

T.C.
GEBZE YÜKSEK TEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ
MÜHENDİSLİK ve FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ZERDEÇALDAN KURKUMİNLERİN EKSTRAKSİYONU VE
KURKUMİNİN VOLTAMETRİK DAVRANIŞININ ÇEŞİTLİ
ELEKTROTLARLA İNCELENMESİ

GÖKSU BASMAZ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

GEBZE
2014

T.C.
GEBZE YÜKSEK TEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ
MÜHENDİSLİK ve FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ZERDEÇALDAN KURKUMİNLERİN
EKSTRAKSİYONU VE KURKUMİNİN
VOLTAMETRİK DAVRANIŞININ ÇEŞİTLİ
ELEKTROTLARLA İNCELENMESİ

GÖKSU BASMAZ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMANI
ÖGR. GÖR. DR. NACİYE ÖZTÜRK

GEBZE

2014

T.R.
GEBZE INSTITUTE OF TECHNOLOGY
GRADUATE SCHOOL OF ENGINEERING AND SCIENCES

**EXTRACTION OF CURCUMINOIDS FROM
TURMERIC AND VOLTAMMETRIC
BEHAVIOUR OF CURCUMIN USING
VARIOUS ELECTRODES**

GÖKSU BASMAZ
A THESIS SUBMITTED FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE
DEPARTMENT OF CHEMISTRY

THESIS SUPERVISOR
ÖGR. GÖR. DR. NACİYE ÖZTÜRK

GEBZE
2014



**GEBZE YÜKSEK
TEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS JÜRİ ONAY FORMU

GYTE Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 31.07.2014 tarih ve 2014/46 sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından 28/08/2014 tarihinde tez savunma sınavı yapılan Göksu BASMAZ'ın tez çalışması Kimya Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

JÜRİ

ÜYE

(TEZ DANIŞMANI) : Öğr. Gör. Dr. Naciye ÖZTÜRK

ÜYE

: Prof. Dr. Hayal Bülbül SÖNMEZ

ÜYE

: Yrd. Doç. Dr. Pınar ERGENEKON

ONAY

GYTE Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
..... tarih ve/..... sayılı kararı.

İMZA/MÜHÜR

ÖZET

Antioksidanlar serbest radikallerin daha kararlı kimyasal yapılara dönüşmesinde rol oynarlar. Özellikle son yıllarda fenolik antioksidanlar üzerine araştırmalar hız kazanmıştır. Kurkumin antioksidan özellik gösteren doğal fenolik bir bileşiktir. Kurkuminin özellikle baharatlarda bulunduğu spektroskopik ve kromatografik metodlar ile belirtilmiştir. Zerdeçal, kurkumin açısından zengin bir baharattır.

Elektroanalitik yöntemlerin tayin sınırları değerlerinin düşük, bazı spektroskopik metodlara göre daha hızlı ve maliyetinin daha uygun olması analiz metodu olarak tercih edilmesinde etken olan faktörlerdir. Voltametrik yöntemler antioksidan analizi için tercih edilen yöntemler arasındadır. Dönüşümlü voltametri (CV), diferansiyel puls voltametri (DPV) ve kare dalga voltametri (SWV) uygulamaları antioksidanların özelliklerinin incelenmesinde kullanılmaktadır.

Bu çalışmada Latince adı *Curcuma longa* olan zerdeçal bitkisinden kurkumin ve türevleri (kurkuminoidler) ekstrakte edilmiştir. Analitik saflıkta standart, %65 saflıkta kurkumin ve ekstrakte edilen kurkuminoidlerin elektrokimyasal davranışı incelenmiştir. Zerdeçaldaki kurkuminoid miktarının elektrokimyasal olarak belirlenmesi hedeflenmiştir. Elektrokimyasal metodlardan dönüşümlü voltametri ve diferansiyel puls voltametrisi kullanılmıştır.

Voltametrik analizlerde üç elektrotlu elektrokimyasal hücre kullanılmıştır. Çalışma elektrodu kenar düzlem pirolitik (EPPG), camı karbon (GC) ve altın (Au) elektrot olan elektrokimyasal hücreler ile uygulamalar gerçekleştirilmiştir. Ayrıca yüksek pik akımı değerlerine ulaşabilmek için çalışma elektrodu olarak altın nanopartiküller (AuNPs) ile modifiye edilmiş altın elektrot ve tek duvarlı karbon nanotüpler (SWCNTs) ile modifiye edilmiş camı karbon elektrot kullanılmıştır. Referans elektrot olarak gümüş/gümüş klorür (Ag/AgCl) ve doymuş kalomel elektrot (SCE), indikatör elektrot olarak platin tel kullanılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Ekstraksiyon, Zerdeçal, Kurkumin, Voltametri, Kenar Düzlem Pirolitik Grafit Elektrot, Altın Nanopartikül Modifiye Elektrot.

SUMMARY

Antioxidants are the species that have a role to change free radical groups to more stable forms. Researches on phenolic compounds having antioxidant properties are increased in recent years. Curcumin is a natural phenolic compound which has antioxidant properties. It was shown by spectroscopic and chromatographic applications that curcumin is found in spices and turmeric is a curcumin rich spice.

Electroanalytical methods in addition to having low detection limits and being faster than some other spectroscopic methods, they require less budget as well. These advantages make the electroanalytical methods favorable. Voltammetric methods are one of the preferred methods for antioxidant analysis. There are antioxidant analysis applications of voltammetric methods. Cyclic voltammetry (CV), differential pulse (DPV) and square wave voltammetry (SWV) are used to understand antioxidant properties.

In this study, curcuminoids extracted from turmeric which has a latin name *Curcuma longa*. Analytic standard, 65% purity curcumin and extracted curcuminoids electrochemical behaviour investigated. The aim is electrochemical determination of curcuminoids from turmeric. Cyclic voltammetry and differential pulse voltammetry were used for electrochemical analysis.

A three electrode electrochemical cell was used for voltammetric analysis. Edge plane pyrolytic graphite (EPPG), glassy carbon (GC) and gold (Au) were used as a working electrode. To obtain higher peak current, gold electrode modified with gold nanoparticles (AuNPs) and glassy carbon electrode modified with single walled carbon nanotubes (SWCNTs).

Silver/silver chloride (Ag/AgCl) electrode and saturated calomel electrode (SCE) were used as a reference electrode. Pt electrode was used as a counter electrode.

Key Words: Extraction, Turmeric, Curcumin, Voltammetry, Edge Plane Pyrolytic Graphite Electrode, Gold Nanoparticle Modified Electrode.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimimde, çalışmalarında bana doğru bilimsel yaklaşımları araştırıp öğrenmem için yol gösteren, her zaman paylaşım içerisinde olduğum, tezimin oluşmasında maddi ve manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen danışmanım Öğr. Gör. Dr. Naciye ÖZTÜRK'e,

2013-2014 bahar döneminde ERASMUS değişim programı boyunca Université de Strasbourg Kimya Fakültesi UMR 7140 Spektroskopi ve Biyoelektrokimya laboratuvarında tez çalışmamı geliştirmeme imkan sağlayan ve çeşitli analitik metotları denemem, öğrenmem ve uygulamam konusunda beni destekleyen, bilgi ve deneyimlerini paylaşan Prof. Dr. Petra HELLWIG'e,

UMR 7140 laboratuvarında nanopartiküller konusunda tecrübelerinden faydalandığım, spektroskopik, elektrokimyasal ve spektroelektrokimyasal analizler uyguladığımız Dr. Frederic MELIN'e,

Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsünde elektrokimyasal analizler için cihaz, kimyasal ve laboratuvar kullanımı için gerekli ortamı sağlayan ve bu süreç içerisinde desteğini eksik etmeyen Doç. Dr. Faruk YILMAZ'a,

UMR 7140 laboratuvarında her zaman yanımda olan deney öncesi ve sonrası da birlikte güzel paylaşımlar yaşadığımız çalışma grubu arkadaşlarım Dr. Zahia BOUBEGTİTEN, Sinan SABUNCU, Mireille KHALİL, Bataoul SROUR, Alicia SCHİRER, Li GUANG, Dr. Madeleine STRICKLAND ve Dr. Thomas MEYER'e,

GYTE araştırma laboratuvarlarındaki tüm hocalarıma, arkadaşlarıma ve personellere,

Desteğini her zaman hissettiğim aileme en içten saygılarımı ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	iv
SUMMARY	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ	1
1.1. Tezin Amacı, Katkısı ve İçeriği	6
2. ULTRASONİK EKSTRAKSİYON	7
2.1. Ultrasonik Ekstraksiyonun Mekanizması	7
2.2. Ultrasonik Ekstraksiyonun Avantajları	8
2.3. Ultrasonik Ekstraksiyonun Dezavantajları	9
3. VOLTAMETRİ	11
3.1. Voltametri Çalışma Prensibi	11
3.2. Voltametrik Analizlerde Kullanılan Elektrotlar	12
3.2.1. Çalışma Elektrodu	13
3.2.2. Referans Elektrot	13
3.2.3. İndikatör Elektrot	14
3.3. Tez Kapsamında Kullanılan Voltametrik Metotlar	14
3.3.1. Dönüşümlü Voltametri	14
3.3.2. Diferansiyel Puls Voltametri	17
4. MATERYAL VE YÖNTEMLER	19
4.1. Kullanılan Kimyasallar ve Sarf Malzemeleri	19
4.2. Kullanılan Cihazlar ve Elektrotlar	20
5. DENEYSEL ÇALIŞMALAR	23
5.1. Destek Elektrolit Çözeltisinin Hazırlanması	23
5.2. Çözücü Seçilmesi ve Stok Çözeltisinin Hazırlanması	23
5.3. Çalışma Elektrotlarının Temizlenmesi	24

5.3.1. Camsı Karbon ve Kenar Düzlem Pirolitik Grafit Elektrodun Temizlenmesi	25
5.3.2. Altın Elektrodun Temizlenmesi	25
5.4. Altın Nanopartiküllerin Hazırlanması	25
5.5. Altın Nanopartiküllerin Elektrot Yüzeyine Kaplanması	26
5.6. Altın Nanopartikül ile Modifiye Edilmiş Elektrodun Tiyo Karışımı yada Merkaptopropiyonik Asit ile Modifikasyonu	27
5.7. Camsı Karbon Elektrodun Karbon Nanotüplerle Modifiye Edilmesi	27
5.8. Dönüşümlü Voltametri ve Diferansiyel Puls Voltametri Parametrelerinin Belirlenmesi	28
5.9. Ultrasonik Ekstraksiyon	28
5.9.1. İndirekt Ultrasonik Ekstraksiyon	29
5.9.2. Direkt Ultrasonik Ekstraksiyon	29
6. BULGULAR	30
6.1. Kurkuminin Oksidasyon Davranışının Dönüşümlü Voltametri ile İncelenmesi	30
6.1.1. Camsı Karbon Elektrot (GCE) ile Kurkuminin Dönüşümlü Voltametri (CV) Ölçümleri	31
6.1.2. Kenar Düzlem Pirolitik Grafit (EPPG) Elektrot ile Kurkuminin Dönüşümlü Voltametri (CV) Ölçümleri	33
6.1.3. Altın Elektrot ile Kurkuminin Dönüşümlü Voltametri (CV) Ölçümleri	35
6.1.4. Tek Duvarlı Karbon Nanotüpler ile Modifiye Edilmiş Camsı Karbon Elektrot (SWCNT-GCE) ile Kurkuminin Dönüşümlü Voltametri Ölçümleri	35
6.1.5. Altın Nanopartiküller ile Modifiye Edilmiş Altın Elektrot (AuNPs-Au) ile Kurkuminin Dönüşümlü Voltametri Ölçümleri	36
6.1.6. Merkaptopropiyonik Asit (MPA) ile Modifiye Edilmiş Altın Nanopartikül Modifiye Altın Elektrot ile Kurkuminin Dönüşümlü Voltametri Ölçümleri	37
6.2. Kurkuminin Oksidasyon Mekanizmasının Diferansiyel Puls Voltametri ile İncelenmesi	38

6.2.1. Diferansiyel Puls Voltametrisi Parametrelerinin İncelenmesi	38
6.2.2. Camsı Karbon Elektrot (GCE) ile Kurkuminin Diferansiyel Puls Voltametri Ölçümleri	40
6.2.3. Altın Elektrot ile Kurkuminin Diferansiyel Puls Voltametri Ölçümleri	41
6.2.4. Camsı Karbon Elektrot Yüzeyinde Film Voltametrisi ile Kurkuminin Diferansiyel Puls Voltametri Ölçümleri	41
6.2.5. Tiyoil Karışımı ile Modifiye Edilmiş Altın Nanopartikül Modifiye Altın Elektrot ile Kurkuminin Diferansiyel Puls Voltametri Ölçümleri	42
6.2.6. Kalem Grafit Elektrot ile Kurkuminin Diferansiyel Puls Voltametri Ölçümleri	43
6.3. Kurkumin için Dönüşümlü Voltametride Tarama Hızının Pik Akımına Etkisi	44
6.4. Zerdeçalın Kurkumin ve Türevlerinin Miktarının Voltametrik Tayini	45
6.4.1. pH ın Etkisinin İncelenmesi	46
6.4.2. Altın Elektrot ve Altın Nanopartiküller ile Modifiye Edilmiş Altın Elektrot Kullanılarak Elde Edilen Diferansiyel Puls Voltammogramlarının Karşılaştırılması	47
6.4.3. Kenar Düzlem Pirolitik Grafit Elektrot ile Kurkuminin Kantitatif Tayini	49
6.5. Zerdeçalın Ultrasonik Ekstraksiyonu	51
6.5.1. İndirekt Ekstraksiyon	51
6.5.2. Direkt Ekstraksiyon	53
7. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	55
KAYNAKLAR	58
ÖZGEÇMİŞ	65

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler ve</u> <u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklamalar</u>
°C	: Santrigrad derece
ΔE_p	: Pik potansiyelleri arasındaki fark
Δi	: Puls başına akımdaki fark
μA	: Mikroamper
μL	: Mikrolitre
μM	: Mikromolar
A	: Elektrodun yüzey alanı, cm^2
AdSV	: Adsorptif sıyırma voltametrisi
Ag/AgCl	: Gümüş/gümüş klorür
AuNPs	: Altın nanoparçacıklar
C	: Ana çözelti madde derişimi, (mol/L)
CAS	: Kimyasal kuramlar servisi
CUR	: Kurkumin
CV	: Dönüşümlü voltametri
D	: Difüzyon katsayısı, cm^2/s
DNA	: Deoksiribonükleik asit
Delta I(F-R)	: İleri pulstan geri pulsun çıkarılması ile akımda meydana gelen fark
DPV	: Diferansiyel Puls Voltametri
E	: Uygulanan potansiyel
E^0	: Standart potansiyel
E_p	: Pik potansiyeli
$E_{1/2}$	: Yarı dalga potansiyeli
E_{pa}	: Anodik pik potansiyeli
E_{pc}	: Katodik pik potansiyeli
EPPG	: Kenar düzlem pirolitik grafit (Edge Plane Pyrolytic Graphite)
GC	: Camsı karbon (Glassy Carbon)
GCE	: Camsı karbon elektrot (Glassy Carbon Electrode)
GYTE	: Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü
Hz	: Hertz

i	: Akım
i _p	: Pik akımı
i _{pa}	: Anodik pik akımı
i _{pc}	: Katodik pik akımı
LSV	: Doğrusal taramalı voltametri
M	: Molarite
mL	: Mililitre
mm	: Milimetre
mM	: Milimolar
MPA	: Merkaptopropiyonik asit
n	: Aktarılan elektron sayısı
nm	: Nanometre
NHE	: Normal hidrojen elektrot
R	: Korelasyon katsayısı
rpm	: Dakikadaki dönme sayısı
s	: Standart sapma
SCE	: Doygun kalomel elektrot
SHE	: Standart hidrojen elektrot
SWCNT	: Tek duvarlı karbon nanotüp
SWV	: Kare Dalga Voltametrisi
t	: Zaman
T	: Sıcaklık
UV-VIS	: Ultraviyole Görünür Bölge

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil No:</u>	<u>Sayfa</u>
1.1: a) Kurkuminin yapısı, b) Zerdeçal kök ve toz halleri.	1
2.1: a) İndirekt ultrasonik ekstraksiyon deney düzeneği, b) Direkt ultrasonik ekstraksiyon düzeneği.	8
3.1: Dönüşümlü voltametrinde potansiyel-zaman değişim grafiği.	15
3.2: Dönüşümlü voltametrinde tersinir bir reaksiyon için akım-potansiyel değişimi grafiği.	15
3.3: Yarı tersinir ve tersinmez sistemler için dönüşümlü voltametri geçişleri.	17
3.4: a) Diferansiyel puls voltametrisinde uygulanan uyarma sinyali, b) Diferansiyel puls voltametrisi için akım-potansiyel grafiği.	17
4.1: a) VersaSTAT 4 model potansiyostat/galvanostat sistemi, b) Versa STAT LC arabirimi	21
5.1: Zerdeçal örneğinin sırasıyla a) Su, b) Etanol, c) Aseton d) Diklorometan çözücüleri içerisindeki çözünürlüğünün incelenmesi.	24
5.2: Altın nanopartiküllerin altın elektrot yüzeyine kaplanması.	26
5.3: Altın nanopartikül ve tiyol modifiye edilmiş elektrodun şematik gösterimi.	27
6.1: Kurkuminin oksidasyon mekanizması.	31
6.2: 0.1M pH 7 fosfat tamponu ve 0.1M KCl içeren çözeltide 1.95×10^{-4} M kurkumin GCE ile CV ölçümü.	32
6.3: 0.1 M pH 2 KCl tamponu, 6.5×10^{-5} M kurkumin GCE ile CV ölçümü.	33
6.4: 0.1 M pH 7 fosfat tamponunda 1.3×10^{-4} M kurkumin EPPGE ile dönüşümlü voltametrisi.	33
6.5: 0.1 M pH 2 KCl tamponu, 6.5×10^{-5} M kurkumin EPPGE ile CV ölçümü.	34
6.6: 0.1 M pH 2 KCl tamponu, 1.3×10^{-4} M kurkumin altın elektrot ile CV ölçümü.	35

6.7:	0.1M pH 7 fosfat tamponu, 6.5×10^{-5} M kurkuminin SWCNTs-GCE ile CV ölçümü.	36
6.8:	0.1M pH 7 fosfat tamponunda 6.5×10^{-5} M kurkumin AuNPs-Au elektrot ile CV ölçümü.	37
6.9:	0.1M pH 7 fosfat tamponunda 6.5×10^{-5} M kurkumin MPA-AuNPs-Au elektrot ile CV ölçümü.	38
6.10:	Çeşitli puls genlik değerleri için ferrosene ait voltammogramlar.	39
6.11:	Çeşitli puls genişlik değerleri için ferrosene ait voltammogramlar.	40
6.12:	0.1M pH 7 fosfat tamponunda $65 \mu\text{M}$ kurkuminin GCE ile DPV ölçümü.	40
6.13:	0.1M pH 7 fosfat tamponunda $65 \mu\text{M}$ kurkuminin altın elektrot ile DPV ölçümü.	41
6.14:	0.65×10^{-3} M kurkumin çözeltisinden çeşitli film tabakalarının 0.1M pH 7 tamponunda DPV ölçümleri.	42
6.15:	AuNPs-tiyol karışımı modifiye edilmiş altın elektrot yüzeyinde $6 \mu\text{L}$ 0.65×10^{-3} M kurkumin filminin DPV ölçümü.	43
6.16:	0.1M pH 7 tamponunda $65 \mu\text{M}$ kurkumin çözeltisinin kalem grafit elektrot ile DPV ölçümü.	44
6.17:	Camsı karbon elektrot ile 0.1M pH 7 fosfat tamponunda $65 \mu\text{M}$ kurkuminin çözeltisinin anodik pik akımının ile tarama hızının karekökü ile değişimi.	45
6.18:	0.1M fosfat tamponunda kurkuminin voltammogramlarındaki pH a bağlı olarak değişimin GCE ile incelenmesi.	46
6.19:	Altın elektrot ile 0.1M pH 2 KCI tamponu $13 \mu\text{M}$ kurkumin çözeltisi için diferansiyel puls voltametri ölçümü.	47
6.20:	Altın nanopartiküllerle modifiye edilmiş altın elektrot ile 0.1M pH 2 KCI tamponu $13 \mu\text{M}$ kurkumin çözeltisi için diferansiyel puls voltametri ölçümü.	48
6.21:	pH 2 0.1M KCI tamponunda altın nanopartikül modifiye edilmiş altın elektrot ile kurkumine ait kalibrasyon eğrisi.	49
6.22:	pH 2 0.1M KCI tamponunda kenar düzlem pirolitik grafit elektrot ile ölçüm sonuçları.	50

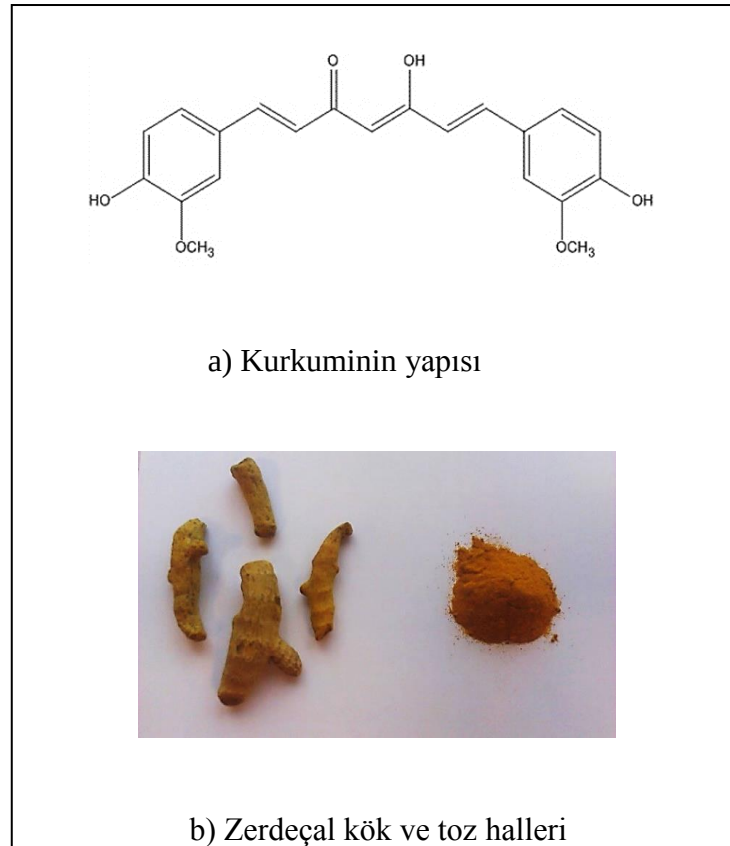
6.23:	pH 2 0.1M KCl tamponunda kenar düzlem pirolitik grafit elektrot ile kurkumine ait kalibrasyon eğrisi.	50
6.24:	Zerdeçalın oda sıcaklığında 30 dakika indirekt ultrasonik ekstraksiyonu sonucunda GCE ile elde edilen voltammogramı.	52
6.25:	Zerdeçalın oda sıcaklığında 30 dakika indirekt ultrasonik ekstraksiyonu sonucunda EPPGE ile elde edilen voltammogramı.	53
6.26:	Zerdeçalın 55 °C de 2 tekrarlı 10 ar dakika direkt ultrasonik ekstraksiyonu sonucunda AuNPs modifiye edilmiş altın elektrot ile elde edilen voltammogramı.	54

TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No:</u>	<u>Sayfa</u>
3.1: Referans elektrotların elektrot potansiyelleri.	14
4.1: Deneysel çalışmalarda kullanılan kimyasallar.	19
4.2: Elektrot temizliğinde kullanılan sarf malzemeleri.	20
4.3: Kullanılan elektrotlar ve çapları.	21
6.1: Camsı karbon elektrot ile 0.1M pH 7 fosfat tamponunda 65 µM kurkumin çözeltisinde anodik pik akımının tarama hızının karekökü ile değişimi.	44
6.2: 0.1M KCl tamponunda pH değerine bağlı olarak pik akımının değişiminin altın elektrot ile incelenmesi.	47
6.3: Altın nanopartikül modifiye edilmiş elektrot için konsantrasyon ile pik akımı arasındaki ilişki.	48

1. GİRİŞ

Reaktif oksijen ve nitrojen türleri insan vücudunda sürekli olarak üretilir ve enzimler tarafından kontrol edilir. İnsan vücudunda bu serbest radikallerin aşırı miktarda bulunması lipidlerin, proteinlerin ve DNA'nın zarar görmesine neden olabilmektedir [Dimitrios, 2006]. Günümüzde hastalıkların önlenmesi ve tedavisi amacıyla antioksidan maddelerin özelliklerinin incelenmesi hız kazanmıştır [Suhaj, 2006], [Jayaprakasha et al., 2006], [Barzegar, 2012]. Bilim adamları etkili ve güvenli bitkisel içerikli ilaçların geleneksel yan etkileri olan ilaçlar ile değiştirilmesi konusunda araştırmalara devam etmektedir [Aggarwal et al., 2007]. Fenolik bileşiklerin antioksidan özellik gösterdiği bilinmektedir [Rice-Evans et al., 1997], [Kähkönen et al., 1999]. Benzer şekilde sentetik katkı maddeleri yerine bitkisel kaynaklı, sağlıklı doğal fenolik bileşiklerin kullanılması yönünde araştırmalar ilgi odağı olmuştur [Brewer, 2011]. Kurkuminin kimyasal yapısı, zerdeçalın kök ve toz hali şekil 1.1 de gösterilmiştir.



