

**T.C  
NEVŞEHİR ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MELAMİN, SİYANÜRİK ASİT VE AMMELİNİN  
DİFERANSİYEL PULS POLAROGRAFİSİ İLE TAYİNİ  
İÇİN YÖNTEM GELİŞTİRİLMESİ VE UYGULANMASI**

**Tezi Hazırlayan  
Zehra YAZAR**

**Tezi Yöneten  
Yrd. Doç. Dr. Ümmihan T. YILMAZ**

**Kimya Anabilim Dalı  
Yüksek Lisans Tezi**

**Ekim 2010  
NEVŞEHİR**



**T.C  
NEVŞEHİR ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MELAMİN, SİYANÜRİK ASİT VE AMMELİNİN  
DİFERANSİYEL PULS POLAROGRAFİSİ İLE TAYİNİ  
İÇİN YÖNTEM GELİŞTİRİLMESİ VE UYGULANMASI**

**Tezi Hazırlayan  
Zehra YAZAR**

**Tezi Yöneten  
Yrd. Doç. Dr. Ümmihan T. YILMAZ**

**Kimya Anabilim Dalı  
Yüksek Lisans Tezi**

**Bu çalışma Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK)  
tarafından 109T538 numaralı proje ile desteklenmiştir.**


**Ekim 2010  
NEVŞEHİR**

Yrd. Doç. Dr. Ümmihan T. YILMAZ danışmanlığında **Zehra YAZAR** tarafından hazırlanan “**Melamin, Siyanürik Asit ve Ammelinin Diferansiyel Puls Polarografisi ile Tayini için Yöntem Geliştirilmesi ve Uygulanması**” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Nevşehir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.


08/10/2010

**JÜRİ:**

Başkan :Yrd. Doç. Dr. Nuri ÜNLÜ



Üye :Yrd. Doç. Dr. Bahtiyar SARIBOĞA



Üye :Yrd. Doç. Dr. Ümmihan T. YILMAZ

**ONAY:**

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun 29/11/ 2010 tarih ve 2010 /34-3 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

29/11/2010

Doç. Dr. Selçuk KERVAN

Enstitüsü Müdürü



## TEŞEKKÜR

Tez çalıŐmalarım sırasında benden bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen, her türlü maddi ve manevi desteği veren danıŐman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. mmihan T. Yılmaz'a sevgi ve saygılarımı sunarım.

ÇalıŐmalarım sırasında bilgi ve tecrübeleriyle bana destek olan Kimya Bölümü Anabilim Dalı baŐkanımız Sayın Doç. Dr. HaŐım Yılmaz'a teŐekkürlerimi sunarım.

Tez çalıŐmama katkılarından dolayı Filiz Kara'ya teşekkür ederim.

Beni yetiŐtiren, her konuda destekleyen ve her tür fedakarlığı gösteren çok sevgili anneme, babama ve kardeŐlerime tüm yaptıkları için sonsuz teşekkür ederim.

**MELAMİN, SİYANÜRİK ASİT VE AMMELİNİN DİFERANSİYEL PULS  
POLAROGRAFİSİ İLE TAYİNİ İÇİN YÖNTEM GELİŞTİRİLMESİ VE  
UYGULANMASI**

**Zehra YAZAR**

**Nevşehir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü**

**Yüksek Lisans Tezi, Ekim 2010**

**Tez Danışmanı :Yrd. Doç. Dr. Ümmihan T. YILMAZ**

**ÖZET**

Yapılan araştırmalar neticesinde melamin, siyanürik asit ve ammelinin toksik etkilerinin olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle eser miktardaki tayinleri önem taşımaktadır. Bu çalışmada melamin, siyanürik asit ve ammelinin elektrokimyasal davranışları diferansiyel puls polarografisi (DPP) ve dönüşümlü voltametri (DV) teknikleri kullanılarak incelenmiş, DPP ile tayinleri için yöntemler geliştirilmiştir. Geliştirilen yöntemler melamin için süt ve süt tozu, siyanürik asit için havuz suyu ve süt, ammelin için süt numunelerine uygulanmıştır.

Melamin, siyanürik asit ve ammelinin destek elektrolitteki tayinleri standart ekleme yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Melamin, siyanürik asit ve ammelin için kalibrasyon çalışmaları yapılmış ve tayin aralıkları belirlenmiştir. Melamin, siyanürik asit ve ammelinin sırasıyla, gözlenebilme sınırları 0,3 µM, 0,15 µM, 0,15 µM ve tayin alt sınırları 1,0 µM, 0,5 µM, 0,5 µM olarak tespit edilmiştir. Melamin eklenmiş süt ve süt tozu numunelerinde sırasıyla, gözlenebilme sınırları 0,3 µM, 3,3 µM, tayin alt sınırları 1µM, 9,9 µM ve geri kazanımları %95 ve %87 olarak bulunmuştur. Siyanürik asidin tayini için geliştirilen yöntem havuz suyuna uygulanmış ve miktarı (19,7 ± 3,6) µM olarak tayin edilmiştir. Süte eklenen 1 µM, 2 µM ve 10 µM siyanürik asidin geri kazanımları sırasıyla %75,0 , %97,5 ve %91,5 olarak bulunmuştur. Süte eklenen ammelinin tayini için geri kazanım çalışmaları yapılmış, 2 ve 10 µM ammelinin geri kazanım değerleri sırasıyla %98,75 ve %87,70 olarak hesaplanmıştır. Elde edilen yüksek geri kazanımlar, geliştirilen yöntemlerin doğruluğunun ve kesinliğinin oldukça iyi olduğunu göstermektedir. Geliştirilen yöntemin seçiciliğini belirlemek için, bazı iyonların girişim etkileri incelenmiş ve geri kazanımları hesaplanmıştır. Yapılan DV

alışmalarıyla melamin, siyanürik asit ve ammelinin indirgenme mekanizmalarının adsorpsiyon kontrollü olduğu tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler :** Melamin, siyanürik asit, ammelin, girişim, süt, süt tozu, havuz suyu, tayin, DPP, DV

**DIFFERENTIAL PULSE POLAROGRAPHIC METHOD FOR THE  
DETERMINATION OF MELAMINE, CYANURIC ACID AND AMMELINE  
AND ITS APPLICATION**

**Zehra YAZAR**

**Nevşehir University, Graduate School of Natural and Applied Sciences**

**M. Sc. Thesis, November 2010**

**Thesis Supervisor: Assist. Prof. Dr. Ümmihan T. YILMAZ**

**ABSTRACT**

The studies showed that melamine, cyanuric acid and ammeline had toxic effects. Therefore, their trace amount determination is essential. This study examines the electrochemical behaviour of melamine, cyanuric acid and ammeline by using differential pulse polarography (DPP) and cyclic voltammetry (CV) techniques and methods which are developed for their determination with DPP. The methods developed have been applied to the milk and milk powder samples for melamine, pool water and milk samples for cyanuric acid and milk samples for ammeline.

Determination of melamine, cyanuric acid and ammeline at supporting electrolyte has been realized with the standard addition. Calibration studies for melamine, cyanuric acid and ammeline have been done and determination ranges have been determined. The observation limits of melamine, cyanuric acid and ammeline have been determined, respectively, as 0,3  $\mu\text{M}$ , 0,15  $\mu\text{M}$ , 0,15  $\mu\text{M}$  and their lower determination limits have been determined as 1,0  $\mu\text{M}$ , 0,5  $\mu\text{M}$ , 0,5  $\mu\text{M}$ . The observation limits of melamine added milk and milk powder samples have been found, respectively, as 0,3  $\mu\text{M}$ , 3,3  $\mu\text{M}$ , determination lower limits have been found as 1 $\mu\text{M}$ , 9,9  $\mu\text{M}$  and recovery has been found as 95% and 87%. The method developed for the determination of cyanuric acid has been applied to the pool water and its quantity has been determined as  $19,7 \pm 3,6$   $\mu\text{M}$ . The recovery of the 1  $\mu\text{M}$ , 2  $\mu\text{M}$  and 10  $\mu\text{M}$  cyanuric acid added to milk has been found respectively as 75,0%, 97,5% and 91,5%. Recovery works have been done for the determination of the ammeline added to the milk and the recovery values of the 2 and 10  $\mu\text{M}$  ammeline have been calculated as 98,75% and 87,70%. The high recovery obtained shows that the accuracy and correctness of the developed methods are quite good. To determine the selectivity of the developed method, the interference effects of some ions has been examined and their recovery has been calculated. The conducted



CV works showed that the reduction mechanisms of melamine, cyanuric acid and ammeline are adsorption controlled.

**Keywords:** Melamine, cyanuric acid, ammeline, interference, milk, milk powder, swimming pool water, determination, DPP, CV.

**İÇİNDEKİLER**

KABUL VE ONAY .....	i
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT .....	v
KISALTIMA VE SİMGELER.....	xi
TABLOLAR LİSTESİ.....	xiii
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	xv
1. BÖLÜM	
GİRİŞ .....	1
2. BÖLÜM	
GENEL BİLGİLER .....	5
KAYNAK ARAŞTIRMASI .....	5
3. BÖLÜM	
ELEKTROKİMYASAL YÖNTEMLERİN TEORİSİ .....	12
3.1. Voltametri .....	13
3.1.1. Polarografi.....	13
3.1.1.1. Doğru Akım Polarografisi.....	16
3.1.2. Puls Polarografi Yöntemleri .....	17
3.1.2.1. Normal Puls Polarografisi.....	18
3.1.2.2. Diferansiyel Puls Polarografisi .....	18
3.1.3. Polarografide Nitel Analiz .....	23
3.1.4. Polarografide Nicel Analiz .....	24
3.1.5. Polarografinin Uygulamaları .....	26
3.1.5.1. İnorganik Uygulamalar .....	26

3.1.5.2. Organik uygulamalar .....	27
3.1.6. Polarografik Analizi Etkileyen Parametreler .....	28
3.1.6.1. Elektrot Reaksiyonları Üzerine Çözelti pH'sının Etkisi.....	28
3.1.6.2. Destek Elektrolitin Seçimi .....	29
3.1.6.3. Polarografik Maksimumların Giderilmesi .....	30
3.1.6.4. Oksijenin Uzaklaştırılması.....	30
3.1.6.5. Damlayan Cıva Elektrodu.....	32
3.1.6.6. Asılı Cıva Damla Elektrodu.....	33
3.1.6.7. Referans Elektrotlar .....	34
3.1.7. Potansiyel Tarama Teknikleri.....	35
3.1.7.1. Doğrusal Taramalı Voltametri (LSV).....	35
3.1.7.2. Dönüşümlü Voltametri (DV).....	36
3.1.7.3. Kare Dalga Voltametrisi .....	43
3.1.7.4. Sıyırma Voltametrisi (SV).....	44
3.2. Analitik Yöntem Validasyonu (Yöntem Geçerlik Testleri).....	47
3.2.1. Validasyonun Genel İşlemleri.....	48
3.2.2. Tipik Validasyon Karakteristikleri .....	48
<b>4.BÖLÜM</b>	
<b>DENEYSEL ÇALIŞMALAR .....</b>	<b>53</b>
4.1. Polarografi Cihazı .....	53
4.2. Hücre ve Elektrotlar .....	53
4.2.1. Damlayan Cıva Elektrot.....	53
4.2.2. Ag /AgCl Elektrot .....	54
4.2.3. Doymuş Kalomel Elektrot .....	54
4.2.4. Karşıt Elektrot.....	54
4.2.5. Azot Gazı .....	54
4.3. pH metre.....	54

