişim yapan iyon ile ana iyonun yükünün aynı olduğu durumlarda ortaya çıkmaktadır ($z_i=z_j$). Pratikte numunedeki girişim yapan tüm iyonlar Nikolskii-Eisenman eşitliğinde yerine konmalıdır. Örneğin, Na, K ve Li karışımının içine daldırılan Na elektrodu için alınan

cevabın eşitliği aşağıda verilmiştir (Eşitlik 2.14).

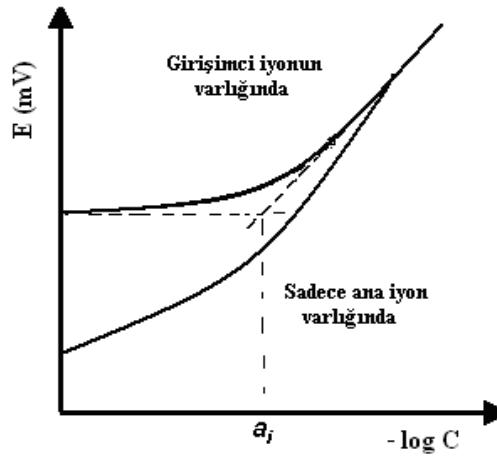
$$E = K + \left(\frac{2.303RT}{z_i F} \right) \log(a_{Na} + k_{Na,K} a_K + k_{Na,Li} a_{Li}) \quad (2.14)$$

Ana iyonun aktivitesi girişim yapan iyonların toplam değerinden çok daha büyük ise ($a_i \gg \sum k_{ij} a_j / z_i$) İSE seçici cevap gösterir. Bu koşullar altında girişim yapan iyonların etkisi ihmal edilebilir boyuttadır ve potansiyelde ölçülen değişimlerin hedef iyonun aktivitesinden kaynaklandığı söylenebilir. Seçici olmayan İSE'ler genellikle pratik uygulamalarda kullanışlı değildir. Gerçekte, iki bileşenden daha fazla bileşen içeren denklemler çok nadir kullanılır. Çeşitli durumlar (özellikle farklı yüklü iyonların karışımında, girişim yapan iyonların Nernst olmayan davranış gösterdiği durumda) için Nikolskii-Eisenman eşitliğinden sapmalar olabildiği bildirilmiştir (Wang, 2006).

Seçicilik, membran bileşiminin ve deneysel tasarımın karmaşık bir fonksiyonu olduğundan dolayı, seçicilik katsayısı değerlerinin işletme şartlarına bağlı olarak tanımlandığı kabul edilmelidir (Wang, 2006). Analitik kimyacılar için belli bir elektrodun seçicilik katsayısını belirlemek oldukça önemlidir. Seçicilik faktörlerinin değerlendirilmesi için farklı metotlar önerilmiştir (Moody ve Thomas, 1971). Seçicilik katsayısını belirlemek için ayrı çözelti metodu (SSM), sabit girişim metodu (FIM) ve sabit ana iyon metodu gibi çeşitli metotlar uygulanmaktadır. Ayrı çözelti metodunda, iyon seçici elektrodun iki ayrı çözeltideki (çözelti 1: i iyonu içeren (j içermeyen), çözelti 2: j iyonu içeren (i içermeyen)) ölçümleri alınır. Bu metotta, her bir iyon için ayrı kalibrasyon eğrileri hazırlanır (Umezawa ve ark., 1995; Fry ve Langley, 2001; Wang, 2006).

Ayrı çözelti metodunun avantajı basitliğidir. Ancak elde edilen seçicilik verisi karışık numune çözeltileri için temsil edici olmayabilir. Bu yüzden IUPAC (1976) tarafından sabit girişim metodu (FIM) önerilmektedir. Sabit ana iyon metodu ise diğer iki metoda göre daha az kullanılmaktadır. Bu metot, belirli bir iyon için pH'nın EMF cevabına olan etkisinin araştırıldığı durumlarda kullanılmaktadır (Morf, 1981). Sabit girişim metodunda; İSE ve referans elektrottan oluşan sistemde potansiyel değerleri, öncelikle sadece ana iyonun bulunduğu kalibrasyon çözeltilerinde

ölçülmektedir. Daha sonra ise potansiyel değerleri ana iyon aktivitesinin (a_i) değiştirildiği, fakat girişim yapan iyonun aktivitesinin (a_j) sabit tutulduğu kalibrasyon çözeltilerinde ölçülmektedir. Her iki kalibrasyon serisi için elde edilen potansiyel değerleri kullanılarak kalibrasyon eğrileri çizilmektedir (Şekil 1.6). Elde edilen bu grafiğin doğrusal kısımlarından çıkarılan uzantıların kesişiminin aktivite eksenini kestiği nokta, Eşitlik 2.14’da seçicilik sabitinin hesaplanmasında kullanılan ana iyonun aktivitesini (a_i) vermektedir. Girişim yapan iyon (a_j) varlığında, elektrot cevabı Eşitlik 2.14 ile hesaplanmaktadır (Fry ve Langley, 2001; Wang, 2006).



Şekil 2.11. Seçicilik katsayısının kalibrasyon grafiği ile gösterimi

$$K_{i,j}^{pot} = \frac{a_i}{a_j^{z_i/z_j}} \quad (2.14)$$

2.5.2.2. Gözlenebilme sınırı

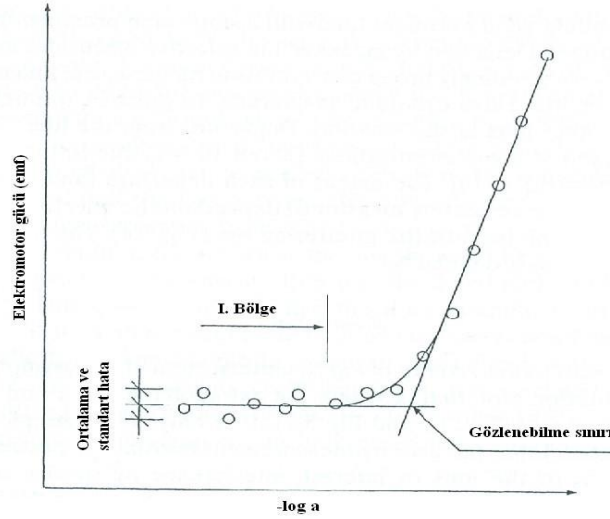
İyon seçici elektrotların gözlenebilme sınırı, ölçülen numunede girişim yapan iyonlara bağlıdır (Morf, 1981). Gözlenebilme sınırları hem iç dolgu çözeltili geleneksel elektrotlar hem de tamamıyla katı-hal ya da kaplanmış tel elektrotlar için genellikle mikromolar düzeyde görülmektedir. Bu durum, örnek çözeltilerde birincil iyon tamponlarının varlığında katı-hal ve plastik membranlı iyon seçici elektrotların gözlenebilme sınırlarının kuvvetli bir şekilde geliştiğini göstermektedir. Bu durum

göstermektedir ki, kararlı hal difüzyon tabakası modelinin yorumlanması esas alınırsa gözlenebilme sınırı sadece iyon seçici membranın değil tüm sistemin bir özelliğidir. Bu durum, yüksek gözlenebilme sınırlarının, örnek çözeltisinin ve elektrodun dış yüzeyindeki difüzyon tabakasındaki birincil iyon konsantrasyonları arasındaki farkın sonucu olduğunu göstermektedir (Konopka ve ark., 2004).

İyon seçici elektrotların tayin sınırları oldukça geniş konsantrasyon aralıklarını kapsamaktadır. Pratikte ise kullanılabilir aralık çözelti içinde bulunan diğer iyonlara bağlıdır. Doğrusallıktan sapmalar bir arada bulunan iyonların varlığına bağlı olarak genellikle düşük konsantrasyonlarda gözlenir (yaklaşık 10^{-6} M). Bu sapmanın miktarı, girişim yapan iyonla bağlı olduğu kadar seçicilik katsayısına da bağlıdır. Analit iyonunun gözlenebilme sınırı Eşitlik 2.15 ile tanımlanmaktadır.

$$a_{i,\min} = k_{ij} a_j^{z_i/z_j} \quad (2.15)$$

Eşitlikte, i 'nin aktivitesi, E(mV)-log a_i kalibrasyon eğrisindeki asimptodun kesim noktasından belirlenir (Şekil 2.12).



Şekil 2.12. İyon-seçici elektrotların gözlenebilme sınırının tayini

Gözlenebilme sınırı, kalibrasyon eğrisinin iki doğrusal bölgesinin ekstrapolasyonunun kesiştirilmesi ile elde edilen kesim noktasının x eksenindeki

değerinden elde edilmektedir. Bazı faktörler, gözlenebilme sınırını etkilediği için, karıştırma hızı, elektrodun ön şartlandırılması, elektrodun kullanım geçmişi ve çözeltinin bileşimi gibi bazı deneysel koşulların belirtilmesi gerekmektedir (IUPAC, 1976).

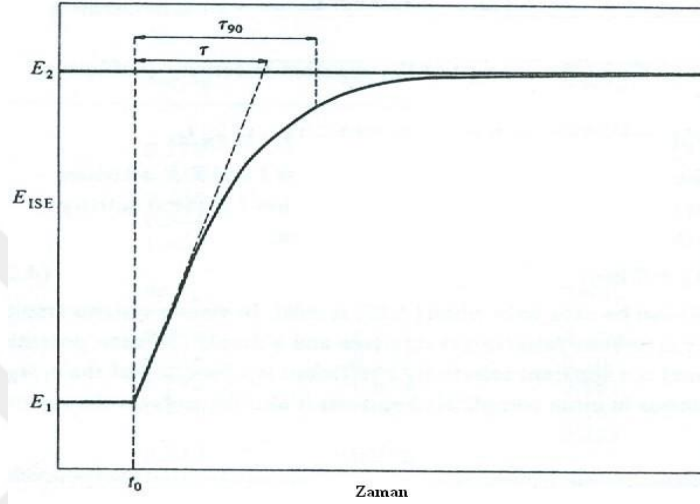
2.5.2.3. Doğrusal çalışma aralığı (DÇA)

IUPAC'a göre bir hücrenin, potansiyel değişimine karşı çizilen iyonik aktivite cevabının logaritmasının grafiğinden tayin edilen alt ve üst tayin sınırları arasında yer alan cevap aralığı bölgesi doğrusal çalışma aralığı olarak tanımlanır (Anonymous 1994; Dalkıran, 2009). Doğrusal çalışma aralığının mümkün olduğunca geniş olması istenir. Ancak bu genişlemenin düşük derişim (gözlenebilme sınırı) yönünde olması için kullanılan cihazlar oldukça karmaşık ve pahalıdır. Bu nedenlerden dolayı, eser analizlerde İSE'nin kullanımı önemli hale gelmiştir. Genel olarak İSE kalibrasyon eğrileri 10^{-5} – 10^{-1} M derişim aralığında doğrusal bir cevap gösterirler. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalarda, bu doğrusal aralığı daha düşük derişim bölgeleri yönünde genişletmek amaçlanmıştır. Nernst olmayan EMK cevapları elde edilir (Amemiya ve ark., 1998; Dalkıran, 2009).

2.5.2.4. Cevap Süresi

IUPAC'a göre bir İSE'un cevap süresi, iyon-seçici elektrot ile referans elektrodun (İSE hücresi) analit içeren bir çözeltiye daldırıldıktan sonra potansiyelinin kararlı hal değerine ulaşması için geçen süredir (Anonymous 1994; Dalkıran 2009). Eğer İSE, a_1 aktivitesine sahip bir çözeltiden çıkarılıp, a_2 aktivitesine sahip başka bir çözeltiye daldırılırsa, E_{ISE} değeri, ilk E_1 değerinden, a_2 aktivitesine karşılık gelen E_2 değerine hemen değişmemekte, ancak belirli bir süre sonunda kararlı hal değerine ulaşmaktadır. Kararlı hal değeri, beklenen potansiyel değerinin %90'ına ulaşıldığı, diğer bir deyişle hedef değere ± 1 mV yakınlıkla ulaşıldığı değerdir. E_{ISE} değerinin zamanla değişim eğrisi Şekil 2.13'de verilmektedir. Pratikte cevap süresi (t_{90}), E_{ISE} 'un, E_1 değerinden $E_1 + 0,9(E_2 - E_1)$ değerine değişmesi, yani E_1 değerinden E_2

değerine toplam değişimin %90'ı kadar değişmesi boyunca geçen süre olarak belirtilmektedir (Lindner ve ark., 1986; Koryta ve Stulík, 1983). Diğer bir ifadeyle, bir İSE'un cevap süresi, iyon- seçici elektrot ile referans elektrodun bir analit çözeltisinden başka bir çözeltiliye daldırıldıktan sonra potansiyelinin kararlı hal değerine ulaşması için geçen süre olarak ifade edilmektedir.



Şekil 2.13. EISE değerinin zamanla değişim eğrisi

2.5.2.5. Elektrot Ömrü

İSE'ların potansiyelde önemli bir değişiklik gözlenmeksizin uzun süre kullanılabilmesi istenir. Elektrot ömrü, ticari elektrotlarda ilk kullanımlarındaki eğimin % 70'ine indiği süre olarak kabul edilir. Elektrodun ömrü, kalibrasyon grafiğinden elde edilen elektrot cevabının, yapılan ölçümler sonunda beklenen elektrot cevabından sapma gösterdiği zamana kadar geçen süredir. Bu süre elektrodun kullanım sayısı ile ilişkilidir. Çözücü polimerik membranlarda iyonofor esaslı ve membran fazları arasındaki plastikleştirici ve iyonoforun dağılım katsayısına bağlıdır. Bu durumda, elektrotların ömürleri, çözeltinin bileşenlerine ve elektrotla ölçülen numunelere bağlılık göstermektedir (Gupta ve ark., 2005). Ayrıca, iyonofor temelli elektrotların ömürleri, analit çözeltisindeki plastikleştirici ve iyonoforun çözünme kinetiğine de bağlıdır. Bu tür elektrotlarda, çözünme ile membran bileşenlerinin çözeltiliye sızması elektrot ömrünü olumsuz yönde etkilemektedir (Koryta ve Stulík, 1983). Bir İSE'un

ömrünün belirlenmesinde, yapılan bir seri ölçüm sonucunda kalibrasyon grafikleri çizilmekte ve eğim değerleri karşılaştırılmaktadır. Eğim değerlerindeki sapma, cevap süresindeki ve doğrusal çalışma aralığındaki değişme gibi parametreler göz önünde bulundurularak elektrodun ömrü belirlenebilmektedir.

2.6. Kaynak Araştırması

Amonyum iyonuna duyarlı elektrokimyasal ve optik sensör geliştirilmesiyle ilgili çalışmalar 1960' lı yılların sonlarına doğru başlamış olmasına rağmen hala araştırmacıların yoğun ilgisini çekmeye devam etmektedir. Bunun temel nedeni şu ana kadar geliştirilen amonyum sensörlerinin çok iyi bir seçiciliğe ve tayin sınırına sahip olmamasıdır.

Günümüzde kullanılmakta olan amonyum iyon seçici elektrotlarda ionofor olarak büyük çoğunlukla bir nötral taşıyıcı ionofor olan nonactin kullanılmaktadır. Nonactin 1970 li yıllarda bulunan doğal bir antibiyotiktir (Scholer ve Simon, 1970). Nonactin esaslı amonyum iyon seçici elektrot iyi bir duyarlılığa sahip olmasına rağmen en büyük problemi potasyuma göre seçiciliğinin düşük olmasıdır. $\log K_{\text{NH}_4^+,\text{K}^+} = -0.97$, $\log K_{\text{NH}_4^+,\text{Na}^+} = -2.85$ ve tayin limiti ise 1.5×10^{-5} M dir (Kawakami ve ark., 1998).

Suzuki ve arkadaşlarının 1986 yılında yaptığı bir çalışmada; amonyum iyonu seçici elektrotlar (AISE), nonactin ve monactin antibiyotikleri ile polivinil klorür membranı kullanılarak hazırlanmıştır. Tayin limitinin 0,1-200 mM arasında olduğu ve 20 saniye içinde cevap süresinin % 90'a ulaştığı saptanmıştır. Ortam sıcaklığının 1 °C artışı ile AISE veriminin % 6 arttığı ve pH 4-7 arasında veriminin sabit olduğu gözlenmiştir. Potasyum iyonunun seçicilik katsayısı 0.158 olduğu belirtildiğinden, girişim etkisi dikkate alınmıştır. Diğer kationların seçicilik katsayıları oldukça küçük olduğundan gözardı edilebilmektedirler. Escherichia coli hücre kültürünün değeri AISE daki amonyum iyonunun saptanan konsantrasyonundan (seçicilik oranı) x (potasyum iyonu konsantrasyonunun) çıkarılması ile hesaplanmıştır. Amonyum iyonu konsantrasyonu otomatik, sabit değerli ve geri dönüşümlü kontrol sisteminde, amonyum ve potasyum iyonlarını birlikte içeren çözeltinin ortama kontrollü olarak alınıp verilmesi ile girişim

sağlanmıştır. Amonyum ve potasyum iyonlarının konsantrasyonları oranları, hücre kültüründeki mikroorganizmalar tarafından eşit oranlı volumetrik tüketimi ile saptanmıştır. Bu kontrol sisteminde, Escherichia coli ve Saccharomyces cerevisiae mayasının beslemeli-kesikli kültürlerinin süpertantlarındaki amonyum iyon konsantrasyonlarının sabit seviyede tutulması gerektiği öngörülmektedir (S. cerevisiae'nin kültivasyonu için 50 ± 5 mM, E. coli kültivasyonu için 5 ± 0.8 mM)(Suzuki ve ark., 1986).