Şekil 1.1: a) Kurkuminin yapısı, b) Zerdeçal kök ve toz halleri.

Kurkumin antioksidan, antibakteriyel ve iltihap önleyici özellikleri olan doğal fenolik bir bileşiktir [Aggarwal et al., 2007], [Rai et al., 2008], [Esatbeyoglu et al., 2012]. Fenolik OH grubu antioksidan serbest radikal reaksiyonlarında ve buna bağlı olarak antioksidan aktivitesinde temel role sahip olduğu belirtilmiştir [Barclay and Vinqvist, 2000], [Priyadarsini et al., 2003], [Barzegar, 2012].

Kurkumin ile yapılan çalışmaların büyük kısmı farmakolojik, biyokimyasal içeriklidir. Diyabet, allerji, ve kronik hastalıklara karşı etkisi birçok çalışmada incelenmiştir. Yapılan çalışmalar kurkuminin alzheimer ve kansere karşı da etkili olabileceğini işaret etmektedir [Aggarwal et al., 2003],[Sharma et al., 2005], [Maheshwari et al., 2006], [Anand et al., 2008], [Hamaguchi et al., 2010], [Yallapu et al., 2012], [Naksuriya et al., 2014].

2011 yılında Scopus araştırma verilerine göre kurkumin ile ilgili yaklaşık olarak 1200 yayın çıktığı belirtilmiştir [Wray et al., 2012]. Bu sayı yine Scopus verilerine göre 2012 yılında yaklaşık 1500, 2013 yılında ise 1700 yayın düzeylerindedir.

Zerdeçal kurkumince zengin bir baharattır. Bu baharat kurkuminin yanında kurkumin türevleri demetoksikurkumin ve bisdemetoksikurkumin içermektedir [Esatbeyoglu et al., 2012].

Asya kültüründe kozmetik, tekstil ve gıda endüstrisinde uzun süredir kullanılmaktadır. Avrupada renginden dolayı hint safranı olarak da bilinmektedir. Köri baharatı ve hardal da zerdeçal içermektedir. Kurkumin E100 olarak adlandırılan gıda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Pilav, et ve balık yemeklerinde de tercih edilmektedir. Parlak sarı renk vermektedir [Scartezzini and Speroni, 2000], [Esatbeyoglu et al., 2012]. Tekstilde ve mobilyalar için sarı boya olarak kullanılmaktadır [Mayer, 1993], [Aggarwal et al., 2007].

Biyokimyasal ve klinik uygulamalarda kullanımı gündemde olan kurkuminin hızlı, güvenilir ve hassas tayini için metod geliştirilmesinin önemli olduğu belirtilmiştir [Wray et al., 2012], [Arslan ve Cakır, 2014]. Spektroskopik ve kromatografik teknikler kurkuminin zerdeçal ve köri baharatlarında bulunduğunu göstermiştir. 28 farklı baharat örneği için kurkumin içeriği hesaplanmıştır. Çalışılan örnekler içerisinde kütlece yüzde 0.1 ile 3.14 arasında değerler bulunmuştur [Tayyem et al., 2006]. Literatürde kurkuminin baharatlardaki analizi yüksek performans/basınç sıvı kromatografisi (HPLC), sıvı kromatografisi/kütle spektroskopisi (LC/MS), ultraviyole-görünür bölge spektroskopisi (UV-VIS),

kızılötesi (IR) spektroskopisi, nükleer manyetik rezonans (NMR), x ışını difraksiyonu, amperometrik ve polarografik tayini, raman spektroskopisi analizleri ile karşılaşmaktayız [Smith and Witowska, 1984], [Sun et al., 2002], [Benassi et al., 2008], [Goren vd., 2009], [Modi and Pitre, 2010], [Mohan et al., 2012].

Kurkuminin antioksidan ve antiradikal özelliklerinin incelenmesi ile ilgili Atatürk Üniversitesinde 2006 yılında yüksek lisans tezi yayınlanmıştır [Ak, 2006]. Bu konuda 2008 yılında da aynı araştırmacıların yayını mevcuttur [Ak ve Gulcin, 2008]. Kurkuminin fenolik içeriği ile ilgili spektroskopik ve kromatografik analizler İstanbul Üniversitesinde 2010 yılında gerçekleştirilmiştir [Bener vd., 2010]. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde 2010 yılında fenol, katekol ve kinonun dönüşümlü voltametri (CV) ve kare dalga voltametrisi (SWV) ile elektrokimyasal davranışları çeşitli elektrot ve destek elektrolitlerle incelendiği yüksek lisans tezi mevcuttur [Balcı, 2010]. Fenolik bileşiklerin elektrokimyasal analizi olması açısından örnek teşkil etmektedir.

Günümüzde çoğunlukla spektroskopik ölçüm metotları tercih edilse de elektrokimyasal uygulamalarda düşük tayin sınırlarına ulaşabilir. Elektrokimyasal metotlar ile 10^{-12} M gibi düşük tayin limitlerine ulaşabilmenin mümkün olabileceği belirtilmiştir [Wang, 2006]. Elektrokimyasal analiz cihazları genellikle maliyet açısından spektroskopik yöntemlere göre genellikle daha avantajlıdır ve hızlı ölçümler gerçekleştirmek mümkündür. Bu avantajlar elektroanalitik metotları analitik kimya içerisinde değerli kılmaktadır.

Elektrokimyasal yöntemlerin gıda analizleri için etkili çözümler sunduğu belirtilmiştir [Escarpa, 2012]. Voltametrik tekniklerle kurkuminin çeşitli baharatlarda tayini yapılmıştır. Kurkuminin aktive edilmiş camı karbon elektrot ile elektrolit tuz içeren dimetil sülfoksit çözücüsü içerisinde 10^{-4} M konsantrasyon düzeyinde tayini gerçekleştirilmiştir [Lungu et al., 2010].

Stanic ve arkadaşları kurkumin analizi için sodyum asetat ve sodyum klorür içeren pH 5 tamponunda karbon pasta elektrot kullanmışlar ve diferansiyel puls adsorptif sıyırma voltametrisi yöntemini önermişlerdir [Stanic et al., 2008]. 10^{-6} - 10^{-8} M düzeylerinde ölçüm sonuçları vardır. Ayrıca aynı metotla cıva damlalı elektrot ile pH 8.5 de 10^{-6} M düzeyinde ölçümler gerçekleştirmişlerdir.

Kare dalga voltametrisi ile kurkuma boyasının analizi gerçekleştirilmiştir. Grafit elektrot yüzeyine birkaç mikrogram kurkuma boyası eklenip asetat tamponunda oksidasyon pikleri incelenmiştir [Carbo et al., 2005]. Asetat

tamponunda pH 4 te adsorptif sıyırma voltametrisi ile ölçümler literatürde bulunmaktadır [Daniel et al., 2004]. [Ziyatdinova et al., 2012], camısı karbon elektrot ile etanol ve destek elektrolit içeren çözeltide 10^{-4} - 10^{-6} M aralığında çalışmışlardır.

2013 yılında kurkuminin elektrokimyasal ve spektroskopik analizini içeren çalışma yayınlanmıştır. Bu çalışmada kurkuminin platin elektrot ile elektrokimyasal davranışı incelenmiş, difüzyon parametreleri hesaplanmıştır. Elektron geçişleri ile ilgili muhtemel durumlar saptanmıştır. Elektrokimyasal sonuçlar spektroskopik analizlerden elde edilen veriler ile desteklenmiştir [Masek et al., 2013].

Acid Chrome Blue K ile camısı karbon elektrot yüzeyinde elektropolimerizasyon gerçekleştirildikten sonra yapılan kurkuminin diferansiyel puls voltametrisi analiz sonucuna göre 7×10^{-5} - 1×10^{-7} M arasında doğrusal çalışma aralığı elde edilmiştir [Peng et al, 2012]. Çok duvarlı karbon nanotüp ile modifiye edilmiş camısı karbon elektrot ile adsorptif sıyırma voltametrisi ile 1×10^{-6} - 2×10^{-9} M aralığında çalışılmıştır. Çalışmada pH 4 fosfat tamponunda süt ve insan plazma örneklerinde kurkumin tayini yapılmıştır [Daneshgar et al., 2009].

Elektroanalitik kimyasal ölçüm parametrelerinde temel olan önemli bir faktör kullanılacak elektrotlarıdır. Karbon yapılı elektrotların uygun maliyetli, kimyasal olarak inert ve yüzey modifikasyonlarına uygun olduğu belirtilmiştir. Kenar düzlem pirolitik grafit (EPPG) elektrot da karbon esaslı bir elektrottur. EPPG elektrodun tekrarlanan voltametrik analizlerde az miktar pasivize olduğu ancak grafit yüzeyinin yüksek kapasitans değerine sahip olduğu belirtilmiştir [Patel et al., 2013]. Bu elektrotların zemin sinyalinin uygun olduğu, hızlı elektron transferi gerçekleştirdiği, karbon nanotüplere benzer elektrokatalitik etkiye sahip olduğu ve bu elektrotlar ile düşük tayin limitlerine ulaşılabilirdiği belirtilmiştir [McCreery, 2008], [Goyal et al., 2010], [Banks et al., 2004], [Kachoosangi and Compton, 2007], [Banks and Compton, 2006].

Elektrokimyasal analizlerdeki duyarlılığı arttırabilmek için elektrotlar metal nanopartiküllerle modifiye edilebilir. Nanopartiküller çalışma elektrodun yüzey alanını genişletmektedir ve yüksek iletkenliğe sahip olmaları sayesinde daha yüksek tayin sınırlarına ulaşabilmeyi mümkün kılmaktadır. Altın nanopartiküllerin arayüzeydeki elektron transfer hızını birkaç kat hızlandırdığını belirtmişlerdir [Xiao et al., 2003], [Wang, 2005], [Pingarron et al., 2008]. Ayrıca nanopartikül modifiye edilmiş elektrotlar tiyol karışımları ile de fonksiyonel özellik kazandırılabilir [Meyer et al., 2011], [Yeh et al., 2012], [Melin et al., 2013].

Çok duvarlı karbon nanotüpler, dysprosiyum nanopartiküller [Daneshgar et al., 2009] ve son zamanlarda paladyum nanopartikül ve grafen ile modifiye edilmiş elektrotlar kurkumin analizi için kullanılmıştır [Arslan ve Cakır, 2014], [Li et al., 2014]. Ulaşabildiğimiz en iyi bilgilere göre altın nanopartiküller ve tek duvarlı karbon nanotüpler ile modifiye edilmiş çalışma elektrodu ile kurkumin analizi literatürde bulunmamaktadır.

Fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için birçok farklı metod bulunmaktadır. 15 farklı doğal fenolik bileşiğin 7 farklı çözücü ve 3 farklı sıcaklıkta aktivite katsayıları incelenmiştir. Alkollerin ve asetonun fenolik bileşiklerin geri kazanımında etkili olduğu teorik ve deneysel yaklaşımlarla belirtilmiştir. [Galanakis et al., 2013]

Kurkuminin ekstraksiyonu için süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu ve mikrodalga ekstraksiyonu gibi metotlar uygulanmıştır [Wakte et al., 2011]. Soxhlet, 24 saat karıştırma, 197 °C gibi yüksek sıcaklığa ısıtma ve bir gece çözücüde bekletme gibi diğer geleneksel metotlar ile ekstraksiyon çalışmaları vardır [Braga et al., 2003], [Mohankumar and McFarlane, 2010], [Gholivand et al., 2011], [Euterpio et al., 2011]. Diğer yandan ultrasonik ekstraksiyonun kurkuminin ekstraksiyon süresini düşürdüğü ve diğer metotlara göre daha düşük sıcaklıklarda ekstraksiyon yapmaya imkan verdiği belirtilmiştir [Thongchai et al., 2009], [Mandal et al., 2009], [Martins et al., 2013]. Bir diğer çalışmada kurkuminin ultrasonik ekstraksiyonu ile geleneksel sıvı ekstraksiyon metodunu karşılaştırıp ultrasonik ekstraksiyon veriminin üç kata kadar daha yüksek sonuçlar elde ettiklerini belirtilmiştir [Rouhani et al., 2009].

Bu çalışmada kurkuminin elektrokimyasal davranışının voltametrik olarak incelenmesi ve zerdeçaldaki kurkuminoid içeriğinin analizi üzerine çalışılmıştır. Elektrokimyasal metotlardan dönüşümlü voltametri ve diferansiyel puls voltametri metodları kullanılmıştır.

Diferansiyel puls voltametrisinde çeşitli kurkumin konsantrasyonları için doğrusal çalışma aralığı hesaplamıştır. Çalışma elektrodu olarak altın, camı karbon ve kenar düzlem pirolitik grafit elektrot kullanılmıştır.

Modifiye ve modifiye olmamış elektrotlar için kurkuminin elektrokimyasal davranışı incelenmiştir. Elde edilen veriler, çalışma elektrotlarının karşılaştırılmasına imkan sağlamıştır. Zerdeçal örneğinden kurkuminin ekstraksiyonu ve elektrokimyasal analizi çeşitli yöntemlerle gerçekleştirilmiştir.

1.1. Tezin Amacı, Katkısı ve İçeriği

Kurkuminin dönüşümlü voltametri ve diferansiyel puls voltametrisi metotları ile elektrokimyasal davranışının incelenmesi, zerdeçaldan kurkumin ve türevlerinin ekstraksiyonu ve miktarının voltametri ile tayin edilmesi amaçlanmıştır.

Değişik saflıktaki kurkumin standartları ile dönüşümlü voltametri (CV), diferansiyel puls voltametrisi (DPV) uygulamaları gerçekleştirilmiştir. Diferansiyel puls voltametrisinde ölçüm parametreleri tersinir elektron geçişine sahip ferrosen ile incelenmiş ve uygun değerler belirlenmiştir.

Zerdeçaldan ekstrakte edilen kurkuminoidlerin altın nanopartiküller (AuNPs) ile modifiye edilmiş altın elektrot ve kenar düzlem pirolitik grafit elektrot (EPPGE) ile analizi gerçekleştirilmiştir. AuNPs modifiye altın, camısı karbon elektrot (GCE), tek duvarlı karbon nanotüp (SWCNT) modifiye edilmiş camısı karbon elektrot ve EPPGE ile kurkuminin voltametrik analizleri gerçekleştirilmiştir. Kurkuminoidlerin zerdeçaldan ekstraksiyonu ve elektrokimyasal analiz ile tayinine etki eden değişkenler için en uygun değerler belirlenerek miktar tayini gerçekleştirilmiştir. Elektrokimyasal analizlerde farklı çalışma elektrodları ve modifiye elektrotlar tez çalışmasına özgün değer kazandırmıştır.

2. ULTRASONİK EKSTRAKSİYON

Fiziksel yada kimyasal analiz uygulanmak istenilen bileşen her zaman analitik saflıkta yada analiz metoduna uygun olmayabilir. Öncelikle analiz edilmek istenen örneğin analize hazır hale getirilmesi gerekmektedir. Bu aşamada örnek hazırlama basamağı karşımıza çıkmaktadır. Çeşitli matrislerden istenilen bileşenlerin ayrılması için farklı ekstraksiyon yöntemleri bulunmaktadır. Örneğin bitkiler içerdikleri lipidler, pigmentler ve kokusu nedeniyle gıda ilaç ve kozmetik endüstrisinde sıkça kullanılır. Ekstraksiyon teknikleri bu doğal yapılardan istenilen bileşiklerin ayrılmasında ve ticari olarak kullanımı kapsamında incelenmektedir [Wang and Weller, 2006].

Soxhlet, mikrodalga, ultrasonik, süperkritik akışkan gibi çeşitli ekstraksiyon metodları vardır. Tez kapsamında uygulanan ultrasonik ekstraksiyonun mekanizması ve diğer metodlardan farklı olan özellikleri incelenmiştir.

Ultrasonik ses dalgaları örnek hazırlama, homojenizasyon uygulamalarında, ekstraksiyon çalışmalarında, elektrot temizliği gibi birçok uygulama alanında kullanılmaktadır [Luque-Garcia and Luque de Castro, 2003], [Priego-Capote and Luque de Castro, 2004].

2.1. Ultrasonik Ekstraksiyonun Mekanizması

Ultras ses destekli ekstraksiyon katı sıvı ekstraksiyonunda kinetik parametreleri hızlandırıp ekstraksiyon verimini arttırmaktadır [Wang and Weller, 2006].

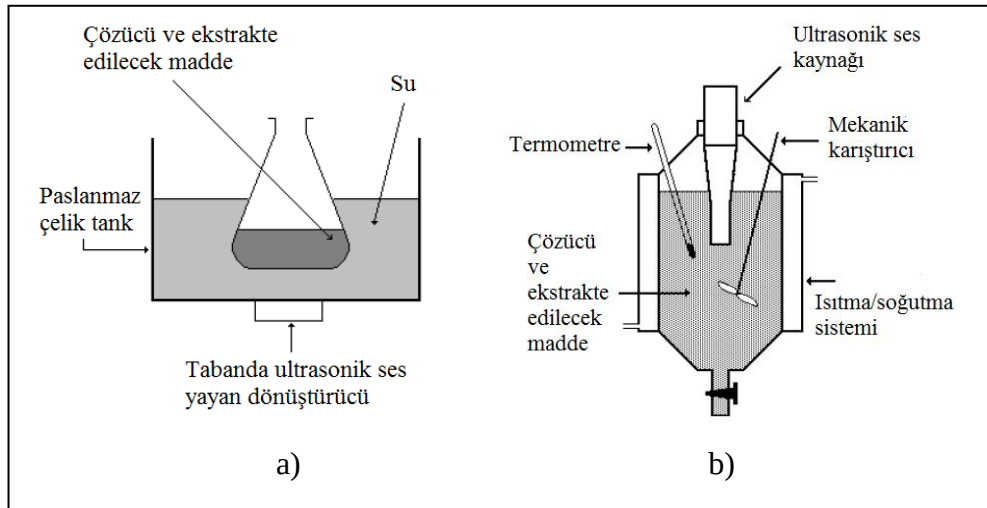
Bitkisel dokular hücre duvarları ile çevrilidir. Böyle bir sistem için ekstraksiyon mekanizması temel olarak iki çeşit fiziksel olayı içerir. Hücre duvarından difüzyon meydana gelir ve hücre duvarı parçalandığında hücre içerisine nüfuz eder. Bitkisel dokunun partikül boyutu ne kadar küçük olursa ekstraksiyonda kullanılan çözücünün direkt olarak doku ile etkileşim ihtimali daha fazla olacaktır. Ultrasonik ses dalgaları ile hücre duvarında yıpranmalar meydana getirilerek dokunun içerisindeki bileşenlerin çözücü ortamına geçmesine destek olmaktadır [Vinatoru, 2001], [Shirsath et al., 2012].

Endüstriyel kullanım için genellikle 20-50 kHz frekansa sahip ultrasonik ses dalgalarının kullanıldığı belirtilmiştir. Alternatif olarak bir dönüştürücü ile mekanik titreşimlere dönüştürülür. Bu titreşimler prob ile ortama iletilir. Bu titreşimler

örneğin sıvı ortamda moleküllerin titreşimine ve ortamdaki taneciklerin basıncının değişmesine neden olacaktır. Ses dalgaları etkisiyle mikro düzeyde karıştırma da sağlandığı belirtilmiştir [Tavman vd., 2009].

İndirekt ve direkt ekstraksiyon için uygulanan sistemler aşağıdaki şekilde ifade edilmiştir [Vinatoru, 2001]. Kullanılan deneysel düzeneğin yapısına göre karıştırma ve ısıtma/soğutma sistemleri farklı şekillerde düzenlenebilmektedir.

Günümüzde ultrasonik ekstraksiyon için çeşitli frekanslarda ses dalgası üreten, örneğin yapısı ile reaksiyon vermeyecek özellikte olan farklı problar mevcuttur. Sıcaklık ayarları ve karıştırma işlemlerini dijital olarak yönetmek mümkündür. Ayrıca ses dalgalarının yayılımını engelleyen kafes sistemi şeklinde düzenekler ile optimize eden aparatlar da mevcuttur. Şekil 2.1 de su banyosu içerisinde gerçekleştirilebilecek indirekt ultrasonik ekstraksiyon ve direkt ekstraksiyon için örnekler belirtilmiştir [Vinatoru, 2001].



Şekil 2.1: a) İndirekt ultrasonik ekstraksiyon deney düzeneği, b) Direkt ultrasonik ekstraksiyon düzeneği.

2.2. Ultrasonik Ekstraksiyonun Avantajları

Geleneksel ekstraksiyon teknikleri uzun ekstraksiyon zamanı gerektirdiği için fazla enerji tüketimine neden olmaktadır. Ayrıca fazla çözücü kullanımı ve düşük verimler elde edilmesi rutin analizler için ideal ekstraksiyon metodlarının araştırılmasına neden olmuştur. [Mandal et al., 2009], ultrasonik ekstraksiyon metodunun hızlı ve etkili bir alternatif olduğunu belirtmişlerdir.

Ultrasonik ekstraksiyon kullanımı kolay, hızlı, uygun maliyetli bir ekstraksiyon metodudur. Süperkritik akışkan ekstraksiyonu ve mikrodalga ekstraksiyonu gibi metodlara göre daha uygun maliyetli çözüm sunmaktadır. Ayrıca süperkritik ekstraksiyon gibi günümüzde çok yaygın olmayan ve yüksek basınç gerektiren sistem yerine ultrasonik banyo yada ultrasonik prob içeren sistemler sayesinde ekstraksiyonu gerçekleştirmek mümkündür.

Geleneksel soxhlet ekstraksiyonu ile karşılaştırıldığında, kullanılan çözücü miktarı ve ekstraksiyon zamanı daha azdır. [Hill and Stobbe, 1974], atrazinin 15 dakikalık ultrasonik ekstraksiyonunun 24 saatlik soxhlet ekstraksiyonu ile karşılaştırılabilir sonuçlar verdiğini belirtmişlerdir. Az miktarda çözücü kullanımına ihtiyaç duyulmaktadır. İndirekt ultrasonik ekstraksiyon, saatler süren ekstraksiyon yerine birçok laboratuarda yaygın olarak kullanılan ultrasonik banyo ile dakikalar mertebesinde yüksek ekstraksiyon verimi sağlayabilmektedir. Soxhlet gibi klasik ekstraksiyon metodlarına göre daha düşük sıcaklıklarda ekstraksiyonu gerçekleştirmek mümkündür. Bu da sıcaklık ile yapısı bozulmaya uğrayabilen bileşiklerin ekstraksiyonuna imkan sağlamaktadır [Wang and Weller, 2006].

2.3. Ultrasonik Ekstraksiyonun Dezavantajları

Ultrasonik ekstraksiyonunun çalışma sırasında üretilen ses dalgalarına karşılık olarak yüksek ses çıkarması, ekstraksiyon veriminin bitkinin matriksine bağlı olarak değişiklik göstermesi dezavantajlarıdır. Ayrıca ekstraksiyon sonrasında kalan katı parçacıkları uzaklaştırmak için santrifüj yada filtreleme prosesine ihtiyaç duyulmaktadır [Wang and Weller, 2006].

Çözücü içerisinde dağılmış durumda olan katı faz, ses dalgasının azalmasına ve bölgesel olarak sınırlı kalmasına neden olabilmektedir. Bu yüzden ultrasonik ekstraksiyon uygulanan sistemin tasarımı ile bu durumun ortadan kaldırılabilceği belirtilmiştir. Ultrasonik ses kaynağı olan probtan uzaklaştıkça ses dalgalarının yoğunluğu azalmaktadır. Ayrıca deneysel sistemlere bağlı olarak mikrodalga ekstraksiyonu veriminin ultrasonik ekstraksiyona göre daha yüksek olabildiği belirtilmiştir [Wakte et al., 2011].

Ultrasonik ekstraksiyon çalkalama ile desteklendiği takdirde daha yüksek ekstraksiyon verimlerine ulaşılabilceği belirtilmiştir [Wang et al., 2014].

Ultrasonik ses dalgalarının üretilmesi sırasında görevli olan, elektrik enerjisini ses dalgalarına dönüştüren sistem analiz esnasında ısınmaktadır. Bu durum sıcaklık değişiminin kontrolünü gerektirmektedir.

Süperkritik akışkan ekstraksiyonunda uygulanan basınç nedeniyle daha yüksek sıvı difüzyonu sağlanmaktadır. Bu da kütle transfer hızını ve ekstraksiyon verimini etkilemektedir. Soxhlet ekstraksiyonunda çözücünün katı ile tekrar tekrar temas etmesi sağlanmaktadır. Bu durumlar ultrasonik ekstraksiyonda gözlenmemektedir. Süperkritik ekstraksiyonunda organik çözücü kullanılmamaktadır yada minimum düzeyde kullanılabilir. Ultrasonik ekstraksiyonda ise az miktarda da olsa çözücüye ihtiyaç vardır. Bu metodun ‘çevre dostu’ olmasında ‘green chemistry’ değerlendirmesinde etkili olmaktadır.