4.4.	Cıvanın Temizlenmesi .....	55
4.5.	Reaktifler ve Özellikleri.....	55
4.5.1.	Çözeltilerin Hazırlanması .....	56
5. BÖLÜM		
DENEYSEL BULGULAR VE TARTIŞMA.....		
61		
5.1.	Melaminin Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi, Tayini ve Analitik Uygulamaları.....	61
5.1.1.	Destek Elektrolit Seçimi .....	62
5.1.1.1.	0,1 M $\text{NH}_3\text{-NH}_4^+$ Destek Elektrolitinde Melaminin Polarografik Davranışının İncelenmesi .....	62
5.1.1.2.	0,1 M $\text{H}_2\text{PO}_4^- \text{-HPO}_4^{2-}$ Destek Elektrolitinde Melaminin Polarografik Davranışının İncelenmesi.....	63
5.1.1.3.	Britton-Robinson Tamponunda (BRT) Melaminin Polarografik Davranışının İncelenmesi .....	66
5.1.2.	pH Etkisi .....	66
5.1.3.	Melaminin Destek Elektrolitteki Tayini .....	69
5.1.4.	Girişim etkisi.....	72
5.1.4.1.	Elektroaktif İyonların Girişim Etkilerinin İncelenmesi .....	72
5.1.4.2.	Elektroaktif Olmayan İyonların Girişim Etkilerinin İncelenmesi .....	73
5.1.5.	Melaminin Süt ve Süt Tozundaki Tayini .....	75
5.1.5.1.	Süt Numunelerindeki Melaminin Tayini .....	75
5.1.5.2.	Süt Numunelerinde Melaminin Geri Kazanımının İncelenmesi.....	77
5.1.5.3.	Süt Tozu Numunelerindeki Melaminin Tayini .....	79
5.1.5.4.	Süt Tozu Numunelerinde Melaminin Geri Kazanımının İncelenmesi .....	80
5.1.6.	Melaminin Dönüşümlü Voltametri (DV) Çalışmaları .....	82
5.2.	Siyanürik Asidin Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi, Tayini ve Analitik Uygulamaları .....	87
5.2.1.	Destek Elektrolit Seçimi .....	88

5.2.1.1.	0,1 M NH <sub>3</sub> -NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> Destek Elektrolitinde Siyanürik Asidin Polarografik Davranışının İncelenmesi.....	88
5.2.1.2.	Britton-Robinson Tamponunda Siyanürik Asidin Polarografik Davranışının İncelenmesi .....	89
5.2.2.	pH Etkisi .....	89
5.2.3.	Siyanürik Asidin Destek Elektrolitteki Tayini.....	91
5.2.4.	Girişim Etkisi.....	93
5.2.4.1.	Elektroaktif İyonların Girişim Etkilerinin İncelenmesi .....	93
5.2.4.2.	Elektroaktif Olmayan İyonların Girişim Etkilerinin İncelenmesi .....	96
5.2.5.	Havuz Suyu ve Süte Uygulama .....	98
5.2.5.1.	Havuz Suyunda Siyanürik Asit Tayini .....	98
5.2.5.2.	Süt Numunelerindeki Siyanürik Asidin Tayini.....	100
5.2.6.	Siyanürik Asidin Dönüşümlü Voltametri (DV) Çalışmaları .....	103
5.3.	Ammelinin Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi, Tayini ve Analitik Uygulamaları.....	106
5.3.1.	Destek Elektrolit Seçimi .....	107
5.3.2.	pH Etkisi .....	107
5.3.3.	Ammelinin Destek Elektrolitteki Tayini.....	109
5.3.4.	Girişim Etkisinin İncelenmesi.....	112
5.3.4.1.	Elektroaktif İyonların Girişim Etkilerinin İncelenmesi .....	112
5.3.4.2.	Elektroaktif Olmayan İyonların Girişim Etkilerinin İncelenmesi .....	113
5.3.5.	Ammelinin Süt Numunelerindeki Tayini.....	115
5.3.5.1.	Süt Numunesindeki Ammelinin Geri Kazanımının İncelenmesi.....	115
5.3.6.	Ammelinin Dönüşümlü Voltametri (DV) Çalışmaları .....	118
6. BÖLÜM		
SONUÇLAR .....		123
KAYNAKLAR .....		125
ÖZGEÇMİŞ .....		130

## KISALTMA VE SİMGELER

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

<b>Simgeler</b>	<b>Açıklama</b>
E	Uygulanan potansiyel, (V)
$E_p$	Pik potansiyeli, (V)
$E_{1/2}$	Yarı dalga potansiyeli, (V)
$E^0$	Standart potansiyel, (V)
$E_{pa}$	Anodik pik potansiyeli, (V)
$E_{pk}$	Katodik pik potansiyeli, (V)
$I_{pk}$	Katodik pik akımı (A)
$I_{pa}$	Anodik pik akımı (A)
$I_d$	Difüzyon akımı (A)
I	Damla ömrü sonundaki akım, (A)
A	Elektrodun yüzey alanı, (cm <sup>2</sup> )
D	Difüzyon katsayısı, (cm <sup>2</sup> /s)
n	Transfer edilen elektron sayısı, (eg/mol)
F	Faraday sabiti, (C/eg)
N	Elektrolizlenen maddenin mol sayısı, (mol)
t	Damla ömrü, (s)
C	Madde derişimi, (mmol/L)
m	Damla akış hızı, (mg/s)
R	İdeal gaz sabiti, (J/K mol)
T	Sıcaklık, (K)
$\Delta E$	Puls genliği, (V)
k	Randles-Sevcik sabiti
$\alpha$	Elektrot reaksiyonunun transfer katsayısı
v	Tarama hızı, (mV/S)
M	Mol kütlesi
Ag /AgCl	Gümüş / Gümüş Klorür

**Kısaltmalar****Açıklama**

FDA	Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
EPA	Çevre Koruma Ajansı
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
UV -GB	Ultraviyole-Görünür bölge spektrometresi
BRT	Britton-Robinson tamponu
DCE	Damlayan cıva elektrodu
HMDE	Asılı cıva damlası elektrot
DKE	Doymuş kalomel elektrot
NPP	Normal Puls Polarografisi
DPP	Diferansiyel Puls Polarografisi
LSV	Doğrusal Taramalı Voltametri
DV	Dönüşümlü Voltametri
KDV	Kare Dalga Voltametri
SV	Sıyırma Voltametri
ASV	Anodik Sıyırma
KSV	Katodik Sıyırma Voltametri
AdSV	Adsorptif Sıyırma Voltametri
EDTA	Etilen diamin tetra asetik asit
HAc-NaAc	Asetik asit- Sodyum asetat

## TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1.1.	Melamin, siyanürik asit ve ammelinin bazı fiziksel özellikleri .....	2
Tablo 5.1.	Melaminin çeşitli destek elektrolitlerdeki polarografik davranışı.....	66
Tablo 5.2.	Britton-Robinson tamponunda melaminin polarografik davranışının pH ile değişiminin incelenmesi .....	69
Tablo 5.3.	pH 11,2 B-R tamponunda $1 \times 10^{-5}$ M (hücre içindeki derişim) melaminin miktar tayini .....	70
Tablo 5.4.	pH 11,2 B-R tamponunda $1 \times 10^{-5}$ M melamine bazı iyonların girişim etkilerinin incelenmesi .....	75
Tablo 5.5.	Süt ve süt tozu numunelerindeki melaminin tayini (polarografi hücresinde).....	81
Tablo 5.6.	Melaminin tayini için farklı koşullarda pik potansiyelleri, gözlenebilme ve tayin alt sınırı değerleri.....	82
Tablo 5.7.	Dönüşümlü voltametri çalışmalarında tarama hızına karşı elde edilen pik akımları ve pik potansiyellerinin verileri. ....	84
Tablo 5.8.	Britton-Robinson tamponunda siyanürik asidin polarografik davranışının pH ile değişiminin incelenmesi .....	90
Tablo 5.9.	pH 9,5 B-R tamponu ortamında $1 \times 10^{-5}$ M (hücre içindeki derişim) siyanürik asidin miktar tayini .....	92
Tablo 5.10.	pH 9,5 B-R tamponunda $1 \times 10^{-5}$ M siyanürik aside bazı iyonların girişim etkilerinin incelenmesi .....	98
Tablo 5.11.	Süt numunelerindeki siyanürik asidin tayini (polarografi hücresinde) .....	102
Tablo 5.12.	Dönüşümlü voltametri çalışmasında tarama hızına karşı elde edilen pik akımı ve pik potansiyellerinin verileri.....	105
Tablo 5.13.	Britton-Robinson tamponunda ammelinin polarografik davranışının pH ile değişiminin incelenmesi .....	108
Tablo 5.14.	pH 9,5 B-R tamponu ortamında $1 \times 10^{-5}$ M (hücre içindeki derişim) ammelinin miktar tayini. ....	110
Tablo 5.15.	pH 9,5 B-R tamponunda $1 \times 10^{-5}$ M ammeline bazı iyonların girişim etkilerinin incelenmesi .....	115



Tablo 5.16. Süt numunelerindeki ammelinin tayini (polarografi hücresinde).....	117
Tablo 5.17. Dönüşümlü voltametri çalışmasında tarama hızına karşı elde edilen pik akımları ve pik potansiyellerinin verileri. ....	119