1994 yılında F. J. Saez de Viteri ve arkadaşı tarafından yapılan başka bir çalışmada, Nikolskii-Eisenman denkleminin modifiye formuyla, girişim iyonlarının aktivitesine olan bağımlılığının ortadan kaldırıldığı ileri sürülmüştür. Seçicilik, alışlagelmiş katsayılar yerine poli (vinil klorür) membran elektrotlarından (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} ve NH_4^+) elde edilen katsayılar kullanılarak saptanmıştır. Bu sabitler ve diğer elektrot parametreleri; hücre sabiti ve eğimi gibi, akış enjeksiyonu ile bağlanmış bir dizi iyon seçici yaklaşım aracılığıyla ölçülmüştür. Dizideki her bir elektrot fraksiyonlu faktöriyel kalibrasyon tasarımı ve elektrot parametrelerinin tek yönlü optimizasyonu aracılığıyla karakterize edilmiştir. Bu parametreler için elde edilen değerlerin uygulanabilirliği direk çözelti sistem modifiyeli Nikolskii-Eisenman denklemiyle kanıtlanmıştır. Bu yaklaşımın gerçek zamanlı görüntüleme uygulamaları için uygun olduğu fakat toplu kalibrasyon teknikleri için uygun olmadığı belirtilmiştir (F. J. Saez de Viteri ve ark., 1994).

G. Palleschi ve arkadaşlarının 1998 yılında iyon seçici elektrotlarla alakalı yaptığı bir çalışmada katı karbon-epoksi iç elektrik bağlantısıyla bir araya getirilmiş PVC matriksli nonactin bazlı membran elektrotlar amonyum ve üre analizlerinde başarılı bir şekilde kullanılmıştır. Serum örneklerinde amonyum ve üre miktarının saptanmasında en iyi kalibrasyon grafiğini elde etmek için farklı tamponlar test edilmiş, sodyum ve potasyum girişimleri değerlendirilmiştir. Enzim üreaz kullanılarak üç immobilizasyon tekniği karşılaştırılmıştır. Naylon ağ immobilizasyon prosedürü, serumdaki ürenin tayini için en iyi analitik metodun olduğuna saptanmıştır. Sonuçlar, klinik standart spektrofotometrik metod ile elde edilen verilerle benzerlik göstermektedir (G. Palleschi ve ark., 1998).

Chin ve arkadaşları pirazol halkası içeren ligandlar kullanarak yaptıkları amonyum iyon seçici elektrotun potasyum iyonuna karşı seçiciliğini -2.8, tayin limiti olarak da nonaktine yakın fakat düşük bir değer 2.5×10^{-5} M elde etmişlerdir (Sasaki ve ark., 2002).

Barbara Krajewska ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, amonyum iyon seçici elektrot kullanılarak üreaz aktivitesini potansiyometrik olarak ölçülmüştür. Amonyum seçici iyonofor olan nonactin, poli (vinil klorid) e fiziksel olarak immobilize edilmiş ve lipofilik tuz olan anyonik katkı malzemesi ile membran elektrot hazırlanmıştır. pH 5.36-9.97 arasındaki kalibrasyonu, Nernst cevabın pH'ın 9,17 den küçük olduğu aralıkta amonyum miktarının 0.06 mM'a kadar düşebileceği gösterilmiştir. Tayin limiti, pH ile, konsantrasyonun arttırılmasıyla ve Na₂EDTA'nın ortamda bulunmasıyla arttığı ön görülmüştür. Elektrodun cevap süresi 15 saniye olarak belirtilmiştir. Üreazın kinetik çalışmaları elektrot pH 5.36 - 8.21 aralığında kullanılmıştır. Enzimin Michaelis sabiti pH ile önemli bir değişim göstermemiştir ve maksimum reaksiyon hızınının 0.7 pH birimi kadar birbirine kısa bir mesafede (7.2 ve 6.5) 2 bölgesi vardır. Bu durumda üreaz aksiyon asit-baz mekanizması için yeni bir açıklamanın önünü açmaktadır. Potansiyometrik metod üreaz inhibitörlerinin görüntülenmesine yardımcı olabilmektedir. Aynı zamanda ureolitik bakterilerin neden olduğu hastalıkların tedavisinde ve topraktaki azot varlığının tespitinde kullanılmaktadır (Krajewska ve ark., 2003).

Han Ahn ve arkadaşları 2003 yılında, tripodale oksazolin reseptörü kullanarak amonyum ve organoamonyum iyonlarına duyar optik sensör geliştirmişlerdir. Bu sensör ile amonyum ölçümlerine K⁺, Na⁺ ve Mg²⁺ iyonlarının girişim yaptığı saptanmıştır (Ahn ve ark., 2003). Fakat bu araştırmayla ilgili yeterli analitik bilgi verilmemiştir.

2004 yılında Yan Jin ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada tetrahidrofuran grubu içeren crown eterler sentezleyerek amonyum iyon seçici elektrot yapmışlardır. Bu elektrottan yakın Nernstian cevap 53.9 mV almışlardır. pH 3-9 aralığında çalışılabilen bu elektrotun potasyuma göre seçiciliğini, -1.84, tayin limitini $1 \times 10^{-4,9}$ M olarak bulmuşlardır (Yan ve ark., 2004).

Nien Hsuan Chou, ve arkadaşları 2005 yılında yaptıkları bir çalışmada üreazın amonyum iyon seçici elektrot yüzeyine direk immobilizasyonu ile hazırlanan potansiyometrik üre biyosensörün seçiciliği incelenmiştir. Bu araştırmada, hapsetme yöntemi kullanılarak; iyonofor olarak nonactin, ince film olarak kalay oksit (SnO₂) kullanıldığı iyon seçici elektrodun yüzeyine, karboksillenmiş polivinil (PVC-COOH) membrana üreaz enzimi immobilize edilmesiyle hazırlanmıştır. Üre biyosensör bazlı amonyum iyon seçici elektrotların seçicilik özelliğinin tanımlanmasında, üre biyosensörlerinin potansiyometrik seçicilik katsayılarının ($K_{i,j}^{pot}$) saptanması için farklı tek değerli girişim yapan iyonların varlığında, örnek çözelti pH sınırın 7.5 olduğu ortamda çalışılmıştır. Seçicilik katsayısının saptanması için ayrı çözelti metodu ve sabit girişim yöntemi (FIM) kullanılarak, üre biyosensörü için seçici birincil iyonlar ile aynı değerlikli girişim yapan iyonların etkisi tartışılmış ve değerlendirilmiştir. Amonyum iyon seçici elektrot bazlı üre biyosensörünün seçicilik katsayısının hesaplanması için sonuçlar incelendiğinde FIM metodunun uygun bir metod olduğu belirtilmiştir (Chou ve ark., 2005).

McGimpsey ve grubu 2008 yılında yaptıkları bir çalışmada bisiklik yapıda peptitler sentezlemişler ve bu bileşiklerin sodyum ve potasyuma göre amonyum seçiciliklerini bileşiklerin çözünürlük problemi nedeniyle ¹³C NMR tekniğini kullanarak tayin etmişlerdir. Bu moleküllerin sodyuma göre amonyum seçicilikleri yüksek bulunurken potasyuma göre seçicilikleri oldukça düşük bulunmuştur (McGimpsey ve ark., 2008).

Literatür araştırmasından da görüldüğü gibi şu ana kadar geliştirilen amonyum iyon seçici elektrotların tayin sınırı ve seçiciliği gibi parametreleri nonactin esaslı amonyum iyon seçici elektrot ile kıyaslanmıştır. Bu elektrotlardan bazılarının amonyum seçiciliği potasyuma göre artarken sodyuma göre azalmış, bazen tam tersi olmuş, bazen de tayin sınırı düşmüştür. Ölçümlerini yaptığımız amonyum iyon seçici elektrot çalışmalarına bakıldığında ise, tamamında seçiciliğin arttığı, tayin sınırının daha da geliştiği ve kullanım ömrünün arttığı görülmektedir. Dolayısıyla bu çalışma literatürdeki bu eksikliği giderecek ve literatüre ciddi katkı sağlayacak bir çalışma olduğu kanaatindeyiz.

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Kullanılan Cihazlar

Sentezlenen maddelerin karakterizasyonlarında; ^1H NMR, ^{13}C NMR spektrumları Bruker 400 MHz spektrofotometre ile, IR spektrumları Perkin Elmer FT-IR Spektrofotometre-Spectrum 100 ile, Elementel analizler LECO CHINSO-932 cihazı ile, Erime noktası tayinleri Gallenkap erime noktası tayin cihazı ile, Potansiyel ölçümleri EMF Suite 1.02 software ile kontrol edilen EMF 16 potansiyometre ile alınmıştır. pH ölçümleri Schott Instruments pH metre ile yapılmıştır. Çözeltilerin hazırlanmasında kullanılan saf su Milipore ultra saf su cihazından temin edilmiştir. Harici referans elektrot olarak 1 M LiOAc tuz köprüsü çözeltisi ve 3 M KCl referans çözeltisi içeren double-junction Ag/AgCl elektrotu kullanılmıştır.

3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Sentez çalışmalarında ve amonyum iyon-seçici elektrot yapımında, optimum membran bileşenlerinin belirlenmesinde, kalibrasyon eğrilerinin çizilmesinde, elektrot uygulamaları ile ilgili çalışmalarda kullanılan kimyasal maddeler Merck, Sigma-Aldrich ve Fluka firmalarından temin edilmiş ve herhangi bir saflaştırma işlemine tabi tutulmadan kullanılmıştır.

3.3. Kullanılan Çözeltiler

3.3.1. Amonyum klorür çözeltisi

Deneylerde kullanılan iç dolgu, dış dolgu ve şartlanma çözeltilerinin hazırlanmasında kullanılmak üzere amonyum klorürden 0,1 M 250 mL'lik stok çözeltisi hazırlanmıştır.

3.3.2. Tris çözeltisi

Elektrot çalışmalarında kullanılan çözeltilerin pH'larını ayarlamak amacıyla TRİS ten gerekli miktar alınarak 0.05 M 1000 mL'lik stok çözelti hazırlanmıştır.

3.3.3. Seçicilik katsayıları tayin edilecek katyonların çözeltileri

Hazırlanan amonyum iyon-seçici elektrodun, Na^+ , Li^+ , Hg^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} ve K^+ iyonlarına karşı seçiciliğini belirlemek için belirtilen katyonların nitrat ve klorür tuzlarından gerekli miktarlarda alınarak 0,1 M, 0.01M ve 0.001 M 100 mL'lik stok çözeltiler hazırlanmıştır.

3.3.4. Britton ve Robinson (BR) tamponunun hazırlanması

Elektrodun potansiyometrik titrasyon uygulamalarında ve gerçek kan ve idrar numunelerinde kullanılmak üzere CH_3COOH , H_3PO_4 ve H_3BO_3 bileşiklerinden gerekli miktarlarda tartım alınarak 1000 mL çözelti hazırlanmıştır. İyonik şiddetin sabit olması için 10 mL 1×10^{-1} M'lık KCl çözeltisi eklenmiştir. 0.1 M NaOH veya 0.02 M NaOH çözeltileri ile pH 2-12 arasında çözeltiler hazırlanmıştır.

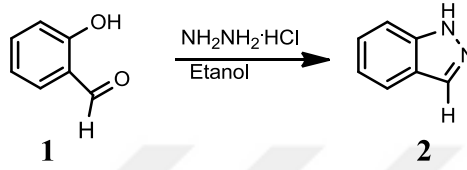
3.4. Sentez Çalışmaları

Amonyum iyon seçici elektrot yapımında kullanılan iyonoforların sentezi iki basamaktan oluşmaktadır. Birinci basamakta indazol türevleri sentezlenmiştir. İkinci basamakta ise indazol türevleri ile altı süstitüe benzen moleküllerinin reaksiyonları ile iyonoforlar sentezlenmiştir.

3.4.1. İndazol Türevlerinin Sentezi

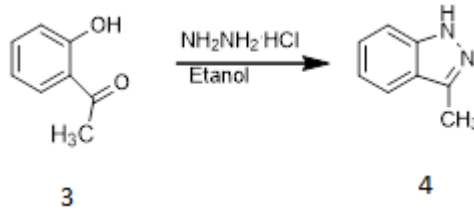
Bu çalışmada 1H-indazol ve 3-Metil-1H-indazol olmak üzere iki farklı indazol türevi sentezlenmiştir.

1H- indazol' ün Sentezi



10 mmol (1.22 g) salisilaldehitin 50 mL etil alkoldeki çözeltisi üzerine 15 mmol (0.98 g) hidrazin monoklorür ilave edilerek karışım 3 saat reflux edilmiştir. Çözücüsü alındıktan sonra silika jelden süzülerek sarı renkli bir çökelek elde edilmiştir.

3-Metil-1H-İndazol' ün Sentezi



10 mmol (1.362 g) 2'-hidroksi asetofenonun 50 mL etil alkoldeki çözeltisi üzerine 15 mmol (0.98 g) hidrazin monoklorür ilave edilerek karışım 3 saat reflux edilmiştir. Reaksiyon takibi IR metodu yapılmıştır. Reaksiyon sonlandırıldıktan sonra su ilavesiyle çöktürme işlemi gerçekleştirilmiş ve çöken sarı madde etil alkolden kristallendirilmiştir.

3.4.2. İyonoforların Sentezi

İyon seçici elektrot yapımında kullanılan iyonoforların sentezlenmeleri, ilgili literatürlerin modifiye edilmiş şekillerinin uygulanmasıyla gerçekleştirilmiştir (Morf, 1981; Lokhande ve ark., 2007; Chen ve ark., 2011).



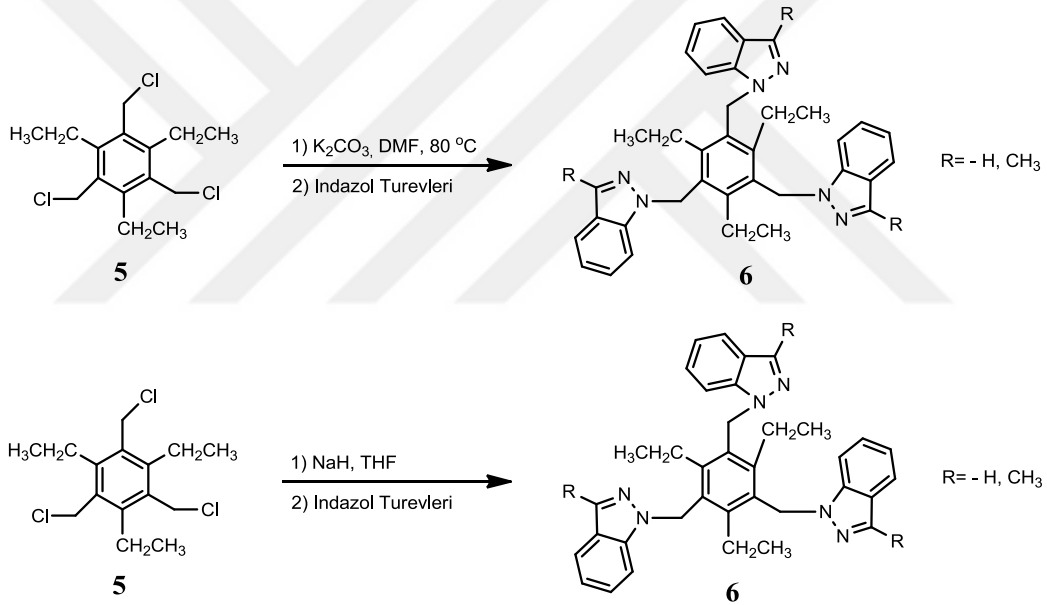
Şekil 3. 1. Sentez reaksiyonlarının gerçekleştirildiği havasız ortam düzeneği

1,3,5-tris(indazol)-2,4,6-tris(etil) benzen Türevlerinin Sentezi

Genel şeması aşağıda verilen 6 nolu bileşik ve türevleri iki farklı literatüre uygun olarak sentezlenmiştir^{2,4}. İndazol türevleri ve K_2CO_3 in DMF deki çözeltileri üzerine 5 nolu bileşiğin DMF deki çözeltileri ilave edilerek reaksiyon 80 °C' de gerçekleştirilmiştir. Ya da indazol türevleri ve NaH ün THF deki çözeltileri üzerine 5 nolu bileşiğin DMF deki çözeltisi ilave edilerek reaksiyon gerçekleştirilmiştir.

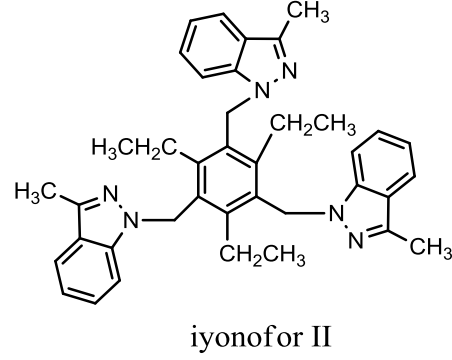
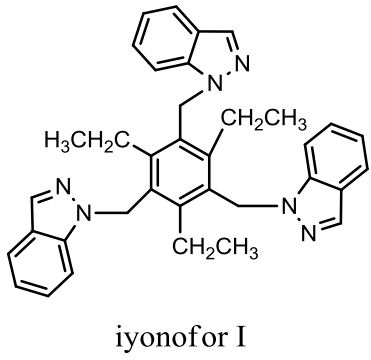
Genel olarak; gerekli miktarda NaH'ın THF'deki çözeltisine önceden sentezlemiş olduğumuz indazol türevleri küçük kısımlar şeklinde eklenmiştir. Karışım hidrojen gazı

çıkışı duruncaya kadar 20 dk karıştırılmış ve elde edilen çözelti yavaş bir şekilde altı sübstitüe benzen türevli bileşiğin yine THF'deki çözeltisine eklenmiştir. Reaksiyon 24 saat oda sıcaklığında kontrollü bir şekilde devam ettirildikten sonra karışım suya dökülerek sulu ortamda bir saat boyunca karıştırılmış ve sulu faz kloroform ile üç defa ekstrakte edilmiştir. Sentezlenen bileşikler kolon kromatografisi (CHCl_3) ve kristallendirme gibi çeşitli saflaştırma işlemlerine tabi tutulduktan sonra elementel analiz, IR ve NMR spektrumları alınarak karakterizasyonları yapılmıştır. Alınan IR ve NMR spektrumlarına ve elementel analiz sonuçlarına bakıldığında maddelerin sentezlerinin gerçekleştiği anlaşılmış ve sensör çalışmalarına geçilmiştir. Sentezlenen maddelere ait IR ve NMR spektrumları ve elementel analiz çizelgesi Bulgular ve Tartışma kısmında verilmiştir.