3. VOLTAMETRİ

Voltametrik analizler elektrokimyasal analiz metodları içerisinde önemli bir yere sahiptir. Doğrusal taramalı voltametri (LSV), dönüşümlü voltametri (CV), diferansiyel puls voltametri (DPV), kare dalga voltametri (SWV), sıyırma voltametrisi tekniklerinden adsorptif sıyırma voltametrisi (AdSV) yaygın olarak kullanılan voltametrik tekniklerdir. Voltametrik analizler ile kimyasal türlerin elektron alışverişini içeren yükseltgenme-indirgenme reaksiyonları yardımıyla elektrokimyasal oksidasyon mekanizmalarını açıklamak ve elektrot yüzeyinde gerçekleşen reaksiyonları yorumlayabilmek mümkündür. Ayrıca voltametrik yöntemler ile spektroskopik metodlarda olduğu gibi konsantrasyon tayini gerçekleştirilebilir. Voltametrik metodların maliyeti birçok spektroskopik metoda göre daha düşüktür. Uygun elektrokimyasal düzenekler sağlandığında özellikle metal iyonu içeren sistemler için nanomolar düzeyinde konsantrasyonları tayin etmek mümkündür. [Wang, 2006], sabit katı çalışma elektrodu içeren dönüşümlü voltametri için 10^{-5} M, diferansiyel puls voltametrisi için 10^{-7} M, adsorptif sıyırma voltametrisi için 10^{-9} M ve adsorptif katalitik sıyırma voltametrisi ile 10^{-12} M düzeylerinde tayin sınırlarına ulaşmanın mümkün olduğunu belirtmiştir.

3.1. Voltametri Çalışma Prensibi

Voltametri, çalışma elektrodunun polarize olduğu koşullarda, uygulanan potansiyele bağlı olarak akımdaki değişimin ölçülmesine dayanmaktadır. Potansiyel değişimlerini programlı bir şekilde düzenlemek için potansiyostat adı verilen cihaz kullanılır. Potansiyel değerlerine karşılık akımdaki değişimler kaydedildiğinde voltammogram adı verilen grafikler elde edilir.

Yükseltgenme-indirgenme reaksiyonlarında bir kimyasal türden diğer türe elektron alışverişi gerçekleşmektedir [Skoog et al., 1998]. Voltametrik metodlarla, uygulanan potansiyel ve elde edilen akım değerlerine bağlı olarak incelenen yapının elektrokimyasal davranışı hakkında bilgi sağlamaktadır. Elektron alışverişleri ve meydana gelen kimyasal reaksiyon basamaklarını incelemeye imkan sağlamaktadır. Elektroaktif türün davranışına etki eden pH, konsantrasyon gibi parametrelerin etkisi incelenebilir.

Voltametik ölçümlerde sulu yada susuz çözücüler ile çalışmak mümkündür. Ölçümler elektriksel iletkenliği sağlayan ortamda gerçekleştirilir. Elektriksel iletkenlik, çözelti ortamında iyonlar vasıtasıyla sağlanır. İyonların hareketi ile çözelti ortamında elektriksel iletkenliği sağlayan bu yapılara elektrolit adı verilir. Destek elektrolit olarak da adlandırılan bu çözelti yüksek miktarda ilave edilen bir tuzdan oluşmaktadır [Skoog et al., 2004]. Potasyum klorür, sodyum klorür, hidrojen klorür, amonyak sulu çözeltileri örnek olarak verilebilir. Elektrolit çözeltinin iletkenliğinin derişime bağılı olarak değıştiğı belirtilmiştir [Sarıkaya, 2007]. İyi bir elektrolit çözeltisinin iyon iletimini sağlaması yanında elektrokimyasal ölçümlerde düşük zemin sinyali göstermesi beklenmektedir.

Voltametik analizlerde pozitif ve negatif bölgelerde kullanılan çözücü ve destek elektrolite bağılı olarak çalışma aralıkları belirlenmektedir. Örneğin sulu çözeltide, suyun moleküler oksijen verecek şekilde yükseltgenme reaksiyonu vermesi sonucu pozitif bölgede bu geçiş gözlenmektedir. Negatif potansiyellerde ise suyun hidrojen oluşturacak şekilde indirgenmesi sonucu geçiş yaşanmaktadır [Skoog et al., 2004].

Analitin elektrot yüzeyine taşınması temel olarak göç, konveksiyon ve difüzyon ile gerçekleşmektedir. Elektrik alanı etkisi ile göç, karıştırma sonucu konveksiyon, derişim farkı nedeniyle difüzyon gerçekleşmektedir. Elektrot yüzeyine yakın bölgede difüzyon tabakası etkin olmaktadır.

Karışım halindeki bir çözelti için de voltametik analiz gerçekleştirmek mümkün olabilmektedir. Yarı dalga potansiyelleri ($E_{1/2}$) birbirinden farklı olan türleri aynı analiz ile tayin etmek mümkün olabilmektedir [Skoog et al., 2004].

3.2. Voltametik Analizlerde Kullanılan Elektrotlar

Voltametik analizlerde genellikle yüzey alanı birkaç milimetre kareden küçük olan mikroelettrotlar yada birkaç daha küçük boyutlu olan ultramikroelettrotlar çalışma elektrodu olarak kullanılmaktadır. Günümüzde üç elektrotlu elektrokimyasal hücreler elektroanalitik ölçümlerde yaygın olarak kullanılmaktadır [Skoog et al., 1998]. Bu sistem çalışma elektrodu, referans elektrot ve indikatör elektrottan oluşmaktadır.

3.2.1. Çalışma Elektrodu

İnert malzemeden yapılmış genellikle silindir şeklinde olan bir malzemenin içerisine teflon gibi bir bağlantı teli ile temas eden iletken disk içermektedir. Çalışma elektrodunun temel bileşeni olan bu iletken malzeme altın, platin, camsı karbon, grafit, pirolitik grafit gibi çok çeşitli yapılarda olabilir [Skoog et al., 1998]. Ayrıca bu elektrot yüzeyi sensör yada analiz edilen bileşenin yapısına göre çeşitli kimyasallarla, polimerlerle yada nanopartiküllerle modifiye edilebilir. Çalışma elektrodunun duyarlı cevaplar verebilmesi, seçici olması, düşük tayin sınırlarında çalışabilmesi istenen özelliklerdir.

Günümüzde çalışma elektrotları nanopartiküllere ek olarak enzim yada nanopartikül karışımları ile de modifiye edilmektedir. Çalışma elektroduna sensör özelliği katarak tayin edilmek istenen yapıya göre seçiciliğin artırılması amaçlanmaktadır [Hartl et al., 2004].

3.2.2. Referans Elektrot

Mutlak olarak elektrot potansiyelini belirlemek mümkün değildir. Potansiyel değeri sabit olan ve bilinen değer ile karşılaştırarak bağıl sonuçlar elde etmek mümkündür. Referans elektrot potansiyeli bilinen bir yarı hücredir ve potansiyel değeri belirli sıcaklıkta analiz edilen maddenin konsantrasyonundan bağımsız ve sabittir. Standart hidrojen elektrot (SHE) yada diğer adıyla normal hidrojen elektrot (NHE), gümüş gümüş klorür (Ag/AgCl) elektrot ve kalomel ($\text{Hg}/\text{Hg}_2\text{Cl}_2$) elektrot kullanılan referans elektrotlardır.

Standart hidrojen elektrodu için pik potansiyeli değeri 0 Volt kabul edilerek, elektrot potansiyeli değerleri bu elektroda göre bağıl olarak hesaplanır. SHE uluslararası referans elektrot olarak kabul edilmiştir. 25 °C de referans elektrotlar için elektrot potansiyelleri tabloda verilmiştir [Skoog et al., 1998]. Standart hidrojen elektrodun kullanımı ve bakımı diğer referans elektrotlara göre daha zor olduğu için rutin analizlerde diğer referans elektrotlar tercih edilmektedir [Skoog et al., 2004]. Ag/AgCl ve kalomel elektrodun saklandığı çözeltinin molarite değerlerine ve ortam

sıcaklığına bağlı olarak elektrot potansiyellerinin değişiklik gösterdiği unutulmamalıdır.

Tablo 3.1: Referans elektrotların elektrot potansiyelleri.

Referans elektrot	Gerçekleşen yarı reaksiyon	Standart elektrot potansiyeli, (V)
Standart hidrojen elektrot (SHE)	$2H^+ + 2e^- \rightleftharpoons H_2(g)$	0.000
Doygun Gümüş /gümüş klorür elektrot (Ag/AgCl)	$AgCl(k) + e^- \rightleftharpoons Ag(k) + Cl^-(suda)$	0.199
Doygun Kalomel elektrot (SCE)	$Hg_2Cl_2(k) + 2e^- \rightleftharpoons 2Hg(s) + 2Cl^-(suda)$	0.244

3.2.3. İndikatör Elektrot

İndikatör elektrot karşıt elektrot olarak da adlandırılmaktadır. Elektriğin potansiyostat/galvostat adı verilen kaynak sistemden çözelti içerisinde geçerek mikroelevtroda aktarılmasını sağlar. Referans elektrodun direnci $10^{11} \Omega$ düzeylerinde yüksek dirence sahip olduğu için kaynaktan gelen tüm akımın indikatör elektrot yardımıyla mikroelevtroda aktarıldığı kabul edilir [Skoog et al., 1998].

3.3. Tez Kapsamında Kullanılan Voltametrik Metotlar

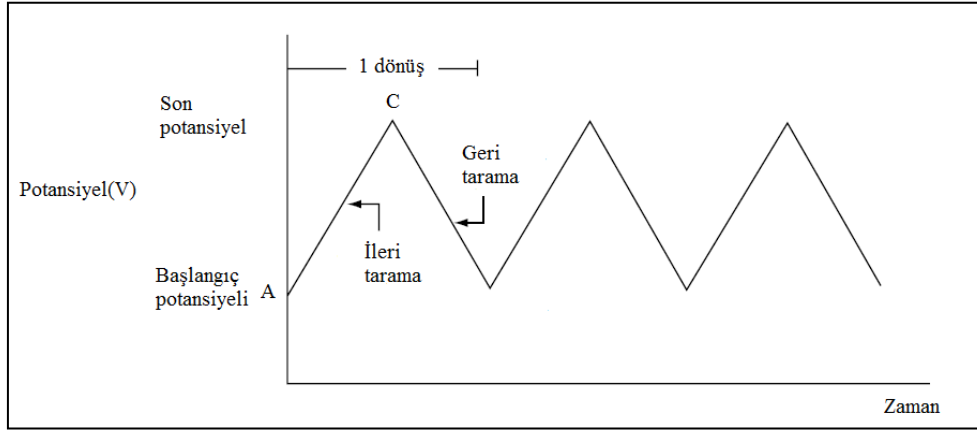
Dönüşümlü voltametri ve diferansiyel puls voltametrisi kullanılmıştır.

3.3.1. Dönüşümlü Voltametri

Dönüşümlü voltametri elektroaktif türlerin yükseltgenme-indirgenme davranışlarının irdelenmesinde kullanılan etkili bir yöntemdir. Elektroaktif türlerin redoks potansiyellerinin belirlenmesinde kullanılmaktadır.

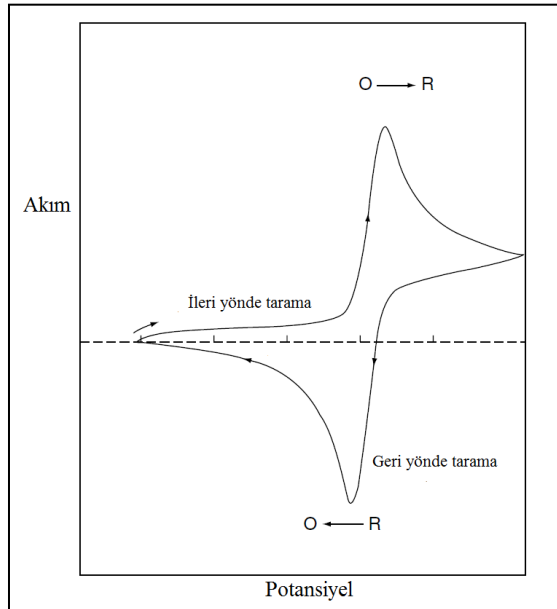
Belirlenen başlangıç ve bitiş potansiyelleri arasında ileri yönde tarama gerçekleştirilir. Daha sonra bitiş potansiyelinden başlangıç potansiyeline geri yönde tarama yapılır. Bu tarama sonucunda 1 dönüş (cycle) elde edilmiş olur. Dönüşümlü

voltametrizde gerçekleşen potansiyel-zaman değişimi şekil 3.1 de belirtilmiştir [Wang, 2006].



Şekil 3.1: Dönüşümlü voltametrizde potansiyel-zaman değişim grafiği.

O türünden R türüne tersinir bir elektron alışverişi gerçekleştiğini kabul edelim. İleri yönde (A noktasından C noktasına kadar) tarama yapıldığında O türünden R türüne dönüşen yapı, geri taramada (C noktasından A noktasına) R türünden O türüne dönüşecektir. $O + ne^- \rightleftharpoons R$ reaksiyonu için elde edilen voltammogram şeklindeki gibidir. Burada n elektron sayısını ifade etmektedir.



Şekil 3.2: Dönüşümlü voltametrizde tersinir bir reaksiyon için akım-potansiyel değişimi grafiği.

Tersinir olarak tepkimeye giren elektroaktif türün meydana getireceği pik akımı Randles Sevcik eşitliği ile ifade edilmektedir (Denklem 3.1).

$$i_p = (2.69 \times 10^5) n^{3/2} A C D^{1/2} v^{1/2} \quad (3.1)$$

Bu eşitlikte, i_p pik akımını, n elektron sayısını, A elektrot yüzeyini, C konsantrasyonu, D difüzyon katsayısını, v tarama hızını ifade etmektedir. Eşitliğe göre tarama hızının karekökü ile pik akımı arasında ve elektroaktif türün konsantrasyonu ile pik akımı arasında doğrusal ilişki olduğu belirtilmiştir.

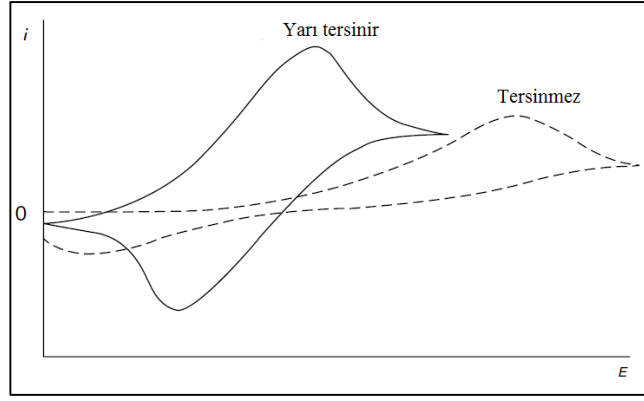
Katodik yönde tarama sonucu elde edilen akım i_{pc} , anodik yönde tarama sonucu elde edilen akım i_{pa} olarak ifade edilebilir. Benzer şekilde katodik yöndeki tarama için E_{pc} adı verilen potansiyel değeri elde edilirken anodik yönde E_{pa} potansiyel değeri belirlenir. i_{pa}/i_{pc} oranı ve pik potansiyelleri arasındaki fark tepkimenin tersinirliği hakkında bilgi vermektedir.

Tersinir bir çift için $\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc} = 0.059/n$ eşitliği geçerlidir. Anodik ve katodik pikler arasındaki fark, n ile gösterilen transfer edilen elektron sayısı ile ilişkilendirilebilir. Hızlı ve tersinir bir elektron geçişi için ΔE_p değerinin 59mV olduğu belirtilmiştir. Yavaş elektron transferlerinde yada elektron transferi yanında kimyasal reaksiyon gerçekleştiğinde kinetik parametreler de değiştiği için elde edilen voltammogramlar sayesinde bu geçişleri de gözlemleyebilmek mümkündür.

Tersinmez sistemde ise genellikle pikler arasındaki fark büyük olur. Gözlenen pike karşılık pik geçişi gözlenemez yada düşük bir geçiş gözlenebilir.

Tersinir sistemler için ideale yakın pik geçişleri gözlenirken, yarı tersinir ve tersinmez sistemlerde geçişler daha geniş potansiyel aralığında gözlenebilmektedir. Ayrıca elektron transferi yanında kimyasal reaksiyon gerçekleştiğinde de bu geçişlerde kaymalar gözlenecektir.

Yarı tersinir ve tersinmez sistemler için dönüşümü voltametrideki geçişler şekil 3.3 teki voltammogramda gösterilmiştir [Wang, 2006].



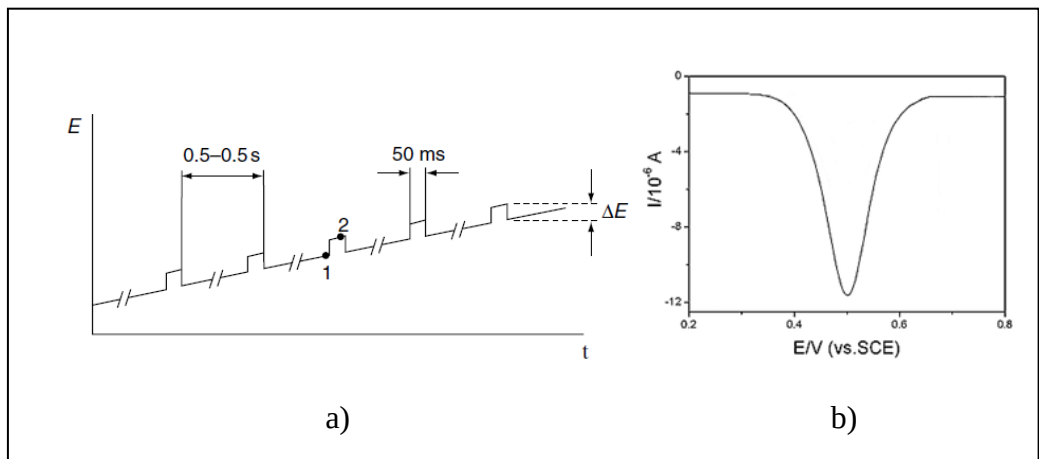
Şekil 3.3: Yarı tersinir ve tersinmez sistemler için dönüşümlü voltametri geçişleri.

3.3.2. Diferansiyel Puls Voltametri

Diferansiyel puls voltametri (DPV) yönteminde pulsun başlangıcında (pulstan hemen önce) ve sonunda (puls bitiminden hemen sonra) ölçüm yapılır. Akım değerlerinde oluşan fark potansiyelin fonksiyonu olarak kaydedilir. Puls başına akımdaki fark (Δi) değeri potansiyele karşı grafikte ifade edilir.

Bu voltametrik metodla yarı-dalga potansiyelleri arasında 0.04-0.05 V kadar farklı olan maddeler için pikler elde etmek mümkün olabilmektedir [Skoog et al., 2004].

Diferansiyel puls voltametrisinde uygulanan uyarma sinyali ve akım-potansiyel grafiği şekil 3.4 te belirtilmiştir [Wang, 2006].



Şekil 3.4: a) Diferansiyel puls voltametrisinde uygulanan uyarma sinyali, b) Diferansiyel puls voltametrisi için akım-potansiyel grafiği.

Diferansiyel puls voltametrisi ile duyarlılığı yüksek sonuçlar elde edebilmek mümkündür. 10^{-7} - 10^{-8} M düzeylerinde gözlenebilme sınırlarına sahiptir [Skoog et al., 2004]. Bu yöntemin duyarlılığının yüksek olmasının iki temel nedeni olduğu ifade edilmiştir. Birincisi potansiyel arttırıldığında elektrot yüzey tabakasındaki elektroaktif tür için bir akım gözlenir. Akım ölçümü bu akım artışı sona ermeden önce yapılır. Böylece difüzyon akımından daha yüksek akım elde edilir. İkincisi ise elektroda puls uygulandığında faradayik olmayan yükleme akımında zamanla azalma gözlenir, sinyal/gürültü değeri artar [Skoog et al., 1998].

4. MATERİYAL VE YÖNTEM

4.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Sarf Malzemeleri

Deneyisel sistemlerde kullanılan kimyasalların CAS numaraları, saflık değerleri ve temin edilen firma isimleri aşağıdaki tabloda listelenmiştir.

Tablo 4.1: Deneyisel çalışmalarda kullanılan kimyasallar.

Kimyasal adı	CAS numarası	Saflık	Marka
1-hekzantiyol	111-31-9	% 95	Sigma Aldrich
3-Merkaptopropiyonik asit	107-96-0	%99	Sigma Aldrich
6-merkpto-1-hekzanol	1633-78-9	%97	Sigma Aldrich
Aseton	67-64-1	% 99.8	Carlo Erba Reagents, Merck
Altın(III) klorür trihidrat	16961-25-4	% 99.9	Sigma Aldrich
Argon	7440-37-1	% 99.9	Sol Group, Yalız
Diklorometan	75-09-2	%99.8	Sigma Aldrich
Etanol	64-17-5	% 99.8	Sigma Aldrich
Ferrosen	102-54-5	%98	Sigma Aldrich
Hidroklorik asit	7647-01-0	% 37	Sigma Aldrich
Kurkumin (analitik standart)	458-37-7	% 98	Sigma Aldrich
Kurkumin	458-37-7	% 65	Sigma Aldrich
Potasyum klorür	7447-40-7	% 99.5	Sigma Aldrich
Potasyum hidrojen fosfat	7758-11-4	% 99	Fisher Bioreagents
Potasyum bikarbonat	298-14-6	% 99.5	Sigma Aldrich
Sodyum bikarbonat	144-55-8	%99.9	VWR BDH Prolabo
Sodyum sitrat tribazik dihidrat	6132-04-3	% 99	Sigma Aldrich
Sülfürik asit	7664-93-9	% 95-97	Sigma Aldrich
Tetra-n-bütülamonyum tetrafloroborat	429-42-5	%99	Alfa Aesar

Elektrot temizliğinde kullanılan sarf malzemeleri aşağıdaki tabloda belirtilmiştir.

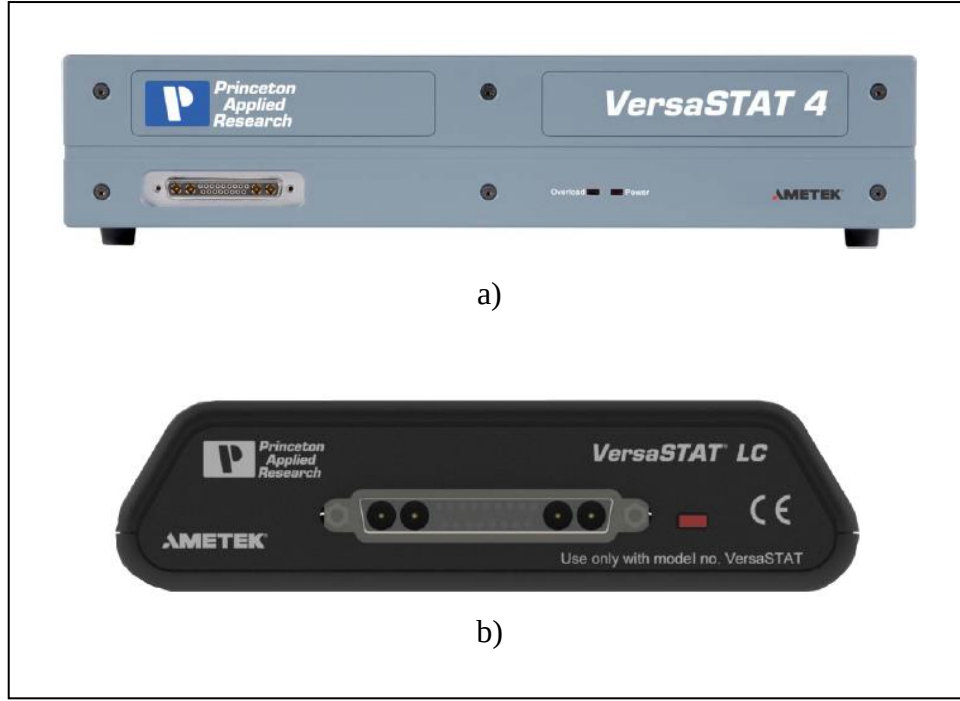
Tablo 4.2: Elektrot temizliğinde kullanılan sarf malzemeleri.

Sarf malzemesinin adı	Marka
0.3 mikron Micro Polish II alümina tozu	Buehler
Mastertex (PN 40-7738) elektrot temizlik yüzeyi	Buehler
0.25 Mikron Metadi gümüş elektrot parlatma macunu	Buehler
0.05 Mikron MicroPolish alümina tozu	CH Instruments CHI 120 Elektrot Temizleme Seti
73 mm Microcloth elektrot temizlik yüzeyi	CH Instruments CHI 120 Elektrot Temizleme Seti

4.2. Kullanılan Cihazlar ve Elektrotlar

CH Instruments 842B model ve Ametek Priceton Applied Research marka VersaSTAT 4 model potansiyostat/galvanostat sistemleri elektrokimyasal analizler için kullanılmıştır.

Çalışma elektrodu olarak kenar düzlem pirolitik grafit elektrodun kullanıldığı analizlerde CH Instruments 842B model potansiyostat; camısı karbon, altın elektrot, kalem grafit elektrot ve modifiye elektrotlar ile yapılan analizlerde VersaSTAT 4 model potansiyostat kullanılmıştır. Referans elektrotlar 3M KCI içerisinde saklanmıştır. Versastat LC ara birimi düşük akımları gözlemleyebilmek için VersaSTAT 4 sistemine bağlı olarak kullanılmıştır.



Şekil 4.1: a) VersaSTAT 4 model potansiyostat/galvanostat sistemi, b) VersaSTAT LC arabirimi.

Aşağıdaki tabloda voltametrik düzeneklerde kullanılan elektrotların türleri, model ve çapları belirtilmiştir.

Tablo 4.3: Kullanılan elektrotlar ve çapları.