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1.	Melamin, siyanürik asit ve ammelinin kimyasal formülleri .....	1
Şekil 3.1.	Genel elektrokimyasal hücre şeması .....	12
Şekil 3.2.	Bir polarogramın genel görünümü ve önemli kısımları (1 analiz çözeltisinin polarogramı, 2 ise yalnız destek elektrolit içeren çözeltinin polarogramı) .	15
Şekil 3.3.	Normal polarografide gözlenen akım-potansiyel eğrisi .....	17
Şekil 3.4.	Diferansiyel puls polarografisinde kullanılan uyarma sinyali.....	19
Şekil 3.5.	Diferansiyel puls polarografisinde elde edilen polarogram örneği .....	20
Şekil 3.6.	Diferansiyel puls polarografisinde her damla için potansiyel polarogramı .	21
Şekil 3.7.	Diferansiyel puls polarografisinde tek bir damlanın gelişimi .....	21
Şekil 3.8.	Damlayan cıva elektrodunda damla ömrüne göre faradayik ve kapasitif akımın kıyaslaması .....	23
Şekil 3.9.	Oksijenin polarogramı.....	31
Şekil 3.10.	Damlayan cıva elektrot sistemi .....	32
Şekil 3.11.	Asılı cıva damlası elektrot.....	34
Şekil 3.12.	Farklı potansiyel tarama hızlarında LSV voltamogramları.....	36
Şekil 3.13.	Dönüşümlü voltametrizde uygulanan tipik bir potansiyel uyarı sinyali. ....	37
Şekil 3.14.	Örnek DV voltamogramı.....	37
Şekil 3.15.	Tersinir bir elektrot reaksiyonu için farklı tarama hızlarında DV voltamogramları .....	39
Şekil 3.16.	Ürünün kuvvetli adsorpsiyonunda gözlenen ön pik .....	42
Şekil 3.17.	Reaktantın kuvvetli adsorpsiyonunda gözlenen arka pik .....	43
Şekil 3.18.	Kare dalga voltametrisinde [a] potansiyel-zaman, [b] potansiyel-akım grafiği. ....	44
Şekil 3.19.	(a) Sıyırma voltametrisinde elektroda uygulanan potansiyel zaman eğrisi (b) $Cd^{+2}$ ve $Cu^{+2}$ iyonlarının sıyırma voltametrisiyle elde edilen voltamogramı .....	45

Şekil 3.20. Yüzey aktif bir metal kompleksinin AdKSV ile ölçümündeki adımlar.....	47
Şekil 3.21. Teşhis sınırını hesaplanmasında kullanılan sinyal/gürültü oranı şekli.....	50
Şekil 3.22. Tayin alt hesaplanmasında kullanılan sinyal/gürültü oranı şekli .....	50
Şekil 4.1. BAS model elektrokimyasal analizör.....	53
Şekil 4.2. Polarografi cihazı .....	53
Şekil 5.1. Melaminin pH=7,0 $\text{NH}_3\text{-NH}_4^+$ destek elektrolitindeki polarogramı .....	63
Şekil 5.2. Melaminin pH=11,0 $\text{H}_2\text{PO}_4^- \text{-HPO}_4^{2-}$ destek elektrolitindeki polarogramları. .....	64
Şekil 5.3. Melaminin pH=12,4 $\text{H}_2\text{PO}_4^- \text{-HPO}_4^{2-}$ destek elektrolitindeki polarogramları. .....	65
Şekil 5.4. Melaminin farklı derişimlerdeki diferansiyel puls polarogramları .....	67
Şekil 5.5. 20 $\mu\text{M}$ melaminin pH 10,5-12,7 aralığında B-R tamponundaki diferansiyel puls polarogramları .....	68
Şekil 5.6. DPP’de 20 $\mu\text{M}$ melaminin tayini için kullanılan pikinin (2.pik) pik akımlarının pH ile değişimi.....	69
Şekil 5.7. pH 11,2 B-R tamponunda melamin miktar tayini.....	70
Şekil 5.8. Melaminin farklı derişimlerdeki diferansiyel puls polarogramları .....	71
Şekil 5.9. $\text{Cd}^{+2}$ iyonunun melaminin tayinine girişim etkisinin incelenmesi .....	73
Şekil 5.10. $\text{Ca}^{+2}$ iyonunun girişim etkisinin incelenmesi .....	74
Şekil 5.11. Süt numunesindeki melaminin diferansiyel puls polarogramları.....	77
Şekil 5.12. Süt numunesindeki melaminin geri kazanım çalışması .....	78
Şekil 5.13. Süt tozu numunesindeki melaminin diferansiyel puls polarogramları.....	80
Şekil 5.14. Süt tozu numunesindeki melaminin diferansiyel puls polarogramları.....	81
Şekil 5.15. 30 $\mu\text{M}$ melaminin pH 11,2 B-R tamponundaki dönüşümlü voltamogramı. Tarama hızı; 200 $\text{mV s}^{-1}$ .....	83
Şekil 5.16. 30 $\mu\text{M}$ melaminin dönüşümlü voltamogramının tarama hızı ile değişiminin incelenmesi. Tarama hızı; 25, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 750, 1000 $\text{mV s}^{-1}$ .....	84
Şekil 5.17. 30 $\mu\text{M}$ melaminin pH 11,2 BRT de pik akımlarının (a) tarama hızı, (b) tarama hızının karekökü ile değişiminin incelenmesi .....	85

Şekil 5.18. Melaminin pH 11,2 BRT’de $\log v$ ’ye karşılık $\log I_{pk}$ ’nın değişiminin incelenmesi.....	86
Şekil 5.19. Siyanürik asidin pH 10 $NH_3-NH_4^+$ destek elektrolitindeki diferansiyel puls polarogramları .....	88
Şekil 5.20. 40 $\mu M$ siyanürik asidin pH 8,5-12,5 aralığında B-R tamponundaki diferansiyel puls polarogramları.....	90
Şekil 5.21. DPP’de Britton-Robinson tamponunda 40 $\mu M$ siyanürik asidin indirgenme pik akımlarının pH ile değişimi.....	90
Şekil 5.22. pH 9,5 B-R tamponunda siyanürik asidin miktar tayini.....	91
Şekil 5.23. Siyanürik asidin farklı konsantraslardaki DPP polarogramları.....	92
Şekil 5.24. $Cd^{+2}$ iyonunun girişim etkisinin incelenmesi .....	94
Şekil 5.25. $Cu^{+2}$ iyonunun girişim etkisinin incelenmesi.....	95
Şekil 5.26. $Hg^{+2}$ iyonunun girişim etkisinin incelenmesi.....	96
Şekil 5.27. $Ca^{+2}$ iyonunun girişim etkisinin incelenmesi .....	97
Şekil 5.28. Yüzme havuzu suyundaki siyanürik asidin tayini.....	99
Şekil 5.29. Süt numunesindeki siyanürik asidin diferansiyel puls polarogramları. ....	100
Şekil 5.30. Süt numunesindeki siyanürik asidin diferansiyel puls polarogramları .....	101
Şekil 5.31. Süt numunesindeki siyanürik asidin diferansiyel puls polarogramları .....	102
Şekil 5.32. 40 $\mu M$ siyanürik asidin pH 9,5 B-R tamponundaki dönüşümlü voltamogramı. Tarama hızı; 200 $mV s^{-1}$ .....	103
Şekil 5.33. 40 $\mu M$ siyanürik asidin dönüşümlü voltamogramının tarama hızı ile değişimi. Tarama hızı; 25, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 750, 1000 $mVs^{-1}$ .....	104
Şekil 5.34. 40 $\mu M$ siyanürik asidin ön pikinin pH 9,5 B-R tamponunda $\log v$ ’ye karşı $\log I_{pk}$ ’nın değişiminin incelenmesi .....	105
Şekil 5.35. 40 $\mu M$ siyanürik asidin pH 9,5 BRT’ de pik akımlarının (a) tarama hızı ve (b) tarama hızının karekökü ile değişiminin incelenmesi .....	106
Şekil 5.36. 40 $\mu M$ siyanürik asidin pH 9,5 B-R tamponunda $\log v$ ’ye karşı $\log I$ ’nın değişiminin incelenmesi.....	106
Şekil 5.37. 30 $\mu M$ ammelinin pH 9,5-12,5 aralığında B-R tamponundaki diferansiyel puls polarogramları. ....	108
Şekil 5.38. 30 $\mu M$ ammelinin pik akımlarının pH ile değişimi.....	108

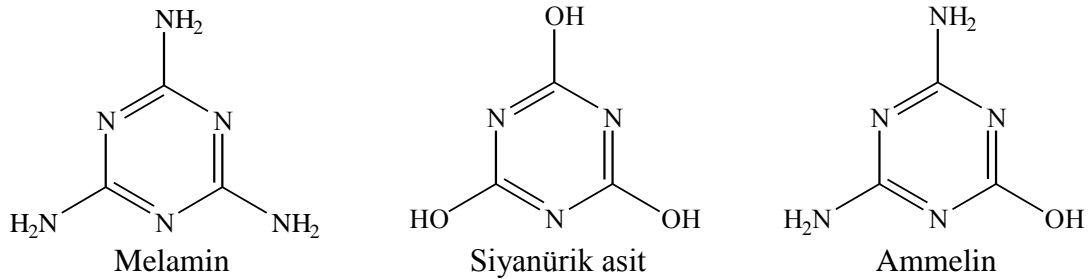
Şekil 5.39. pH 9,5 B-R tamponunda ammelinin miktar tayini .....	109
Şekil 5.40. Ammelinin farklı derişimlerdeki diferansiyel puls polarogramları.....	111
Şekil 5.41. NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> iyonunun girişim etkisinin incelenmesi.....	113
Şekil 5.42. K <sup>+</sup> iyonunun girişim etkisinin incelenmesi .....	114
Şekil 5.43. Süt numunesindeki ammelinin diferansiyel puls polarogramları.....	116
Şekil 5.44. Süt numunesindeki ammelinin diferansiyel puls polarogramları.....	117
Şekil 5.45. 20 µM ammelinin pH 9,5 B-R tamponundaki dönüşümlü voltamogramı. Tarama hızı; 200 mV s <sup>-1</sup> .....	118
Şekil 5.46. 20 µM ammelinin dönüşümlü voltamogramının tarama hızı ile değişimi. Tarama hızı; 25, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 750, 1000 mV s <sup>-1</sup> .....	119
Şekil 5.47. 30 µM ammelinin pH 9,5 BRT’de pik akımlarının tarama hızı ve tarama hızının karekökü ile değişiminin incelenmesi.....	120
Şekil 5.48. Ammelinin pH 9,5 BRT’de log v’ye karşı log I’nın değişiminiin incelenmesi .....	120

## 1. BÖLÜM

### GİRİŞ

Doğal bileşikler ve ilaçların çoğu heterosiklik halkalar içerir, bunun için organik ve anorganik kimya alanlarında yapılan bilimsel çalışmaların önemli bir bölümünü heterosiklik bileşiklerle ilgili olanlar teşkil eder. Heterosiklik bileşiklerde oksijen, azot ve kükürt gibi hetero atomlardan biri veya birkaçı halkadaki karbon ile yer değiştirmiş olarak bulunur. s-Triazinler de bu gruba dahildir [1].

Triazinler bir benzen halkasındaki üç karbonla, azot atomlarının yer değiştirmesi sonucu oluşan heterosiklik bileşiklerdir. Aromatik halka adlandırması göz önüne alındığında bu bileşik için 1,3,5-triazin de denilir. 1,3,5-Triazin, diğer bir adıyla s-triazin türevleri günümüzde ilaç sanayinden plastik sanayisine kadar birçok alanda kullanılmaktadır. s-triazinlerin birçok kullanım alanlarının olmasından dolayı bu konuda araştırmalar hızlı bir şekilde devam etmektedir. Melamin, siyanürik asit ve ammelin maddeleri de birer s-triazin türevleridir. Ayrıca ammelin ve siyanürik asit, melaminin metabolitleridir. Üç bileşiğin yapıları Şekil 1.1’de verilmiştir.