3.5. Potansiyometrik Çalışmalar

Potansiyometrik çalışmalarda, iyonofor olarak sentezlenen maddeler isimlerinin çok uzun olması nedeniyle, iyonofor I ve iyonofor II şeklinde kodlanmıştır. Bu maddelerin formülleri aşağıdaki şekildedir.



Şekil 3. 2. İyonofor I ve İyonofor II moleküllerinin formülleri

3.5.1. Membranların Hazırlanması

Amonyum iyonuna duyarlı elektrot yapmak için; %32 PVC, %65 plastikleştirici, %3 iyonofor ve iletkenlik arttırıcı tuz hesaplanan miktarlarda tartılıp 3 mL THF içerisinde çözülerek kokteyller hazırlanmıştır. Bu kokteyllerdeki iyonofor:tuz oranı değiştirilmek suretiyle en uygun kompleks stokiyometrisi belirlenerek bu oranda elektrotların karakteristik özellikleri tayin edilmiştir. Oluşan homojen karışım cam plaka üzerine tutturulmuş camı 35 mm olan cam diske dökülmüş ve tetrahidrofuranın buharlaştırılması için yaklaşık 24 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir.

3.5.2. İyon Seçici Elektrotların Hazırlanması

Hazırlanan membranlardan amonyum iyonuna duyarlı elektrot yapmak için 13 mm çapında kesilerek aynı boyuttaki plastik boruya THF yardımıyla yapıştırılmıştır. Plastik borunun boyutları double-junction ve tek elektrotlar için farklı boyutlarda kesilmiştir. Double-junction elektrotlar için iç dolgu çözeltisi olarak 1 mM KCl, dış dolgu çözeltisi olarak ise 10 mM NH₄Cl çözeltisi, tek elektrotlar için de 10 mM NH₄Cl çözeltisi kullanılmış ve içerisine Ag/AgCl tel daldırılmıştır. Ölçümlere başlanmadan önce elektrotlar dış dolgu çözeltilerine göre aynı molariteye sahip NH₄Cl ya da ilgili iyonların çözeltileri ile 24 saat şartlandırılmıştır.



Şekil 3.3. Kullanılan amonyum PVC membran iyon seçici elektrotlar

3.5.3. EMF Ölçümleri

Potansiyel ölçümleri $25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$ ' de EMF Suite 1.02 software ile kontrol edilen EMF 16 potansiyometre ile yapılmıştır. Çözelti ölçümler süresince sabit hızda karıştırılmıştır. Referans elektrot olarak 1 M LiOAc tuz köprüsü çözeltisi ve 3 M KCl referans çözeltisi içeren double-junction Ag/AgCl elektrotu kullanılmıştır. Ölçümler tarafımızdan yaptırılan faraday kafesi içerisinde gerçekleştirilmiştir. Bütün EMF değerleri sıvı temas potansiyelleri için Henderson eşitliği (3.1 nolu eşitlik) kullanılarak düzeltilmiştir (Morf, W. E., 1981).

$$E_{\text{junction}} = \frac{\sum_i \frac{|z_i| u_i}{z_i} [C_{i,\text{right}} - C_{i,\text{left}}]}{\sum_i |z_i| u_i [C_{i,\text{right}} - C_{i,\text{left}}]} \frac{RT}{F} \ln \frac{\sum_i |z_i| u_i C_{i,\text{left}}}{\sum_i |z_i| u_i C_{i,\text{right}}} \quad (3.1)$$

Aktiflik katsayılarının hesaplanmasında iki parametrelili Debye-Huckel eşitliği kullanılmıştır (Meier, 1982).

$$-\log \gamma_{\pm} = \left[\frac{A |Z_+ Z_-| \sqrt{\mu}}{(1 + B \sqrt{\mu})} \right] + C \sqrt{\mu} \quad (3.2)$$

3.5.4. İyon Seçici Elektrotların Karakteristik Özelliklerinin Belirlenmesi

Geliştirilen elektrotların, membran bileşimi, seçicilik katsayısı, tayin limiti, çalışma aralığı, eğimi, cevap süresi, ömrü gibi özellikleri literatüre uygun olarak tayin edilmiştir (Guilbault ve ark., 1976; Bakker, 1997).

3.5.4.1. İyon-Seçici Elektrotların Membran Bileşiminin Belirlenmesi

Sentezlenen iyonoforlardan bir tanesi ve potasyum tetrakis (p-klorfenilborat) tuzu belirli oranlarda uygun THF çözücüsünde çözülerek Bölüm 3.5.1' de anlatıldığı gibi farklı kokteyller hazırlanmıştır (Chen ve ark., 2011). Bu kokteyllerdeki iyonofor:tuz oranı değiştirilmek suretiyle en uygun kompleks stokiometri belirlenerek bu oranda

elektrotların cevaplarına göre en uygun bileşim belirlenmiştir. Plastikleştirici olarak o-nitrofeniloktiletler ve polimerik bir membran yapmak için PVC kullanılmıştır. Bununla ilgili yapılan çalışmalar ve bulunan sonuçlar Bulgular ve Tartışma kısmında detaylı bir şekilde verilmiştir.

3.5.4.2. İyon-Seçici Elektroların Kalibrasyon Eğrilerinin Çizilmesi ve Eğimlerinin Belirlenmesi

Daha önceki bölümlerde belirtildiği şekilde hazırlanan amonyum iyon-seçici elektrodun, kalibrasyon eğrisinin çizilmesi ve eğiminin belirlenmesi amacıyla pH' ı TRİS tamponu ile 7.4' e ayarlanmış olan 0.1 M amonyum klorür çözeltisi hazırlanmıştır. Bu çözeltiliye hazırlanan amonyum iyon-seçici elektrot ve çift temaslı Ag/AgCl referans elektrodu daldırılmıştır. Amonyum iyon-seçici elektrot/çift temaslı Ag/AgCl referans elektrot çiftiyle her bir çözeltinin potansiyeli kaydedilmiştir. Ölçümler $25,0 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ ' ta ve 0.1 M amonyum iyonu derişiminden başlanarak seyreltme yoluyla gerçekleştirilmiştir. Kaydedilen potansiyel değerleri pNH_4 'e karşı grafiğe geçirilmiş, kalibrasyon grafiklerinden elektrodun eğimi ve doğrusal çalışma aralığı tespit edilmiştir.

3.5.4.3. İyon-Seçici Elektroların Cevap Süresinin Belirlenmesi

Elektrodun cevap süresinin belirlenmesi için Bölüm 3.5.3' te yapılan ölçümlerde çözelti sabit hızla karıştırılırken, potansiyelin kararlı hale gelmesi için gerekli süreler kaydedilmiş ve potansiyellerin kararlı hale geldiği süre elektrodun cevap süresi olarak belirlenmiştir.

3.5.4.4. İyon-Seçici Elektroların Ömrünün Belirlenmesi

Bölüm 3.5.2' de belirtildiği gibi hazırlanan elektrotla, 2 ay boyunca kalibrasyon çözeltilerinin potansiyelleri okunmuş, çizilen kalibrasyon grafiklerinden elektrodun eğimi tespit edilmiş ve elektrodun eğiminin düşmeye başladığı süre elektrodun ömrü olarak alınmıştır.

3.5.4.5. İyon-Seçici Elektroların Seçicilik Katsayısının Belirlenmesi

Seçicilik katsayılarının tayini için literatürde farklı metotlar vardır fakat bu çalışmada, Ayrı Çözelti Metodu, Sabit Bozucu İyon Metodu metodları kullanılmıştır. Hesaplamalarda Nicolskii-Eisenmann eşitliğinin modifiye edilmesiyle elde edilen ve deneysel olarak daha kullanışlı olan eşitlikler kullanılmıştır.

$$E = E_1^0 + \frac{RT}{Z_1 F} \ln(a_I(IJ) + K_{IJ}^{pot} a_J(IJ)^{Z_I/Z_J}) \quad (3.3)$$

Ayrı Çözelti Metodu: Bu metotta asıl iyon ve girişim yapan iyonun eşit aktivitede iki ayrı çözeltisi hazırlanarak, geliştirilen elektrot ile kalibrasyon grafikleri oluşturulmuştur. Elde edilen kalibrasyon grafiklerinden türlerin E^0 değerleri hesaplanarak aşağıdaki bağıntıya göre seçicilik katsayıları hesaplanmıştır.

$$K_{IJ}^{pot} = \exp\left\{\left(E_J^0 - E_I^0\right) \frac{Z_I F}{RT}\right\} \quad (3.4)$$

Sabit Bozucu İyon Metodu: Bu metoda analit, belirli konsantrasyonda bozucu iyon içermektedir. Kalibrasyon grafiği oluşturulurken yapılan seyreltmelerde kullanılan çözeltide aynı konsantrasyonda bozucu iyon içermektedir. Buradan elde edilen grafikten yararlanarak asıl iyonun aktivitesi eğrinin doğrusal kısımlarının extrapolasyonu ile hesaplanıp ve aşağıdaki eşitlikte yerine konarak seçicilik katsayısı hesaplanmıştır.

$$K_{IJ}^{pot} = \frac{a_I(I)}{a_J(J)^{Z_I/Z_J}} \quad (3.5)$$

3.5.4.6. İyon-Seçici Elektroların Tayin Limitinin Belirlenmesi

İSE'lerin tayin sınırı IUPAC'a göre, kalibrasyon eğrisinin doğrusal kısımlarının çakışması olarak tanımlanır. Bu tanım alt ve üst tayin sınırlarına uygulanabilir. Çalışmalarımızda tayin limiti, kalibrasyon grafiklerinden deneysel olarak elde edilen verilerin aşağıdaki eşitlikte yerine konmasıyla hesaplanmıştır.

$$DL = \exp \left\{ \frac{(E_{son} - E^0)}{Slope} \right\} \quad (3.6)$$

3.5.4.7. İyon-Seçici Elektroların Çalışma Aralığının Belirlenmesi

IUPAC'a göre bir hücrenin, potansiyel değişimine karşı çizilen iyonik aktivite cevabının logaritmasının grafiğinden tayin edilen alt ve üst tayin sınırları arasında yer alan cevap aralığı bölgesi doğrusal çalışma aralığı olarak tanımlanır. Çalışmalarımızda elde edilen tayin limitleri arasında nernstian cevap alınan bölge çalışma aralığı olarak belirlenmiştir.

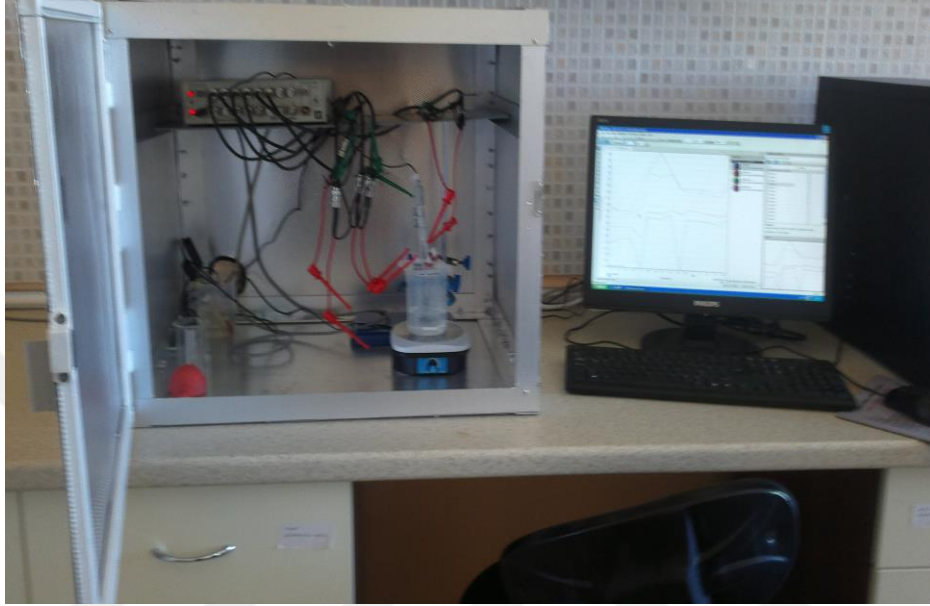
3.5.4.8. İyon Seçici Elektrotların Biyolojik Sıvılarda Uygulamaları

Geliştirilen elektrotların kan ve idrar gibi biyolojik sıvılara uygulamaları ilgili literatürlerin modifiye edilmeleriyle gerçekleştirilmiştir (Proelss ve Wright, 1973, Lopez, S, 1998, Claudia E, 1999, Georges, J, 1979, Mascini, M, 1977). Buradaki amaç sadece kan ve idrar gibi biyolojik sıvılarda amonyum miktarını tayin etmek olduğu için, örnekler herhangi bir hastalık türü taşıyan bir gruptan değil sağlıklı bir gruptan alınmıştır.

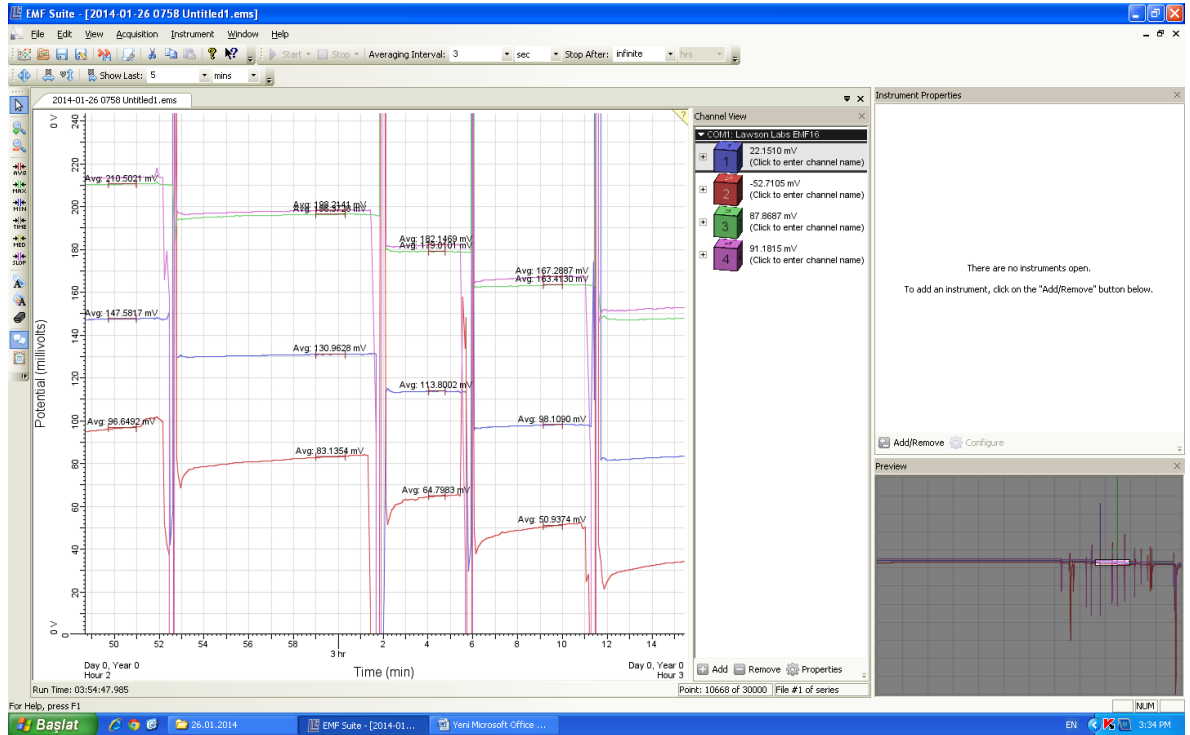
Kanda amonyum tayini için, 3 ayrı kişiden heparinli tüplere alınan kan örneklerinden 5 mL kan üzerine, buz içerisinde soğutulmuş 0.5 M 5 mL perklorik asit çözeltisi eklenerek 5 dakika buz içerisinde proteinlerin çökmesi için bekletilmiştir. Daha sonra 2000 rpm de 5 dakika santrifüjlenerek berrak kısımlar alınıp Tris ile pH 7.4' ayarlanmış ve Bölüm 3.5.2' deki gibi hazırlanan 3 ayrı elektrotlarla ölçümler alınmıştır. Bulunan değerler aynı gün içerisinde oluşturulan kalibrasyon grafiğinin lineer çalışma aralığına düştüğü için konsantrasyon hesaplaması yapılmıştır. Buna ilaveten metodun doğruluğunu doğrulamak amacıyla standart ekleme yöntemi kullanılmıştır.

İdrarda amonyum tayini için, 3 ayrı kişiden alınan idrarlar 0,5 M HCl asit ilavesinden sonra 30 kat seyreltilerek toplam hacim 50 mL olacak şekilde Tris ile pH ları 7.4' e ayarlanmış ve, hazırlanan 3 ayrı elektrotlarla ölçümler alınmıştır. Bulunan değerler aynı

gün içerisinde oluşturulan kalibrasyon grafiğinin lineer çalışma aralığına düştüğü için konsantrasyon hesaplaması yapılmıştır. Buna ilaveten metodun doğruluğunu doğrulamak amacıyla ortama iki farklı konsantrasyonda standart Amonyum çözeltileri eklenerek ölçümler tekrarlanmıştır.



Şekil 3.4. İyon seçici elektrotların ölçüm sistemi



Şekil 3.5. İyon seçici elektrotların ölçümlerinin yapıldığı programdan bir kesit

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. Sentez Çalışmaları

Amonyuma duyarlı iyon seçici elektrotların geliştirilmesinde kullanılmak üzere iki adet indazol grubu içeren altı süstitüentli benzen yapılarından oluşan iyonoforlar sentezlenmiştir. Sentezlenen bu iyonoforların karakterizasyonlarında ^1H NMR, ^{13}C NMR, IR ve elementel analiz gibi enstrümental yöntemler kullanılmıştır.