1-) Elektrot	2-) Elektrot türü	3-)Marka/Model	4-) Çap (mm)
Altın (Au)	Çalışma elektrodu	CH Instruments CHI 101	2
Camsı karbon (GCE)	Çalışma elektrodu	CH Instruments CHI 104	3
Kenar düzlem pirolitik grafit (EPPG)	Çalışma elektrodu	ALS Tokyo (BAS Inc) Katalog no: 002253	3
Gümüş/gümüş klorür (Ag/AgCl)	Referans elektrot	CH Instruments CHI 111	-
Kalomel (SCE)	Referans elektrot	CH Instruments CHI 150	-
Platin tel (Pt)	İndikatör elektrot	CH Instruments CHI 115	0.5

Altın nanopartikülleri hazırlama basamağında Eppendorf minispin 5452, zerdeçaldan kurkuminoidlerin ekstraksiyonunda Eppendorf 5804R santrifüj kullanılmıştır. Tartım işlemleri Sartorius te 64 ve Ohaus Pioneer PA 214C teraziler

ile gerçekleştirilmiştir. Cam malzemeler yıkandıktan sonra Ecocell LSIS B2V/ EC55 etüvde kurutulmuştur.

Elektrot temizliğinde 35 kHz frekans ile çalışan Bandelin Sonorex marka ultrasonik banyo kullanılmıştır. Tampon çözeltilerin hazırlama basamağında Fisher Scientific lab-mix chem 9430F ve Heidolph MR Hei Standard karıştırıcı, Hanna Instruments pH 211 mikroişlemcili pH metre ve Radiometer Analytical MeterLab PHM 210 pH metre kullanılmıştır.

Altın nanopartiküllerin çapının hesaplanmasında Varian Cary 300 Scan UV-görünür bölge spektroskopisi cihazından faydalanılmıştır.

Örnek hazırlama basamağında Barky 02585 ultipette 0.5-5 μL , Barky 00691 ultipette 1-10 μL , Eppendorf Research Plus 0.5-10 μL , 10-100 μL ve 100-1000 μL mikropipetleri kullanılmıştır.

İndirekt ekstraksiyon için 40 kHz frekansa sahip United marka ULT 4 MT ultrasonik banyo kullanılmıştır. Direkt ultrasonik ekstraksiyon için 30 kHz frekansta ses dalgası üreten Sartorius Labsonic M ultrasonik homojenizatör cihaz kullanılmıştır.

5. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

5.1. Destek Elektrolit Çözeltisinin Hazırlanması

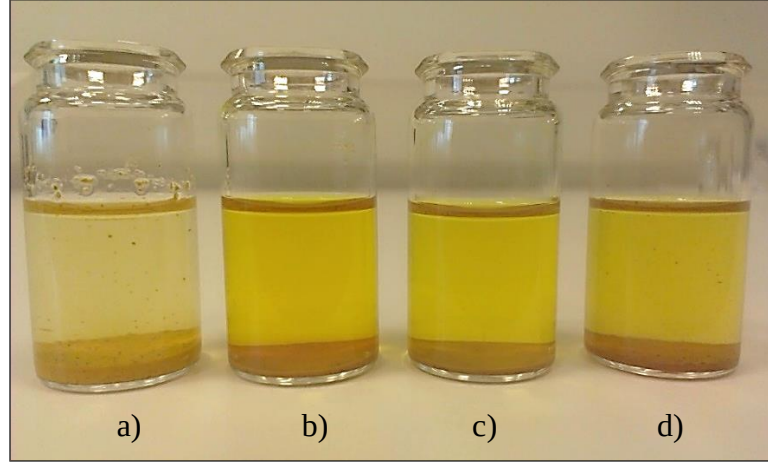
Bazik pH larda bozunma ürünlerinin oluştuğu, asidik ortamda ise daha kararlı olduğu ve bozunma hızının yavaş olduğu belirtildiği için kurkumin analizi asidik bölgede gerçekleştirilmiştir [Tonnesen and Karlsen., 1985], [Wang et al., 1997], [Gordon and veSchneider, 2012]. Paladyum-polipirol modifiye edilmiş grafit elektrot ile kurkumin analizinde pH 2 fosfat tamponunda çalışılmıştır [Arslan ve Cakır, 2014]. Fenolik bileşiklerin voltametrik analizinde pH 2 değeri için potasyum klorür ve hidroklorik asit içeren tampon çözelti kullanılmıştır [Enache and Oliveira-Brett, 2011], [Maniaet al., 2012].

Tez kapsamında pH 1.5-5.5 arasında destek elektrolit çözeltisinin hazırlanması için asidik ortamda fosfat tamponuna göre daha kararlı olan 0.1M potasyum klorür tampon çözeltisi tercih edilmiştir. pH 7 için ise fosfat tamponu tercih edilmiştir. İstenilen pH değerine hidroklorik asit eklenerek ulaşılmıştır. Hidroklorik asit eklenirken çözeltinin manyetik karıştırıcı altında sürekli karıştırılması sağlanmış ve çeker ocakta çalışılmıştır.

5.2. Çözücü Seçilmesi ve Stok Çözeltisinin Hazırlanması

Kurkumin aseton, ethanol, diklorometan, kloroform, methanol, etil asetat, dimetilsülfoksit gibi ortamlarda çözündüğü belirtilmiştir [Esatbeyoglu et al., 2012]. Yapılan bir başka çalışmada fenolik bileşikler için çeşitli çözücüler denenmiş, aseton ve etanolun uygun çözücü oldukları belirtilmiştir [Galanakis et al., 2013]. GlaxoSmithKline çözücü seçme kılavuzuna göre etanol asetondan daha ‘yeşil’ çözücü olarak sınıflandırılmaktadır [Henderson et al., 2011].

0.1 gram zerdeçal örneği sırasıyla eşit miktarda su, etanol, aseton ve diklorometan içerisinde aşağıdaki şekilde gözlenmiştir.



Şekil 5.1: Zerdeçal örneğinin sırasıyla a) Su, b) Etanol, c) Aseton, d) Diklorometan çözücülerinde çözünürlüğünün incelenmesi.

Kurkuminin suda çok çok düşük miktarda çözünbildiği, etanol, aseton ve diklorometanda çözünürlüğünün suya göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

Fenoller bir yada daha fazla hidroksil grubu içerirler. Polar olan hidroksil grubu apolar olan aromatik halkaya bağlıdır. Fenollerdeki hidroksil grupları, elektronegatif oksijen içeren etanol, metanol yada aseton gibi çözücülerle hidrojen bağları yapabilirler [Galanakis et al., 2013].

Ekstraksiyonda su-metanol yada su-ethanol karışımları da kullanılmaktadır. Su-alkol karışımlarında su, katı matriksin çözücü tarafından daha kolay bir şekilde nüfuz etmesine yardımcı olabileceği belirtilmiştir. Fenollerin genellikle alkol gibi polar protik ortamlarda çözünbildiği belirtilse de tüm fenoller için bu genelleme geçerli değildir. Su-alkol karışımlarında olduğu gibi polaritenin değiştirilmesi ile bileşikler polaritesine uygun bir şekilde ayırmak mümkün olabilmektedir [Galanakis et al., 2013].

1×10^{-3} M kurkumin çözeltisi %99 saflıktaki etanol ile hazırlanmıştır. %65 saflıktaki kurkumin için de 1×10^{-3} M kurkumin çözeltisinin 6.5×10^{-4} M düzeyinde kurkumin içerdiği hesaplanmıştır.

5.3. Çalışma Elektrotlarının Temizlenmesi

Elektrodun yüzeyinin temiz olması pik akımını direkt etkileyen faktörlerden biridir. Voltametrik analizlerde kullanılan çalışma elektrotlarının ölçüm öncesi ve

sonrasında yüzeyi temizlenmelidir. Tez kapsamında kullanılan çalışma elektrotlarının temizliği için uygulanan metodlar aşağıda belirtilmiştir.

5.3.1. Camsı Karbon ve Kenar Düzlem Pirolitik Grafit Elektrodun Temizlenmesi

Az miktarda 0.05 mikronluk alümina tozu az miktarda su ile temizlik pedinin üzerinde ıslatılır. Daha sonra elektrot yüzeyine çok fazla basınç uygulamadan 8 rakamı şeklinde dairesel hareketler uygulanarak 5 dakika temizlenir. Bu işlemden hemen sonra beklemeden elektrodun yüzeyi saf su ile yıkanır. Bu işlemden sonra 5 dakika ultrasonik banyoda saf su ile temizlenir. Elektrot analiz öncesi 0.1M potasyum bikarbonat yada sodyum bikarbonat çözeltisinde sabit voltammogram elde edilinceye kadar dönüşümlü voltametrik ölçümü yapılmıştır.

5.3.2. Altın Elektrodun Temizlenmesi

Altın elektrot yüzeyi deneyden hemen önce ve sonra 0.3 mikronluk alümina tozu yada 0.25 mikronluk gümüş parlatma macunu ile temizlenmiştir. Alümina tozu yada gümüş macunu az miktarda su ile ıslatılıp elektrot yüzeyi temizleninceye kadar bu işleme devam edilmiştir. Elektrot saf su ile durulandıktan sonra 5 dakika saf suda ultrasonik banyoda temizlenmiştir.

Altın elektrodun aktivasyonu için 0.1 Molar H_2SO_4 çözeltisinde 5 saniye 2 V , 10 saniye 0.35 V uygulanmıştır. Daha sonra -0.35 V ile 1.5 V potansiyel aralığında 100 döngü 4 V uygulanmıştır. Son tarama 0.1 V da -0.35 V ile 1.5 V arasında gerçekleştirilmiştir [Meyer et al., 2011].

5.4. Altın Nanopartiküllerin Hazırlanması

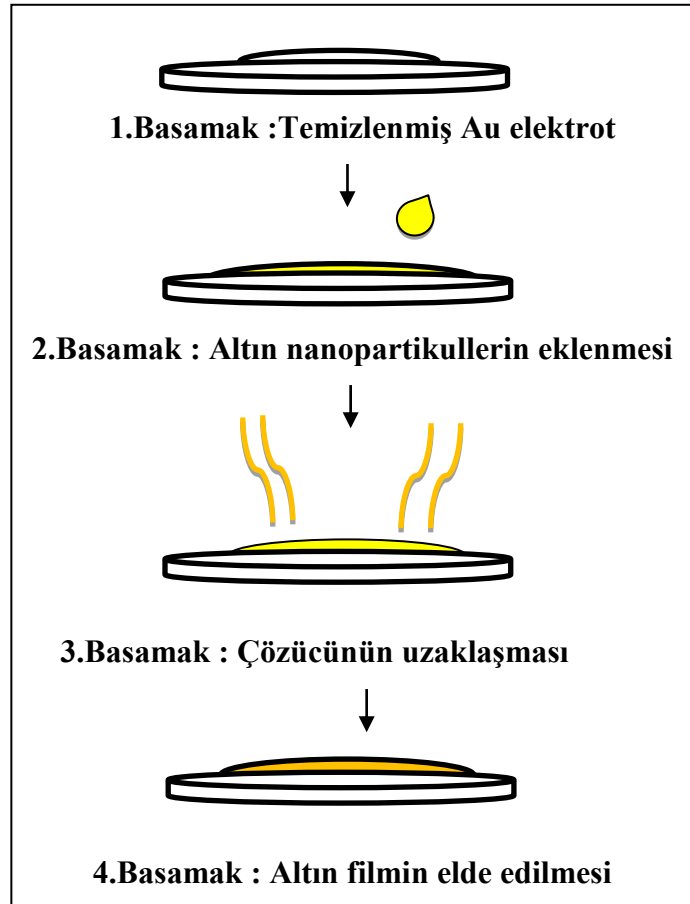
1951 yılında [Turkevich et al., 1951] tarafından uygulanan, [Frens, 1973] ile geliştirilen ve [Meyer et al., 2011], [Melin et al., 2013] gibi uygulamaları olan altın nanopartikül hazırlama prosedürü uygulanmıştır. 38.8 mM 12.5 mL Sodyum sitrat tribazik dihidrat ve 1mM 125 mL Altın(III) klorür trihidrat çözeltisi hazırlanmıştır. Altın çözeltisi sürekli karıştırılarak kaynayınca kadar ısıtılmıştır. Kaynamaya başladığında sodyum sitrat bazik dihidrat çözeltisi eklenmiştir. Sıcaklık 15 dakika

kaynama sıcaklığında tutulmuştur. Daha sonra çözelti oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır. Altın nanopartiküllerin partikül büyüklükleri UV-Görünür bölge spektroskopisinde absorpsiyon değerlerine bağlı olarak ölçülmüştür.

5.5. Altın Nanopartiküllerin Elektrot Yüzeyine Kaplanması

Hazırlanan çözeltiden daha konsantre altın nanopartikülleri elde edebilmek için 3 adet 1.5 mililitre çözelti 10,000 rpm hızda 30 dakika santrifüj edilmiştir ve %95 oranında sıvı kısım uzaklaştırılmıştır.

Mikropipet yardımıyla tam olarak elektrot yüzeyine gelecek şekilde 1 damla damlatılıp oda sıcaklığında çözücünün uzaklaşması, yüzeyin kuruması beklenmiştir. Aynı şekilde ikinci ve üçüncü damlalar da elektrot yüzeyine damlatılmış ve kurumaya bırakılmıştır. Deneysel basamaklar aşağıdaki şekilde belirtildiği gibidir.



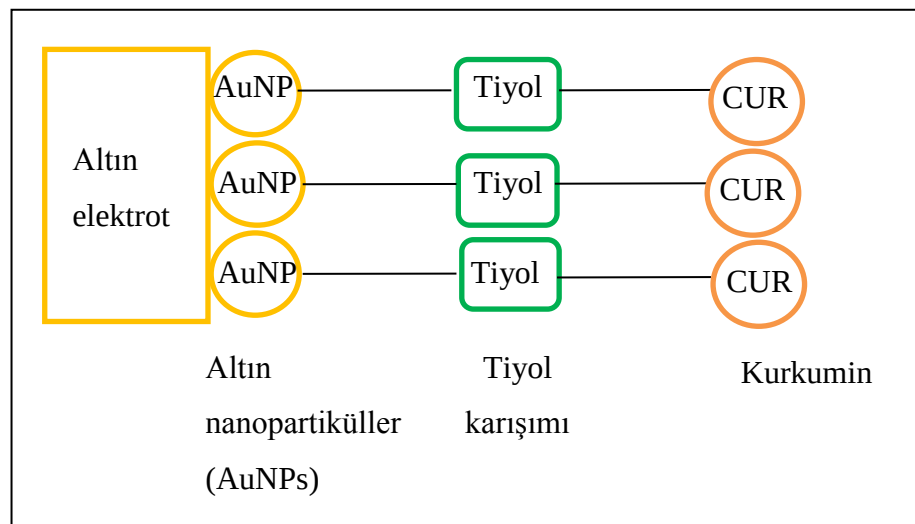
Şekil 5.2: Altın nanopartiküllerin altın elektrot yüzeyine kaplanması.

5.6. Altın Nanopartikül ile Modifiye Edilmiş Elektrodun Tiyol Karışımı yada Merkaptopropiyonik Asitle Modifikasyonu

Altın nanopartikül ile modifiye edilen altın elektrot, 1:1 oranında 1-hekzantiyol ve 6-merkapt-1-hekzanol karışımı içeren etanol içerisinde 1 gece bekletilmiştir. Altın nanopartikül kaplı elektrodun çözelti içeren kabın çeperlerine temas etmemesine özen gösterilmiştir. Parafin film ile korunmuştur.

Benzer şekilde tiyol karışımı yerine merkaptopropiyonik asit içerisinde 1 gece buzdolabında bekletilmiştir. Yüzeyde bağlanmadan kalan tiyolleri uzaklaştırmak için analiz öncesi etanol ile yıkanmıştır.

Şematik gösterimi şekil 5.3 te verilmiştir. Şekil 5.3 [Meyer et al., 2011] referansından yararlanılarak düzenlenmiştir.



Şekil 5.3: Altın nanopartikül ve tiyol modifiye edilmiş elektrodun şematik gösterimi.

5.7. Camsı Karbon Elektrodun Karbon Nanotüplerle Modifiye Edilmesi

0.9 ile 1.5 nm arasında değişen çaplara sahip olan tek duvarlı karbon nanotüpler etanol içerisinde saklanmıştır. Temiz camsı karbon elektrot yüzeyine damla damla eklenmiştir. Oda sıcaklığında etanol uzaklaşmıştır. Elektrot yüzeyi tamamen nanotüplerle kaplanıncaya kadar bu işleme devam edilmiştir. Elektrot yüzeyi kuruduktan sonra analize hazır hale gelmiştir.

5.8. Dönüşümlü Voltametri ve Diferansiyel Puls Voltametri Parametrelerinin Belirlenmesi

Dönüşümlü voltametri için tarama hızı 0.1 Vs^{-1} kullanılmıştır. Literatürde kimyasal yapı olarak benzer olan ferulik asit için puls genliği 50mV ve puls genişliği 50ms olarak uygulanmıştır [Zhang et al., 2013]. Benzer şekilde fenolik bileşiklerin analizini içeren çalışmada 50mV puls genliği kullanılmıştır [Enache and Oliveira-Brett, 2011]. Tez kapsamında diferansiyel puls voltametrisi uygulamalarında puls genliği 50mV, puls genişliği 50 ms olarak tercih edilmiştir. Analizlere başlamadan önce sabit zemin sinyali elde edene kadar 0.1 M sodyum yada potasyum bikarbonat çözeltisi ile dönüşümlü voltametrik analiz gerçekleştirilmiştir.

5.9. Ultrasonik Ekstraksiyon

Zerdeçaldan kurkumin ve türevlerinin ekstraksiyonu için direkt ve indirekt olmak üzere iki farklı ultrasonik ekstraksiyon metodu uygulanmıştır.

Ekstraksiyon parametrelerinin belirlenmesinde literatürdeki referanslar incelenmiştir. [Gopalan et al., 2000], zerdeçalın ekstraksiyonunda 40-60 °C aralığında çalışmışlardır. [Sogi et al., 2010], 50-90 °C arasında çeşitli sıcaklıklarda zerdeçal ekstraksiyonu uygulamaları gerçekleştirmişlerdir. 60 °C nin optimum değer olduğunu belirtmişlerdir. Çözücü olarak etanol kullanıp, 30 dakika ekstraksiyon süresini önermişlerdir. [Ching et al., 2014], zerdeçaldan 50 °C de ekstrakte edilen kurkumin ekstraktlarının en yüksek antioksidan aktivitesi gösterdiğini belirtmiştir. Tez kapsamında uygulanan indirekt ve direkt ultrasonik ekstraksiyonlar için literatürdeki veriler göz önünde bulundurulmuştur. Öncelikle oda sıcaklığında analiz gerçekleştirilmiştir daha sonra literatürdeki optimum olarak belirtilen sıcaklıklarda analiz yapılmıştır.

5.9.1. İndirekt Ultrasonik Ekstraksiyon

Zerdeçalın indirekt ekstraksiyonu etanol içerisinde oda sıcaklığında ve 55°C de 30 dakika boyunca ultrasonik banyoda ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. 5500 rpm dönüş hızında santrifüj uygulanarak katının çökmesi sağlanmıştır. Ek bir filtreleme prosesi uygulamadan çözeltiden 1 ml alarak toplam hacim 10 ml olacak şekilde 0.1M pH 7 ve pH 2 tamponunda voltametrik analizi gerçekleştirilmiştir. Kenar düzlem pirolitik grafit ve camsı karbon elektrot çalışma elektrodu olarak kullanılmıştır. Voltametrik analizlerde dönüşümlü voltametri ile analiz öncesi fosfat ve potasyum klorür tamponu için zemin sinyali kontrol edilmiştir.

5.9.2. Direkt Ultrasonik Ekstraksiyon

Çapı 2 mm olan prob ve frekansı 30 KHz olan sonikatör kullanılmıştır. 0.5 gram zerdeçal örneğine, 10 mL %99 luk ethanolde 10 dakika ultrasonik ekstraksiyon uygulanmıştır. Kabın çeperlerinde kalan katıyı alabilmek için 5 mL ethanol eklenmiştir. Karışıma 7000 rpm dönüş hızında 2 dakika santrifüj uygulanmıştır. Katı kısım içerisinde kalan kurkuminoidleri ekstrakte edebilmek için aynı prosedürle tekrar ekstrakte edilmiştir.

55 °C derece için 0.5 gram zerdeçal 15 mL %99 luk ethanolde 10 dakika ultrasonik ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. 7000 rpm dönüş hızında 2 dakika santrifüj uygulanmıştır. Katı kısım için aynı ekstraksiyon prosedürü tekrarlanmıştır.

Birinci ve ikinci ekstraksiyon sonucu elde edilen santrifüj uygulanan sıvı kısımlar birleştirilmiştir. Elektrokimyasal analizler bu çözeltilerin seyreltilmesi ile gerçekleştirilmiştir. Ekstraktın 20 µL si alınarak 10mL 0.1M pH 2 KCl tamponunda ölçüm yapılmıştır.

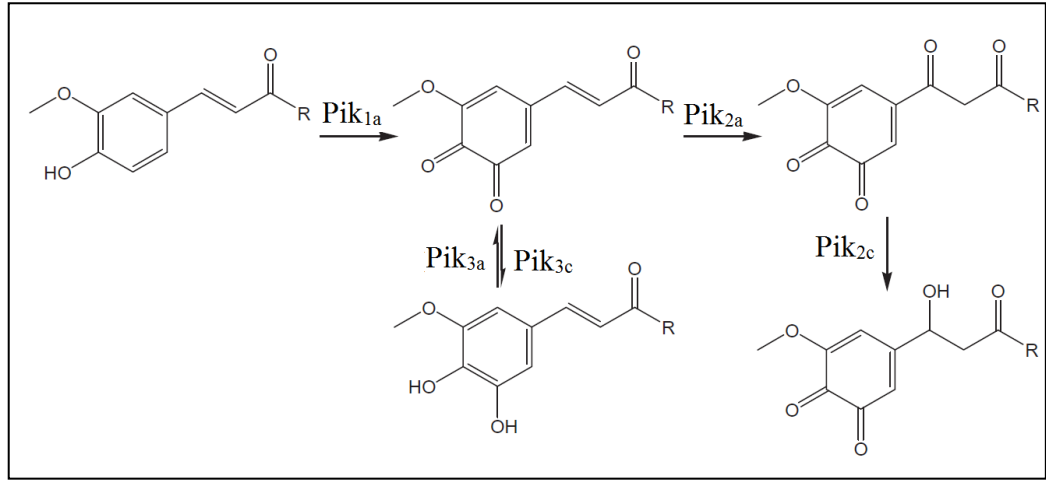
6. BULGULAR

Dönüşümlü voltametri ve diferansiyel puls voltametrisi uygulamaları öncelikle kurkuminin oksidasyon davranışını gözlemlemek amacıyla kullanılmıştır. Daha sonra kurkumin için seçilen karakteristik pik için zerdeçaldan kurkuminlerin ekstraksiyon verileri değerlendirilmiştir.

6.1. Kurkuminin Oksidasyon Davranışının Dönüşümlü Voltametri ile İncelenmesi

Kurkuminin oksidasyon mekanizması dönüşümlü voltametri ve diferansiyel puls voltametrisi teknikleri ile incelenmiştir. Oksidasyon yada elektrokimyasal değişimler çalışma elektrodunun yüzeyinde meydana gelmektedir. Bu nedenle farklı elektrot malzemeleri ve yüzey yapısı gibi özellikler elde edilecek sonuçlarda etkin bir değişkendir. Bu etkiyi gözlemlemek için camı karbon, kenar düzlem pirolitik, altın elektrot denemelerde kullanılan çalışma elektrotlarıdır.

Fenollerin oksidasyon mekanizmasının tersinmez, pH a bağlı, tek basamakta gerçekleştiği belirtilmiştir. katekol ve hidrokinon oksidasyon ürünlerinin tersinir ve pH a bağlı olduğu belirtilmiştir [Enache and Oliveira-Brett, 2011]. Camı karbon elektrotta pH 6.8 de doymuş kalomel elektroda karşı olarak 0.55 V da oksidasyon piki elde edildiği belirtilmiştir [Chen et al., 2014]. Fenollerin camı karbon elektrot ile yapılan elektrokimyasal analizinde oksidasyonun pH a bağlı, tersinmez olduğu belirtilmiştir. Fenol oksidasyon ürünlerinin ise tersinir özellik gösterdiği ve pH a bağlı olarak değişim gösterdiği belirtilmiştir. Kurkuminin oksidasyonun iki basamaklı tersinmez bir tepkime olduğu ve ilk tersinmez oksidasyon basamağının katekol oluşumuna yol açtığı belirtilmiştir. Literatürde kurkuminin oksidasyon mekanizmasının aşağıdaki şekilde gerçekleştiği önerilmiştir [Manaia et al., 2012].



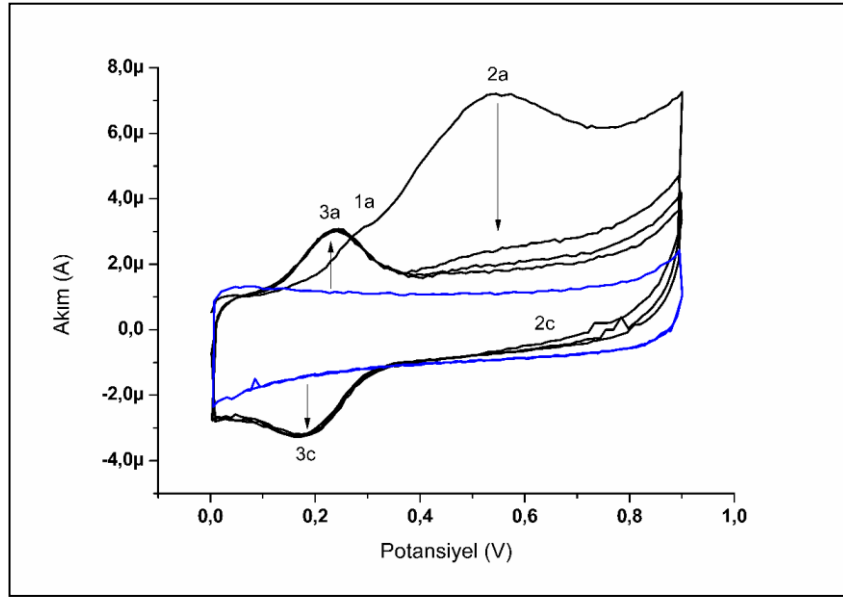
Şekil 6.1: Kurkuminin oksidasyon mekanizması.