Şekil 1.1. Melamin, siyanürik asit ve ammelinin kimyasal formülleri

Melamin, siyanürik asit ve ammelinin her üçü de beyaz ve toz halindedirler. Her üç bileşikte yüksek erime noktalarına sahiptirler (Tablo 1.1).

Tablo 1.1. Melamin, siyanürik asit ve ammelinin bazı fiziksel özellikleri.

	Melamin	Ammelin	Siyanürik asit
Fiziksel durum	Toz	Toz	Toz
Renk	Beyaz	Beyaz	Beyaz
Erime noktası (°C)	> 300	> 310	> 360

Melamin, 1,3,5 triazin-2,4,6 triamin adına sahip olan trimerik bir siyanamittir. Melamin formaldehitte reçine oluşturmaktadır ve bu reçineler;

- Pigment ve renkli laklarda, iyon değiştiricilerde, paklama inhibitörlerinde, yüzdürme reaktiflerinde, mikrop öldürücülerde, zımparalarda (aşındırıcılar) ve boyama-baskı uygulamalarında,
  - Elektrik endüstrisinde; yalıtım ve tel kaplayıcılarda,
  - Kağıt endüstrisinde; kullanılan kağıdın nem gücünü artırmak için torba, harita, havlu ve yiyecek paketlemede,
  - Marangozluk işlerinde; kontrplak üretiminde, asbes ve alçıda, araba lastiklerinde yapıştırıcı ve bağlayıcı olarak,
  - Optiksel dalga kılavuz aletleri ve bilgi depolayıcıları üretme ve benzeri optik uygulamalarda,
- kullanılmaktadırlar [2].

Melamin-formaldehit reçineleriyle oldukça yararlı ürünler elde edilmesine karşın melaminin yiyeceklere katılması önemli sağlık sorunlarına neden olmaktadır [3,4]. 2007 yılında Çin'de melamin, yasal olmayan yollar ile görünür protein içeriğinin artırılması için tahıl bazlı evcil hayvan yemine ve benzer şekilde görünür protein içeriğini korumak ve su ile seyreltimleri maskeleyerek için süte ve süt tozlarına katılmıştır. Bu evcil hayvan mamaları, ciddi bir hastalığın habercisi olmuş ve bu ürünü tüketen pek çok evcil hayvanın (özellikle kedi) ölümü ile sonuçlanmıştır [5]. ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), evcil hayvan yeminde ve Çin'den ithal edilen beyaz granül buğday gluteni numunesinde beyaz granül formda ve etkilenen hayvanların böbrek ve idrarlarında kristal formda melaminin ve türevlerinin (siyanürik asit, ammelin ve ammelid)

bulduğunu rapor etmiştir. FDA, 12 Kasım 2008 tarihli duyurusu ile, ürünlerdeki melamin mevcudiyetine ilişkin endişeleri nedeniyle, Çin'den yapılacak süt ürünleri, bütün süt türevli katkı maddeleri vb. gıda ürünlerinin ABD'ye ithalatını yasaklamıştır [6].

Melaminin ve türevlerinin (siyanürik asit, ammelin ve ammelid) insan sağlığı üzerine etkisi de araştırılmıştır ve bu etki vücuttaki miktarına ve melamin alımının devam (maruz kalma süresi) süresine bağlı olarak değişmektedir. FDA'ya göre bebek mamaları ve diğer beslenme ürünlerinde melaminin maksimum miktarı 0,5 ppm iken süt ve süt ürünlerini içeren yiyeceklerde 2,5 ppm olarak belirtilmiştir. Yapılan bazı çalışmalar yüksek miktarda melamine uzun süre maruz kalındığında, mesane taşı ve kronik böbrek iltihabı rahatsızlıklarının ortaya çıkabildiğini göstermektedir [3,4].

Melaminin erkek sıçanların kanser olmasına sebep olduğu da tespit edilmiştir [7]. Avrupa' da melaminin plastik materyaller ve eşyalarda kullanımı onaylanmış olmasına karşın, toksikliği nedeniyle gıdalara ve hayvan yemlerine ilavesi yasaklanmıştır. Bu nedenle eser miktardaki melamin ve türevlerinin (siyanürik asit, ammelin ve ammelid) tayini önemlidir.

Siyanürik asit (2,4,6 trihidroksi-1,3,5, triazin), geniş ölçüde ovma tozları, koruyucu çamaşır suları, endüstriyel temizleyiciler ve otomatik bulaşık makinası ürünlerinde bir bileşen olarak geniş kullanım alanı olan endüstriyel öneme sahip bir kimyasaldır [8]. 1958' den beri siyanürik asit ve siyanüratlar havuz sularındaki hipoklorit iyonu, hipoklorik asit ve klorun fotokimyasal indirgenme hızını azaltmak için kullanılmaktadır [9]. Başka bir deyişle, siyanürik asit sudaki serbest klorun güneş ışığı tarafından parçalanma sürecini stabilize etmektedir. Havuz suyunda 25 ppm mertebesinde siyanürik asit bulunması serbest klor bakiyesinin, 3 ila 5 kez daha uzun süre muhafaza edilebilmesini sağlamaktadır. 50 ppm'in üzerindeki konsantrasyonlarda hiçbir ekstra stabilizasyon olayı gözlenmemiştir. Tüm bu anlatılan faydalarına karşın, siyanürik asidin önemli bir dezavantajı vardır. Serbest klorun stabilizasyon işlemi esnasında, siyanürik asit klorun yavaşlamasına veya başka deyişle oksidan ve dezenfektan olarak daha az etkili olmasına yol açar. Bu durum, havuz suyuna daha yüksek oranda klor eklenerek dengelenmelidir. Diğer bir dezavantajı ise, siyanürik asidin toksikliğidir. Gözde hafif düzeyde tahriş edici etkiye sahiptir ve insanlarda karaciğer ya da



gastrointestinal sistem için toksik etkisi olduğu konusunda şüpheler vardır [10]. Yapılan bir araştırmada siyanürik asidin ağız yoluyla günlük alımının hayvanlar için ciddi hasarlara neden olabildiğine işaret edilmektedir [11]. Bu nedenle, ABD Çevre Koruma Ajansı tarafından (EPA(USA), 1998) içme suyu kirleticileri aday listesinde yer almaktadır [12]. Resmi sağlık otoriteleri, genellikle siyanürik asidin üst kullanım limitini 100 ppm olarak sınırlamışlardır. Ulusal yüzme havuzu kuruluğu (NSPF), siyanürik asidin stabilizör olarak kullanımı için, 10-100 mg L<sup>-1</sup> konsantrasyon aralığında olması gerektiğini belirtmektedir [13].

Literatür araştırmalarında melaminin polarografik yöntemlerle tayininin yapıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Diferansiyel puls sıyırma voltametri (DPSV) kullanılarak yapılan bir çalışmada ise ferrisiyanidin pikleri kullanılarak melaminin dolaylı yoldan tayini yapılmıştır [14]. Literatürde siyanürik asidin DPP kullanılarak tayininin yapıldığı bir tek çalışmaya rastlanmıştır. Bu çalışmada siyanürik asidin tayin aralığı 10<sup>-3</sup>-10<sup>-5</sup> M olarak belirtilmiştir [15]. Ammelinin elektrokimyasal ya da polarografik yöntemler ile tayinin yapıldığı herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmada melamin, siyanürik asit ve ammelinin tayini için diferansiyel puls polarografisi ile duyarlılığı ve seçiciliği yüksek bir yöntem geliştirilmiştir. Melamin, siyanürik asit ve ammelinin çeşitli elektrolit ortamlarında elektrokimyasal davranışları araştırılmıştır. Çalışılan maddelerin tayinine pH'nın etkisi incelenmiş ve en uygun tayin ortamı tespit edilmiştir. Melamin, siyanürik asit ve ammelinin voltametrik davranışını incelemek için dönüşümlü voltametri (DV) çalışmaları yapılmıştır. Bazı iyonların çalışılan maddelerin tayinine girişim etkileri araştırılmıştır. Ayrıca geliştirilen yöntem, melamin için süt ve süt tozu, siyanürik asit için havuz suyu ve süt, ammelin için de süt numunelerine başarılı bir şekilde uygulanmıştır.

## 2. BÖLÜM

### GENEL BİLGİLER

#### KAYNAK ARAŞTIRMASI

Melamin, siyanürik asit ve ammelin için yapılan literatür araştırması aşağıda verilmiştir:

2007’de yüksek performanslı sıvı kromatografisi/ikili kütle spektroskopisi (HPLC/MS/MS) kullanılarak evcil hayvan yiyeceklerinde içindeki melamin, ammelin, ammeliid ve siyanürik asit tayini yapılmıştır. Miktar tayini, iç standart yöntemi ve beşli kalibrasyon eğrisi kullanılarak gerçekleştirilmiş ve her bir analit için tayin aralığı 50 - 1000 ng/mL olarak tespit edilmiştir [16].

s-Triazin herbisitleri olan melamin ve melamin analoglarının analizlerinde (ammelin, ammeliid ve siyanürik asit), UV ile ters faz (RP) yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) kullanılmıştır. Siyanürik asit, ammeliid ve ammelinin tamamen ayrılmasını sağlamak için düşük sıcaklıkta (2 °C) analizleri yapılmıştır. Gözlenebilme sınırlarının 30-400 pmol aralığında olduğu belirlenmiştir [17].

İçeceklerde melaminin tayini için bir sıvı kromatografi metodu geliştirilmiştir. Melamin kation ve anyon değiştirici reçineler kullanılarak kolon kromatografisiyle ayrılmış ve bir ODS kolon kullanılarak iyon çifti, sıvı kromatografisiyle tespit edilmiştir. 4 farklı içecekte 0,6-2,4 ppm miktarlarındaki melaminin geri kazanım aralığı % 90,3 ± 7,8 - %102,1 ± 5,6 olarak belirlenmiştir. Miktar tayin sınırı 50 mL içecekte 2,5 µg melamin olarak tespit edilmiştir [18].

Melamin reçineden yapılan yemek takımının sızıntı suyunda melamin ve onun üç hidrolitik ürünü ammelin, ammeliid ve siyanürik asit HPLC-UV ile analiz edilmişti

Metot melamin sofra gereçlerinin üretimi sırasında elde edilen sızıntı suyu çözeltilerinin analizleri için kullanılmaktadır. Sızıntı suyu çözeltisinde melamin 3,0 ile 9,7 ppm ( $\mu\text{g/mL}$ ) aralığında tayin edilmiştir [19].