4.1.1. İndazol Türevlerinin Sentezi

Bu çalışmada 1H-indazol ve 3-Metil-1H-İndazol olmak üzere iki farklı indazol türevi sentezlenmiştir. Sentezlenen moleküle ait ^1H NMR, ^{13}C NMR değerleri aşağıda verilmiştir.

^1H - indazol' ün Sentezi

^1H NMR (CDCl_3): δ 11.20 (brs, 1H, -NH), 8.19 (s, 1H, indazol), 7.83 (d, 1H, Ar), 7.52 (d, 1H, Ar), 7.46 (t, 1H, Ar), 7.20 (t, 1H, Ar). ^{13}C NMR (CDCl_3): δ 140.12, 134.70, 126.88, 123.18, 121.02, 120.95, 109.90.

Sentezlenen molekül ^1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumlarına bakıldığında ^1H - indazol' e ait olması gereken piklerin tamamının mevcut olduğu dolayısıyla molekülün sentezlendiği görülmektedir.

```

D:\Bruker\TOPSPIN_USER\A\CUMROVALI_NAME=Indazol Or1, EXPNO=
F1=11.648ppm, F2=11.618ppm, MI=5.39w, MAZ=1.09um, PC=1.50s
# ADDRESS # F1 (ppm) F2 (ppm) INTENSITY
1 8227.7 4518.291 11.2998 0.82

D:\Bruker\TOPSPIN_USER\A\CUMROVALI_NAME=Indazol Or1, EXPNO=
F1=11.648ppm, F2=11.618ppm, MI=5.39w, MAZ=1.09um, PC=1.50s
# ADDRESS # F1 (ppm) F2 (ppm) INTENSITY
2 13189.8 3278.053 8.1991 12.00
3 13175.4 3277.080 8.1884 14.97
4 13741.1 3136.566 7.8789 3.62
5 13737.8 3135.445 7.8743 9.49
6 13741.1 3136.482 7.8741 2.57
7 13766.3 3129.281 7.8146 2.79
8 13779.2 3127.323 7.8112 15.10
9 13744.9 3126.380 7.8118 2.90
10 14148.4 3032.291 7.5710 2.04
11 14151.9 3031.911 7.5748 8.66
12 14155.4 3030.990 7.5723 6.41
13 14155.4 3032.124 7.5740 8.68
14 14199.3 3022.186 7.5515 8.92
15 14199.3 3021.202 7.5492 2.93
16 14239.3 2983.484 7.4578 3.43
17 14342.3 2983.646 7.4532 5.59
18 14349.9 2977.053 7.4494 4.62
19 14370.2 2976.722 7.4379 7.73
20 14376.1 2975.241 7.4362 4.62
21 14399.3 2969.438 7.4199 4.75
22 14403.4 2968.358 7.4170 4.48
23 14403.3 2918.531 7.2305 3.45
24 14403.3 2939.001 7.2432 6.01
25 14407.3 2897.745 7.2191 5.82
26 14711.2 2891.157 7.2243 5.52
27 14725.3 2890.076 7.2214 8.30
28 14719.6 2889.036 7.2188 5.98
29 14743.1 2882.993 7.2017 4.71
30 14744.9 2882.192 7.2017 4.74

```

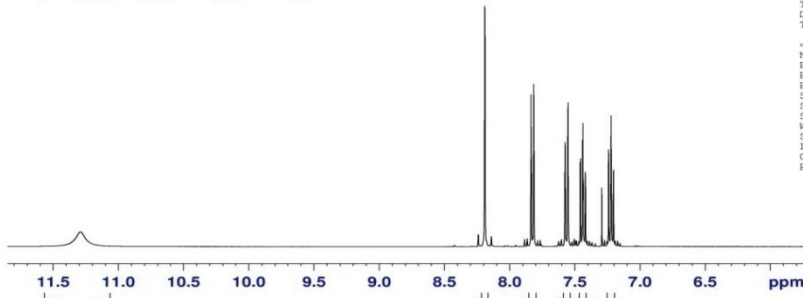


```

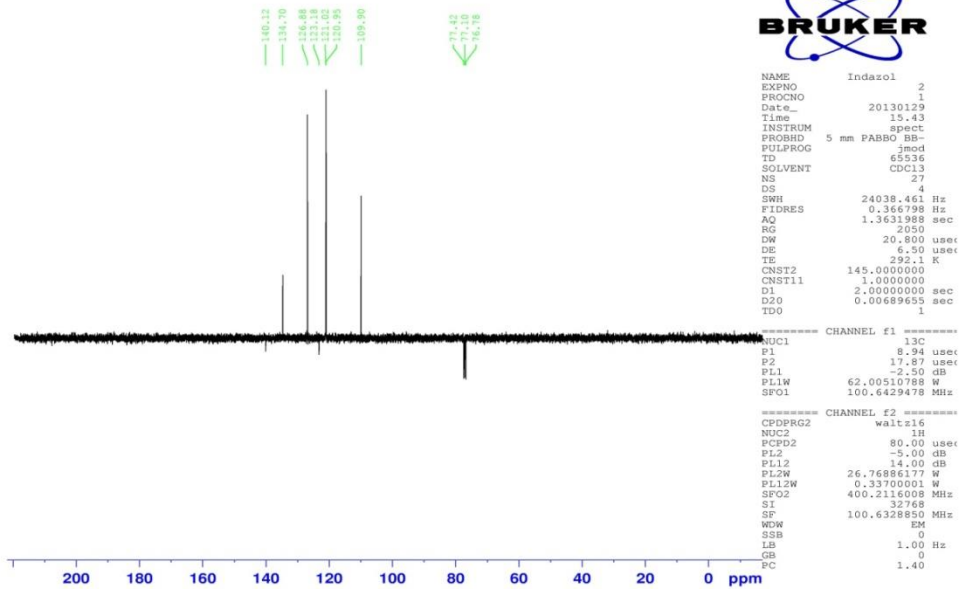
NAME Indazol
EXPNO 1
PROCNO 1
Date_ 20130129
Time 15.35
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm PABBO BB-
PULPROG zg30
TD 65536
SOLVENT CDCl3
NS 16
DS 2
SWH 8223.685 Hz
FIDRES 0.125483 Hz
AQ 3.9846387 sec
RG 64
DW 60.800 usec
DE 6.50 usec
TE 291.3 K
D1 1.0000000 sec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1 1H
P1 9.50 usec
PL1 -5.00 dB
PL1W 26.76886177 W
SFO1 400.2124715 MHz
SI 32768
SF 400.2100000 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 1.00

```



Şekil 4.1. 1H- indazol bileşiminin ¹H NMR spektrumu



```

NAME Indazol
EXPNO 2
PROCNO 1
Date_ 20130129
Time 15.43
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm PABBO BB-
PULPROG simo
TD 65536
SOLVENT CDCl3
NS 27
DS 4
SWH 24038.461 Hz
FIDRES 0.366798 Hz
AQ 1.3631988 sec
RG 2050
DW 20.800 usec
DE 6.50 usec
TE 292.1 K
CNST2 145.0000000
CNST11 1.0000000
D1 2.0000000 sec
D20 0.00689655 sec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1 13C
P1 8.94 usec
P2 17.87 usec
PL1 -2.50 dB
PL1W 62.00510788 W
SFO1 100.6429478 MHz

===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2 waltz16
NUC2 1H
PCPD2 80.00 usec
PL2 -5.00 dB
PL12 14.00 dB
PL2W 26.76886177 W
PL12W 0.33700001 W
SFO2 400.2116008 MHz
SI 32768
SF 100.6328850 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.40

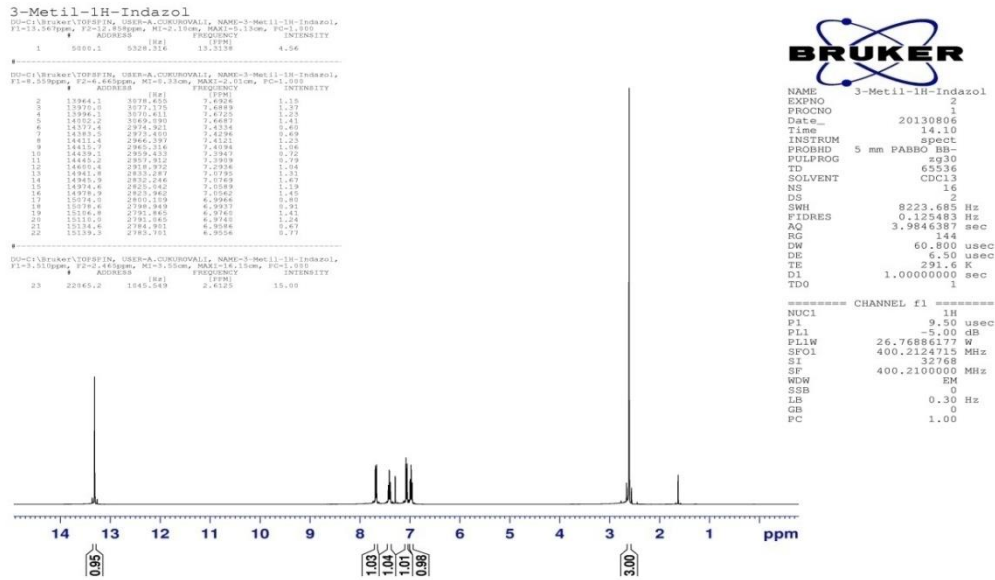
```

Şekil 4.2. 1H- indazol bileşiminin ¹³C NMR spektrumu

3-Metil-1H-Indazol' ün Sentezi

^1H NMR (CDCl_3): δ 13.31 (brs, 1H, -NH), 7.69-7.66 (d, 1H, Ar), 7.43-7.39 (t, 1H, Ar), 7.08 (s, 1H, Ar), 6.99-6.95 (t, 1H, Ar), 2.61 (s, 3H, $-\text{CH}_3$). ^{13}C NMR (CDCl_3): δ 168.10, 160.61, 132.93, 128.98, 119.01, 117.93, 14.90 ($-\text{CH}_3$).

Sentezlenen molekül ^1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumlarına bakıldığında elde edilen piklerin 3-Metil-1H-Indazol' ün yapısını desteklediği ve sonuç olarak molekülün sentezlendiği görülmektedir.



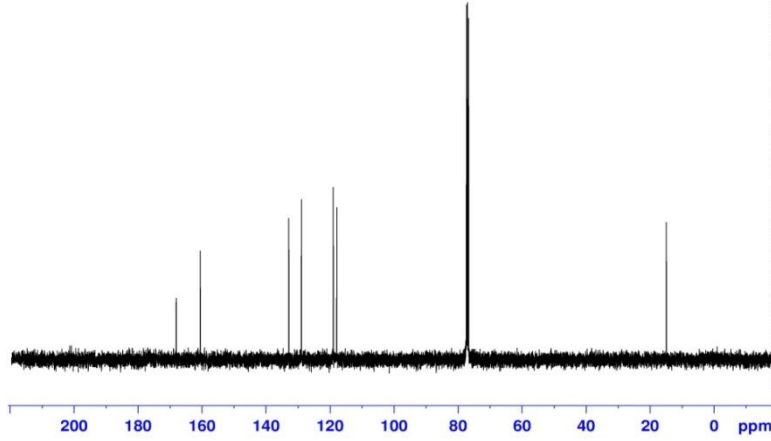
Şekil 4.3. 3-Metil-1H-Indazol bileşiğinin ^1H NMR spektrumu

3-Metil-1H-İndazol

```
DP=C:\bruker\TOPSPIN USER=A.CUMHURBAZI, NAME=3-Metil-1H-İndazol,
F1=219.432ppm, F2=19.441ppm, MI=0.50um, MAXI=10000.00um, EC=4.00
# ADDRESS FREQUENCY INTENSITY
1 7040.6 14914.720 144.10313 5.54
2 8069.1 14162.250 140.6061 9.48
3 13466.0 13774.434 132.9268 12.83
4 12407.2 12979.861 128.9823 14.11
5 12776.1 13374.370 130.1055 13.56
6 13423.6 13867.374 137.9274 13.80
7 14487.2 1485.874 72.3761 30.82
8 19330.8 7153.885 77.0322 30.74
9 19374.3 7122.083 74.7332 29.13
10 28017.0 1499.219 14.9379 32.38
```



```
3-Metil-1H-İndazol
NAME 3-Metil-1H-İndazol
EXPNO 1
PROCNO 1
Date_ 20130806
Time 14.19
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm PABBO BB-
PULPROG zgpg30
TD 65536
SOLVENT CDCl3
NS 101
DS 4
SWH 24038.461 Hz
FIDRES 0.366798 Hz
AQ 1.3631988 sec
RG 101
DW 20.800 usec
DE 6.50 usec
TE 293.2 K
D1 2.0000000 sec
D11 0.0300000 sec
TD0 1
----- CHANNEL f1 -----
NUC1 13C
P1 8.94 usec
PL1 -2.50 dB
PL1W 62.00510788 MHz
SFO1 100.6429478 MHz
----- CHANNEL #2 -----
CPDPRG2 waltz16
NUC2 1H
PCPD2 80.00 usec
PL2 -5.00 dB
PL12 14.00 dB
PL13 14.00 dB
PL2W 26.76886177 W
PL12W 0.33700001 W
PL13W 0.33700001 W
SFO2 400.2116008 MHz
S1 32768
SF 100.6328850 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 4.00
```



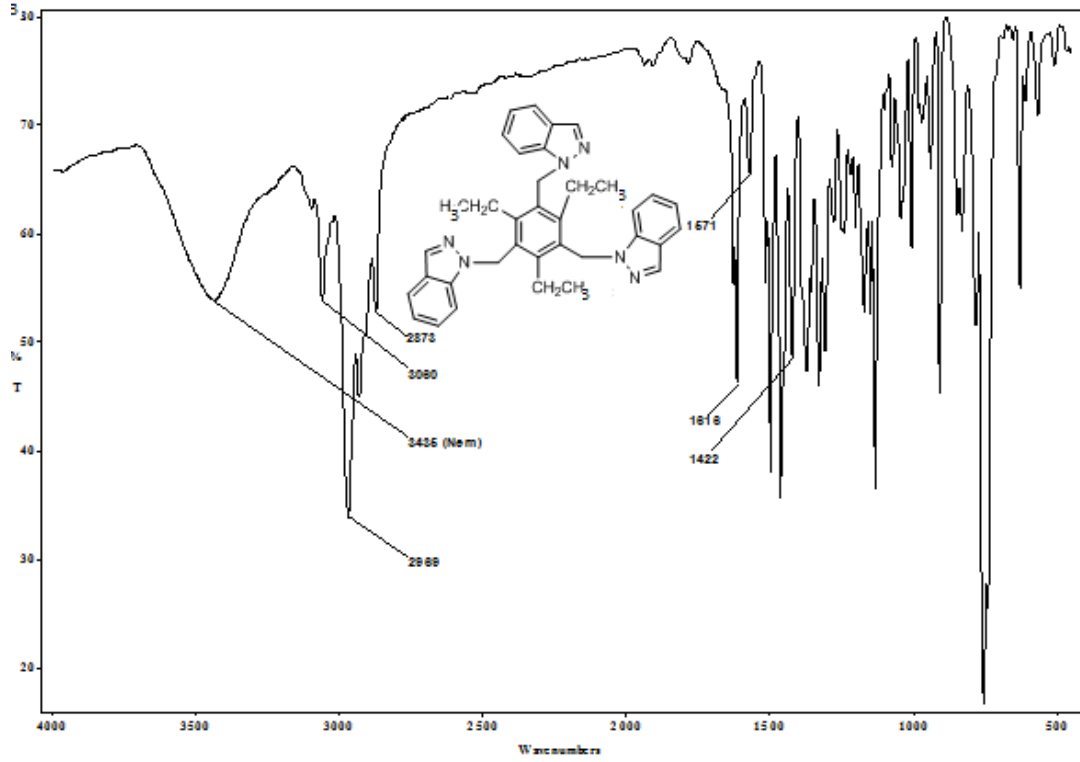
Şekil 4.4. 3-Metil-1H-İndazol bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu

4.1.2. İyonoforların Sentezi

İyon seçici elektrot yapımında kullanılacak olan iyonoforların sentezlenmeleri, ilgili literatürlerin modifiye edilmiş şekillerinin uygulanmasıyla gerçekleştirilmiştir (Lokhande, ve ark., 2007), (Chen, ve ark., 2011), (Morf, 1981).