6.1.1. Camsı Karbon Elektrot (GCE) ile Kurkuminin Dönüşümlü Voltametri (CV) Ölçümleri

Camsı karbon elektrodun çalışma elektrodu, Ag/AgCl elektrodun referans elektrot ve platin telin indikatör elektrot olarak kullanıldığı sistemde pH 7 fosfat tamponu kullanılmıştır. 0.1 M KCl tampon çözeltiye eklenmiştir. %65 saflıkta kurkumin kullanılmıştır.

[Zheng and Song, 2009] de belirtildiği gibi camsı karbon elektrot temizlendikten sonra zemin sinyali gözlemleyebilmek için 0.1M potasyum bikarbonat çözeltisi ile sabit zemin sinyali elde edilinceye kadar -1 ile +1.55V arasında tarama yapılmıştır.

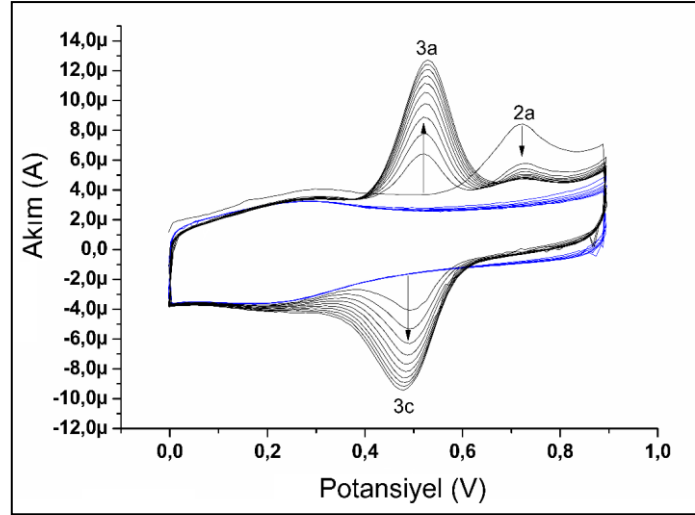
İlk taramada birbirini takip eden iki oksidasyon basamağı görülmüştür. Anodik oksidasyon pikleri sırasıyla $E_{p1a} = 0.26V$ ve $E_{p2a} = 0.55V$ olarak belirlenmiştir. Elektrot temizlenmeden taramaya devam edilmiştir. Bir çift oksidasyon ve indirgenme piki gözlenmiştir. ($E_{p3a} = 0.23V$, $E_{p3c} = 0.19V$) İlk taramadan sonra 1a ve 2a pikleri kaybolmuştur. Bu durum kurkumin için camsı karbon elektrot yüzeyinde tersinmez reaksiyon gerçekleştiğini işaret etmektedir. Pik 3a ve 3c kurkuminin ilk taraması sonucunda oluşan oksidasyon ürünleridir. Pik 3a ve 3c tersinir özellik göstermektedir. Literatürde belirtilen pik 2c için de literatürdeki veriye uygun olarak keskin bir pik geçişi gözlenememiştir. Bu durum uygulanan deneysel koşullar için, oluşan 3a ve 3c oksidasyon ürünlerinin bağlı yüzdesinin yüksek olduğu ve pik 2c için oksidasyon ürününün daha az oluştuğu düşünülmüştür.



Şekil 6.2: 0.1M pH 7 fosfat tamponu ve 0.1M KCl içeren çözeltide 1.95×10^{-4} M kurkumin GCE ile CV ölçümü Mavi çizgi: Zemin sinyali.

pH 2 potasyum klorür tamponunda voltametik analizi gerçekleştirilmiştir. İlk tarama sonucunda $E_{p2a} = 0.72V$ olarak bulunmuştur. Dönüşümlü taramalara devam ettikçe pH 7 deki deneysel sisteme benzer şekilde 0 ile 0.9 Volt arasındaki ilk anodik taramadan sonra 3a ve 3c tersinir oksidasyon ürünleri gözlenmiştir. Ancak pH 7 ve pH 2 de yapılan analizler karşılaştırıldığında pH a bağlı olarak pik potansiyellerinde değişim gözlenmiştir (Şekil 6.3). Kurkuminin camı karbon elektrotta oksidasyonunun pH a bağlı bir proses olduğunu göstermiştir.

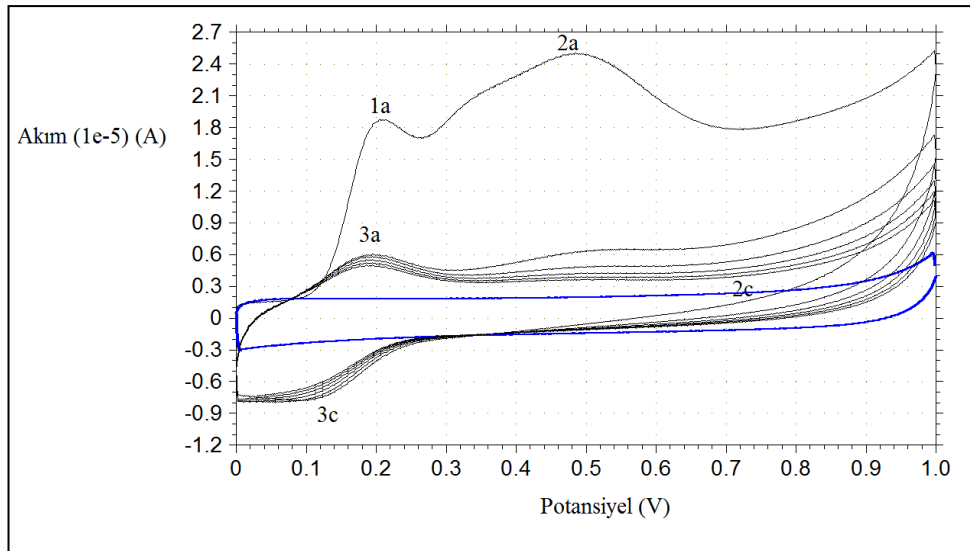
E_{p3a} tarama sayısı arttıkça 0.52V'tan 0.53V'a kayma gözlenmiştir. E_{p3c} 0.50V tan 0.48V'a kaymıştır. Daha düşük derişimde çalışılmasının ve tampon çözeltisinin farklı olması ve asidik pH olmasının pik 1a'nın gözlenememesinde etkisi olabileceği düşünülmüştür.



Şekil 6.3: 0.1 M pH 2 KCl tamponunda 6.5×10^{-5} M kurkumin GCE ile CV ölçümü
Mavi çizgi: Zemin sinyali.

6.1.2. Kenar Düzlem Pirolitik Grafit (EPPG) Elektrot ile Kurkuminin Dönüşümlü Voltametri (CV) Ölçümleri

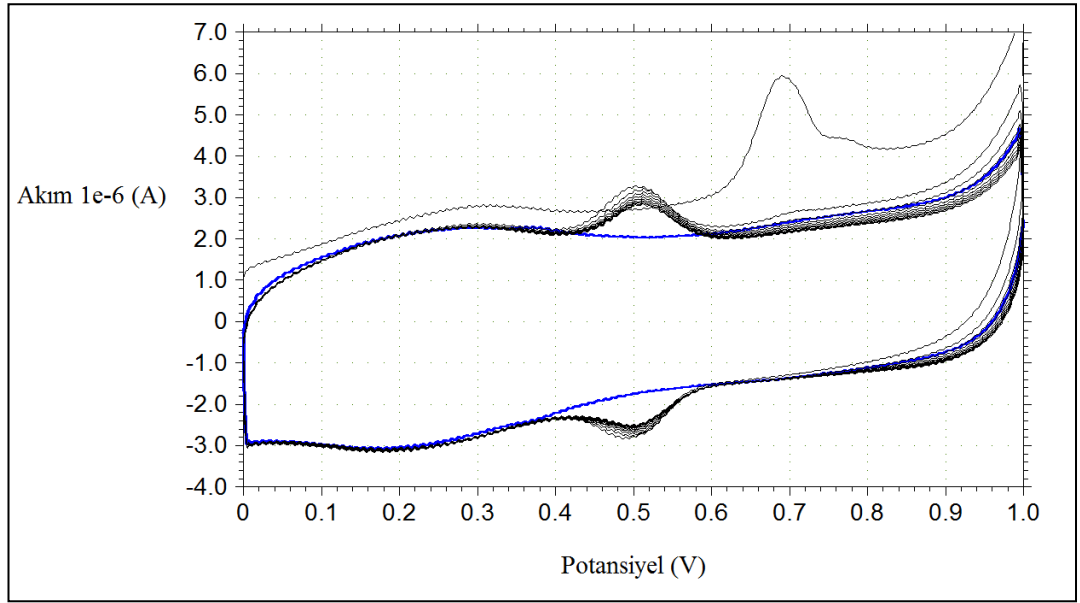
EPPG elektrot ile 0.1M pH 7 fosfat tamponunda kurkuminin analizi gerçekleştirilmiştir. Camsı karbon için aynı mekanizma bu elektrot için de geçerlidir. Ancak oksidasyon geçişleri camsı karbon elektroda göre daha belirgin gözlenmiştir. (şekil 6.4).



Şekil 6.4: 0.1 M pH 7 fosfat tamponunda 1.3×10^{-4} M kurkumin EPPGE ile dönüşümlü voltametri, Mavi çizgi: Zemin sinyali.

Birinci taramada gerçekleşen iki basamaklı oksidasyon için pik potansiyelleri $E_{p1a} = 0.21V$ ve $E_{p2a} = 0.48V$ elde edilmiştir. E_{p2c} ise $0.74V$ düzeylerindedir. Tersinir özellik gösteren oksidasyon ürünleri için pik potansiyelleri $E_{p3a} = 0.19V$, $E_{p3c} = 0.12V$ olarak belirlenmiştir.

Asidik ortamdaki davranışı pH 2 potasyum klorür tamponunda incelenmiştir. 0.1 M pH 2 KCl tamponunda olan elde edilen elektrokimyasal oksidasyon sonuçları şekil 6.5 te belirtilmiştir.



Şekil 6.5: 0.1 M pH 2 KCl tamponunda 6.5×10^{-5} M kurkumin EPPGE ile dönüşümlü voltametri, Mavi çizgi: Zemin sinyali.

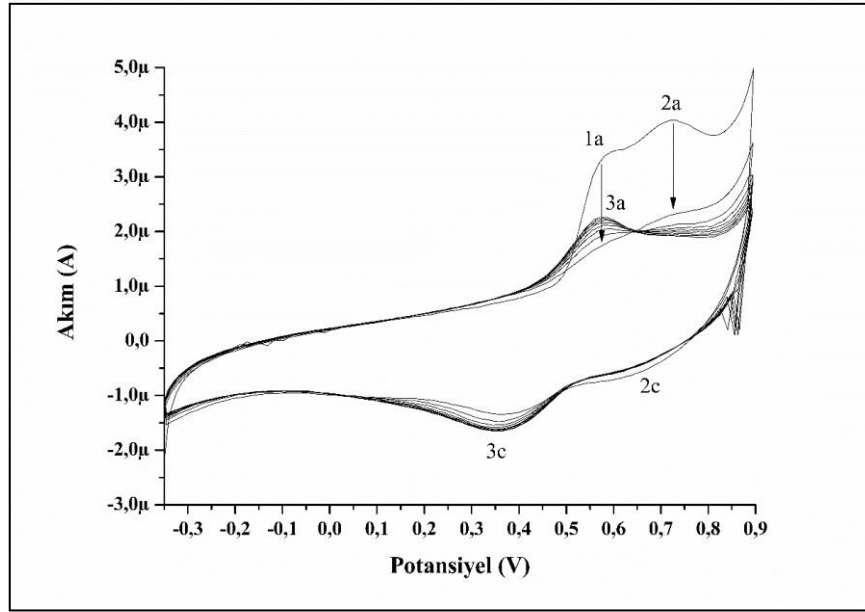
pH 7 de gözlenen pik potansiyel değerleri ile pH 2 deki değerler karşılaştırıldığında piklerinin pH a bağlı olarak daha daha yüksek pik potansiyellerine kaymıştır. Bu da kurkuminin elektrokimyasal oksidasyonunun pH a bağlı bir süreç olduğunu göstermektedir.

Ayrıca pik 1a ve pik 2a oranı değişmiştir. Bu da kurkuminin asidik bölgedeki hidrojen bağı ile ilişkili yapılar arasındaki geçişin farklı olması ile ilişkilidir.

Kurkuminin oksidasyon potansiyeli pH a bağlı olarak değişim göstereceği için pH ı değiştirerek istenilen potansiyel değerine kaydırmak mümkündür. Bu da birden fazla türün analizi için olanak sağlayabilir.

6.1.3. Altın Elektrot ile Kurkuminin Dönüşümlü Voltametri (CV) Ölçümü

Altın elektrot ile 0.1M pH 2 KCl tamponunda dönüşümlü voltametrik analizi gerçekleştirilmiştir. Ep1a = 0.57V ve Ep2a = 0.72V olarak gözlenmiştir. Oksidasyon ürünleri Ep2c, Ep3a ve Ep3c sırasıyla 0.66, 0.57 ve 0.36 V olarak bulunmuştur.



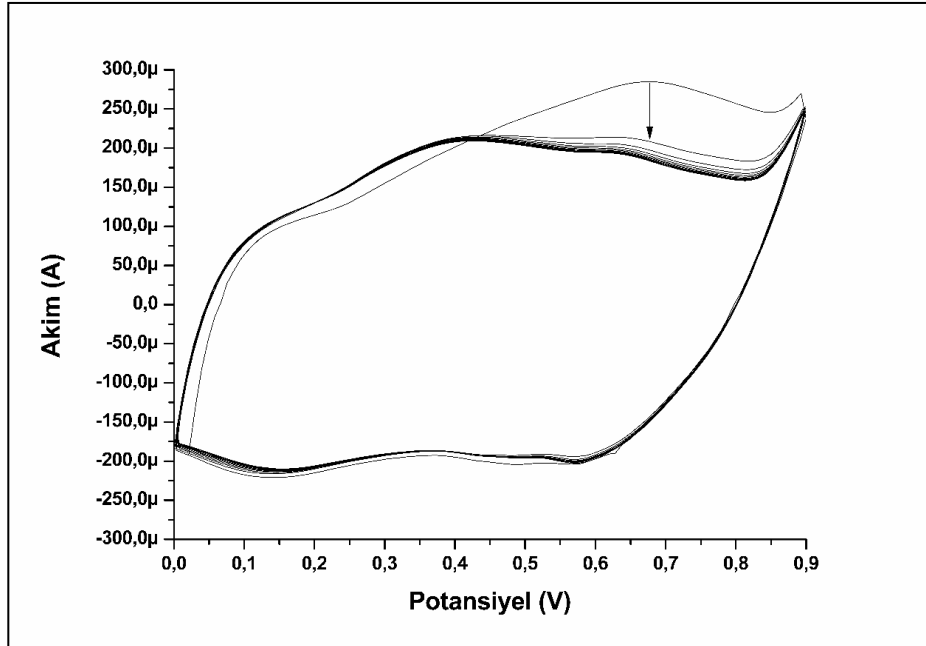
Şekil 6.6: 0.1 M pH 2 KCl tamponunda $1,3 \times 10^{-4}$ M kurkumin altın elektrot ile CV ölçümü.

6.1.4. Tek Duvarlı Karbon Nanotüpler ile Modifiye Edilmiş Camsı Karbon Elektrot (SWCNT-GCE) ile Kurkuminin Dönüşümlü Voltametrik Analizi

Kurkumin analizlerinde camsı karbon elektrot altın elektroda göre daha yüksek akım cevabı vermiştir. Camsı karbon elektrodu karbon nanotüplerle modifiye ederek daha yüksek akım cevabı elde etmek mümkündür. Tıp ve biyokimyasal uygulamalarda düşük tayin sınırlarında analiz önem kazandığı için camsı karbon elektrot tek duvarlı karbon nanotüplerle modifiye edip uygulaması gerçekleştirilmiştir.

Kurkumin oksidasyon piki 0.68 voltta gözlenmiştir. Camsı karbon elektrot ile karşılaştırıldığında oksidasyon pik akımında artış gözlenmiştir. Tek duvarlı karbon nanotüplerle modifiye edilmiş bir camsı karbon elektrot yüzey alanını genişlettiği

için daha yüksek akım cevabı vermiştir. Nanomolar gibi düşük tayin sınırlarında çalışmak mümkündür.

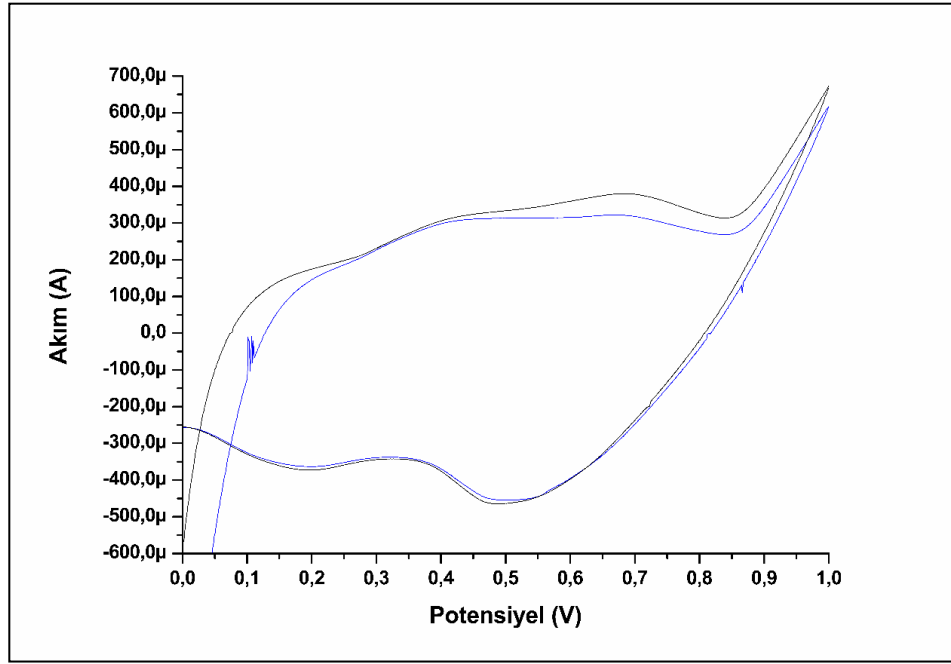


şekil 6.7: 0.1M pH 7 fosfat tamponunda 6.5×10^{-5} M kurkuminin SWCNTs-GCE ile CV lm.

6.1.5. Altın Nanopartiküller ile Modifiye Edilmiş Altın Elektrot (AuNPs-Au) ile Kurkuminin Dönüşümlü Voltametrik Analizi

Altın nanopartiküllerle modifiye edilmiş altın elektrot için analiz sonucu şekil 6.8 de belirtilmiştir.

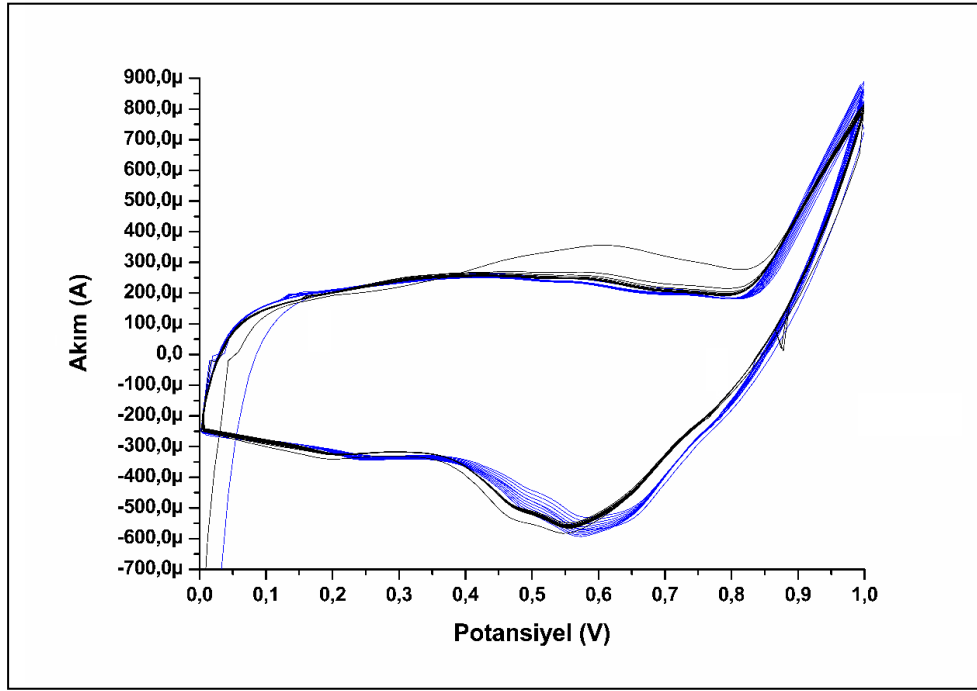
0 ile 1 volt arasında dönüşümlü voltametrik analiz gerçekleştirilmiştir. Altın nanopatikller ile modifiye edilmiş altın elektrot için pik akımında artış sağlamıştır. Kurkuminin oksidasyon piki 0.68V olarak gözlenmiştir. 0.5 Volt düzeyinde görülen pik altının yükseltgenme-indirgenme reaksiyonları ile ilişkilidir.



Şekil 6.8: 0.1M pH 7 fosfat tamponunda 6.5×10^{-5} M kurkumin AuNPs-Au elektrot ile CV ölçümü. Mavi çizgi: Zemin sinyali

6.1.6. Merkaptopropiyonik Asit (MPA) ile Modifiye Edilmiş Altın Nanopartikül Modifiye Altın Elektrot ile Kurkuminin Dönüşümlü Voltametrik Analizi

Altın nanopartikül ile modifiye edilmiş elektrot, merkaptopropiyonik asit çözeltisinde 1 gece bekletildikten sonra ölçüm yapılmıştır. Altın nanopartikül ile modifiye edilmiş olan altın elektrodun dönüşümlü voltametrisine oranla daha iyi bir zemin sinyali görmekteyiz.



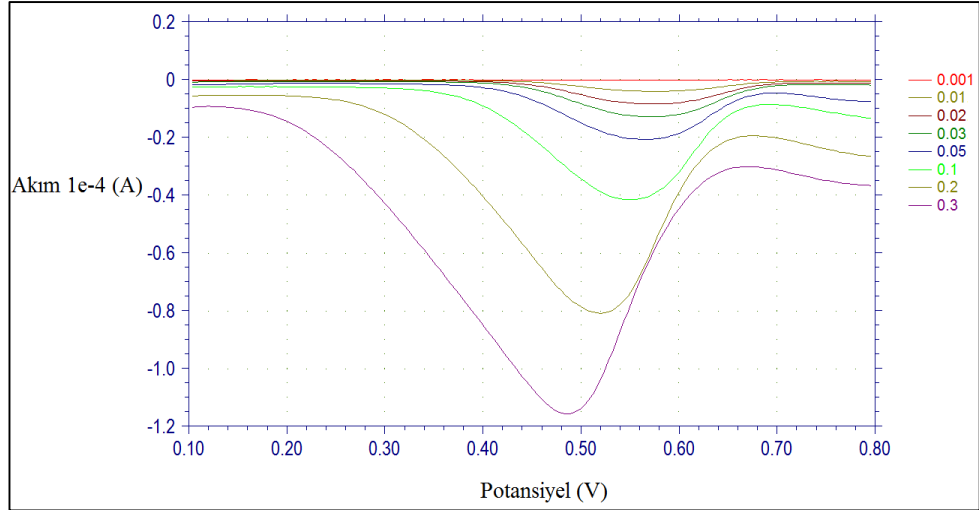
Şekil 6.9: 0.1M pH 7 fosfat tamponunda 6.5×10^{-5} M kurkumin MPA-AuNPs-Au elektrot ile CV ölçümü, Mavi çizgi: Zemin sinyali.

6.2. Kurkuminin Oksidasyon Mekanizmasının Diferansiyel Puls Voltametri ile İncelenmesi

Elektrokimyasal oksidasyon mekanizmasında dönüşümlü voltametrde gözlenen pik geçişlerini doğrulamak amacıyla kurkuminin diferansiyel puls voltametri ile incelenmiştir. Kurkumin için dönüşümlü voltametrde gözlenen oksidasyon pikleri diferansiyel puls voltametri ile doğrulanmıştır.

6.2.1. Diferansiyel Puls Voltametri Parametrelerinin İncelenmesi

Diferansiyel puls voltametri parametrelerinin belirlenmesi için tersinir elektron transferi gerçekleştiren ferrosen kullanılmıştır. Sadece istenen parametre değiştirilip diğer parametreler sabit tutulmuştur. Camı karbon elektrot ile çözücü olarak diklorometan kullanıldığı ortamda, 1×10^{-3} M ferrosen ve 0.1 M tetra-n-bütil amonyum hekzafloroborat elektrolit içeren çözeltide analiz gerçekleştirilmiştir.