Tahıl ununda melamin ve analoglarının (ammelin, ammelid ve siyanürik asit) eş zamanlı tayini HPLC-UV kullanılarak yapılmıştır. Melamin, ammelin, ammelid için tayin sınırı 5 ppm ( $\mu\text{g/g}$ ) ve siyanürik asit için 90 ppm ( $\mu\text{g/g}$ ) olarak tespit edilmiştir [20].

Melaminin termal bozunması sonucu oluşan melame, meleme ve melaminin bazik hidrolizi sonucu oluşan ammelin ve ammelidin tayini için yüksek performanslı katyon değiştirme kromatografisi kullanılmıştır. 50 mM fosfat tamponu (pH=2,5) kullanılarak maddelerin birbirinden hızlıca ayrılması sağlanmış ve kantitatif analiz yapılabilmektedir. Melamin ve ammelin için tayin aralığı sırasıyla 11,9 - 85,5  $\mu\text{M}$  ve 8,3 - 146  $\mu\text{M}$  olarak belirlenmiştir [21].

Sıvı kromatografisi-kütle spektroskopisi (LC-MS) yöntemi kullanılarak melamin ve siyanürik asidin tayini için yöntem geliştirilmiştir. Metodun gözlenebilirlik sınırı 10  $\mu\text{g kg}^{-1}$  olarak tespit edilmiştir ve geliştirilen metot kedi balığı, domuz eti, tavuk eti ve hayvan yiyeceklerine uygulanmıştır. Geri kazanım değerleri, melamin için % 87- % 110 siyanürik asit için ise % 96 - % 110 olarak belirlenmiştir [22].

Süt-bazlı bebek mamalarında, köpek ve kedi mamalarında melamin, siyanürik asit, ammelin, ammelidin tayini için GC/MS/MS yöntemleri kullanılmıştır. Melaminin kantitatif tayini 20-2000 ppb (0,4 - 40  $\mu\text{g/g}$ ) aralığında MS/MS yöntemiyle yapılmıştır [23].

HILIC (hidrofilik etkileşme kromatografisi, normal-faz HPLC'nin bir çeşidi) kromatografisiyle üçlü kuadrupol LC-MS-MS aracılığıyla yayın balığında melamin kalıntılarının tayini yapılmıştır. Yayın balığı dokusu 10, 25, 50, 100 ve 500 ng/g (ppb) melaminle zenginleştirilmiş ve geri kazanım çalışması yapılmıştır. Zenginleştirilmiş örneklerden (n = 17) melaminin ortalama geri kazanımı % 76,3 ve bağıl standart sapması (BSS) % 14,3 olarak hesaplanmıştır. Yayın balığı dokularında, melamine ek

olarak, ammelinin ve ammelidin de geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. Ancak bu maddelerin geri kazanımları düşüktür. Ammelin için geri kazanımlar; 100 ng/g'ı için % 15, 500 ng/g'ı için ise % 32 olarak hesaplanmıştır. Ammelid 500 ng/g' ı için % 3 olarak bulunmuştur. Bu nedenle yöntem, ammelin ve ammelid tayini için uygun değildir [24].

Dobson ve ark. tarafından yürütülen sadece melamin, sadece ammelin ve ammelid (melaminin her iki analogu), melamin ve siyanürik asit karışımı ve dört bileşiğin karışımının toksisitesinin test edildiği bir çalışma gerçekleştirilmiştir. FTIR ile kedi ve fare böbrek dokusundaki kristallerin (melamin ve türevleri) karakterizasyonu yapılmıştır. Bu maddelerin tespiti için HILIC-MS/MS yöntemleri kullanılmıştır [25].

Gaz kromatografisi-tandem kütle spektrometresi (GC-MS/MS) aracılığıyla süt ve süt ürünlerinde melamin, ammelid, ammelin ve siyanürik asidin kalitatif ve kantitatif tayinini eş zamanlı olarak gerçekleştirmek için analitik bir metot geliştirilmiştir. Melamin, siyanürik asit, ammelin ve ammelid için korelasyon katsayısı 0,999 ve lineer tayin aralığı 0,004 mg/kg - 1,6 mg/kg olarak belirlenmiştir. Bu maddelerden süt tozuna 0,5 mg/kg, 1 mg/kg ve 2 mg/kg konsantrasyonlarında eklenmiştir. 4 bileşiğin geri kazanım oranları %61,4 - %117,2 ve bağıl standart sapmaları  $\leq$  % 11,5 ( $n=6$ ) olarak bulunmuştur. Metot, Çin'de 2008'de kirletilmiş bebek maması olayındaki süt ve süt ürünlerinin analizinde başarılı bir şekilde uygulanmıştır [26].

Çevresel sularda 0,1 µg/L düzeyindeki atrazinin (ammelin, ammelid, siyanürik asit, atrazin-desethyl-desisopropyl, atrazin-desethyl ve atrazin-desisopropyl) polar indirgenme ürünlerinin analizi için bir SPE-LC/ESI/MS metodu geliştirilmiştir. Metodun doğrusal olduğu derişim aralığı 11-300 pg/µL'dır. Geri kazanımlar ammelin için % 83,4, siyanürik asit için >100 olarak belirlenmiştir [27].

Hg(II) ve melamin arasındaki reaksiyona dayanan türbidimetrik yöntemle petrokimyasal bir şirketin atık suyunun melamin içeriğinin ölçülmesi için metot geliştirilmiştir. Geliştirilen metotta doğrusal derişim aralığı 1-70 mg/L ve gözlenebilme sınırı 0,3 mg/L olarak bulunmuştur. Önerilen metot Urmia Petrokimya Firması'nın atık suyunda melaminin tayini için kullanılmıştır [28].

Domuz kas dokusundaki melamin analizi için katı hal ekstraksiyon (SPE) ve yüksek performanslı sıvı kromatografi / ikili kütle spektroskopisi kullanılmıştır. Tayin aralığı 50 - 2000 ng/mL olarak bulunmuş ve dokunun 1 g'ında 10 ng melamin tayin edilmiştir [29].

Melaminin kimyasal ayrışma ürünlerinden biri olan meleme, çözücü olarak kullanılan 20 mM fosfat tamponu içinde yüksek performanslı katyon-değiştirici kromatografisiyle analiz edilmiştir. Meleme ve melaminin çözücü içindeki davranışı çeşitli pH değerlerinde (pH 2,0-6,0) incelenmiş ve tayin, fotodiyot dizisi UV-Vis taraması kullanılarak eş zamanlı olarak gerçekleştirilmiştir [30].

Sıvı kromatografisiyle elektrosprey ikili kütle spektroskopisi (LC-ESI-MS/MS) birlikte kullanılarak pazı yaprağı örneklerinde kromazin ve onun ara ürünü olan melamin tayin edilmiştir. Geliştirilen metodun tayin sınırı her iki madde için 0,05 mg kg<sup>-1</sup> ve gözlenebilme sınırı 0,01 mg kg<sup>-1</sup> olarak tespit edilmiştir [31].

LC-UV ve GC-MSD kullanılarak toprakta kromazin ve melamin atık maddelerinin tayini için analitik bir metot geliştirilmiştir. LC-UV metodu ile toprağa katılmış kromazin ve melaminin gözlenebilme sınırı 2,5 ng, tayin sınırı 10 ppb, GC-MSD kullanıldığında ise gözlenebilme sınırı 0,050 ng ve tayin sınırı 10 ppb olarak bulunmuştur. LC-UV kullanıldığında kromazin ve melaminin geri kazanımları sırasıyla %97 ve %95 (*n* = 24) ve standart sapmaları %16 ve %11, GC-MSD kullanıldığında ise kromazin ve melamin için geri kazanımları sırasıyla %107 ve %92 (*n* = 29) ve standart sapmaları %9,9 ve %16 olarak bulunmuştur [32].

Melaminin tayini için bir kapiler elektroforez yöntemi geliştirilmiştir ve geliştirilen metot süt, yoğurt, süt tozu, balık yemi ve balık numunelerinde melamin tayini yapılmasını sağlamıştır. Metodun gözlenebilme ve tayin sınırı sırasıyla 0,01 ve 0,05 µg mL<sup>-1</sup> olarak belirlenmiştir. Melaminin numunelerdeki geri kazanımı ise %93-%104 aralığında değişmektedir [33].

Melaminin analizi için bir volumetrik yöntem geliştirilmiştir. Etanol içinde % 20 okzalik asit çözeltisine, melaminin sulu çözeltisinin katılması kristalin bir çökelek olan

melamin mono-okzalat ürünü verir. Bu ürün standart potasyum permanganat çözeltisiyle titre edilir. Metot % 0,3'lük melamin için hassastır [34].

Melamin bulaşmış evcil hayvan yiyecekleriyle beslenmiş domuzlardaki farmakokinetik parametreleri belirlemek için bir çalışma yapılmıştır. 5 hayvan yavrusuna, melamin 6,13 mg/kg olarak tek dozda uygulanmıştır ve plazma örnekleri 24 saat biriktirilmiş ve sonra HPLC–UV ile analiz edilmiştir [35].

Melaminin diferansiyel puls sıyırma voltametri kullanılarak tayininin yapıldığı, elektrokimyasal bir metot, oligonükleotidler ve film modifiye altın elektrotlara dayalı olarak geliştirilmiştir. Ferrisiyanidin elektrokimyasal probu, oligonükleotidler ve melamin arasındaki etkileşimleri incelemek için kullanılmıştır. Yapılan elektrokimyasal çalışmada melaminin tayin aralığı  $3,9 \times 10^{-8}$  -  $3,3 \times 10^{-6}$  M, gözlenebilme sınırı  $9,6 \times 10^{-9}$  M olarak bulunmuştur. Önerilen metot, süt ürünlerindeki melaminin tayini için % 95' lik geri kazanımla uygulanmıştır [14].

Siyanürik asidin tayini için, elektrosprey kütle spektroskopisi (cESI-MS) kullanılmıştır. Siyanürik asit sıvı-sıvı ekstraksiyonuyla sudan ekstrakte edilmiştir. Ekstraktın kuruması için buharlaştırılmış ve kuaterner amonyum katyonik yüzey aktif madde sulu çözeltiliye eklenerek elektrosprey kütle spektrometresi ile tayin edilmiştir. 1 mg/L siyanürik asit için, metodun gözlenebilme sınırı 0,13 mg/L olarak hesaplanmıştır [36].

Evcil hayvan yiyeceğinde siyanürik asidin tayini için HPLC, ultrasonik ekstraksiyon metoduyla birlikte kullanılmıştır. Siyanürik asit için gözlenebilme sınırı  $0,002 \text{ mg mL}^{-1}$  ve doğrusal olduğu derişim aralığı  $0,008$ -  $4,0 \text{ mg mL}^{-1}$  olarak tespit edilmiştir [37].