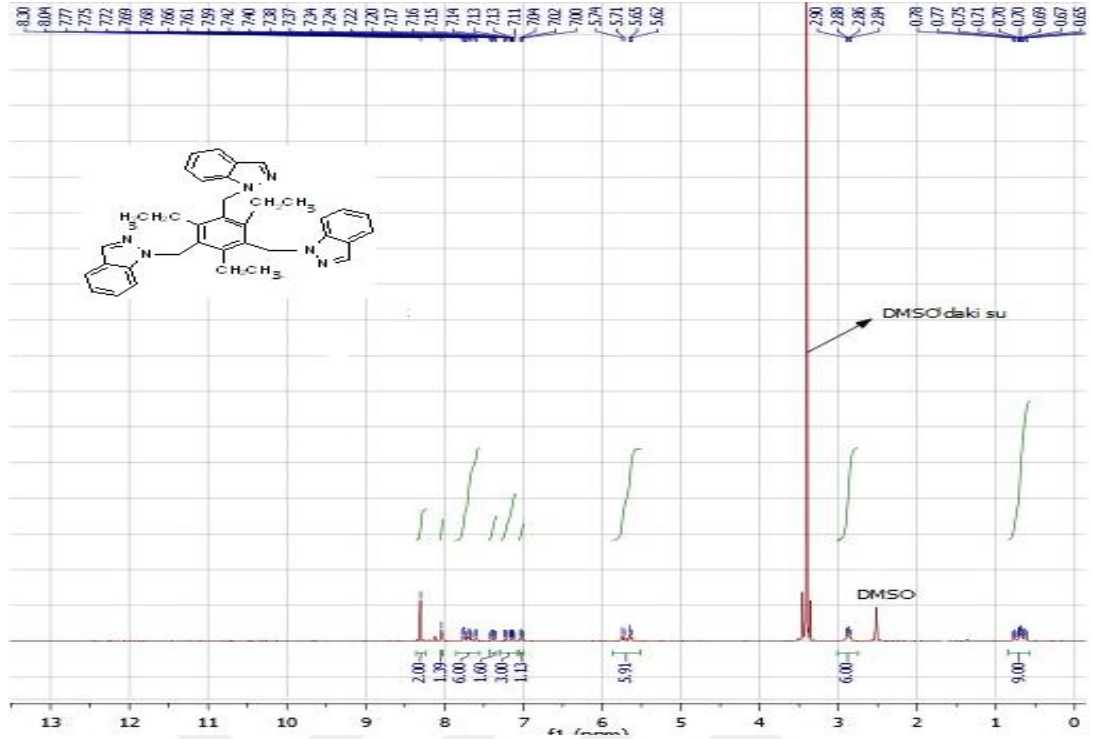
1,1',1''-((2,4,6-triethylbenzene-1,3,5-triyl)tris(methylene))tris(1H-indazole) ün sentezi

İyonofor olarak kullanılacak olan moleküller iki farklı literatüre uygun olarak sentezlenmiştir (Sasaki, ve ark., 2001; Lokhande, ve ark., 2007; Chen, ve ark., 2011). Alınan IR ve NMR spektrumlarına ve elementel analiz sonuçlarına bakıldığında maddelerin sentezlerinin gerçekleştiği anlaşılmış ve sensör çalışmalarına geçilmiştir. Sentezlenen maddelere ait IR spektrumları Şekil 4.5, 4.7' de, NMR spektrumları Şekil 4.6, 4.8' de ve Elementel Analiz Sonuçları Çizelge 4. 1-12' de verilmiştir.



Şekil 4.5. 1,1',1''-((2,4,6-triethylbenzene-1,3,5-triyl)tris(methylene))tris(1H-indazole)'e ait IR spektrumu.

IR spektrumuna bakıldığında 3060 cm^{-1} 'deki pik aromatik C-H gerilme titreşimlerine, $2969\text{-}2873\text{ cm}^{-1}$ 'deki pikler alifatik C-H gerilme titreşimlerine aittir. 1616 cm^{-1} 'deki pik indazol halkasındaki -C=N- grubuna ait gerilme titreşimleri, $1571\text{-}1422\text{ cm}^{-1}$ 'deki pikler aromatik -C=C- piklerine ait gerilme titreşim pikleridir. 800 cm^{-1} 'deki pik altı sübstitüentli benzene ait piktir. Bütün bu temel pikler yapının gerçekleştiğini göstermektedir.



Şekil 4.6. 1,1',1''-((2,4,6-triethylbenzene-1,3,5-triyl)tris(methylene))tris(1H-indazole)'e ait ^1H NMR spektrumu.

Bu bileşiğin DMSO- d_6 çözücüsünde çekilen NMR spektrumundan yukarıdaki kimyasal kaymalar ve spektrum elde edilmiştir. 2.52 ve 3.41 ppm'deki pikler sırasıyla DMSO çözücüsüne ve DMSO'daki suya aittir. 0.60-0.78 ppm aralığında görülen multipllet pik gerçekte bir multipllet değil, izomer iki tripletin çakışmış halinden ibarettir. Multiplletin çok karışık olması nedeniyle j değerleri hesaplanamamıştır. Pikin integral değeri dokuz protona eş değer olup bu da beklenen yapıya uygundur. 2.84-2.90 ppm aralığında görülen pikler bir quartettir. Bu quartetin j değeri 8 Hz'dir. Bu değer yapıdaki etil grubunun $-\text{CH}_2-$ grubunu göstermektedir. Pikin integral değeri de altı olup yapıyla uyumludur. 5.62-5.74 ppm aralığında görülen iki ayrı dublet, bileşiğin indazole bağlı $-\text{CH}_2-$ grubunu göstermektedir. Bu dubletlerden biri diğerinin izomeri olup j değerleri her ikisi için de 12 Hz'dir. Piklerin dublet olarak görünmesinin nedeni, aynı $-\text{CH}_2-$ grubundaki hidrojenlerin, heteroatoma bağlı bir $-\text{CH}_2-$ grubu olmasından dolayı H_A ve H_B şeklinde farklı olmalarından dolayıdır. Bunlar birbirlerini farklı gördüklerinden etkileşerek dublet verirler. Bir de izomer olduğundan sanki quartetmiş gibi görünmektedirler. Pikin integral değeri de altı olup yapıyla tam uyumludur. 7.00-8.30 ppm aralığında dokuz tür pik bulunmaktadır. Bunlar indazol halkasında bulunan beş

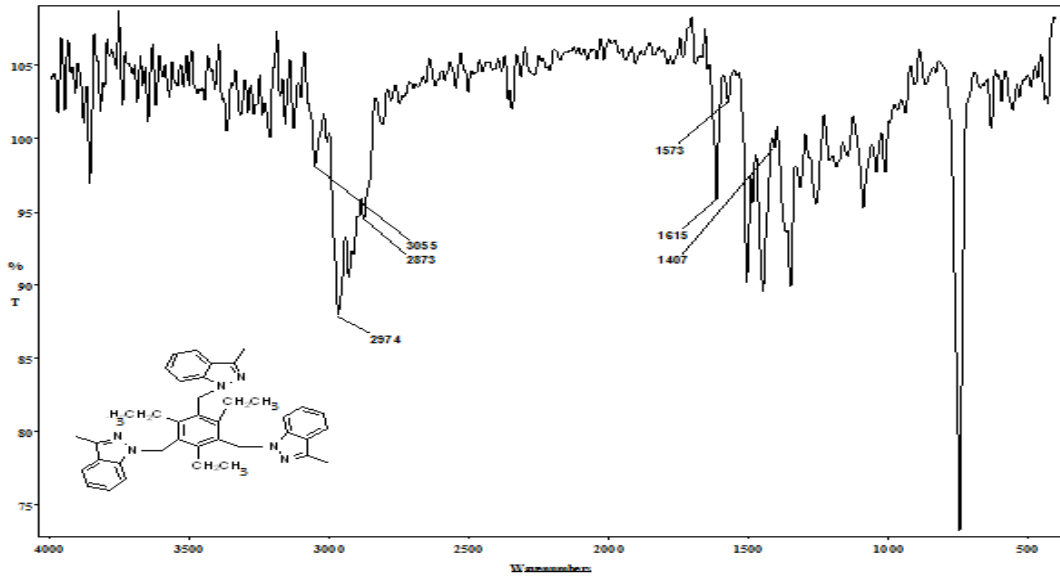
ayrı protonun singlet, dublet ve tripletlerine ait olup, eşleşmeler ve izomerik yapının pikleri nedeniyle çok karışık görünmektedir. Gerçekte beş çeşit pik olup bunların integral değerlerinin toplamı yapıyla uyumlu olan onbeş hidrojene eş değerdir. Bu da yapıyla tamamen uyumludur. Yine bu kısımdaki piklerin *j* değerleri, izomer piklerin çakışması nedeniyle hesaplanamamıştır.

Çizelge 4.1. 1,1',1''-((2,4,6-triethylbenzene-1,3,5-triyl)tris(methylene))tris(1H-indazole)'e ait elementel analiz sonuçları

	(%) C	(%) H	(%) N	(%) S	(%) O
Teorik Değerler	78.23	6.57	15.21	--	--
Analiz Sonuçları	77.69	5.83	14.57	--	--

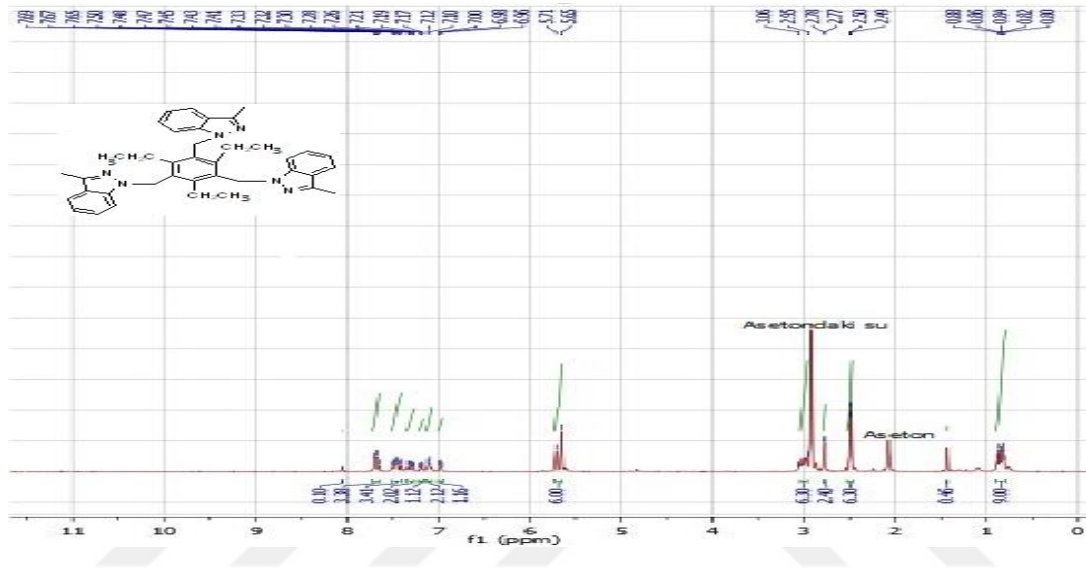
Çizelge 4.1' de verilen elementel analiz değerlerine bakıldığında teorik değerlerle deneysel değerler arasındaki farkların ihmal edilebilir seviyede olduğu görülmektedir.

1,1',1''-((2,4,6-triethylbenzene-1,3,5-triyl)tris(methylene))tris(3-methyl-1H-indazole)'ün sentezi



Şekil 4.7. 1,1',1''-((2,4,6-triethylbenzene-1,3,5-triyl)tris(methylene))tris(3-methyl-1H-indazole)'e ait IR spektrumu.

IR spektrumuna bakıldığında 3055 cm^{-1} 'deki pik aromatik C-H gerilme titreşimlerine, $2974\text{-}2873\text{ cm}^{-1}$ 'deki pikler alifatik C-H gerilme titreşimlerine aittir. 1615 cm^{-1} 'deki pik indazol halkasındaki -C=N- grubuna ait gerilme titreşimleri, $1573\text{-}1407\text{ cm}^{-1}$ 'deki pikler aromatik -C=C- piklerine ait gerilme titreşim pikleridir. 800 cm^{-1} 'deki pik altı sübstitüentli benzeneye ait piktir. Bütün bu temel pikler yapının gerçekleştiğini göstermektedir.



Şekil 4.8. 1,1',1''-((2,4,6-triethylbenzene-1,3,5-triyl)tris(methylene))tris(3-methyl-1H-indazole)'e ait $^1\text{H-NMR}$ spektrumu.

Bileşiğin aseton- d_6 'da alınan spektrumu yukarıdaki gibidir. 0.80-0.88 ppm aralığında görülen pikler benzen halkasına bağlı etil grubunun -CH_3 pikleridir. Bu pik bir triplet olmalıdır. Ancak izomeriden dolayı sanki multipletmiş gibi görülmektedir. Dolayısı ile buna ait **j** değerleri hesaplanamamıştır. Bu pikin integral değeri bileşikteki -CH_3 ile uyumludur. 2.50 ve 2.78 ppm'de görülen iki dublet indazol halkasına bağlı metil grubuna ait olup birbirinin izomeridir. Ayrıca dublet görünmeleri de uzak etkileşme (**j=4 Hz**) sonucudur. 2.95-3.06 ppm'deki pik quartet olup bu da izomerlerin üst üste gelmesinden dolayı multipletmiş gibi görülmektedir. Bu sebeple **j** değerleri hesaplanamamıştır. Pikin integral değeri bileşikle uyumludur. 5.65 ve 5.71 ppm'de görülen pikler ise bir dublet olmayıp iki singlettir. Dublet olduğu düşünülerek elde edilen **j değeri** 24 Hz'dir. Bu da böyle bir bileşikte olması gereken eşleşme sabitlerine uymamaktadır. Bu pikler bir izomeriyi gösterir ve bu ppm'de görülen $\text{-CH}_2\text{-}$ pikleri ve bunların integral değerleri önerilen bileşik ile uyumludur. 6.96 ile 7.69 ppm arasında

görülen pikler için de, pikler açılarak yapılan hesaplamalarda aynı durum görülmektedir. Bu kısımdaki piklerden j değerleri, izomer piklerinin birbirini üzerine gelmesi nedeniyle hesaplanamamıştır.

Çizelge 4.2. 1,1',1''-((2,4,6-triethylbenzene-1,3,5-triyl)tris(methylene))tris(3-methyl-1H-indazole)'e ait elementel analiz sonuçları

	(%) C	(%) H	(%) N	(%) S	(%) O
Teorik Değerler	78.75	7.12	14.13	--	--
Analiz Sonuçları	77.92	6.83	13.68	--	--

Elementel analiz sonuçları da önerilen yapının gerçekleştiğini göstermektedir.

4.2. Potansiyometrik Çalışmalar

4.2.1. İyon Seçici Elektrotların Karakteristik Özelliklerinin Belirlenmesi

Geliştirilen elektrotların, membran bileşimi, seçicilik katsayısı, tayin limiti, çalışma aralığı, eğimi, cevap süresi, ömrü, gibi özellikleri literatüre uygun olarak tayin edilmiştir (Bakker ve Simon, 1992), (Seiler ve Simon, 1992).

4.2.2. İyon-Seçici Elektrotların İyonofor:Tuz Oranlarının Belirlenmesi

İyon seçici elektrotların iyonofor:tuz oranının belirlenebilmesi için, çok farklı oranlarda kokteyller hazırlanmış, her birinin cevapları, eğimleri, tayin limitleri incelenmiştir. Bu bu denemeler ve teorik durumlar kombine olarak değerlendirildiğinde ideal oranın 3:1 olduğu neticesine varılmıştır.

Çizelge 4.3. İyonofor:tuz oranını belirlenmesi amacıyla yapılan denemeler

PVC(%)	Plastikleştirici(%)	İyonofor (%)	İyonofor/R ⁻ oranı R ⁻ :NaTFPB	Eğim mV/pNH ₄ ⁺
	o-NPOE			
32	65	3	1:1	59.30±1.56
32	65	3	1:2	60.08±0.98
32	65	3	1:3	51.06±0.19
32	65	3	2:1	60.02±1.25
32	65	3	3:1	59.39±1.44

4.2.3. İyon-Seçici Elektrotların Membran Bileşiminin Belirlenmesi

Literatür araştırmasında, PVC matriksli nötral taşıyıcılı membran elektrotlar hazırlanırken, en yaygın kullanılan bileşimin % 1-7 makrosiklik bileşik (nötral taşıyıcı), % 28-34 PVC (iç matriks), % 63-69 plastikleştirici (çözücü), % 0.03-2 iletkenlik artırıcı (lipofilik anyon) olduğu görülmektedir (Demirel, 2004). Bu nedenle yukarıda verilen bileşim aralığında nötral taşıyıcı, PVC, plastikleştirici ve iletkenlik artırıcı oranları değiştirilerek optimum membran bileşimi belirlenmeye çalışılmıştır.

Çalışmamızın ön deneme aşamasında membran matriksi olarak, PVC; plaslikleştirici olarak, 2-nitrofenil oktil eter (o-NPOE), bis(2-etilhekzil) sebakat (DEHS), dibütil ftalat (DBP), iletkenlik artırıcı olarak sodyum tetrakis[3,5-bis(perfluorohekzil)fenil]borat tuzu kullanılmıştır.

Çizelge 4.4. Membran bileşiminin belirlenmesi amacıyla yapılan denemeler

PVC (%)	Plastikleştirici(%)	iyonofor (%)	İyonofor/R ⁻ oranı R ⁻ :NaTFPB	Eğim mV/pNH ₄ ⁺
	o-NPOE			
32	65	3	3:1	59.39±1.44
28	69	3	3:1	59.48±1.68
34	63	3	3:1	58.48±1.28

Membran bileşiminin belirlenmesi amacıyla çok fazla sayıda denemeler yapılmış fakat Çizelge 4.4' e bunlardan bazılarının ortalama değerleri konmuştur. Çizelge 4.4' teki değerlere bakıldığında ideal oranın %32 PVC, %65 plastikleştirici, %3 iyonofor olduğu görülmektedir. Plastikleştirici türünün belirlenmesi amacıyla yapılan denemelerde de en iyi plastikleştiricinin o-NPOE olduğu görülmektedir. İyonofor oranının etkisi incelendiğinde iyonofor yüzdesinin %3 olduğu şartlarda daha iyi cevaplar alındığı görülmüştür.

İletkenlik artırıcı tuz olarak farklı tuzlar denemiş fakat bu denemelerin çoğu çizelgeye konmamıştır. Tuzlar arasında çok fazla bir farklılık yakalanmamış, bu durumda en ucuz olanı tercih edilmiştir.

Bu denemeler sonucunda elde edilen bu oranı kendi sistemimize uyarlayarak Bölüm 3.5.2' de belirtildiği şekilde elektrotlarımız hazırlanmış ve ölçümler yapılmıştır. Bu ölçümler sonucunda elde edilen tayin limiti, çalışma aralığı ve eğim değerleri Çizelge 4.9' da verilmiştir.