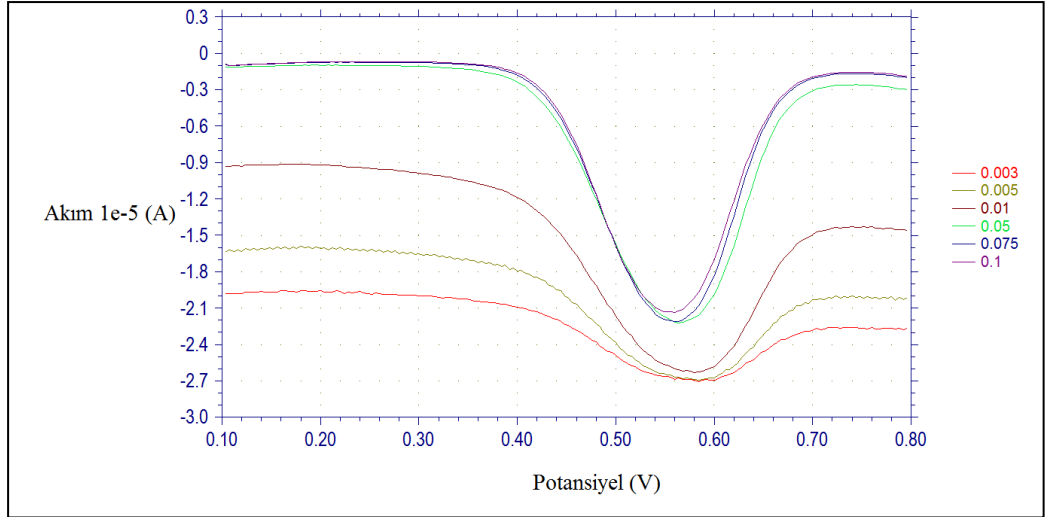


Şekil 6.10: Çeşitli puls genlik değerleri için ferrosene ait voltammogramlar.

Puls genliği arttıkça pik maksimumunda artış gözlenmektedir. Daha yüksek pik maksimumu gözlenmesine rağmen, pik için baseline değerinde belirgin artış gözlenmektedir. Ayrıca puls genliği arttıkça pik için gözlenen potansiyel aralığı genişlemiştir. Bu da istenen bir özellik değildir. 0.05 V (50mV) değeri analiz için seçilmiştir.

Pik genişliği için de $1 \times 10^{-3} \text{M}$ ferrosen 0.1 M tetra-n-bütil amonyum hekzafloroborat elektrolit çözeltisi kullanılmıştır. Sonuçlar şekil 6.11 de özetlenmiştir.

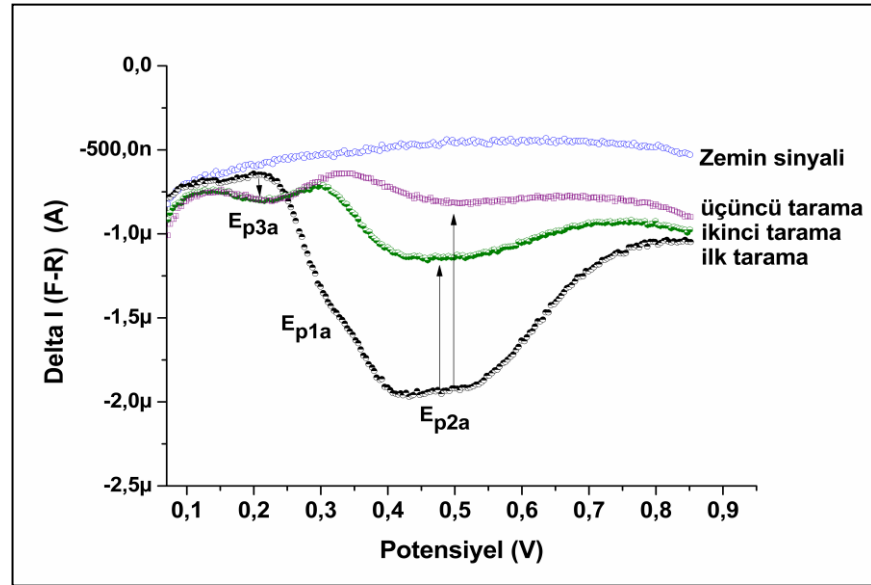
0.003 gibi düşük pik genişliklerinde, pik genişliği ve akım cevabı düşükken, pik genişliğinin artması ile pik yüksekliği artmıştır. Ayrıca pik genişliği arttıkça zemin sinyali sıfıra yaklaşmıştır. Bu yüzden 0.05 s değeri analizlerde kullanılmıştır.



Şekil 6.11: Çeşitli puls genişliği değerleri için ferrosene ait voltammogramlar

6.2.2. Camsı Karbon Elektrot (GCE) ile Kurkuminin Diferansiyel Puls Voltametri Ölçümü

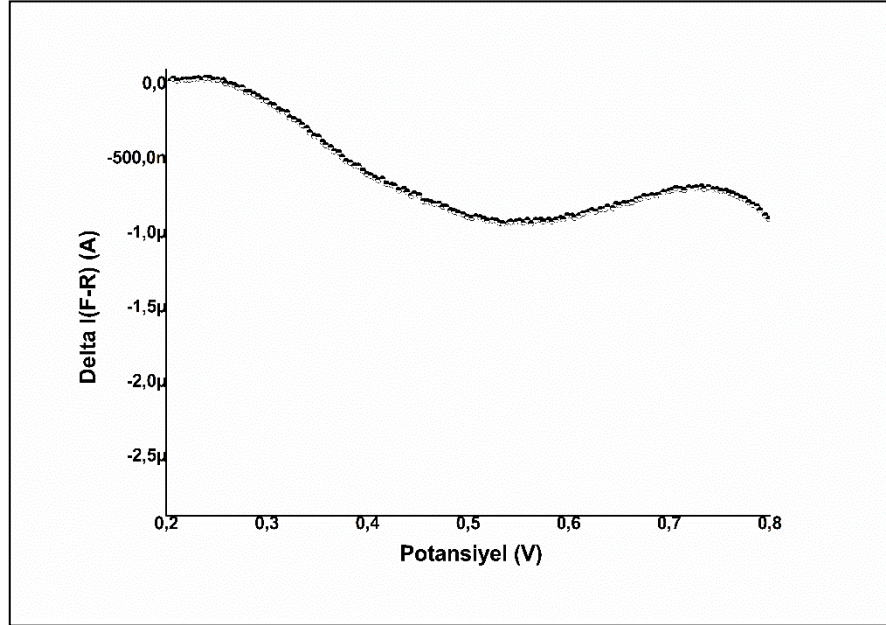
İlk taramadan sonra tersinmez reaksiyon sonucu pik 1a ve pik 2a için azalış gözlenirken, sonraki taramalarda tersinir oksidasyon ürünü olan pik 3a oluşmuştur. $E_{p1a} = 0.30V$, $E_{p2a} = 0.49V$ ve $E_{p3a} = 0.21V$ bulunmuştur.



Şekil 6.12: 0.1M pH 7 fosfat tamponunda 65 μ M kurkuminin GCE ile DPV ölçümü.

6.2.3. Altın Elektrot ile Kurkuminin Diferansiyel Puls Voltametri Ölçümü

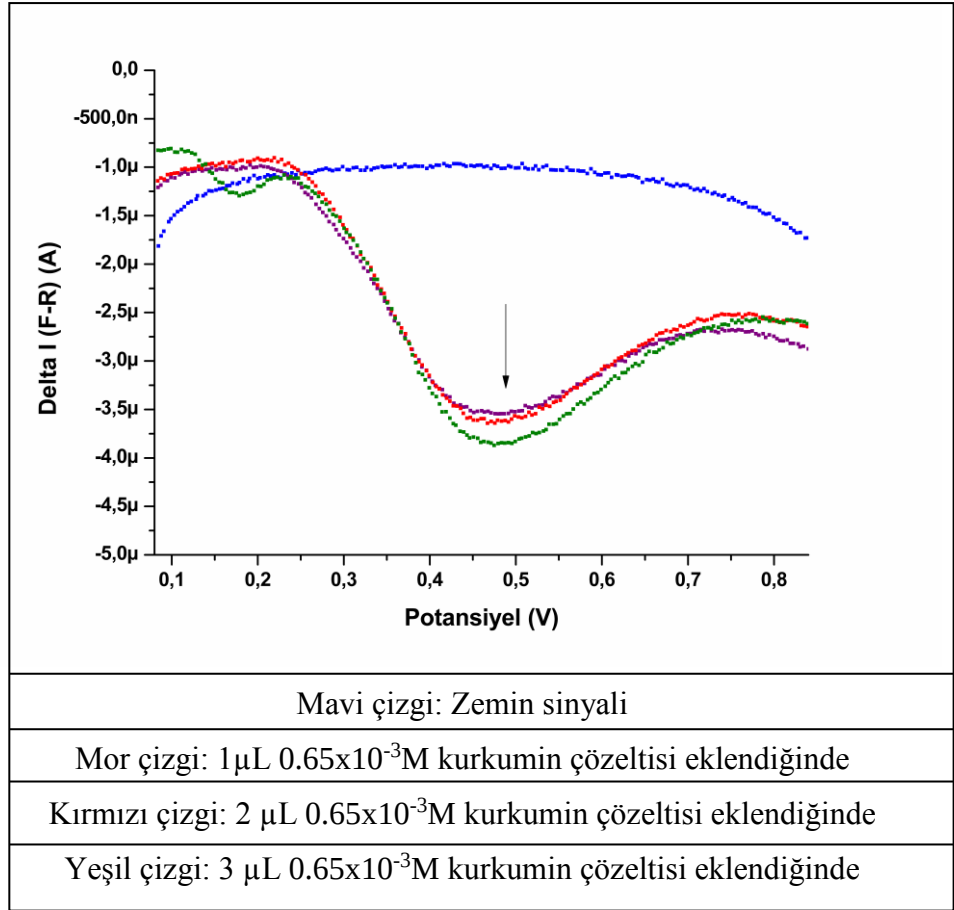
Zemin düzeltmesi yapıldıktan sonra 65 μ M kurkumin için altın elektrot ile elde edilen voltammogramı şekildeki gibidir.



Şekil 6.13: 0.1M pH 7 fosfat tamponunda 65 μ M kurkuminin altın elektrot ile DPV ölçümü

6.2.4. Camı Karbon Elektrot Yüzeyinde Film Voltametri ile Kurkuminin Diferansiyel Puls Voltametri Ölçümü

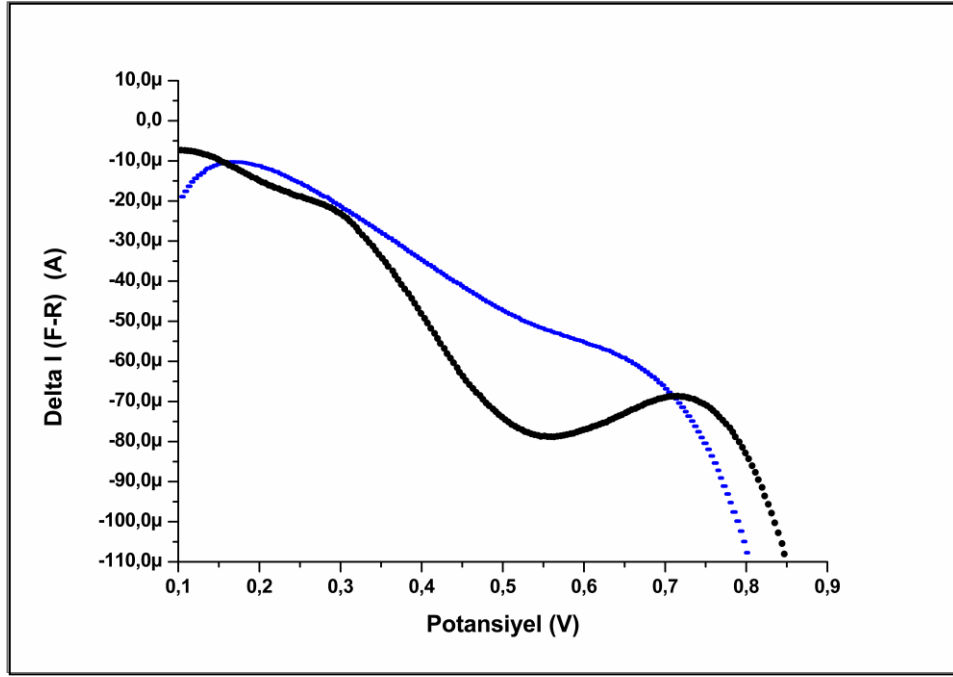
Camsı karbon elektrot için sabit zemin sinyali alındıktan sonra elektrodun yüzeyine direkt olarak kurkumin çözeltisi damlatılmıştır. Oda koşullarında etanol uzaklaştıktan sonra elektrot yüzeyinde film tabakası oluşmuştur. 0.1M pH 7 fosfat tamponunda ölçüm yapılmıştır. Aynı elektrot yüzeyi temizlenmeden farklı miktarlarda 0.65×10^{-3} M kurkumin çözeltisi yüzeye eklenip bu film tabakası için pik değişimleri incelenmiştir.



Şekil 6.14: 0.65x10⁻³M kurkumin çözeltisinden çeşitli film tabakalarının 0.1M pH 7 tamponunda DPV ölçümleri

6.2.4. Tiyol Karışımı ile Modifiye Edilmiş Altın Nanopartikül Modifiye Altın Elektrot ile Kurkuminin Diferansiyel Puls Voltametri Ölçümü

Altın nanopartiküllerle modifiye edilen elektrot 1 gece 1-heksantiyol ve 6-merkapt-1-heksanol içeren tiyol karışımı ile modifiye edildikten sonra ölçüm yapılmıştır. 6 µL kurkumin çözeltisi elektrot yüzeyine damlatılmış çözücü oda sıcaklığında uzaklaştıktan sonra tampon çözelti içerisinde voltametrik ölçümü yapılmıştır.



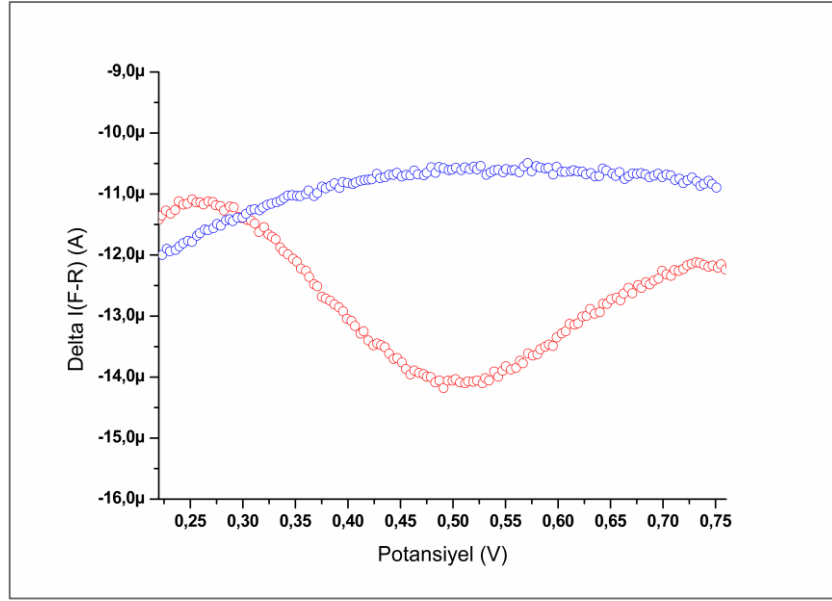
Şekil 6.15: AuNPs-tiyol karışımı modifiye edilmiş altın elektrot yüzeyinde 6μL 0.65×10^{-3} M kurkumin filminin DPV ölçümü Mavi çizgi: Zemin sinyali.

6.2.5. Kalem Grafit Elektrot ile Kurkuminin Diferansiyel Puls Voltametri Ölçümü

Kalem grafit elektrot yapısında safsızlıklar içerdiği ve düzensiz bir yapıya sahip olduğu için zemin sinyali diğer elektrotlara göre oldukça yüksektir. Bu elektrotlar tek kullanımlıktır, bir grafit bir analizde kullanılmaktadır. Temizleme prosedürüne ihtiyaç duyulmamaktadır.

0.1M pH 7 fosfat tamponu içerisinde 65μM kurkumin içeren çözeltide kalem grafit elektrot ile davranışı incelenmiştir. Referans elektrot olarak Ag/AgCl ve indikatör elektrot olarak platin tel kullanılmıştır.

Zemin sinyalinin, daha düzenli yapıya sahip olan camı karbon elektrottan 10 kattan daha yüksek olduğu bu deneysel sistem için gözlenmiştir.



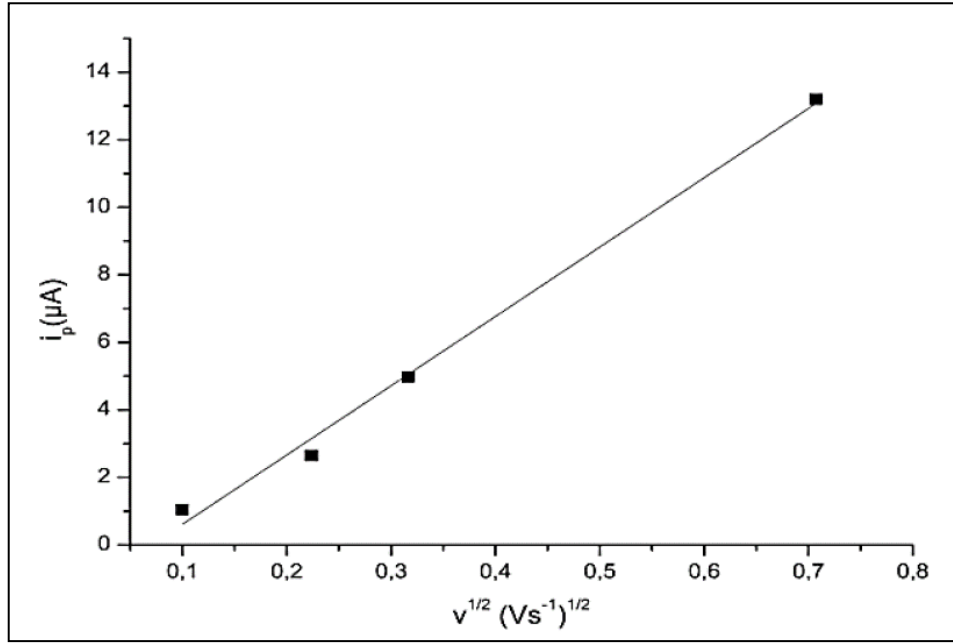
Şekil 6.16: 0.1M pH 7 tamponunda 65 μ M kurkumin çözeltisinin kalem grafit elektrot ile DPV ölçümü Mavi çizgi: Zemin sinyali.

6.3. Kurkumin için Dönüşümlü Voltametrinde Tarama Hızının Pik Akımına Etkisi

Camsı karbon elektrot, kalomel elektrot ve platin telin kullanıldığı üç elektrotlu elektrokimyasal hücrede %65 lik kurkumin için diğer deneysel parametreler sabit tutularak çeşitli tarama hızları için pik akım değerleri ölçülmüştür. Uygulanan çeşitli tarama hızlarına karşılık gelen pik akım değerleri tabloda verilmiştir.

Tablo 6.1: Camsı karbon elektrot ile 0.1M pH 7 fosfat tamponunda 65 μ M kurkumin çözeltisinde anodik pik akımının tarama hızının karekökü ile değişimi.

Tarama hızı (v)	Tarama hızının karekökü ($v^{1/2}$)	Pik akımı, ip (μ A)
0.01	0.1	1.05
0.05	0.2236	2.65
0.1	0.3162	4.98
0.5	0.7071	13.2



Şekil 6.17: Camsı karbon elektrot ile 0.1M pH 7 fosfat tamponunda 65 μ M kurkuminin çözeltisinin anodik pik akımının ile tarama hızının karekökü ile değişimi

Anodik pik akımı ile tarama hızının karekökü arasındaki değişimin doğrusal ilişkili olduğu gözlenmiştir ve R^2 değeri 0,99 olarak hesaplanmıştır.

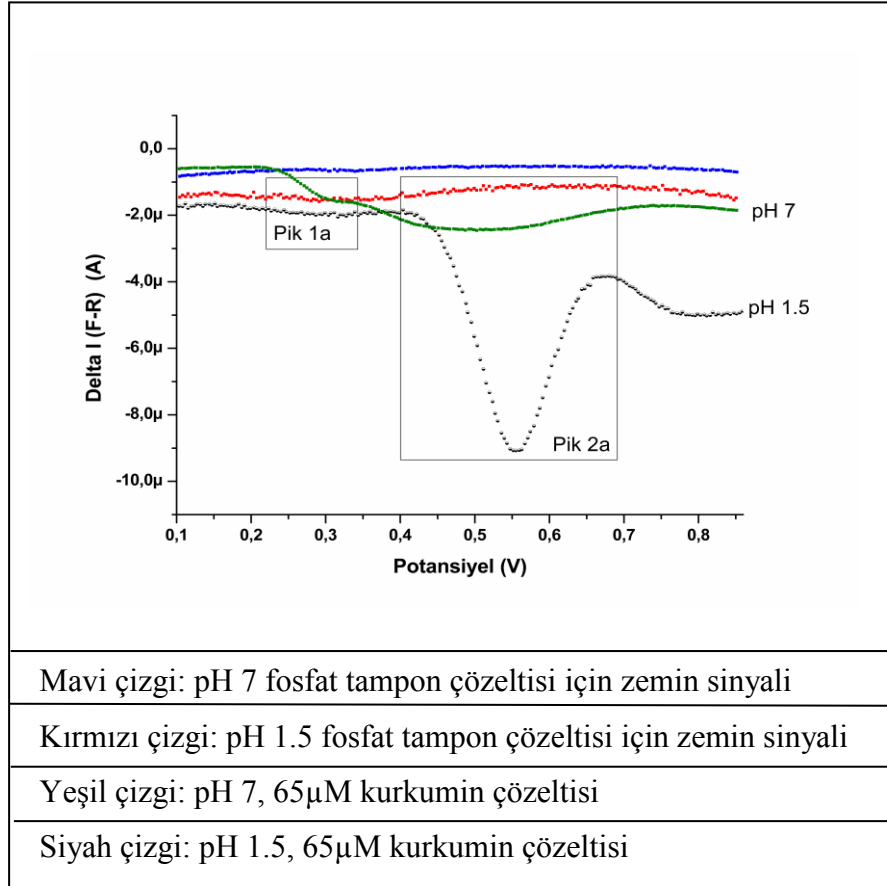
6.4. Zerdeçalda Kurkumin ve Türevlerinin Miktarının Voltametrik Olarak Tayini

Modifiye edilmemiş altın elektrot ve altın nanopartiküllerle modifiye edilmiş altın elektrot için pik akımları değerlendirilmiştir. Duyarlılığı arttırmak için uygun pH seçilmiş ve elektrot nanopartiküllerle modifiye edilmiştir. Kenar düzlem pirolize grafit elektrot için analitik standart kurkumin kullanılırken, altın nanopartikül modifiye edilmiş altın elektrot kalibrasyon denemeleri için %65 saflıkta kurkumin kullanılmıştır.

Altın nanopartikül 0.53 Volt potansiyel değerinde gözlenen oksidasyon piki kurkuminin ve türevlerinin zerdeçal örneklerinde miktar tayini için kullanılmıştır. 4 farklı konsantrasyonda kurkumin çözeltisi hazırlanarak anodik pik akımları diferansiyel puls voltametrisi ile ölçülmüştür. Kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir. Zerdeçalda kurkumin türevlerinin tayini için altın (Au) ve ve modifiye altın elektrot (AuNPs-Au) ile elde edilen pik akımları kalibrasyon eğrisine göre değerlendirilmiştir.

6.4.1. pH ın Etkisinin İncelenmesi

Kurkumin tayini için nötral ve asidik pH larda camısı karbon elektrot ile gerçekleştirilmiştir. Ön denemeler sonucu asidik pH için yüksek pik akımı değerleri elde edilmiştir.



Şekil 6.18: 0.1M fosfat tamponunda kurkuminin voltammogramlarındaki pH a bağlı olarak değişimin GCE ile incelenmesi

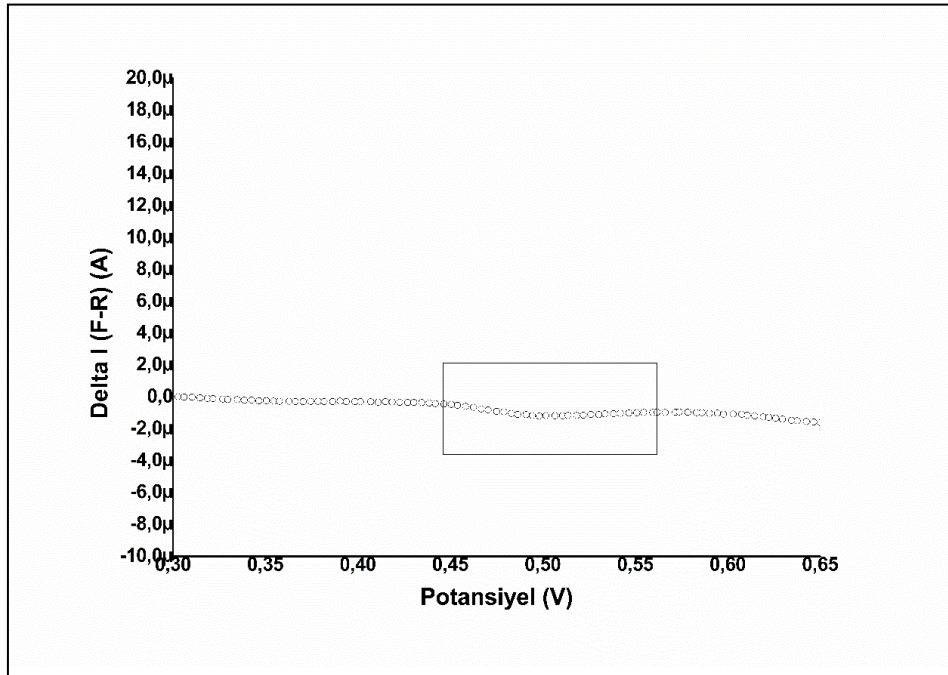
Asidik pH taki pik yükseklikleri altın elektrot için karşılaştırılmıştır. 1.3×10^{-5} M kurkumin konsantrasyonu için pik yükseklikleri aşağıdaki tabloda belirtilmiştir. pH 2 de daha yüksek pik akımı değeri gözleendiği için konsantrasyon tayini için pH 2 tercih edilmiştir.