UV ve HPLC metotları kullanılarak havuz sularındaki siyanürik asidin tayini yapılmıştır. Her iki metodun gözlenebilme sınırı sırası ile 0,07 (fenil) ve 0,02 mg/L (PGC) olarak hesaplanmıştır [38].

Sıvı kromatografisi ve kütle spektroskopisi kullanılarak siyanürik asidin tayini yapılmıştır. Siyanürik asit  $0$ - $20 \text{ mg L}^{-1}$  derişim aralığında doğrusaldır ve gözlenebilme sınırı  $0,1 \text{ mg L}^{-1}$  olarak belirlenmiştir [39].

Sıvı kromatografi-tandem kütle spektroskopisi (LC-MS/MS) yöntemi kullanılarak yayın balığı, tilapi, somon, alabalık ve karides dokusundaki siyanürik asidin analizi yapılmıştır. Yayın balığı, tilapi ve alabalıkta siyanürik asidin geri kazanımı %67 ve bağıl standart sapması (BSS) %18 (n=107) olarak hesaplanmıştır. Yöntemin ortalama tayin sınırı  $3,5 \mu\text{g kg}^{-1}$  olarak belirlenmiştir. Somon balığında geri kazanımı % 91 (BSS=%15, n=18) ve tayin sınırı  $7,4 \mu\text{g kg}^{-1}$ , karideste geri kazanımı %85 (BSS=10%, n=13), gözlenebilme sınırı  $3,5 \mu\text{g kg}^{-1}$  olarak bulunmuştur [40].

Başka bir çalışmada siyanürik asit tayini, alev termoyonik spesifik dedektör (FTD) ve seçici iyon görüntülemeyle (SIM) kütle spektrometresi (MS) birlikte kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Geliştirilen yöntem havuz suyunda, yüzey sularında, insan idrarında ve hava filtresi örneklerinde siyanürik asidin tayini için uygulanmıştır. Siyanürik asidin minimum tayin edilebilir derişimi GC-MS-(SIM) ve GC-FTD teknikleri için sırasıyla 1 ve  $90 \mu\text{g/L}$  bulunmuştur. Örneklere eklenen siyanürik asidin geri kazanımı ise  $98 \pm 5 \mu\text{g/L}$  olarak hesaplanmıştır [41].

Hayvan yiyeceklerindeki siyanürik asit miktarı gaz kromatografisi ve kütle spektroskopisi yöntemleri kullanılarak tayin edilmiştir. Kalibrasyon eğrisinin  $4 \text{ mg kg}^{-1}$  a kadar doğrusal olduğu belirlenmiştir. Gözlenebilme sınırı ve tayin sınırı balık ve tavuk yemlerinde  $0,06 - 0,4 \text{ mg kg}^{-1}$  [ 42] olarak belirlenmiştir.

Literatürde, siyanürik asidin polarografik olarak tayininin yapıldığı sadece bir çalışmaya rastlanmıştır. Struys ve Wolfs [15] diferansiyel puls polarografisini kullanarak siyanürik asidin tayini için elektrokimyasal bir metot tanımlamışlardır. Siyanürik asit  $10^{-5}$ – $10^{-3}$  M aralığında  $-60 \text{ mV}$ 'ta (vs.  $\text{Ag/AgCl/ 3M NaCl}$  ) pik akımları kullanılarak tayin edilmiştir. Tayin alt sınırı  $10^{-5}$  M olarak bulunmuştur.

Elektrokimyasal metotlar hem organik hem de inorganik elektroaktif özelliklerin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Elektroanalitik yöntemlerle elektroaktif maddelerin kalitatif ve kantitatif analizi yapılabildiği gibi elektroaktif olmayan maddelerin dolaylı yolla tayinleri yapılabilir. Elektroanalitik tekniklerle çok düşük tayin sınırlarına ulaşılabilir ve elektrokimyasal yöntemlerin uygulanabildiği sistemler hakkında, ara yüzeylerdeki yük aktarımının stokiyometrisi ve hızı, kütle aktarım hızı, adsorpsiyon ve

kemisorpsiyonun derecesi, kimyasal reaksiyonların hız ve denge sabitleri gibi bilgileri de içeren ve sistemi karakterize eden çok fazla sayıda bilgiye ulaşmak mümkündür. Elektroanalitik yöntemlerden en çok kullanılanlar potansiyometri, voltametri, polarografi, elektrogravimetri ve kulometri yöntemleridir.

Kromatografik ya da spektroskopik yöntemlerde girişim problemlerinin risklerini azaltmak için çözücü ekstraksiyonu, iyon değişimi gibi uzun ve zahmetli ön hazırlıklar gerektirmektedir. Bu işlemler zaman alıcıdır ve madde kayıpları da olabilmektedir. Polarografide kullanılan cihazlar kromatografi (HPLC), kütle spektroskopisi (MS) gibi yöntemlerde kullanılan cihazlardan çok daha ucuzdur. Özellikle damlayan cıva elektrodu (DCE) kullanılarak yapılan polarografik metotlarla, daha ucuz, daha hızlı ve daha güvenilir analizler yapılabilmektedir. Validasyon farklı pH'larda ve farklı elektrolitlerle çalışılarak yapılabilmektedir. Her kullanımdan sonra zahmetli ve uzun elektrot hazırlama prosedürlerine gerek yoktur. DCE'nin davranışı geçmişinden bağımsızdır. DPP ile yapılan çalışmalarda kullanılan damlayan cıva elektrodunda yüzeyi sürekli yenilendiği için tekrarlanabilirliği çok yüksektir. DPP'de tayin sınırları  $10^{-8}$  M, sıyırma analizlerinde ise  $10^{-10}$  –  $10^{-11}$  M'a kadar inilebilmektedir.

Bu çalışmanın amacı melamin, siyanürik asit ve ammelinin elektrokimyasal özelliklerini incelemek; melamin, siyanürik asit, ammelin tayini için DPP yöntemi ile metot geliştirmek ve çeşitli ortamlarda (süt, süt tozu, havuz suyu v.b.) polarografik tayinlerini gerçekleştirmektir.

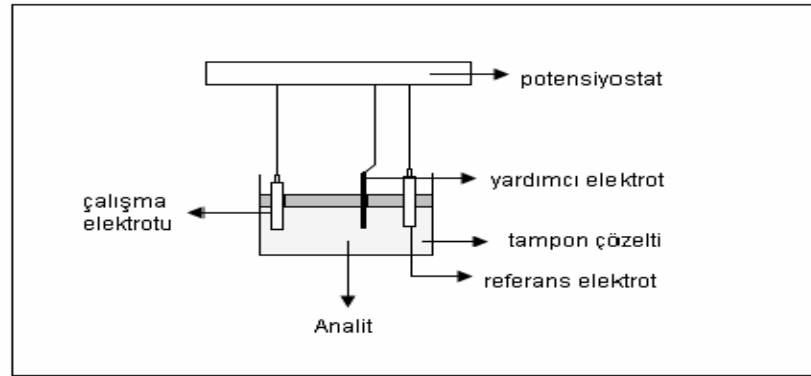


### 3. BÖLÜM

#### ELEKTROKİMYASAL YÖNTEMLERİN TEORİSİ

Elektrokimya, maddenin elektriksel davranışını ve elektrik enerjisi ile kimyasal tepkime arasındaki ilişkiyi inceleyen bilim dalıdır. Elektrokimyasal tepkimeler, elektronların bir yerden başka bir yere geçişiyle, elektrokimyasal hücre adı verilen bir hücrede gerçekleşir. Elektrokimyasal tepkimelerin gerçekleşebilmesi için;

- Analizi yapılacak maddeyi içeren bir çözelti (elektriksel iletkenliği sağlamak amacıyla tampon çözelti kullanılır),
- Maddenin kimyasal dönüşüme uğradığı genellikle üçlü olan elektrot sistemi,
- Elektrotları birbirine bağlayan çevirim sistemi gereklidir.



Şekil 3.1. Genel elektrokimyasal hücre şeması

Maddelerin elektrokimyasal özelliklerinden yararlanarak kalitatif ve kantitatif analizlerinin yapıldığı yöntemlere elektroanalitik yöntemler denir. Elektroanalitik yöntemler, değişik yükseltgenme basamağına sahip türlerin kolayca saptanabilmesi, bu

yöntemlerin uygulanmasını sağlayan ticari cihazların kromatograflara ve spektrofotometrelere göre çok daha ucuz olması ve genellikle kimyasal türlerin analitik derişimini belirtmesi gibi üstünlüklere sahiptir [43].

Elektroanalitik teknikler çok düşük tayin sınırlarına ulaşabilirler ve elektrokimyasal yöntemlerin uygulanabildiği sistemler hakkında, ara yüzeylerdeki yük aktarımının stokiyometrisi ve hızı, adsorpsiyon ve kemisorpsiyon derecesi, kimyasal reaksiyonların hız ve denge sabitleri gibi bilgileri de içeren, çok fazla sayıda sistemi karakterize eden bilgiler verir [44].

### **3.1. Voltametri**

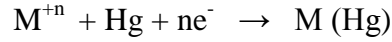
Voltametri, elektrokimyanın bir alt birimidir. Elektrokimyasal bir hücreye daldırılan, alanı çok küçük olan bir mikro çalışma elektrodu ile bir karşılaştırma (referans) elektrodu arasına uygulanan ve değeri zamanla değişen gerilime karşı, çalışma elektrodu ile karşıt elektrot arasındaki akım ölçülerek yapılan analiz metodudur. Yani voltametricide, hücreye uygulanan potansiyele karşılık oluşan akımın ölçülmesi esası ile analiz yapılmaktadır.

#### **3.1.1. Polarografi**

Polarografi, çalışma elektrodu damlayan cıva elektrodu (DCE) olan voltametricinin bir alt dalıdır. DCE'nin yenilenebilir yüzeyi ve geniş katodik potansiyel aralığından dolayı polarografide bir çok indirgenebilir ya da yükseltgenebilir türün tayini yapılabilir. Polarografi tekniği ile kalitatif, kantitatif analizler ve kinetik çalışmalar yapılabilmektedir. Bu teknikle bir çok elementin yanı sıra yükseltgenebilir veya indirgenebilir fonksiyonel grubu bulunan organik bileşiklerin analizi de yapılabilmektedir. Bu klasik teknik 1922'de Çekoslovak Jaroslav Heyrovsky tarafından keşfedilmiştir. Polarografide kullanılan damlayan cıva elektrodunda herhangi bir potansiyelde, bu potansiyele ister yüksek, isterse düşük potansiyellerden gelmiş olsun, anında tekrarlanabilir ortalama akımlar oluşturulabilir. DCE'de her damla ile yeni bir elektrot yüzeyi oluşturduğundan elektrodun davranışı daha önceki durumdan bağımsız

olur. DCE'nin aksine diğerk katı metal elektrotları, adsorplanmış veya birikmiş safsızlıklardan dolayı son derece düzensiz davranış gösterirler [45].