4.2.4. İyon-Seçici Elektrotların Membran Bileşimi İçin En Uygun Plastikleştiricinin ve Tuzun Belirlenmesi

Çizelge 4.5. İyonofor I PVC membran İSE performansına plastikleştiricinin etkisi

PVC (%)	Plastikleştirici(%)					iyonofor (%)	Eğim mV/pNH ₄ ⁺
	o-NPOE	DBP	DEHS	o-NPPE	DEHA		
32	65					3	59.39±1.14
32		65				3	60.1±1.31
32			65			3	54.47±1.26
32				65		3	59.97±1.44
32					65	3	58.14±0.22

İyon seçici elektrotların membran bileşimleri için en uygun plastikleştirici ve tuzun belirlenmesi için farklı iyonofor ve tuzlardan ayrı ayrı kokteyller hazırlanmış, her birinin cevapları, eğimleri, tayin limitleri incelenmiştir. Elde edilen veriler

değerlendirildiğinde ideal plastikleştiricinin 2-nitrofeniloktiletler (o-NPOE) ve tuzun sodyum tetrakis[3,5-bis (triflorometil) fenil] borat (NaTFPB) olduğu neticesine varılmıştır.

Çizelge 4.6. İyonofor II için membran bileşiminde kullanılacak uygun plastikleştirici seçimi için yapılan denemeler

PVC(%)	Plastikleştirici(%)		iyonofor (%)	Eğim mV/pNH ₄ ⁺
	o-NPOE	DEHA		
32	65		3	59.77±2.03
32		65	3	54.02±2.44

Çizelge 4.7. İndazol I için membran bileşiminde kullanılacak uygun tuzun seçimi için yapılan denemeler

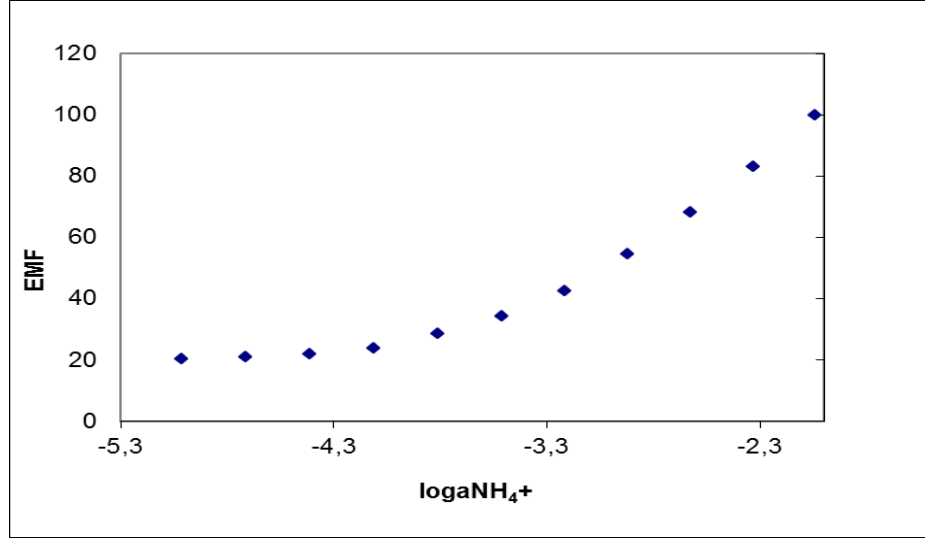
PVC (%)	Plastikleştirici (%)	Tuz:R ⁻					İyonofor (%)	Eğim mV/pNH ₄ ⁺
		NaT FPB	NaT PB	TBA TPB	KTpCI PB	TD AB		
32	65	•					3	59.39±1.44
32	65		•				3	60.57±0.06
32	65			•			3	11.68±0.44
32	65				•		3	59.04±1.35
32	65					•	3	58.38±1.14

Çizelge 4.8. İndazol II için membran bileşiminde kullanılacak uygun tuzun seçimi için yapılan denemeler

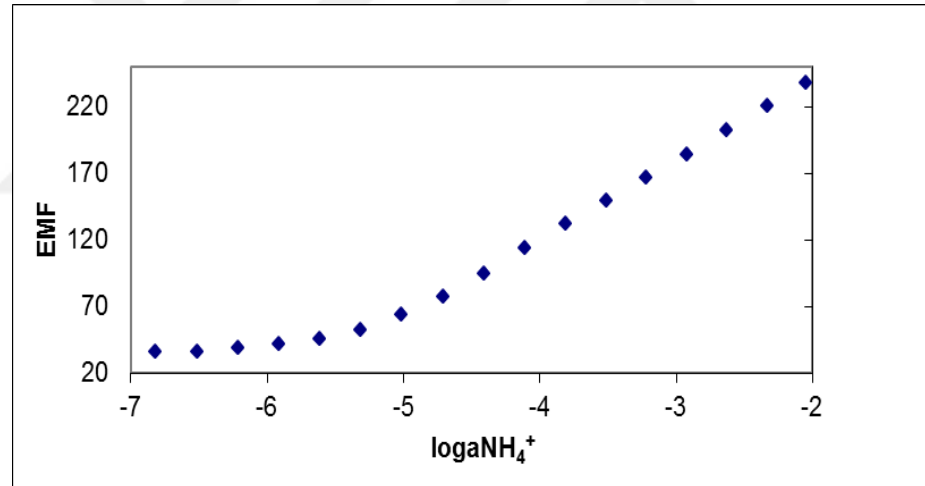
PVC (%)	Plastikleştirici (%)			Tuz:R ⁻			iyonofor (%)	Eğim mV/pNH ₄ ⁺
	2-o-NPOE	NaT FPB	NaTP B	KTpCIP B				
32	65	•					3	59.26±1.02
32	65		•				3	59.77±2.03
32	65				•		3	57.30±2.94

4.2.5. İyon-Seçici Elektrotların Kalibrasyon Eğrilerinin Çizilmesi ve Eğimlerinin Belirlenmesi

Bölüm 3.5.2’ de belirtildiği şekilde hazırlanan amonyum iyon-seçici elektrodun, kalibrasyon eğrisinin çizilmesi ve eğiminin belirlenmesi amacıyla bir seri amonyum çözeltileri pH ları 7.4 olacak şekilde TRİS tamponu kullanılarak hazırlanmıştır. Bu çözeltilere hazırlanan amonyum iyon-seçici elektrot ve çift temaslı Ag/AgCl referans elektrodu daldırılarak ölçümler yapılmıştır. Kaydedilen potansiyel değerleri pNH₄’e karşı grafiğe geçirilmiştir. Kalibrasyon eğrilerine örnekler Şekil 4.9 ve 4.10 ’da verilmiştir. Bu kalibrasyon eğrilerinin doğrusal kısmından elektrotların çalışma aralığı, eğimlerinden ise hazırlanan amonyum iyon-seçici elektrotların eğimi bulunarak çizelge 4.9’ da verilmiştir. Çizelgedeki değerlere bakıldığında, eğimlerin sırasıyla 59.39±1.44, 59.77±2.03, 60.00±0.02 olduğu görülmektedir. Bu değerler de eğimlerin çok iyi olduğunun bir göstergesidir.



Şekil 4.9. İyonofor I kullanılarak yapılan amonyum iyon seçici elektrotun kalibrasyon eğrisi



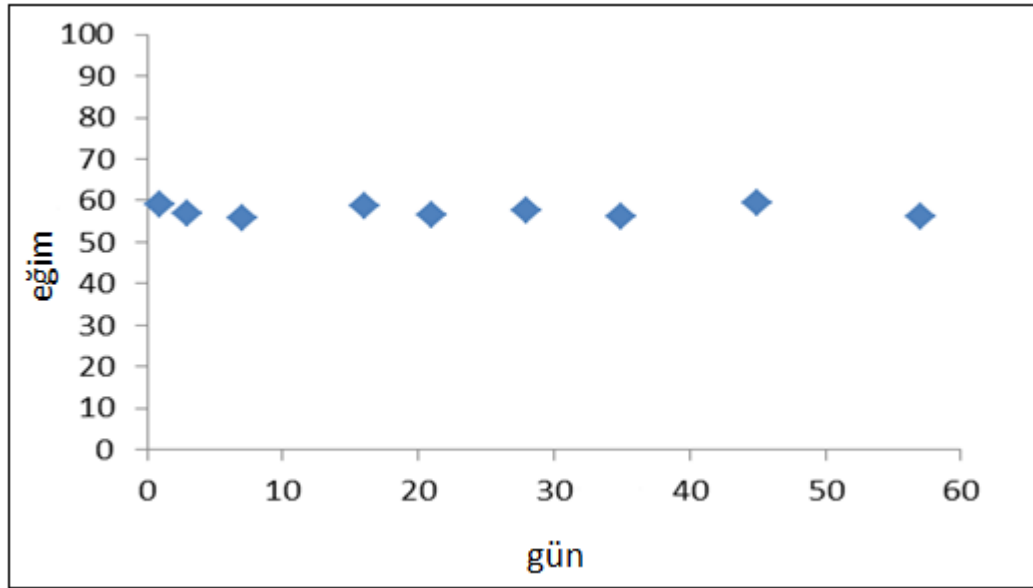
Şekil 4.10. İyonofor II kullanılarak yapılan amonyum iyon seçici elektrotun kalibrasyon eğrisi

4.2.6. İyon-Seçici Elektroların Cevap Süresinin Belirlenmesi

Elektrodun cevap süresinin belirlenmesi için Bölüm 3.5.4.3.' te yapılan ölçümlerde çözelti sabit hızla karıştırılırken, potansiyelin kararlı hale gelmesi için gerekli süreler kaydedilmiştir. Potansiyellerin kararlı hale geldiği süre elektrodun cevap süresi olarak belirlenmiş ve ortalama olarak cevap süresi 15 saniyenin altında bulunmuştur.

4.2.7. İyon-Seçici Elektroların Ömrünün Belirlenmesi

Bölüm 3.5.2’ de belirtildiği gibi hazırlanan elektrotla, 2 ay boyunca kalibrasyon çözeltilerinin potansiyelleri okunmuş ve çizilen kalibrasyon grafiklerinden elektrodun eğimi tespit edilmiştir. Elektrodun eğiminin düşmeye başladığı süre elektrodun ömrü olarak alınmıştır. İki ay sonunda bile elektrodun eğiminin çok fazla değişmediği gözlenmiştir (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. Elektrot ömrünün belirlenmesi çalışmaları

4.2.8. İyon-Seçici Elektroların Tayin Limitinin Belirlenmesi

Çalışmalarımızda tayin limiti, kalibrasyon grafiklerinden deneysel olarak elde edilen verilerin Eşitlik 2.6’ da yerine konmasıyla hesaplanmış ve sonuçlar Çizelge 4.9’ da verilmiştir. Çizelgedeki değerlere bakıldığında elektrotların tayin limitleri sırasıyla: 1.3×10^{-4} M ve 5.33×10^{-4} M olarak bulunmuştur.

Literatürdeki değerlere baktığımızda, Kawakami ve arkadaşları 3.2×10^{-6} M, Suzuki ve grubu 1×10^{-5} M, Chin ve arkadaşları 2.5×10^{-5} M, Benco ve arkadaşları $1 \times 10^{-4.9}$ M, Chandra ve arkadaşları 3.9×10^{-6} M olarak bulmuşlardır. Bu sonuçlara bakarak bizim değerlerin literatürdeki değerlerle hemen hemen aynı olduğunu söyleyebiliriz

4.2.9. İyon-Seçici Elektroların Çalışma Aralığının Belirlenmesi

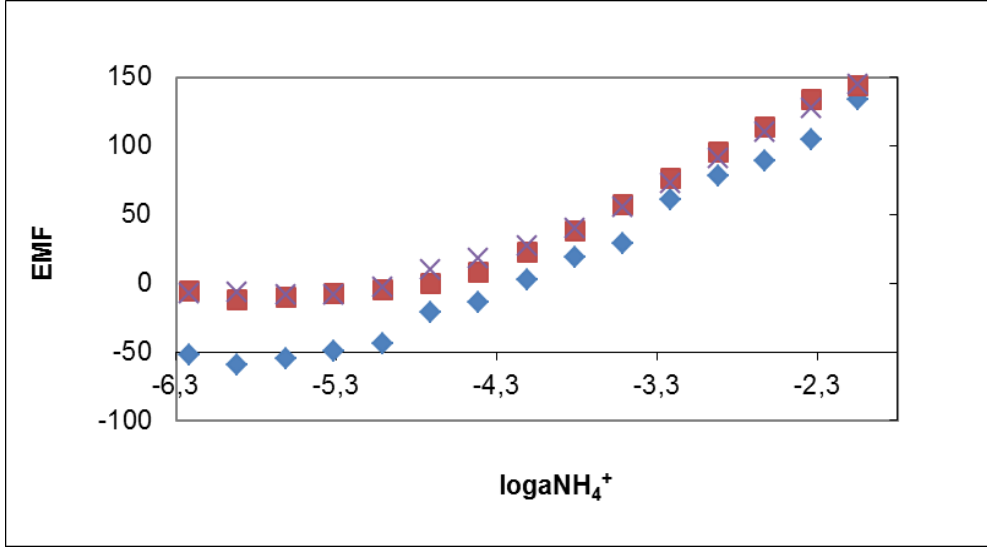
Çalışmalarımızda elde edilen kalibrasyon eğrilerinin nernstian cevap alınan bölgeleri çalışma aralığı olarak belirlenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.9’ da verilmiştir. Çizelgedeki değerlere bakıldığında elektrotların çalışma aralıkları sırasıyla: 1.0×10^{-1} - 4.4×10^{-5} M ve 1.0×10^{-1} - 3.96×10^{-4} M olarak bulunmuştur. Bu değerlere göre nonactinin çalışma aralığının bizim hazırladığımız elektrotların çalışma aralıklarından geniş olduğunu söyleyebiliriz.

Çizelge 4.9. Elektrotların tayin limitleri, çalışma aralıkları ve eğimleri

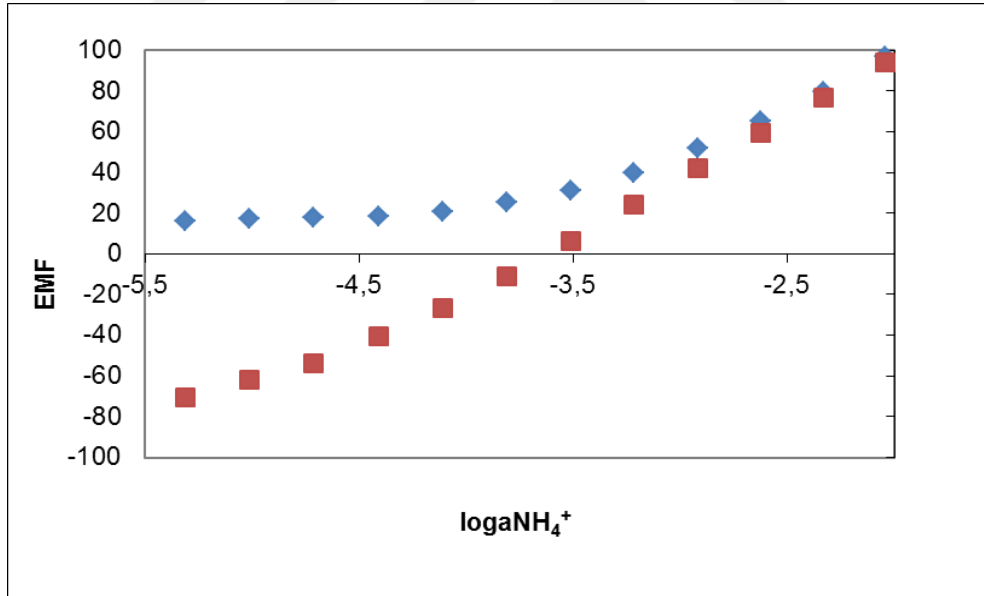
İyonofor	Tayin Limiti	Çalışma Aralığı	Eğim mV/pNH ₄ ⁺
İyonofor I	1.3×10^{-4}	1.0×10^{-1} - 4.4×10^{-5}	59.39±1.44
İyonofor II	5.33×10^{-4}	1.0×10^{-1} - 3.96×10^{-4}	59.77±2.03
Nonactin	3.4×10^{-6}	1.0×10^{-1} - 2.4×10^{-6}	60.00±0.02

4.2.10. pH Aralığının Belirlenmesi

Hazırlanan elektrotlarının farklı pH’larda duyarlı olup olmadığını belirlemek için farklı tampon çözeltilerinde denemeler yapılarak sonuçlar Şekil 4.12 ve Şekil 4.13’ te verilmiştir. Her iki grafik incelendiğinde, NH₄⁺-NH₃ dengesi düşünüldüğünde ve literatürdeki çalışmalar incelendiğinde optimum pH’ nın 7.4 olduğuna karar verilmiş ve çalışmalar bu pH’ ta gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.12. İyonofor I' in farklı pH larda amonyum iyonuna cevabı (♦: pH:9.0, ×: pH:7.4, ■: pH:8)



Şekil 4.13. İyonofor II'nin farklı pH larda amonyum iyonuna cevabı (♦: pH:7.4, ■: pH:8)

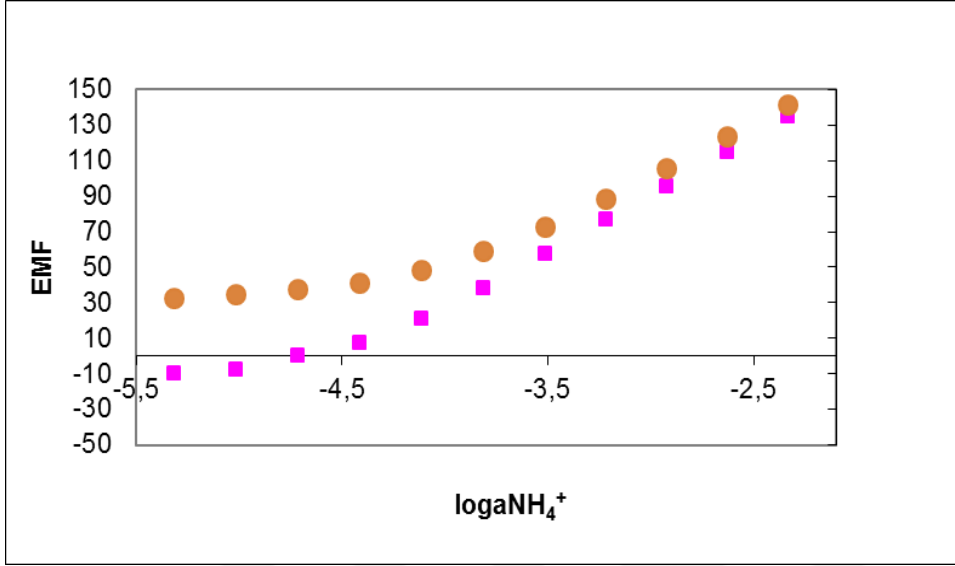
4.2.11. İyon Seçici Elektroların Seçicilik Katsayısının Belirlenmesi

Seçicilik katsayılarının tayini için literatürde farklı metotlar vardır fakat bu çalışmada, Ayrı Çözelti Metodu ve Sabit Bozucu İyon Metodu metotları kullanılmıştır.