Tablo 6.2: 0.1M KCl tamponunda pH a bağılı olarak pik akımının değişiminin altın elektrot ile incelenmesi.

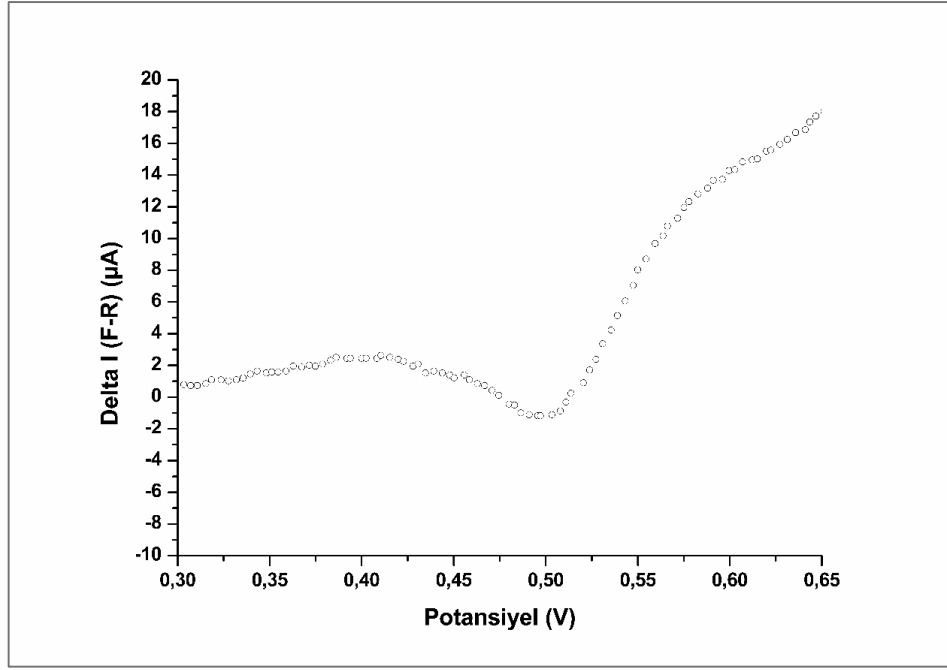
pH etkisi	pH 5	pH 4	pH 2
$\dot{I}_p(\mu A)$	1.90	1.98	2.18

6.4.2. Altın Elektrot ve Altın Nanopartiküller ile Modifiye Edilmiş Altın Elektrot ile Elde Edilen Diferansiyel Puls Voltammogramlarının Karşılaştırılması

Modifiye edilmemiş altın elektrot için pik yüksekliği $0.6 \mu A$ düzeylerinde iken, altın nanopartiküller ile modifiye edilmiş altın elektrot için yaklaşık $6 \mu A$ düzeylerinde sinyal gözlenmiştir. Altın nanopartiküller dönüşümlü voltametri olduğu gibi diferansiyel puls voltametrisinde de pik akımını arttırmıştır. 10 kata varan artış gözlenmiştir.



Şekil 6.19: Altın elektrot ile 0.1M pH 2 KCl tamponu $13 \mu M$ kurkumin çözeltisi için diferansiyel puls voltametri ölçümü.

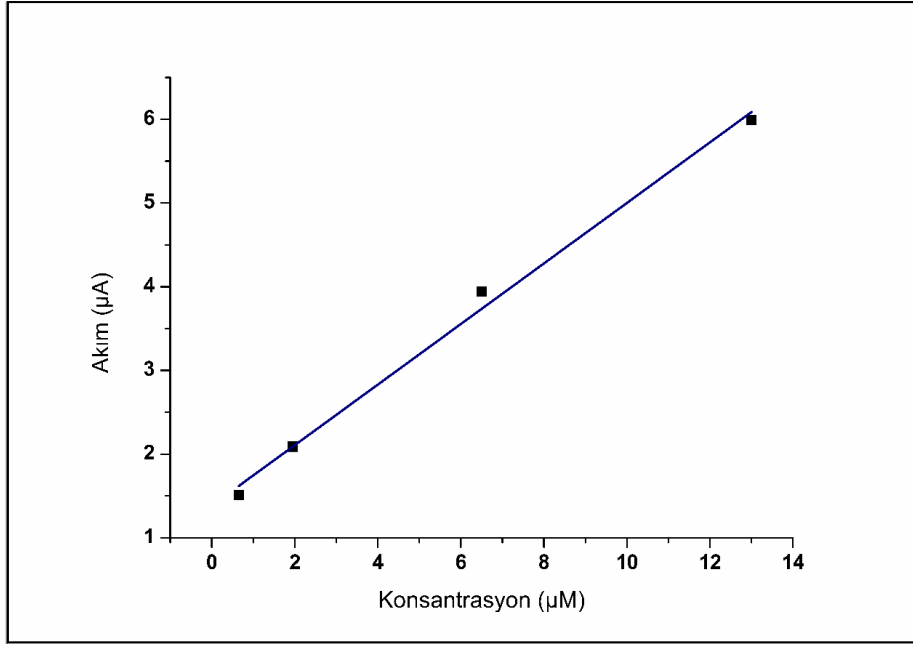


Şekil 6.20: Altın nanopartiküllerle modifiye edilmiş altın elektrot ile 0.1M pH 2 KCl tamponu 13 μ M kurkumin çözeltisi için diferansiyel puls voltametri ölçümü.

Altın nanopartikül modifiye edilmiş altın elektrot için anodik pik akımının kurkumin konsantrasyonu ile değişiminin doğrusal olduğu gözlenmiştir. 6.5×10^{-7} M ile 1.3×10^{-5} M arasında kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Regresyon eşitliği $i_p (\mu A) = 0.3618C + 1.38$ ($R^2 = 0.992$) olarak bulunmuştur.

Tablo 6.3 : Altın nanopartikül modifiye edilmiş elektrot için konsantrasyon ile pik akımı arasındaki ilişki.

Konsantrasyon (μ M)	Pik yüksekliği (μ A)
0.65	1.51
1.95	2.09
6.5	3.94
13	5.99

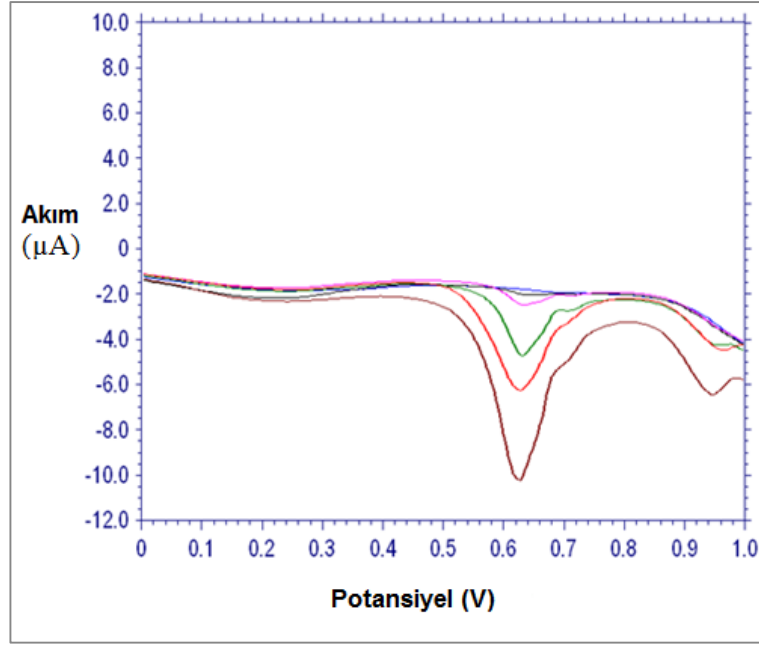


Şekil 6.21: pH 2 0.1M KCl tamponunda altın nanopartikül modifiye edilmiş altın elektrot ile kurkumine ait kalibrasyon eğrisi.

6.4.3. Kenar Düzlem Pirolitik Grafit Elektrot ile Kurkuminin Kantitatif Tayini

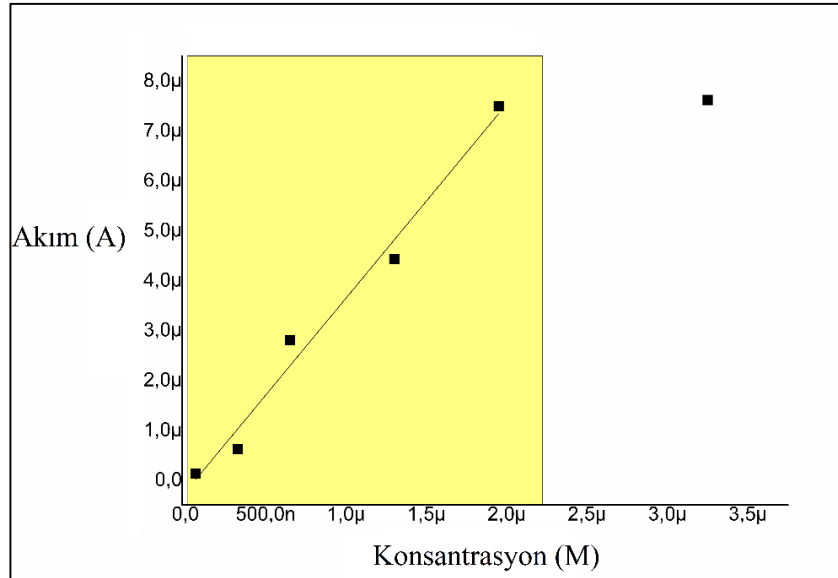
Kenar düzlem pirolitik grafit elektrot, camısı karbon elektroda göre daha yüksek akım cevabı vermektedir. Kurkuminin hızlı, kolay ve düşük konsantrasyonlarda tayini amacıyla kenar düzlem grafit kullanılmıştır.

Kurkuminin EPPG elektrot ile 0,1M pH 2 KCl tamponunda 0.63V pik potansiyelinde gözlenen oksidasyon piki için ölçüm sonuçları şekil 6.22 de belirtilmiştir. $1,95 \times 10^{-6} \text{M}$ ile $6,5 \times 10^{-8} \text{M}$ ($0,065 \mu\text{M}$ - $1,95 \mu\text{M}$) aralığında kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir (Şekil 6.23). $i_p(\mu\text{A}) = 3,89C - 2,43 \times 10^{-7}$ ($R^2=0,991$) eşitliği elde edilmiştir.



Şekil 6.22: pH 2 0.1M KCl tamponunda kenar düzlem pirolitik grafit elektrot ile ölçüm sonuçları.

Şekil 6.23 te elde edilen veriler için çizilen kalibrasyon eğrisi verilmiştir. Sarı ile işaretlenen $1,95 \times 10^{-6} \text{M}$ ile $6,5 \times 10^{-8} \text{M}$ aralığında pik akımının konsantrasyon ile değişiminin doğrusal olduğu gözlenmiştir.



Şekil 6.23: pH 2 0.1M KCl tamponunda kenar düzlem pirolitik grafit elektrot ile kurkumine ait kalibrasyon eğrisi.

EPPG elektrot optimum şartlar sağlandığında düşük derişimlerde yüksek akım cevabı verebilmesi ve modifiye elektrotlara göre hızlı çözüm sunabilmesi açısından avantajlıdır. Bu da yapısındaki grafit katmanlarının karbon nanotüplere benzer şekilde cevap vermesi ile açıklanabilir.

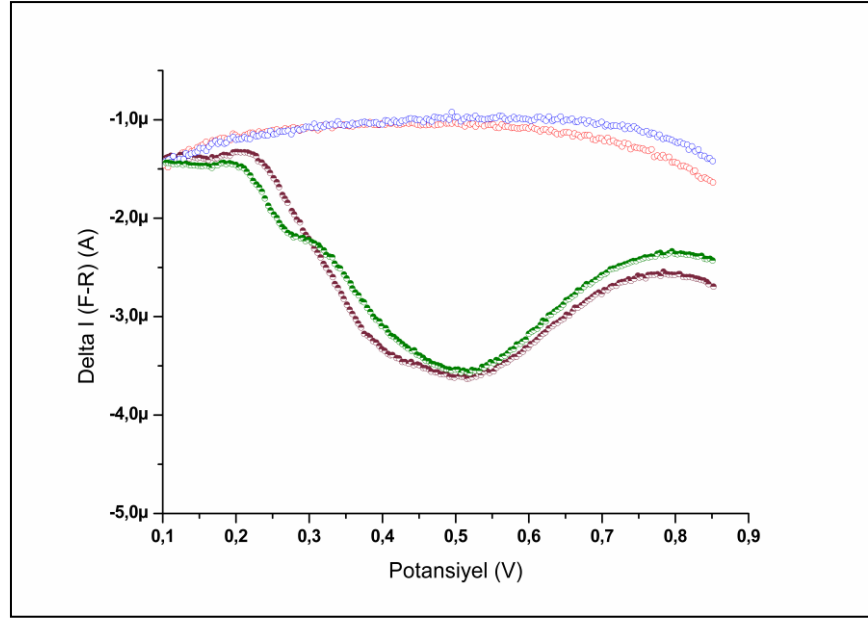
Kurkumin analizinde EPPG elektrot, camsı karbon ve altın elektroda göre daha yüksek akım cevabı vermiştir. Mikromolar düzeylerinde rutin ve hızlı analizlerde kullanım için uygundur. Kenar düzlem pirolitik grafit elektrottan sonra camsı karbon elektrot da uygun ve pratik çözüm sunmaktadır.

6.5. Zerdeçalın Ultrasonik Ekstraksiyonu

Kurkumin ve türevlerinin zerdeçaldan ekstraksiyonu için hızlı ve etkili yöntem olan ultrasonik ekstraksiyon tercih edilmiş ve bu kapsamda direkt ve indirekt olmak üzere iki farklı uygulama gerçekleştirilmiştir.

6.5.1. İndirekt Ekstraksiyon

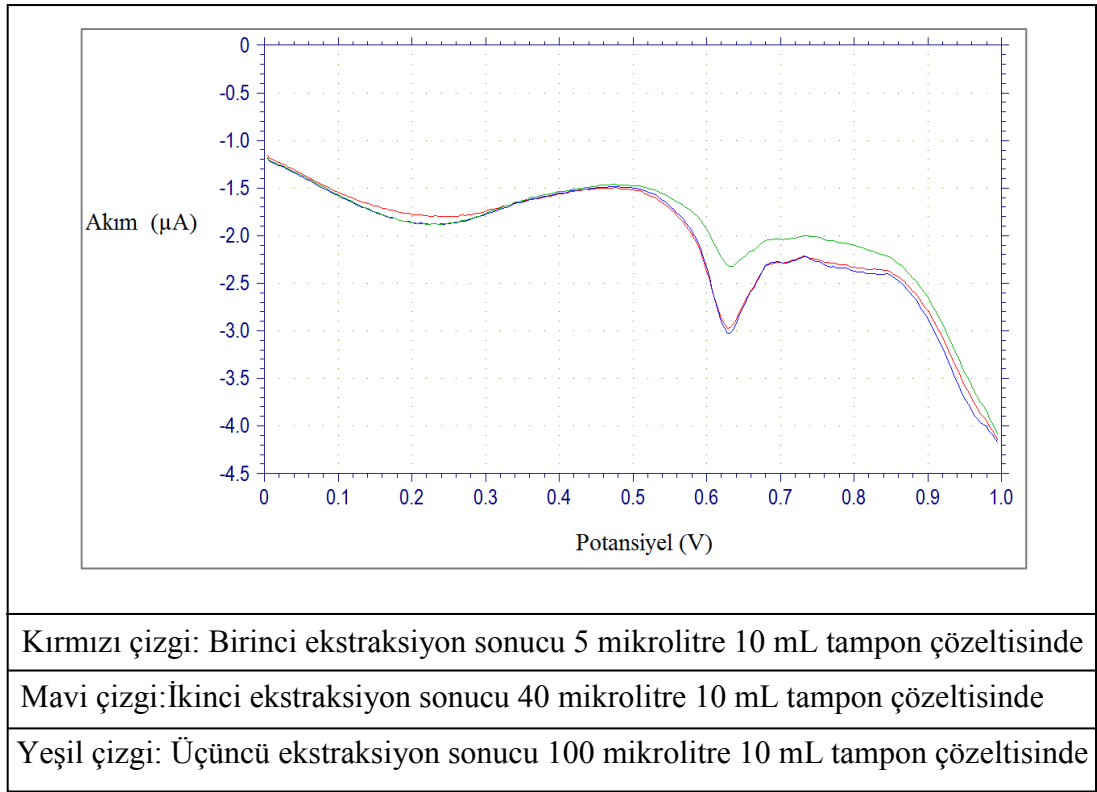
1 gram zerdeçal 20 ml etanol içerisinde oda sıcaklığında 30 dakika su banyosunda ekstrakte edilmiştir. 5500 rpm santrifüj ile katı parçacıklar çöktürülmüş 1 ml sıvı kısım alınarak toplam hacim 10 ml olacak şekilde pH 7 de, 0.1M fosfat tamponu içerisinde ölçüm gerçekleştirilmiştir. Üç elektrotlu elektrokimyasal hücrede camsı karbon elektrot, Ag/AgCl elektrot ve platin tel kullanılmıştır.



Şekil 6.24: Zerdeçalın oda sıcaklığında 30 dakika indirekt ultrasonik ekstraksiyonu sonucunda GCE ile elde edilen voltammogramı.

Benzer şekilde 0.5 gram zerdeçal 20 ml etanol içerisinde oda sıcaklığında 30 dakika 55 °C de su banyosunda ekstrakte edilmiştir. 5500 rpm santrifüj ile katı parçacıklar çöktürülmüş 1 ml sıvı kısım alınarak toplam hacim 10 ml olacak şekilde pH 2 0.1M KCl tamponu içerisinde ölçüm gerçekleştirilmiştir. Üç elektrotlu elektrokimyasal hücrede kenar düzlem pirolitik grafit elektrot, kalomel elektrot ve platin tel elektrot kullanılmıştır. Aynı ekstraksiyon işlemi zerdeçal örneği için üç kez tekrarlanıp ekstraksiyon verimi için değerlendirme yapılmıştır.

Şekil 6.23 te gösterilen EPPG elektrot ile kurkumin için elde edilen kalibrasyon eğrisi yardımıyla ekstraksiyon verileri hesaplanmıştır. Buna göre birinci ekstraksiyonda 3.01×10^{-3} gram, ikinci ekstraksiyonda 6.37×10^{-4} gram ve üçüncü ekstraksiyonda 1.49×10^{-4} gram kurkumin ekstrakte edilmiştir. Toplam ekstrakte edilen kurkumin miktarı ile zerdeçal miktarını oranladığımızda bu merodla kütlece % 0.76 kurkuminoidin zerdeçal örneğinden ekstrakte edilebildiği yaklaşıma ulaşabiliriz. Aynı katının toplam üç ekstraksiyonu sonucunda içerdiği kurkuminlerin hepsini ekstrakte edilebildiği varsayıp, üçüncü ekstraksiyondan sonra ekstrakte edilmeden kalan kısım ihmal edilirse, bu yöntemle birinci ekstraksiyonda % 79.32, ikinci ekstraksiyonda % 16.77, üçüncü ekstraksiyonda ise %3.92 si ekstrakte edilmiştir.

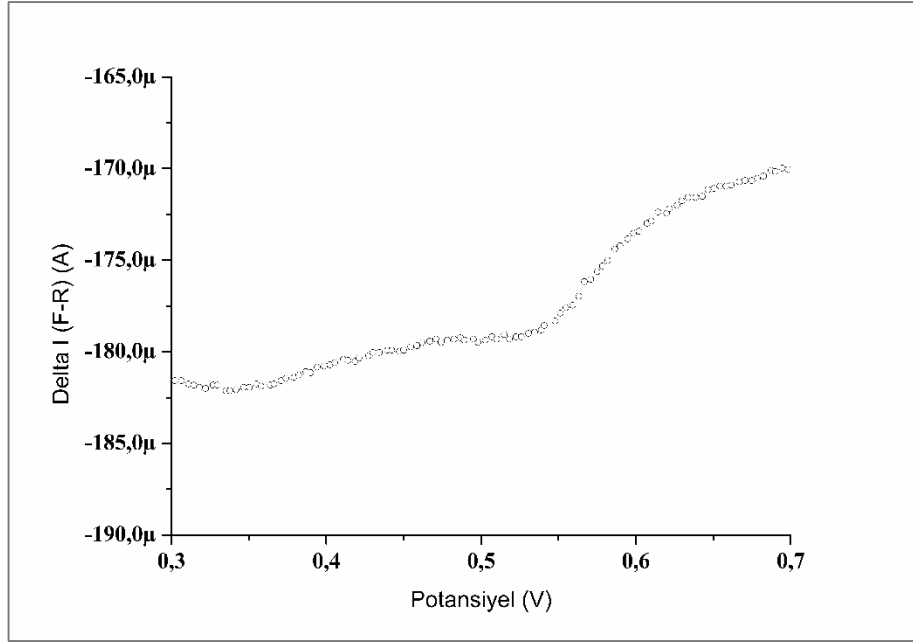


Şekil 6.25: Zerdeçalın oda sıcaklığında 30 dakika indirekt ultrasonik ekstraksiyonu sonucunda EPPGE ile elde edilen voltammogramı.

6.5.2. Direkt Ekstraksiyon

Bölüm 5.9.2 de belirtilen direkt ultrasonik ekstraksiyon prosedürü uygulandıktan sonra 0.53 V potansiyelde pik elde edilmiştir. Bu pik kurkuminin oksidasyonu sonucu elde edilen pik potansiyel değeri ile oldukça benzerdir. Altın nanopartiküller ile modifiye edilmiş altın elektrot için çizilen kalibrasyon eğrisini kullanarak kurkuminoid konsantrasyonu belirlenmeye çalışılmıştır. Oda sıcaklığında yapılan direkt ekstraksiyon için kurkuminoid konsantrasyonu 5.2 μM olarak bulunmuştur. Bu değer ekstraksiyon sonucu elde edilen çözeltinin % 0.24 kurkuminoid içerdiğini göstermektedir.

Ekstraksiyon verimini arttırmak için sıcaklık 55 C ye yükseltilmiştir. Altın nanopartikül ile modifiye edilmiş altın elektrot için ekstraksiyon uygulaması şekil 6.26 da gösterilmiştir.



Şekil 6.26: Zerdeçalın 55 °C de 2 tekrarlı 10 ar dakika direkt ultrasonik ekstraksiyonu sonucunda AuNPs modifiye edilmiş altın elektrot ile elde edilen voltammogramı

7. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Tez çalışması kapsamında ekstraksiyon ve voltametrik analiz uygulamaları gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon için hızlı ve etkili bir yöntem olan ultrasonik ekstraksiyon tercih edilmiştir. Elektrokimyasal davranışının incelenmesi için dönüşümlü voltametri, miktar tayini için diferansiyel puls voltametri kullanılmıştır.

Elektrokimyasal analizlerin öncesi ve sonrasında deneysel sistemin temiz olması ve elektrotların temizliğinin sonuçlara önemli şekilde etkisi olduğu gözlenmiştir. Elektrodun yüzeyinin çizik olmaması ve pürüzsüz olması çok önemlidir. Kullanılan saf suyun iletkenliği ve saflık derecesi zemin sinyali etkilemektedir.

Kurkumin çözeltisinin bazik ortamda diğer kimyasal bileşenlere bozunduğu belirtilmiştir. Asidik pH larda kurkumin çözeltisinin kararlı olduğu ve daha yüksek akım değerleri elde edildiği için asidik pH'larda analiz gerçekleştirilmiştir. Ayrıca kurkuminin ışığa karşı duyarlı olması nedeniyle kurkumin stok çözeltisi analizden hemen önce hazırlanmasına ve mümkün olduğunca ışık ile etkileşiminin az olmasına özen gösterilmiştir.

Düşük konsantrasyondaki çözeltilerde stok çözeltisinden daha az miktarda kullanılmıştır. Bu da tampon çözeltisi içerisindeki etanolün etkisini düşürmüştür. Ancak daha düşük konsantrasyonlarda da zemin sinyali daha önemli hale gelmektedir. Analitik standart kimyasalların kullanımı ve sistemin safsızlık düzeyinin en düşük düzeyde tutulması düşük dersişimlerin tayini için önemlidir.

Elektrokimyasal analizin yapıldığı sistemin elektrik sistemine bağlantısı ve dış etkilere izolasyonu önemlidir. Metal ceket içerisinde ve akım düzenleyen ek sistem ile çalışılmıştır. Bu sistemlerin elektrokimyasal verileri bozucu dış etkileri azaltacağı düşünülmüştür.