Bir çözeltili içindeki  $M^{+n}$  iyonlarının damlayan cıva elektrodunda indirgenmesi ;

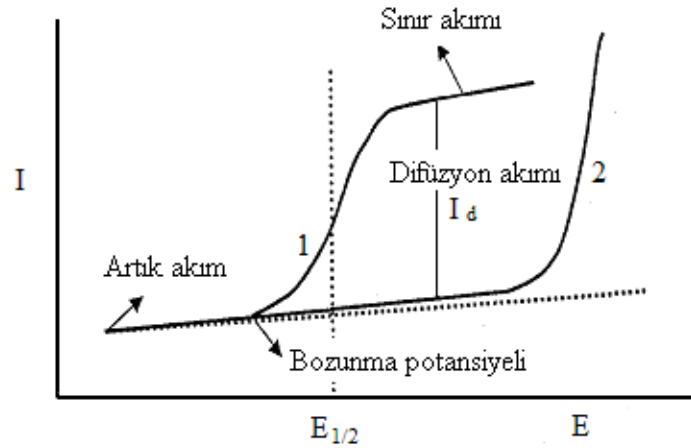


şeklinde gösterilir. Çözeltili içindeki  $M^{+n}$  iyonlarının elektroda taşınması 3 şekilde olur;

a) *Konveksiyon yoluyla taşınma*; Termik ve mekanik karıştırmadan dolayı oluşur. Polarogram, çözeltili durgun halde iken ve sabit sıcaklıkta alınırsa bu yolla taşınma engellenmiş olur.

b) *İyonik göç (migrasyon)*; Bu çeşit akımların analitik açıdan bir değeri yoktur. Çalışılan bir çözeltili ortamında eğer yeterli miktarda taşıyıcı elektrolit olmazsa, elde edilen toplam akımın bir de göç bileşeni vardır. Bu göç bileşeninin kaynağı sistemdeki elektrotlar arasındaki elektriksel alanda iyonların kendi yük cinslerine göre elektrotlara doğru göç etmeleridir. Çalışma ortamına elektroaktif madde konsantrasyonunun 10-100 katı arasında destek elektrolit ilavesiyle göç akımı bileşeni minimuma indirilir.

c) *Difüzyon*; İyonların difüzyon yoluyla elektrot yüzeyine taşınması, elektrot yüzeyi ile çözeltili arasındaki net derişim farkından kaynaklanır. Çözeltiliye daldırılan çalışma elektrodunun yüzeyindeki madde, bozunma potansiyeline gelindiğinde indirgenme veya yükseltgenme yoluyla tüketilir. Elektrot yüzeyine yakın bölgedeki elektroaktif maddeler elektrot yüzeyine hızla difüzenir. Böylece çözeltili içinden elektrot yüzeyine doğru bir kütle aktarımı olur ve akım şiddeti artar (difüzyon akımı). Belirli bir süre sonra elektrot yüzeyi civarında sabit kalınlıkta bir difüzyon tabakası oluşur. Bu noktadan itibaren elektrot yüzeyinde tepkimeye giren türler ancak difüzyonla taşınacağından akım difüzyon kontrollü olur ve sabit kalır. Bu nedenle yukarıda belirtilen şartlar sağlanarak konveksiyon ve iyonik göç yoluyla kütle aktarımı engellenir. Difüzyon yolu ile taşınıp elektrot yüzeyinde indirgenen ya da yükseltgenen bir madde için elde edilen potansiyel - akım eğrilerine polarogram adı verilir. Şekil 3.2'de bu tür bir polarogram görülmektedir.



Şekil 3.2. Bir polarogramın genel görünümü ve önemli kısımları (1 analiz çözeltisinin polarogramı, 2 ise yalnız destek elektrolit içeren çözeltinin polarogramı).

Polarografide akım, çalışma elektrodu üzerinde maddelerin indirgenmesi veya yükseltgenmesi sonucunda oluşur. İndirgenmeden dolayı oluşan akıma *katodik akım*, yükseltgenmeden dolayı oluşan akıma ise *anodik akım* denir. Belli bir potansiyelden sonra akımın sabit kaldığı bir plato bölgesine ulaşılır. Bu akıma *sınır akımı* adı verilir. Elektrot üzerinde henüz reaksiyon olmadığı zaman küçük de olsa bir akım gözlenir. Bu akıma da *artık akım* denir. Sınır akımı ile artık akım arasındaki yükseklik dalga yüksekliğidir. Dalga yüksekliği, elektroaktif maddenin konsantrasyonu ile doğrusal olarak artar. Bu özellik nedeniyle polarografi kantitatif analizlerde kullanılabilir. Akımın, sınır akımı değerinin yarısına eşit olduğu potansiyel *yarı dalga potansiyeli* olarak tanımlanır. Yarı dalga potansiyeli  $E_{1/2}$  ile gösterilmektedir.  $E_{1/2}$  değeri genellikle elektroaktif maddenin konsantrasyonuna bağlı değildir ve standart yarı hücre potansiyeli ile yakından ilişkilidir. Yarı dalga potansiyelinin her madde için karakteristik olması özelliğinden dolayı polarografi kalitatif analizlerde de kullanılabilir. Polarografide difüzyon kontrollü sınır akımından başka kinetik ve adsorpsiyon kontrollü akımlara da rastlanır. Kinetik akım, elektroaktif maddenin bir kimyasal reaksiyon sonucu oluşması ile gözlenir. Elektroaktif maddenin konsantrasyonu kimyasal reaksiyonunun hızı ile kontrol edildiği için bu akıma *kinetik akım* adı verilir. Bazen de akım, elektrot yüzeyine elektroaktif maddenin, ürünün veya ortamda bulunan diğer maddelerin adsorpsiyonu ile kontrol edilir. Bu akıma da *adsorpsiyon akımı* adı verilir [46].

### 3.1.1.1. Doğru Akım Polarografisi

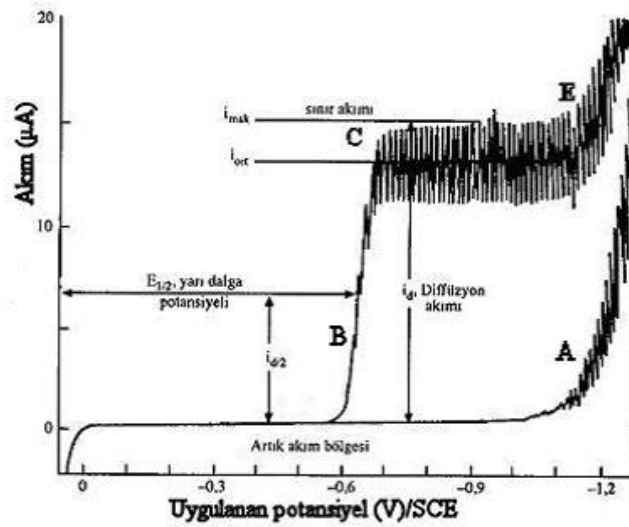
Geçmişte normal polarografi; çok sayıda inorganik ve organik türün kantitatif tayininde kullanılıyordu. Ancak 1960'larda spektroskopik yöntemlerin ortaya çıkması bu tekniğin geliştirilmesi zorunluluğunu getirmiştir. Yapılan birkaç temel gelişme sayesinde bu metodun duyarlılığı ve seçiciliği büyük oranda arttırılmıştır. Polarografide üçlü elektrot sistemi kullanılır:

- Çalışma elektrodu; damlayan cıva elektrot (DCE)
- Referans elektrot; doymuş kalomel elektrot (DKE) veya Ag /AgCl elektrot
- Karşıt elektrot; platin elektrot (Pt)

Polarografik analizin temelinde analiz edilecek olan çözeltilerdeki indirgen ve yükseltgen maddelerin uygulanan gerilim taraması karşısında akım değerinde değişim vardır. Aynı sisteme hem gerilim uygulamak ve aynı zamanda oluşan akımı ölçmek için ikili (DCE - DKE) veya üçlü elektrot sistemi kullanılabilir. Çalışma elektrodu damlayan cıva elektrodu (DCE) polarize ve üzerindeki hidrojen gerilimi oldukça yüksek olan bir elektrottur. Bu elektrodun potansiyeli zamanla doğrusal olarak değiştirilir. Referans elektrot olarak çoğunlukla doymuş kalomel elektrot (DKE) kullanılır. Potansiyeli deney süresince sabit kalır. Bu elektrodun direnci yüksektir ve üzerinden akım geçmez. Bütün akım karşıt elektrot üzerinden çalışma elektroduna (DCE) taşınır. Karşıt elektrot olarak genellikle platin elektrot kullanılır. Karşıt elektrot, kaynaktan gelen akımı çözelti üzerinden çalışma elektroduna aktarır. Üçlü elektrot sisteminde; potansiyel çalışma elektrodu ile referans elektrot arasına uygulanır, akım ise çalışma elektrodu ile karşıt elektrot arasında ölçülür. Böylece, çalışma ile referans elektrot arasında akım ölçülmez. Çünkü referans elektrodun potansiyeli küçük akımlarda sabittir ancak akım arttığında potansiyel sabit kalmaz. Üçlü elektrot sisteminin kullanılması ile aynı sistemde hem gerilim uygulanabilir hem de oluşan akım ölçülebilir.

Polarize elektrot (DCE) uygulanan potansiyeli elektrot reaksiyonu hızında bir değişiklik olmadan takip eder. Polarize olmayan elektrodun (DKE) potansiyeli sabittir, akımdan ve uygulanan potansiyelden etkilenmez. Eğer polarografi hücresinde bulunan

elektrotlardan biri polarize olabilen, diğeri polarize olmayan elektrot ise hücre potansiyeli uygulanan potansiyel kadar değişir. Polarografide bu iki elektrot arasına sabit bir hızla artan potansiyel uygulanırken, elektroaktif türün indirgenme potansiyelinde (veya yükseltgenme) oluşan akım ölçülür. Ölçülen bu akım elektroaktif türün derişimiyle orantılı olduğundan kantitatif tayine imkan verir. Bu akım-potansiyel ilişkisi Şekil 3.3'te gösterilmiştir. Bu eğriye polarogram adı verilir [45].



Şekil 3.3. Normal polarografide gözlenen akım-potansiyel eğrisi

### 3.1.2. Puls Polarografi Yöntemleri

Barker ve Jenkin tarafından geliştirilen, puls kullanılan voltametik tekniklerle ölçümlerin tayin sınırlarının düşürülmesi amaçlanmıştır. Bu tekniklerle faradayik ve faradayik olmayan akım arasındaki fark artırılarak  $10^{-8}$  M'a kadar kantitatif tayinler yapılabilir. Analitik laboratuvarlarında klasik polarografinin yerini modern puls teknikleri almıştır.