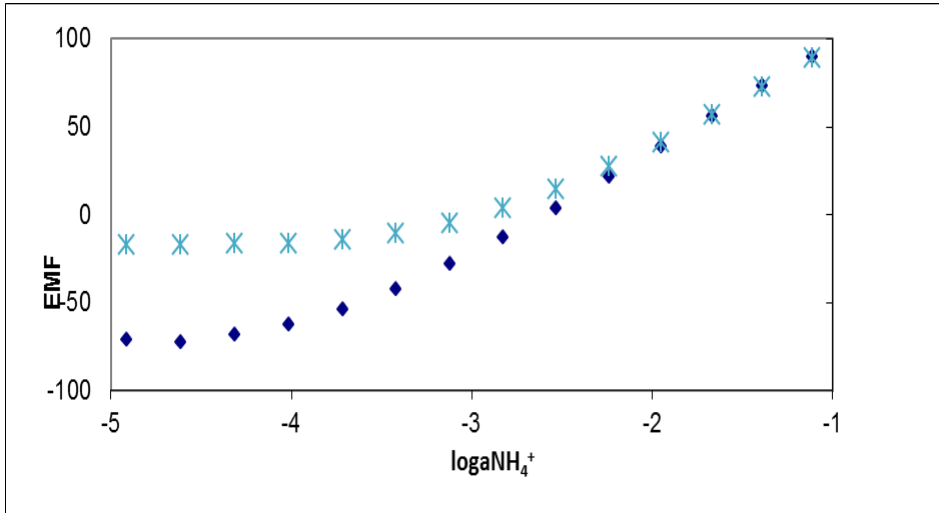
Hesaplamalarda deneysel kısımda verilen eşitlikler kullanılmıştır. Bulunan sonuçlar en az üç deney sonucunun ortalamalarıdır. Seçicilik çalışmasında amonyum iyonunun potasyum, sodyum, lityum, kalsiyum, kurşun, çinko, kadmiyum, nikel ve stronsiyum iyonlarına karşı seçicilikleri belirlenmiş ve bulunan sonuçlar Çizelge 4.10' da verilmiştir. Çizelge 4.10' daki değerlerde, kıyas maddesi olarak nonactin kullanıldığı için bütün elektrotlar buna göre değerlendirilmiştir. Nonactin şu an ticari olarak kullanılan amonyum iyon seçici elektrotlarda iyonofor olarak kullanılmaktadır. Literatürde amonyum iyonun seçici elektrotlarla ilgili bazı çalışmalara rastlanmaktadır ki, bunlar literatür özeti kısmında verilmiştir. Bütün bu çalışmalar incelendiğinde temel problemin aslında nonactinin potasyuma karşı seçiciliğinin düşük olmasıdır. Biz de bu çalışmamızın çıkış noktasını bu temel üzerine oluşturmuştuk. Çizelge 4.10' daki değerlere baktığımızda üzerinde çalıştığımız katyonlardan çoğuna karşı (lityum, kurşun, çinko, kadmiyum, nikel) geliştirdiğimiz elektrotların nonactin bazlı elektrotlara göre çok iyi sonuçlar elde edilememiştir. Fakat geliştirdiğimiz elektrotların potasyum iyonuna karşı seçiciliklerine baktığımızda nonactine göre daha iyi olduğunu söyleyebiliriz. Bu değerler, özellikle iyonofor I maddesinden yapılan elektrotun değerinin literatürdeki değerlerle hemen hemen aynı, hatta bazılarında daha iyi olduğunu söyleyebiliriz. Ayrıca geliştirdiğimiz elektrotların sodyum iyonuna karşı seçicilikleri de nonactin bazlı elektrota göre oldukça iyi durumdadır.

Literatür değerlerine bakıldığında; Kawakami ve arkadaşları potasyuma göre seçiciliği $\log K_{\text{NH}_4^+,\text{K}^+} = -1.2$, sodyuma göre seçiciliği $\log K_{\text{NH}_4^+,\text{Na}^+} = -1.87$ olarak bulmuştur. Diğer bir çalışmalarında ise, -1 ve -3.52 olarak bulmuşlardır. Farklı bir grubun yaptığı bir çalışmada $\log K_{\text{NH}_4^+,\text{K}^+} = -0.97$, $\log K_{\text{NH}_4^+,\text{Na}^+} = -3.00$ olarak bulunmuştur. Suzuki ve grubu $\log K_{\text{NH}_4^+,\text{K}^+} = -1,6$ buldukları halde kalsiyuma karşı ciddi bir girişim gözlemişlerdir. Chin ve arkadaşları yaptıkları amonyum iyon seçici elektrotun potasyum iyonuna karşı seçiciliğini -2.8 olarak bulmuşlar fakat sodyum seçiciliğini düşük bulmuşlardır. Yan Jin ve arkadaşlarının potasyuma göre seçiciliğini, -1.84 bulmuşlardır. Chandra ve arkadaşları potasyuma karşı seçiciliğini -1.801 ve sodyuma göre -2.850 olarak bulmuşlardır.

Bizim bulduğumuz değerleri literatürdeki değerlerle kıyasladığımızda, hem potasyum hem de sodyuma karşı seçicilikleri beraberce değerlendirirsek, değerlerimizin oldukça iyi olduğunu söyleyebiliriz.



Şekil 4.14. İyonofor I in amonyumun FIM metoduyla potasyuma karşı seçiciliği (■: 0,05 M NH₄⁺, ●:0,05 M KCl)



Şekil 4.15. İyonofor II nin amonyumun FIM metodu kullanılarak potasyuma karşı seçiciliği (◆:0,05 M NH₄⁺, +:0,05 M KCl)

4.2.12. İyon Seçici Elektrotların Biyolojik Sıvılarda Uygulamaları

Geliştirilen elektrotun kan ve idrar gibi biyolojik sıvılara uygulamaları ilgili literatürlerin modifiye edilmeleriyle gerçekleştirilmiştir (Claudia ve ark., 1999), (Georges, 1979), (Mascini ve Gullbault, 1977).

Kanda amonyum tayini için yapılan deneylerden elde edilen sonuçlar ve % geri kazanım hesaplamaları, idrarda amonyum tayini için yapılan deneylerden elde edilen sonuçlar ve % geri kazanım hesaplamaları aşağıda verilmiştir. Verilen değerler en az üç ölçüm sonucu olup ortalama değer olarak verilmiştir. Bu değerlere bakıldığında bulunan değerlerin literatürdeki değerlerle uyumlu olduğu, sonuçların çok yakın olduğu görülmektedir. % Geri kazanım değerleri de elektrotların cevaplarının güvenilir olduğunu doğrulamaktadır. Bu sonuçlara göre elektrotlarımızın gerçek numunelere uygulanışı başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir, diyebiliriz.

Çizelge 4.10. Amonyum iyon seçici elektrotların farklı katyonlara karşı seçicilik katsayıları

İyonofor	Seçicilik katsayısı, $\log K_{NH_4^+, J^+}$									
	K^+	Na^+	Li^+	Ca^{2+}	Pb^{2+}	Zn^{2+}	Cd^{2+}	Ni^+	Sr^{2+}	Mg^{2+}
İyonofor I	-2,05±0,17	-3,38±0,67	-3,57±0,75	- 3,95±0,22	- 3,90±0,66	- 3,42±0,50	- 2,51±0,29	-1,93±0,88	-4,10±0,22	-3,87±0,40
İyonofor II	- 2,44±0,42	- 3,10±0,34	- 2,91±0,04	- 3,2±0,18	- 2,57±0,99	-2,80±0,05	- 2,61±0,26	-2,00±0,24	-3,24±0,44	-3,35±0,17
Nonactin	- 0,86	- 2,70	- 3,29	- 3,86	- 3,24	- 4,00	- 3,63	- 1,94	Hesaplanamadı	Hesaplanamadı

Çizelge 4.11. Amonyum iyon seçici elektrotlar ile kan örneklerinde amonyum tayini

iyonofor	Numune	Eklene Amonyum(mg/L)	Bulunan Amonyum(mg/L)	% Geri Kazanım
<u>iyonofor I</u>	I. kişi	-	5,70 ± 0,42	-
		60,00	70,24 ± 2,38	107,55
		90,00	102,06 ± 4,58	107,06
	II. kişi	-	5,60 ± 0,10	-
		60,00	67,21 ± 3,59	102,68
		90,00	103,50 ± 7,05	106,99
	III. kişi	-	5,21 ± 0,18	-
		60,00	65,53 ± 3,69	100,53
		90,00	94,62 ± 6,34	99,34
<u>iyonofor II</u>	I. kişi	-	7,69 ± 1,14	-
		60,00	69,39 ± 5,47	102,83
		90,00	96,10 ± 6,12	98,23
	II. kişi	-	3,69 ± 0,61	-
		60,00	66,22 ± 5,35	104,21
		90,00	96,78 ± 6,46	103,43
	III. kişi	-	8,07 ± 1,35	-
		60,00	65,20 ± 4,13	95,22
		90,00	102,77 ± 9,13	105,22
<u>nonactin</u>	I. kişi	-	5,01 ± 0,37	-
		60,00	67,18 ± 3,56	103,61
		90,00	97,42 ± 5,72	102,67
	II. kişi	-	4,82 ± 0,21	-
		60,00	66,38 ± 3,28	102,59
		90,00	99,90 ± 5,12	105,64
	III. kişi	-	4,38 ± 0,34	-
		60,00	68,03 ± 4,32	106,24
		90,00	96,41 ± 5,27	102,25

Çizelge 4.12. Amonyum iyon seçici elektrotlar ile idrar örneklerinde amonyum tayini

iyonofor	Numune	Eklene Amonyum(mg/L)	Bulunan Amonyum(mg/L)	% Geri Kazanım
<u>iyonofor I</u>	I. kişi	-	404,95 ± 7,01	-
		30	436,98 ± 6,52	106,76
		50	456,32 ± 7,32	102,73
	II. kişi	-	414,67 ± 10,56	-
		30	444,34 ± 13,75	98,91
		50	463,57 ± 7,03	97,81
	III. kişi	-	139,59 ± 6,38	-
		30	170,28 ± 5,10	102,28
		50	190,26 ± 7,71	101,33
<u>iyonofor II</u>	I. kişi	-	301,64 ± 12,22	-
		30	330,20 ± 7,03	95,20
		50	354,21 ± 8,32	105,14
	II. kişi	-	388,19 ± 7,28	-
		30	421,31 ± 18,69	110,38
		50	439,27 ± 13,09	102,16
	III. kişi	-	177,17 ± 4,17	-
		30	207,11 ± 7,79	99,81
		50	232,38 ± 17,74	110,42
<u>nonactin</u>	I. kişi	-	406,73 ± 9,28	-
		30	435,32 ± 14,20	95,31
		50	456,23 ± 13,25	99,00
	II. kişi	-	529,22 ± 17,49	-
		30	558,63 ± 16,28	98,06
		50	580,50 ± 17,02	102,58
	III. kişi	-	155,72 ± 4,08	-
		30	185,93 ± 5,208	100,68
		50	207,01 ± 4,08	102,57

5. SONUÇ

Sunulan çalışma ile, günümüzde çevresel ve klinik analizlerde en fazla ihtiyaç duyulan yüksek seçiciliğe sahip ve membran bileşiminde indazol grubu içeren altı sübstitüentli benzen türevlerinin bulunduğu yeni iyon seçici elektrotlar geliştirilmiştir.

Kullandığımız sistem uygulanabilirlik testlerinden geçtiği takdirde bu sistem farklı çalışmaların kapısını aralayacaktır. Örneğin, katı hal elektrotlar hazırlanarak minyatürize edilmesi suretiyle mikrosensörler yapılması ve tıpta özellikle hepatic coma, reyes sendromu ve böbrek rahatsızlıkları gibi bir çok hastalıkların direkt belirleyicisi olan amonyağın rutin takiplerinde kullanılması, üre, kreatin gibi metabolitlerin indirekt olarak tayinlerinde kullanılması, HPLC, iyon kromatografisi, akış enjeksiyon sistemlerinde dedektör olarak kullanılması gibi bir çok teknolojik alanda uygulamaları olabilecektir. Böylece Bilim ve Teknoloji Yüksek Kurulu (BTYK) ve TÜBİTAK tarafından Ulusal Bilim ve Teknoloji Politikaları kapsamında belirlenen Vizyon 2023 Strateji Belgesi'nde, tıbbi cihaz, alet ve malzeme alanları içinde, ülke öncelikleri arasında olan sensör/dedektör teknolojileri alanları ile ilgili bir ihtiyacı da karşılamış olacaktır.

6. KAYNAKLAR

- Abu-Shawish, H.M., 2009. A mercury(II) selective sensor based on N-N'-bis(salicylaldehyde)-phenylenediamine as neutral carrier for potentiometric analysis in water samples. *Journal of Hazardous Materials*, 167, 602-608.
- Agtarap, A.; Chamberlin, J.W.; Pinkerton, M. ve Steinrauf, L. 1967. The structure of monensin acid: a new biologically active compound. *J. Amer. Chem. Soc.* 89: 5737-5739.
- Ahuja, T., Mir, I., Kumar, A. ve Rajesh, D., 2007. Biomolecular Immobilization On Conducting Polymers For Biosensing Applications. *Biomaterials*, 28, 791805. Akademiai Kiado, Budapest, Hungary.
- Amendola, V., Bastianello, E. ve Fabrizzi, L. 2000. Halide-ion encapsulation by a flexible dicopper(II) bis-tren cryptate. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 39, 2917-2920.
- Antonisse, M. M. G. ve Reinhoudt, D. N. 1998. Neutral anion receptors: design and application. *Chem. Commun.* 443-448.
- Antonisse, M. M. G. ve Reinhoudt, D. N. 1999. Potentiometric anion selective sensors. *Electroanalysis* 11, 1035-1048.
- Bailey, P.L., 1976. Analysis with ion-selective electrodes. Heyden International Topics in Science (*L.C. Thomas, ed.*), Heyden, London, UK.
- Bakker, E., Bühlmann, P. ve Pretsch, E. 1997. Carrier-Based Ion-Selective Electrodes and Bulk Optodes. 1. General Characteristics. *Chem. Rev.*, 97; 3083-3132.
- Bakker, E. ve Pretsch, E., 2002. The new wave of ion-selective. *Analytical Chemistry*, 74, 420A-426A.
- Ballester, P., Costa, A., Deyii, P. M., Vega, M. ve Morey, J. 1999. Influence of remote intramolecular hydrogen bonds on the thermodynamics of molecular recognition of cis-1,3,5-cyclohexanetricarboxylic acid. *Tetrahedron Lett.* 40, 171-174.
- Krajewska, B., Chudy, M, Drozdek, M ve Brzozkab, B. 2002. Potentiometric Study of Urease Kinetics over pH 5.36±8.21, 460.
- Beer, P. D. ve Gale, P. A. 2001. Anion recognition and sensing: the state of the art and future perspectives. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 40, 486-516.