Tez kapsamında çözeltinin konsantrasyonunun tayininde elektrot yüzeyinde film oluşturma metodu kullanılmamıştır, ancak elektrokimyasal davranışı hakkında bilgi sahibi olabilmek amacıyla kullanılabilir. Özellikle elektron transferinin yavaş olduğu büyük moleküller ve proteinler için film voltametrisi şeklinde elektron transferini elektrot yüzeyinde gerçekleştirmek mümkündür.

Altın elektrot ile çalışırken çalışma aralığı için potansiyel değeri önemlidir. +1 Volt düzeylerine kadar dönüşümlü voltametrik analizine devam edildiğinde altının

oksidasyon ve indirgenme piklerini görmek mümkündür. Kurkuminin oksidasyonu altının oksidasyon bölgesine yakın olması sonuçlar üzerinde etkili olmuş olabilir. Çalışma aralığını daraltarak piklerdeki değişimler incelenmelidir.

Altın nanopartiküllerin hazırlanışının çok uzun süreç gerektirmemesi, hazırlanan çözeltinin soğuk ortamda saklandığı sürece haftalarca kullanılabilir olması ve analitik anlamda ölçüm sonuçlarını pozitif anlamda etkilediği için tercih edilmiştir. Çalışma elektrotlarının yüzey alanları nanopartiküller ile genişletilerek modifiye olmamış elektrotlara oranla daha yüksek pik akımları elde edilmiştir.

Altın nanopartiküllerin 521 nm deki geçişi plazmonik nanoyapılar ile ilişkilidir. Ortalama çap [Haiss et al., 2007] metoduna göre [Meyer et al., 2011] makalesinde uygulandığı şekilde ortalama olarak 15 nm olarak hesaplanmıştır.

Elektrodun modifiye edilmesi aşamasında elektrot yüzeyine eklenen nanopartiküllerin miktarı ve çapı analiz sonucunu doğrudan etkilemektedir. Bu yüzden tekrarlanabilir ölçümler için elektrot yüzeyine eklenen nanopartikül miktarı ve çapının mümkün olduğunca aynı olmasına dikkat edilmelidir. Az miktarda oluşan farklılıklar standardize edilmelidir. Kullanılan indirgeyici kimyasalın konsantrasyonu ve kaynama noktasında geçen süreye bağlı olarak partiküllerin çapını değiştirmek mümkündür. Farklı partikül boyutları için ölçüm sonuçları değerlendirilmelidir.

Altın nanopartiküllerin hazırlanma prosesinde altın indirgenmesinde ve stabilizasyon aşamasında rol oynayan sitrat molekülleri yerine diğer indirgeyici kimyasallar ile voltametrik piklerdeki değişim irdelenebilir.

Altın nanopartiküllerin elektrot yüzeyine eklenen miktarı belirli bir miktarı aştıktan sonra pik akımında daha fazla bir artış gözlenememiştir. Uygulanacak deneysel sistem için elektrot yüzeyine eklenecek altın nanopartikül miktarı optimize edilebilir.

Dönüşümlü voltametrik analizlerde tarama hızlarının karekökleri ile pik akımları arasında doğrusal ilişki gözlenmiştir. Bu değerler kurkumin için bu deneysel koşullar altında dönüşümlü voltametrik sistemin difüzyon kontrollü proses olduğunu işaret etmektedir. Pik potansiyel değerleri kullanılan elektrotlara, tampon çözeltiye, pH a göre değişim göstermektedir.

Tez kapsamında altın nanopartiküller ile modifiye edilmiş sistemde deneyler %65 kurkumin içeren standart ile yapılmıştır. Kalibrasyon eğrisi ideal başlangıç noktası olan sıfır değerinden bir miktar sapma göstermektedir. Altın nanopartiküller ile gerçekleştirilen deneysel sistem geliştirilmeli ve kalibrasyon eğrisine etki eden

parametreler tek tek incelenmelidir. Bu kapsamda kalibrasyon eğrisi ve tayin sınırı değerleri geliştirilebilir.

Altın nanopartikül ile modifiye edilmiş altın elektrot, merkaptopropiyonik asit, sisteamin yada tiyoller ile modifiye edilebilir. Tez kapsamında bu metodların uygulamaları gerçekleştirilmiştir ancak elektrodun analize hazırlanması basamağında uzun bekleme süresine ihtiyaç duyduğu için tercih edilmemiştir. Hızlı ve rutin analizler için metodların optimizasyonu gerçekleştirilmelidir.

Tek duvarlı karbon nanotüpler ile modifiye edilen camısı karbon elektrot için yüksek pik akımı cevabı alınmıştır. Deneysel parametreler için en uygun değerler belirlenip düşük konsantrasyon analizi gerektiren örneklerde bu sistem de kullanılabilir.

Nanopartiküllerle yapılan analizlerde mikrogram düzeylerinde modifiye olmamış elektroda göre daha yüksek pik akımı ile analize olanak sağlamıştır. Altın nanopartikül modifiye edilmiş olan altın elektrot ve karbon nanotüp modifiye edilmiş karbon elektrot polimerler yada biyolojik moleküllerle modifiye edilerek sensör özellik kazandırılabilir. Bu elektrotlar ile elde edilen akım değerleri nanomolar düzeyinde konsantrasyon tayinleri için uygun düzeydedir.

Ekstraksiyon yada voltametrik analizlerde seçicilik önemlidir. Zerdeçalın etanol ile ekstraksiyonu sonucu elde edilen çözelti kurkumin türevleri ve diğer organik yapıları içermektedir. Kompleks bir matriksten tek bir bileşenin ekstrakte edilmesi yada çeşitli bileşenler içeren ortamda seçici olarak analizin gerçekleştirilmesi sağlanmalıdır. Ekstraksiyon sonrası kurkumin türevlerinin ayrılması için kromatografik ayırma metodları kullanılabilir. Kurkumin türevlerinin % içeriği ve voltametrik analiz değerlerine etkileri incelenmelidir.

KAYNAKLAR

Aggarwal B. B., Sundaram C., Malani N., Ichikawa H., (2007), “Curcumin: The Indian solid gold”, *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 595, 1-75.

Aggarwal B. B., Kumar A., Bharti A. C., (2003), “Anticancer potential of curcumin: preclinical and clinical studies”, *Anticancer Research*, 23, 363-398.

Ak T., (2003), “Curcumin’in antioksidan ve antiradikal özelliklerinin incelenmesi”, *Yüksek Lisans Tezi*, Atatürk Üniversitesi.

Ak T., Gulçin İ., (2008), “Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin”, *Chemico-Biological Interactions*, 174, (1), 27–37.

Anand P., Thomas S. G., Kunnumakkara A. B., Sundaram C., Harikumar K. B., Sung B., Tharakan S. T., Misra K., Priyadarsini I. K., Rajasekharan K. N., Aggarwal B. B., (2008), “Biological activities of curcumin and its analogues (Congeners) made by man and Mother Nature”, *Biochemical Pharmacology*, 76, 1590-1611.

Arslan E., Cakır S., (2014), “A novel palladium nanoparticles polyproline-modified graphite electrode and its application for determination of curcumin”, *Journal of Solid State Electrochemistry*, 18, (6), 1611-1620.

Balcı M., (2010), “Fenol tayini için elektrokimyasal yöntem geliştirilmesi”, *Yüksek Lisans Tezi*, Gazi Üniversitesi.

Banks C. E., Compton R.G., (2006), “New electrodes for old: from carbon nanotubes to edge plane pyrolytic graphite”, *Analyst*, 131, 15-21.

Banks C.E., Moore R. R., Davies T. J., Compton R. G., (2004), “Investigation of modified basal plane pyrolytic graphite electrodes: definitive evidence for the electrocatalytic properties of the ends of carbon nanotubes”, *Chemical Communications*, 16, 1804-1805.

Barclay L. R. C., Vinqvist M. R., (2000), “On the Antioxidant Mechanism of Curcumin: Classical Methods Are Needed To Determine Antioxidant Mechanism and Activity”, *Organic Letters*, 2, (18), 2841-2843.

Barzegar A., (2012), “The role of electron-transfer and H-atom donation on the superb antioxidant activity and free radical reaction of curcumin”, *Food Chemistry*, 135, 1369-1376.

Benassi R., Ferrari E., Lazzari S., Spagnolo F., Saladini M., (2008), “Theoretical study on Curcumin: A comparison of calculated spectroscopic properties with NMR, UV–vis and IR experimental data”, *Journal of Molecular Structure*, 892, 168-176.

Bener M., Ozyurek M., Guclu K., Apak R., (2010), “Polyphenolic contents of natural dyes produced from industrial plants assayed by HPLC and novel spectrophotometric methods”, *Industrial Crops and Products*, 32, 499–506.

Braga M. E. M., Leal P. F., Carvalho J. E., Meireles M. A. A., (2003), "Comparison of Yield, Composition, and Antioxidant Activity of Turmeric (*Curcuma longa* L.) Extracts Obtained Using Various Techniques", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 6604-6611.

Brewer M. S., (2011), "Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Applications", *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10, (4), 221-247.

Chen C., Xue H., Mu S., (2014), "pH Dependence of reactive sites of curcumin possessing antioxidant activity and free radical scavenging ability studied using the electrochemical and ESR techniques: Polyaniline used as a source of the free radical", *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 713, 22-27.

Ching W-Y., Bin-Yusoff Y., Wan-Amarina W-N. B., (2014), "Extraction of essential oil from *curcuma longa*", *Journal of Food Chemistry and Nutrition*, 02, (01), 1-10.

Daniel S., Limson J. L., Dairam A., Watkins G. M., Daya S., (2004), "Through metal binding, curcumin protects against lead- and cadmium-induced lipid peroxidation in rat brain homogenates and against lead-induced tissue damage in rat brain", *Journal of Inorganic Biochemistry*, 98, 266-275.

Domenech-Carbo A., Domenech-Carbo T., Sauri-Peris C., Gimeno-Adelantado J. V., Francisco Bosch-Reig, (2005), "Identification of Curcuma and Safflower Dyes by Voltammetry of Microparticles Using Paraffin-Impregnated Graphite Electrodes", *Microchim Acta*, 152, 75-84.

Daneshgar P., Norouzi P., Moosavi-Movahedi A. A., Ganjali M. R., Haghshenas E., Dousty F., Farhadi M., (2009), "Fabrication of carbon nanotube and dysprosium nanowire modified electrodes as a sensor for determination of curcumin", *Journal of Applied Electrochemistry*, 39, 1983-1992.

Dimitrios B., (2006), "Sources of natural phenolic antioxidants", *Trends in Food Science & Technology*, 17, 505-512.

Enache T. A., Oliveira-Brett A. M., (2011), "Phenol and para-substituted phenols electrochemical oxidation pathways", *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 655, 9-16.

Esatbeyoglu T., Huebbe P., Ernst I. M. A., Chin D., Wagner A. E., Rimbach G., (2012), "Curcumin- From Molecule to Biological Function", *Angewandte Chemie International Edition*, 51, 5308-5332.

Euterpio M. A., Cavaliere C., Capriotti A. L., Crescenzi C., (2011), "Extending the applicability of pressurized hot water extraction to compounds exhibiting limited water solubility by pH control: curcumin from the turmeric rhizome", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 401, 2977-2985.

Frens G., (1973), "Controlled Nucleation for the Regulation of the Particle Size in Monodisperse Gold Suspensions" *Nature Physical Science*, 241, 20-22.

Galanakis C. M., Goulas V., Tsakona S., Manganaris G. A., Gekas V., (2013), "A Knowledge Base for The Recovery of Natural Phenols with Different Solvents", *International Journal of Food Properties*, 16, (2), 382-396.

Gholivand M. B., Ahmadi F., Pourhossein A., (2011), "Adsorptive cathodic stripping voltammetric determination of curcumin in turmeric and human serum", *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*, 76, 143-157.

Gopalan B., Goto M., Kodama A., Hirose T., (2000), "Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Turmeric (*Curcuma longa*)", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 2189-2192.

Gordon O. N., Schneider C., (2012), "Vanillin and ferulic acid are not the major degradation products of curcumin", *Trends in Molecular Medicine*, 18, (7), 361-364.

Goren A. C., Çıkrıkçı S., Çergel M., Bilsel G., (2009), "Rapid quantitation of curcumin in turmeric via NMR and LC-tandem mass spectrometry", *Food Chemistry*, 113, 1239-1242.

Goyal R. N., Chatterjee S., Rana A. R. S., (2010), "A comparison of edge- and basal-plane pyrolytic graphite electrodes towards the sensitive determination of hydrocortisone", *Talanta*, 83, 149-155.

Haiss W., Thanh N. T. K., Aveyard J., Fernig D. G., (2007), "Determination of Size and Concentration of Gold Nanoparticles from UV-Vis Spectra", *Analytical Chemistry*, 79, 4215-4221.

Hamaguchi T., Ono K., Yamada M., (2010), "Curcumin and Alzheimer's Disease", *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 16, (5), 285-297.

Hartl A., Schmich E., Garrido J. A., Hernando J., Catharino S. C. R., Walter S., Feulner P., Kromka A., Steinmüller D., Stutzmann M., (2004), "Protein-modified nanocrystalline diamond thin films for biosensor applications", *Nature Materials*, 3, 736-742.

Henderson R. K., Jimenez-Gonzalez C., Constable D. J. C., Alston S. R., Inglis G. G. A., Fisher G., Sherwood J., Binks S. P., Curzons A. D., (2011), "Expanding GSK's solvent selection guide –embedding sustainability into solvent selection starting at medicinal chemistry", *Green Chemistry*, 13, 854-862.

Hill B. D., Stobbe E. H., (1974). "The Use of Ultrasonic Extraction in the Determination of Some s-Triazine Herbicides in Soils", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 22, (6), 1143-1144.

Jayaprakasha K., Rao L. J., Sakariah K. K., (2006), "Antioxidant activities of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin", *Food Chemistry*, 98, 720-724.

Kachoosangi R. T., Compton R. G., "A simple electroanalytical methodology for the simultaneous determination of dopamine, serotonin and ascorbic acid using an

unmodified edge plane pyrolytic graphite electrode”, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 387, 2793-2800.

Kähkönen M. P., Hopia A. I., Vuorela H. J., Rauha J-P., Pihlaja K., Kujala T. S., Heinonen M., (1999), “Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 3954-3962.

Li K., Li Y., Yang L., Wang L., Ye B., (2014), “The electrochemical characterization of curcumin and its selective detection in Curcuma using a graphene-modified electrode”, *Analytical Methods*, 6, 7801-7808.

Lungu A., Sandu I., Boscornea C., Tomas S., Mihailciuc C., (2010), “Electrochemical Study of Curcumin and Bisdemetoxycurcumin on Activated Glassy Carbon Electrode”, *Revue Roumaine de Chimie*, 55, (2), 109-115.

Luque-Garcia J. L., Luque de Castro M. D., (2003), “Ultrasound: a powerful tool for leaching”, *Trends in Analytical Chemistry*, 22, (1), 41-47.

Maheshwari R. K., Singh A.K., Gaddipati J., Srimal R. C., (2006), “Multiple biological activities of curcumin: A short review”, *Life Sciences*, 78, 2081-2087.

Manaia M. A. N., Diculescu V. C., Gil E. S., Oliveira-Brett A. M. (2012), “Guaicollic spices curcumin and capsaicin electrochemical oxidation behaviour at a glassy carbon electrode”, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 682, 83-89.

Mandal V., Dewanjee S., Sahu R., Mandal S. C., (2009), “Design and optimization of ultrasound assisted extraction of curcumin as an effective alternative for conventional solid liquid extraction of natural products”, *Natural Product Communications*, 4, 95-100.

Martins R. M., Pereira S. V., Siqueira S., Salomao W. F., Freitas L. A. P., (2013), “Curcuminoid content and antioxidant activity in spray dried microparticles containing turmeric extract”, *Food Research International*, 50, 657-663.

Masek A., Chrzescijanska E., Zaborski M., (2013), “Characteristics of curcumin using cyclic voltammetry, UV-vis, fluorescence and thermogravimetric analysis”, *Electrochimica Acta*, 107, 441-447.

Mayer R., (1993), “The Artists Handbook of Materials and Techniques”, 2nd edition., Hermann Blume, Madrid.

McCreery R. L., (2008), “Advanced Carbon Electrode Materials for Molecular Electrochemistry”, *Chemical Reviews*, 108, 2646-2687.

Melin F., Meyer T., Lankiang S., Choi S. K., Gennis R. B., Blanck C., Schmutz M., Hellwig P., (2013), “Direct electrochemistry of cytochrome bo₃ oxidase at a series of gold nanoparticles-modified electrodes”, *Electrochemistry Communications*, 26, 105-108.

Meyer T., Gross J., Blanck C., Schmutz M., Ludwig B, Hellwig P., Melin F., (2011), "Electrochemistry of Cytochrome c₁, Cytochrome c₅₅₂, and Cu_A from the Respiratory Chain of *Thermus thermophilus* Immobilized on Gold Nanoparticles" *Journal of Physical Chemistry B*, 115, 7165-7170.

Modi G., Pitre K. S., (2010), "Electrochemical Analysis of Natural Chemopreventive Agent (Curcumin) in Extracted Sample and Pharmaceutical Formulation", *Defence Science Journal*, 60, (3), 255-258.

Mohan P. R. K., Sreelakshmi G., Muraleedharan C. V., Joseph R., (2012), "Water soluble complexes of curcumin with cyclodextrins: Characterization by FT-Raman spectroscopy", *Vibrational Spectroscopy*, 62, 77– 84.

Mohankumar S., McFarlane J. R., (2011), "An aqueous extract of *Curcuma longa* (turmeric) rhizomes stimulates insulin release and mimics insulin action on tissues involved in glucose homeostasis in vitro", *Phytotherapy Research*, 25, (3), 396-401.

Naksuriya O., Okonogi S., Schiffelers R. M., Hennink W. E., (2014), "Curcumin nanoformulations: A review of pharmaceutical properties and preclinical studies and clinical data related to cancer treatment", *Biomaterials*, 35, 3365-3383.

Patel A. N., Tan S., Miller T. S., Macpherson J.V., Unwin P. R., (2013), "Comparison and Reappraisal of Carbon Electrodes for the Voltammetric Detection of Dopamine", *Analytical Chemistry*, 85, 11755-11764.

Peng J. Y., Nong K. L., Cen L. P., (2012), "Electropolymerization of Acid Chrome Blue K on Glassy Carbon Electrode for the Determination of Curcumin", *Journal of the Chinese Chemical Society*, 59, 1415-1420.

Pingarron J. M., Yanez-Sedeno P., Gonzalez-Cortes A., (2008), "Gold nanoparticle-based electrochemical biosensors", *Electrochimica Acta*, 53, 5848-5866.

Priego-Capote F., Luque de Castro M. D., (2004), "Analytical uses of ultrasound I. Sample preparation", *Trends in Analytical Chemistry*, 23, (9), 644-653.

Pryadarsini K. I., Maity D. K., Naik G. H., Kumar M. S., Unnikrishnan M. K., Satav J. G., Mohan H., (2003), "Role of phenolic O-H and methylene hydrogen on the free radical reactions and antioxidant activity of curcumin", *Free Radical Biology & Medicine*, 35, (5), 475-484.

Rai D., Singh J. K., Roy N., Panda D., (2008), "Curcumin inhibits FtsZ assembly: an attractive mechanism for its antibacterial activity", *Biochemical Journal*, 410, 147–155.

Rice-Evans C., Miller N.J., Paganga G., (1997), "Antioxidant properties of phenolic compounds", *Trends in Plant Science*, 2, (4), 152-159.

Rouhani S., Alizadeh N., Salimi S., Haji-Ghasemi T., (2009), "Ultrasonic Assisted Extraction of Natural Pigments from Rhizomes of *Curcuma Longa* L.", *Progress in Color, Colorants and Coatings*, 2, 103-113.

Scartezzini P., Speroni E., (2000), "Review on some plants of Indian traditional medicine with antioxidant activity", *J. Ethnopharmacol.* 71, 23-43.

Sharma R. A., Gescher A. J., Steward W. P., (2005), "Curcumin: The story so far", *European Journal of Cancer*, 41, 1955–1968.

Shirsath S. R., Sonawane S. H, Gogate P. R., (2012), "Intensification of extraction of natural products using ultrasonic irradiations - A review of current status", *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 53, 10-23.

Skoog. D. A., Holler F. J., Nieman T. A., (1998), "Principles of Instrumental Analysis", 5th Edition, Saunders College Publishing, Harcourt Brace & Company.

Skoog D. A., West D. M., Holler F. J., Crouch S. R., (2004), "Fundamentals of Analytical Chemistry", 8th Edition, Thomson-Brooks/Cole.

Smith R. M., Witowska B. A., (1984), "Comparison of Detectors for the Determination of Curcumin in Turmeric by High-performance Liquid Chromatography", *Analyst*, 109, 259-261.

Sogi D. S., Sharma S., Oberoi D. P., Wani I. A., (2010), "Effect of extraction parameters on curcumin yield from turmeric", *Journal of Food Science and Technology*, 47, (3), 300-304.

Suhaj M., (2006), "Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: a review", *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 531-537.

Sun X., Gao C., Cao W., Yang X., Wang E., (2002), "Capillary electrophoresis with amperometric detection of curcumin in Chinese herbal medicine pretreated by solid-phase extraction", *Journal of Chromatography A*, 962, 117-125.

Stanic Z., Voulgaropoulos A., Girousi S., (2008), "Electroanalytical Study of the Antioxidant and Antitumor Agent Curcumin", *Electroanalysis*, 20, No. 11, 1263-1266.

Tavman S., Kumcuoglu S., Akkaya Z., (2009), "Bitkisel ürünlerin atıklarından antioksidan maddelerin ultrason destekli ekstraksiyonu", *Gıda*, 34, (3), 175-182.

Tayyem R. R., Heath D. D., Al-Delaimy W. K., Rock C. L., (2006), "Curcumin Content of Turmeric and Curry Powders", *Nutrition and Cancer*, 55, 126-131.

Thongchai W., Liawruangrath B., Liawruangrath S., (2009), "Flow injection analysis of total curcuminoids in turmeric and total antioxidant capacity using 2,20-diphenyl-1-picrylhydrazyl assay", *Food Chemistry*, 112, 494-499.

Tonnesen H. H., Karlsen J., (1985), "Studies on Curcumin and Curcuminoids V. Alkaline Degradation of Curcumin", *Z Lebensm Unters. Forsch.*, 180, 132-134.

Vinatoru M., (2001), "An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs", *Ultrasonics Sonochemistry*, 8, 303-313.

Wang J., (2005), "Nanomaterial-based electrochemical biosensors", *Analyst*, 130, 421-426.

Wang L., Weller C. L., (2006), "Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants", *Trends in Food Science & Technology*, 17, 300-312.

Wang Y.J., Pan M. H., Cheng A. L., Lin L.I., Ho Y.S., Hsieh C.Y., Lin J.K., (1997), "Stability of curcumin in buffer solutions and characterization of its degradation products", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 15, (12), 1867-1876.

Wakte P. S., Sachin B. S., Patil A. A., Mohato D. M., Band T. H., Shinde D. B., (2011), "Optimization of microwave, ultra-sonic and supercritical carbon dioxide assisted extraction techniques for curcumin from *Curcuma longa*", *Separation and Purification Technology*, 79, 50-55.

Wang J., (2006), *Analytical Electrochemistry*, 3rd. Edition, Wiley VCH John Wiley & Sons Inc.

Wang W., Chen Q., Zhang X., Zhang H., Huang Q., Li D., Yao J., (2014), "Comparison of extraction methods for analysis of citrinin in redfermented rice", *Food Chemistry*, 157, 408-412.

Wray D.M., Batchelor-McAuley C., Compton R.G., (2012), "Selective Curcuminoid Separation and Detection via Nickel Complexation and Adsorptive Stripping Voltammetry", *Electroanalysis*, 24, (12), 2244-2248.

Xiao Y., Patolsky F., Katz E., Hainfeld J.F., Willner I., (2003), "'Plugging into Enzymes: Nanowiring of Redox Enzymes by a Gold Nanoparticle", *Science*, 299, 1877-1881.

Yallapu M. M., Jaggi M., Chauhan S. C., (2012), "Curcumin nanoformulations: a future nanomedicine for cancer", *Drug Discovery Today*, 17, (1/2), 71-80.

Zhang Y., Liu Y., Yang Z., Yang Y., Pang P., Gao Y., Hu G., (2013), "Rapid electrochemical detection of ferulic acid based on a graphene modified glass carbon electrode", *Analytical Methods*, 5, 3834-3839.

Zheng L., Song J., (2009), "Curcumin multi-wall carbon nanotubes modified glassy carbon electrode and its electrocatalytic activity towards oxidation of hydrazine", *Sensors and Actuators B: Chemical*, 135, 650-655.

Ziyatdinova G. K., Nizamova A. M., Budnikov H. C., (2012), "Voltammetric Determination of Curcumin in Spices", *Journal of Analytical Chemistry*, 67, (6), 591-594.

ÖZGEÇMİŞ

1988 yılında Edirne’de doğdu. İlk ve ortaöğrenimini Tekirdağ’da tamamladı. 2007 yılında Tekirdağ Anadolu Lisesinden mezun oldu. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümüne 2007 yılında başlayıp, yatay geçişle Uludağ Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünde 2012 yılında lisans eğitimini başarıyla tamamladı. Aynı yıl Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü (GYTE) Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Analitik Kimya alanında çalışmalara başladı. 2014 bahar döneminde ERASMUS değişim programı kapsamında Université de Strasbourg Kimya Fakültesi UMR 7140 Spektroskopi ve Biyoelektrokimya laboratuvarında Prof. Dr. Petra Hellwig ve Dr. Frederic Melin ile elektrokimya, spektroskopi alanlarında çalışmaları vardır.