- Berocal, M. J., Cruz, A., Badr, I. H. A. ve Bachas, L. G. 2000. Tripodal ionophore with sulphate recognition properties for anion-selective electrode. *Anal. Chem.* 72, 5295-5299.
- Blair, L. T., Daunert, S., ve Bachas, L. G. 1989. Napto-Crown Ethers as Ionophores in Ion-Selective Electrodes. *Anal. Chim. Acta*, 222; 253-261.
- Bobacka, J., 1999. Potential stability of all-solid-state ion-selective electrodes using conducting polymers as ion-to-electron transducers. *Analytical Chemistry*, 71, 4932-4937.
- Bobacka, J., Ivaska, A. ve Lewenstam, A., 2003. Potentiometric ion sensors based on conducting polymers. *Electroanalysis*, 15, 366-374.
- Buck, R.P., 1974. paper presented at the International Workshop on ion and enzyme electrodes in biology and medicine. *Schloss Reisenburg* (near Ulm), Germany, September 15-18.
- Buck, R.P., 1978. in: Ion-selective electrodes in analytical chemistry (H. Freiser, ed.), Plenum Press, New York.) (Koryta, J., Stulík, K., 1983. *Ion-selective electrodes, Second edition*, Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Bühlmann, P., Pretsch, E., ve Bakker, E. 1998. Carrier-Based Ion-Selective Electrodes and Bulk Optodes. 2. Ionophores for Potantiometric and Optical Sensors. *Chem. Rev.*, 98; 1593-1687.
- Bühlmann, P., Pretsch, E. ve Bakker, E., 1998. Carrier-based ion-selective electrodes and bulk optodes. 2. Ionophores for potentiometric and optical sensors. *Chemical Reviews*, 98(4), 1593-1688.
- Camman, K., Lemke, U., Rohen, A., Sander, J., Wilken, H. ve Winter, B., 1991, Chemical Sensors and Biosensors-Principles and Applications, *Angew. Chem. Int. De.Engl.*, 30: 516-539.
- Cell as Detector in Liquid Chromatography, *J. Chromatogr.*, 203, 153.
- Cunningham, L. ve Freiser, H., 1982. Ion-selective electrodes for basic drugs. *Analytica Chimica Acta*, 139, 97-103.
- Dalkıran, B., Demirel Özel, A., Parlayan, S., Canel, E., Ocak, Ü. ve Kılıç, E., 2010. A novel lariat crown compound as ionophore for construction of a mercury(II)- selective electrode. *Monatshefte für Chemie*, 141, 829-83
- De Marco, R. ve Mackey, D.J., 2000. Calibration of a chalcogenide glass

- membrane ion-selective electrode for the determination of free Fe^{3+} in seawater. I. Measurements in UV photooxidised seawater. *Marine Chemistry*, 68, 283- 294.
- Deelder R.S., Linnsen H.A., Koen J.G. ve Beeren A.B., 1981. A Potentiometric Membrane
- Diamond, D. ve Nolan, K. 2001. Calixarenes: Designer ligands for chemical sensors. *Anal. Chem.* 73, 22A-29A.
- Durst, R.A., 1969. Ion-selective electrodes, Ed., National Bureau of Standards. Special Publication, 314, Washington, D.C.) (Moody, G.J., Thomas, J.D.R., 1971. *Selective ion sensitive electrodes*. Merrow, Watford, UK.
- Erden, S., Demirel, A., Memon, S., Yılmaz, M., Canel, E. ve Kılıç, E., 2006. Using of hydrogen ion-selective poly(vinyl chloride) membrane electrode based on calix[4]arene as thiocyanate ion-selective electrode. *Sensors and Actuators B-Chemical*, 113, 290-296.
- Fan, A. L., Hong, H. K., Valiyaveetil, S. ve Vittal, J. J. 2002. A urea-incorporated receptor for aromatic carboxylate anion recognition. *J. Supramol. Chem.* 2, 247-254.
- F. J. Saez de Viteri ve Dermot Diamond. 1994. Determination and Application of Ion-selective Electrode Model Parameters Using Flow Injection and Simplex Optimization, 749-750.
- Frant, M.S. ve Ross, J.W., 1966. Electrode for sensing fluoride ion activity in solution. *Science*, 154, 1553-1555.
- Freiser, H., 1987. Coated wire ion-selective electrodes and their application to environmental problems. *Pure and Applied Chemistry*, 59(4), 539-544.
- Fry, C.H., Langley, S.E.M., 2001. Ion-selective electrodes for biological systems. *Harwood Academic Publishers*, Amsterdam, Netherlands.
- Pallesch G., Mascini M., Martinez-fabregas E. ve Alegret S. 1988. Urea Determination in Human Sera With an Ammonium Ion Selective Electrode Made With Solid Inner Electric Contact and Immobilised Urease, *Analytical Letters*, 21:7, 1115-1129
- Goodall, M., Kelly, P. M. ve Peter, D. 1997. Selective cation binding with cis, cis-1,3,5-trioxycyclohexyl based ligands. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* 2, 59-63.

Gündüz, T., 2004. *İnstrümental Analiz*, 7. Baskı. Ankara, Türkiye.

Hirata, H. ve Higashiyama, K., 1971. Analytical study of a cadmium ion-selective ceramic membrane electrode. *Zeitschrift für Analytische Chemie*, 257, 104-107.

<http://kelimebulucu.com/KelimeAnlamlari/Nedir/iyonofor-nedir-iyonofor-ne-demek>

<http://nedir.ileilgili.org/iyonofor-nedirnedemek-ileilgili-bilgiler.html>

https://issuu.com/orbitaldergi/docs/orbital_3/7

<https://tr.wikipedia.org/wiki/Amonyum>

James, H.J., Carmack, G. ve Freiser, H., 1972. Coated wire ion-selective electrodes. *Analytical Chemistry*, 44(4), 856-857.

Kalimuthu, P. ve John, S.A., 2005. Solvent dependent dimercaptothiadiazole monolayers on gold electrode for the simultaneous determination of uric acid and ascorbic acid. *Electrochemistry Communications*, 7, 1271-1276.

Kartamyshev, S.V., Kuznetsova, M.V., Ryasenskii, S.S. ve Gorelov, I.P., 2005. All-solid-state ion-selective electrodes reversible to propranolol. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 39(1), 43-45.

Kawakami, T.M., Nakazawa, S., Ota, M., Nishihira, M., Hayashi, H., Shibutani, Y. ve Shono, T., 1998. Pyrazole-Containing Crown Ethers as Ionophores for NH_4^+ -Selective Electrodes, *Analytical Sciences*, 14, 1065-1068.

Kim, S.-G., Kim, K.-H., Jung, J., Shin, S. K. ve Ahn, K. H. 2002. Unprecedented chiral molecular recognition in a C-3-symmetric environment. *J. Am. Chem. Soc.* 124, 591-597.

Kim, Y.-K., Ha, J., Cha, G. S. ve Ahn, K. H. 2002. Synthesis of tripodal trifluoroacetophenone derivatives and their evaluation as ion-selective electrode membranes. *Bull. Korean Chem. Soc.* 23, 1420-1424.

Kolthoff, I.M. ve Sanders, H.L., 1937. Electric potentials at crystal surfaces, and at silver halide surfaces in particular. *Journal of the American Chemical Society*, 59, 416-420.

- Konopka, A., Sokalski, T., Lewenstam, A. ve Maj Zurawska, M., 2006. The influence of the conditioning procedure on potentiometric characteristics of solid contact calcium-selective electrodes in nanomolar concentration solutions. *Electroanalysis*, 18(22), 2232-2242.
- Konopka, A., Sokalski, T., Michalska, A., Lewenstam, A. ve Maj-Zurawska, M., 2004. Factors affecting the potentiometric response of all-solid-state solvent polymeric membrane calcium-selective electrode for low-level measurements. *American Chemical Society*, 76, 6410-6418.
- Koryta, J. ve Stulík, K., 1983. Ion-selective electrodes, Second edition, *Cambridge University Press*, Cambridge, UK.
- Kroto, H. W., Heath, J. R., O'Brien, S.C., Curl, R. F., ve Smaley, R. E. 1985. C60 Buckminsterfullerene. *Nature*, 318, (3); 162-163.
- Lin, X.Q. ve Jin, G.P., 2005. Monolayer modification of glassy carbon electrode by using propionylcholine for selective detection of uric acid. *Electrochimica Acta*, 50, 3210-3216.
- Lu, H.-J., Fan, Y.-T., Wu, Y.-J. ve Yin, M.-C. 2001. Tripodal lipophilic ionophores: synthesis, cation binding and transport through liquid membranes. *Polyhedron* 20, 3281-3286.
- Ludwig, R. ve Dzung, N. T. K. 2002. Calixarene based molecules for cation recognition. *Sensors* 2, 397-416.
- Mahajan, R.K., Puri, R.K., Marwaha, A., Kaur, I. ve Mahajan, M.P., 2009. Highly selective potentiometric determination of mercury(II) ions using 1-furan-2-yl-4-(4-nitrophenyl)-2-phenyl-5H-imidazole-3-oxide based membrane electrodes. *Journal of Hazardous Materials*, 167, 237-243.
- Martinez-Manez, R. ve Sancenon, F. 2003. Fluorogenic and chromogenic chemosensors and reagents for anions. *Chem. Rev.* 103, 4419-4476.
- Mascini, M. ve Liberti, A., 1973. The preparation and analytical evaluation of a new heterogeneous membrane electrode for cadmium(II). *Analytica Chimica Acta*, 64, 63-70.
- McGimpsey, W.G., Soto, E., Driscoll, P.F., Nowak, C., Benco, J.S., Cooper, C. G. F. ve Lambert, C. R., 2008. ¹³C NMR study of the ion-binding selectivity of a new ammonium ionophore, *Magn. Reson. Chem.*, 46, 955-961.

- Morf, W. E. The Principles of Ion-Selective Electrodes and of Membrane Transport; Elsevier: New York, 1981. Morf, W.E., *The Principles of Ion Selective Electrodes and of Membrane Transport*. Elsevier, New York, NY.
- Morf, W.E., 1981. The principles of ion-selective electrodes and of membrane transport. *Akademiai Kiado*, Budapest, Hungary.
- Nägele, M., Bakker, E. ve Pretsch, E., 1999. General description of the simultaneous response of potentiometric ionophore-based sensors to ions of different charge. *Analytical Chemistry*, 71(5), 1041-1048.
- Nien Hsuan Chou, Jung Chuan Chou, Member, IEEE, Tai Ping Sun, ve Shen Kan Hsiung. 2005. Measurement and Comparison of Potentiometric Selectivity Coefficients of Urea Biosensors Based on Ammonium Ion-Selective Electrodes, 1362.
- Niikura, K., Bisson, A. P. ve Anslyn, E. V. 1999. Optical sensing of inorganic anions employing a synthetic receptor and ionic colorimetric dyes. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 1111-1114.
- Pretsch, E., 2002. The new wave of ion-selective electrodes. *Analytical Chemistry*, 74(15), 420A-426A.
- Pungor, E. ve Hollos-Rokosinyi, E., 1961. Über die anwendung von membrane elektroden bei der untersuchung von ion enkonzentrationen. *Acta Chimica Hungaricae*, 27, 63-68.
- Pungor, E., 1992. Working mechanism of ion-selective electrodes. *Pure and Applied Chemistry*, 64(4), 503-507.
- Pungor, E. ve Hollos-Rokosinyi, E., 1961. Über die anwendung von membran elektroden bei der untersuchung von ionenkonzentrationen. *Acta Chimica Hungaricae*, 27, 63-68.
- Pungor, E. ve Toth, K., 1972. Ion-selective sensors. *Pure and Applied Chemistry*, 31(4), 521-536.
- Pungor, E. ve Toth, K., 1973. Precipitate-based selective ion-sensitive electrodes: recent developments in theory and applications. *Pure and Applied Chemistry*, 36(4), 441-456.
- Raj, C.R. ve Ohsaka, T., 2003. Voltammetric detection of uric acid in the presence of ascorbic acid at gold electrode modified with self-assembled monola.

- Ramesh, P. ve Sampath, S., 2004. Selective determination of uric acid in presence of ascorbic acid and dopamine at neutral pH using exfoliated graphite electrodes. *Electroanalysis*, 16, 866-869.
- Reinoso Garcia, M. M., Verboom, W., Reinhoudt, D. N., Brisach, F., Arnaud-Neu, F. ve Liger, K. 2005. Solvent extraction of actinides and lanthanides by CMP(O)- and N-acyl(thio)ureatetrafunctionalized cavitands: strong synergistic effect of cobalt bis(dicarbollide) ions. *Solv. Extr. Ion Exch.* 23, 425-437.
- Reinoso-Garcia, M. M., Janczewski, D., Reinhoudt, D. N., Verboom, W., Malinoswka, E., Pietrzak, M., Hill, D., Baca, J., Gruner, B., Selucky P. ve Gruttner, C. 2006. CMP(O) tripodands: Synthesis, potentiometric studies and extractions, *New J. Chem.* 30, in press.
- Ren, W., Luo, H.Q., ve Li, N.B., 2006. Simultaneous voltammetric measurement of ascorbic acid, epinephrine and uric acid at a glassy carbon electrode modified with caffeic acid. *Biosensors Bioelectronics*, 21(7), 1086-1092.
- Rubinova, N., Torres, K.C. ve Bakker, E., 2007. Solid-contact potentiometric polymer membrane microelectrodes for the detection of silver ions at the femtomole level. *Sensors and Actuators*, B-Chemical, 121, 135-141.
- Sardohan Köseoğlu, T., 2011. Oksimler kullanılarak iyon seçici elektrot hazırlanması, 9-35.
- Sasaki, S., Ozawa, S., Citterio, D., Iwasawa, N. ve Suzuki, K. 2001. Phosphate anion sensing based on preorganised tripodal ionophores. *Anal. Sci.* 17, 1659-1661.
- S. Sasaki, T. Amano, G. Monma, T. Otsuka, N. Iwasawa, D. Citterio, H. Hisamoto ve K. Suzuki, 2002. Comparison of two molecular design strategies for the development of an ammonium ionophore more highly selective than nonactin, *Anal. Chem.* 74, 4845-4848.
- Sato, K., Arail, S. ve Yamagishi, T. 1999. A new tripodal anion receptor with C-H—X hydrogen bonding. *Tetrahedron Lett.* 40, 5219-5222.
- Schmuck, C. ve Schwegmann, M. 2006. A naked-eye sensing ensemble for selective detection of citratebut not-tartrate or malate-in water based on a tris-cationic receptor. *Org. Biomol. Chem.* 4, 836-838.
- Scholer R.P. ve Simon W., 1970. Antibiotic Membrane Electrodes for Selective Determination of Ammonium Ion Activity, *Chimia*, 24, 10, 372.

- Shamsipur, M. ve Mashhadizadeh, M.H., 2001. Cadmium ion-selective electrode based on tetrathia-12-crown-4. *Talanta*, 53, 1065-1071.
- Siemroth, J., Hennig, I. ve Claus, R., 1977. Ion-selective electrodes (E. Pungor, ed.).
- Singh, A.K., Singh, R.P. ve Mehtab, S., 2008. Mercury-selective membrane electrode based on methyl substituted dibenzo tetraphenyl tetraaza macrocycle. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 60, 9-15.
- Skoog, D.A., Holler, F.J. ve Nieman, T.A., 1998. Enstrümantal Analiz İlkeleri. 1. Basım (Ed: Kılıç, E., Köseoğlu, F., Yılmaz, H.), *Bilim Yayıncılık*, Ankara, Türkiye.
- Suzuki, K., Tohda, K. ve Shirai, T., 1987. Response Amplification of an Ion-Selective Electrode, *Anal. Lett.*, 20(11), 1773-1779.
- Suzuki, T., Yasuda, T., Yamane, T. ve Shimizu, S., 1986. Detection and Automatic Control of Ammonium Ion Concentration in Microbial Culture with an Ammonium Ion Selective Electrode, 63-70.
- Tamura, H., Kimura, K. ve Shono, T., 1982. Coated wire sodium- and potassium-selective electrodes based on bis(crown ether) compounds. *Analytical Chemistry*, 54, 1224-1227.
- Tendeloo, H.J.C., 1936. A new and easy method for the potentiometric determination of calcium concentrations in solutions. *Journal of Biological Chemistry*, 113, 333-339.
- Teulade-Fichou, M. P., Vigeron, J. P. ve Lehn, J.-M. 1996. Detection of organic anions in water through complexation enhanced fluorescence of a macrobicyclic tris-acridine cryptand, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 2169-21672.
- Tinkilic, N., Cubuk, O. ve Isildak, I., 2002. Glucose and urea biosensors based on all solid-state PVC-NH₂ membrane electrodes. *Analytica Chimica Acta*, 452, 29- 34.
- Trümpfer, G., 1921. Zur kenntnis des electromotorischen verhaltens von metallverbindungen mit elektronenleitung. *Zeitschrift für Physikalische Chemie*, 99, 9-56.

- Umezawa, Y., Umezawa, K. ve Sato, H., 1995. Selectivity coefficients for ion-selective electrodes: recommended methods for reporting $K^{Pot}_{A,B}$ values. IUPAC Technical Report. *Pure and Applied Chemistry*, 67(3), 507-518.
- Wang, J., 2006. *Analytical Electrochemistry*. 3rd Ed. Wiley-VCH, New Jersey, USA.
- Yan Jin, H., Kim, T. H., Kim, J., Lee, S.S. ve Kim, J.S., 2004. Tetrahydrofuran-Containing Crown Ethers as Ionophores for NH_4^+ -Selective Electrodes, *Bull. Korean Chem. Soc.*, 25, 1, 59-62.
- Yetik, A., 2012. Kobalt (II) iyon seçici elektrot geliştirilmesi ve performans özelliklerinin belirlenmesi.
- Yu, X., Zhou, Z., Wang, Y., Liu, Y., Xie, Q. ve Xiao, D., 2007. Mercury(II)-selective polymeric membrane electrode based on the 3-[4-(dimethylamino)phenyl]-5-mercapto-1,5-diphenylpentanone. *Sensors and Actuators B-Chemical*, 123, 352-358.
- Yu, X., Zhou, Z., Wang, Y., Liu, Y., Xie, Q. ve Xiao, D., 2007. Mercury(II)-selective polymeric membrane electrode based on the 3-[4-(dimethylamino)phenyl]-5-mercapto-1,5-diphenylpentanone. *Sensors and Actuators B-Chemical*, 123, 352-358.
- Zhou, X., Luo, Y., Wu, C., Zou, Z. ve Hu, Q. 1988. Sodium Ion-Selective Membrane Electrode Based on New Crown Ether. *Anal. Chim. Acta*, 212;325-329.
- Wei, L. H., He, Y. B., Wu, J. L., Qin, H. J., Xu, K. X. ve Meng, L. Z. 2005. Color response of a tripodal colorimetric sensor toward anions. *Chin. J. Chem.* 23, 608-612.
- Wiskur, S. L., Ait-Haddou, H., Lavigne, J. J. ve Anslyn, E. V. 2001. Teaching old indicators new tricks. *Acc. Chem. Res.* 34, 963-972.
- Wiskur, S. L., Anslyn ve E. V. 2001. Using a synthetic receptor to create an optical-sensing ensemble for a class of analytes: a colorimetric assay for the aging of scotch. *J. Am. Chem. Soc.* 123, 10109-10110.
- Wolfbeis O.S. ,1990, *Fresenius J Anal Chem* 337:522.
- <http://slideplayer.biz.tr/slide/2299589/>
- <http://documents.tips/documents/kimyasal-sensorler-ve-kullanim-alanlari.html>

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Ayşe Nur TOKMAK
Doğum Tarihi ve Yer : 01/01/1990
Medeni Hali : Evli
Yabancı Dili : İngilizce
Telefon : 5068531949
e-mail : aysenur.7003@gmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Karamanoğlu Mehmetbey Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya ABD.	2017
Lisans	Karamanoğlu Mehmetbey Üniv. Kamil Özdağ Fen Fak. Kimya Bölümü	2014
Lise	Sandıklı Anadolu Lisesi	2008