Akım-Örnekleme (TAST) Polarografisi, normal puls polarografisi, diferansiyel puls polarografisi ve kare dalga polarografisi puls polarografisi yöntemlerine örnek olarak verilebilirler. Tast polarografisi, normal puls polarografisi ve diferansiyel puls polarografisinin polarografide tarihsel gelişimleri art arda gerçekleşmiştir. Diferansiyel puls polarografisi ve kare dalga teknikleri doğrudan derişimlerin değerlendirilmesinde kullanılabilir en duyarlı teknikler arasındadırlar ve eser analizler için yaygın şekilde

kullanılırlar. Bu teknikler moleküler ya da atomik absorpsiyon spektroskopisi veya çoğu kromatografik yöntemlerden çok daha duyarlıdır [44]. Ayrıca bu teknikler analitin kimyasal yapısı hakkında da bilgi sağlarlar. Yükseltgenme basamakları tayin edilebilir, kompleksleşme ortaya çıkarılabilir ve asit-baz kimyası karakterize edilebilir.

### 3.1.2.1. Normal Puls Polarografisi

Normal puls polarografisinde elektroda uygulanan potansiyel pulsları faradayik akımın olmadığı başlangıç potansiyelinden itibaren artan genliklerle uygulanır. Pulslar arasında elektrot, analitin reaksiyonunun olmadığı sabit bir potansiyelde tutulur. Pulsun genliği her bir damlada doğrusal olarak artırılır, puls uygulandıktan 40 ms sonra akım ölçülür ki bu anda yükleme akımı yaklaşık 0'dır. Ek olarak kısa puls süresinden dolayı difüzyon tabakası doğru akım polarografisindekinden (DC) daha incedir ve böylece faradayik akım maksimumdur. Alınan polarogram sigmoidal şekilde ve sınır akım Cottrell eşitliğindeki gibidir (Eşitlik 3.1) [47].

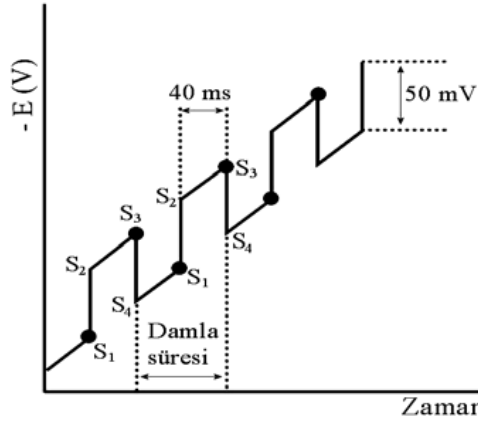
$$i_p = nFAD^{1/2}C \quad (3.1)$$

Normal puls polarografisi DC'den 5-10 kat daha duyarlıdır. Normal puls polarografisinin katı elektrotlarda kullanımı daha avantajlı olabilir. Bu polarografide taramanın büyük kısmı boyunca düşük başlangıç potansiyeli kullanılması, elektrot yüzeyini kirlenmeye sebep olan problemleri azaltır (adsorblanmış reaksiyon ürünlerine rağmen). Ayrıca Barker ve Gardner [48] tarafından gerçekleştirilen çalışmaya göre normal puls polarografisinin polarografik olmayan (Pt disk gibi) elektrotlara da uygulanabileceğini tespit etmişlerdir. Normal puls polarografisi özellikle çevresel örneklerde düşük derişimlerdeki organik maddelerin ve ağır metallerin ölçümü için analitik araç olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır [44].

### 3.1.2.2. Diferansiyel Puls Polarografisi

1960'larda normal polarografi, birçok laboratuarda analitik bir araç olarak önemini kaybetmiştir. Bunun en önemli sebebi, oldukça düşük miktarlardaki tayinlerin gerçekleştirilebildiği spektroskopik tekniklerin ortaya çıkmasıyla bu yöntemin geri

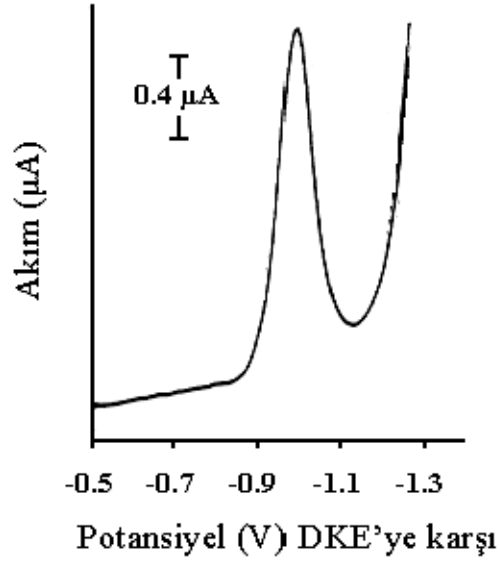
planda kalmasıydı. Normal polarografi ile yapılan analizlerde tayin sınırının yeterince iyi olmamasının nedeni; elektrottaki elektriksel çift tabakanın yüklenmesinden oluşan yükleme akımının, faradayik akıma göre oldukça büyük olmasıdır. Eğer yükleme akımının ölçülen toplam akım içindeki katkısı azaltılırsa, daha küçük değerdeki faradayik akımlar ölçülebilir hale gelebilir ve böylece yöntemin duyarlılığı artar. Polarografik yöntemlerin duyarlılığını arttırmak amacıyla puls ve diferansiyel puls teknikleri geliştirilmiştir [49]. Şekil 3.4 diferansiyel puls polarografi cihazlarında kullanılan uyarma işlemini göstermektedir. Burada her bir damlaya belli genlikte potansiyel pulsları uygulanarak faradayik akım oranı arttırılmaktadır. Cıva damlasının ömrünün son 50 ms'si içinde 50 mV'luk bir puls uygulanır. Burada damla ile puls arasında uyum sağlamak için, damla önceden belirlenen anlarda mekanik olarak düşürülür.



Şekil 3.4. Diferansiyel puls polarografisinde kullanılan uyarma sinyali

Şekil 3.4'te görüldüğü gibi potansiyel taraması süresince, cıva damlasına uygulanan sabit genlikteki pulstan iki tane akım ölçümü yapılmaktadır. Bunlardan birincisi, doğru akım pulsanın 16,7 ms önce ( $S_1$ ), diğeri ise puls bitiminden 16,7 ms önce ( $S_4$ ) yapılır. Puls başına akımdaki fark ( $\Delta i$ ) doğrusal olarak artan (taranan) potansiyelin fonksiyonu olarak kaydedilir. Elde edilen diferansiyel eğri pik şeklinde olup yüksekliği derişimle orantılıdır. Normal polarografide S eğrisi elde edilirken diferansiyel puls polarografisinde pik elde edilir. Bunun nedeni S eğrisinin yükselen kısmında  $\Delta i$  artarken, plato bölgesinde akımın sabit olması dolayısıyla  $\Delta i = 0$  olmasıdır. Şekil 3.5'te bir diferansiyel puls polarogramı görülmektedir. Tersinir bir reaksiyonda pik potansiyeli, yarı reaksiyonun standart potansiyeline yaklaşık olarak eşittir.

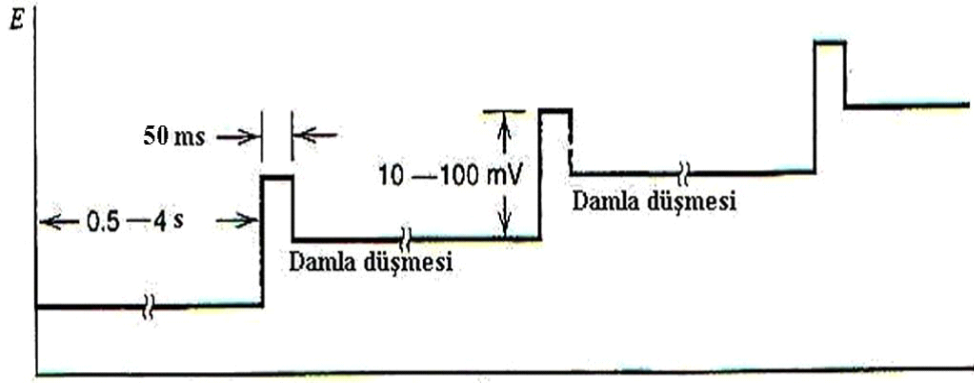




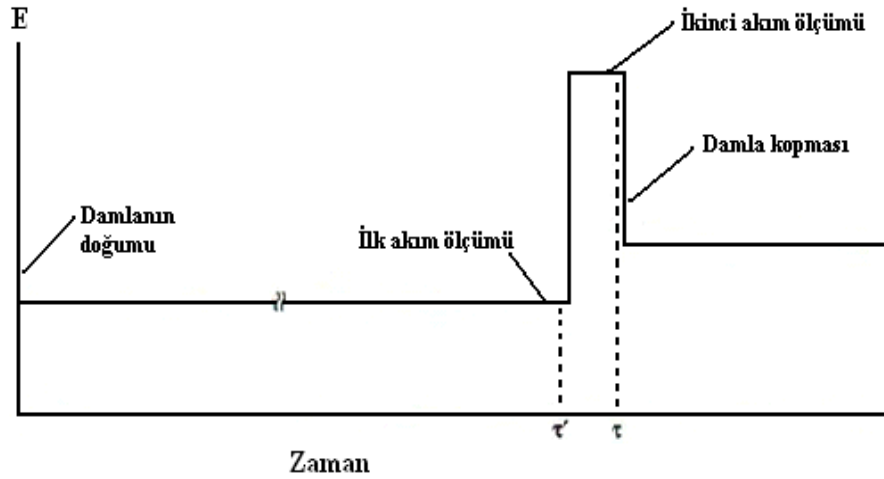
Şekil 3.5. Diferansiyel puls polarografisinde elde edilen polarogram örneği

DPP normal puls polarografisine benzerdir, fakat farklı yönleri de vardır.

- a) Damlanın büyümesi boyunca uygulanan temel potansiyel, damladan damlaya sabit değildir, doğrusal olarak artış gösterir.
- b) Doğrusal olarak artan potansiyele bindirilen puls yüksekliği 10-100 mV arasında değişebilen (Şekil 3.6), ancak her damlaya sabit olarak uygulanan bir değerdir.
- c) Her bir damlanın yaşam ömrü boyunca iki akım ölçülür. İlki puls uygulamadan önce ikincisi ise damla maksimum büyüklüğünde iken düşmeden hemen önce ölçülür (Şekil 3.7).
- d) Ölçülen bu iki akım arasındaki fark [ $\delta i = i(t) - i(t')$ ] potansiyele karşı grafiğe geçirilir. Yönteme verilen ad diferansiyel akım ölçümlerinden türetilmiştir. Puls genliği (yaklaşık 50 ms) ve damlanın büyümesi için bekleme periyodu (0,5-4s) normal puls metodundaki ile aynıdır.



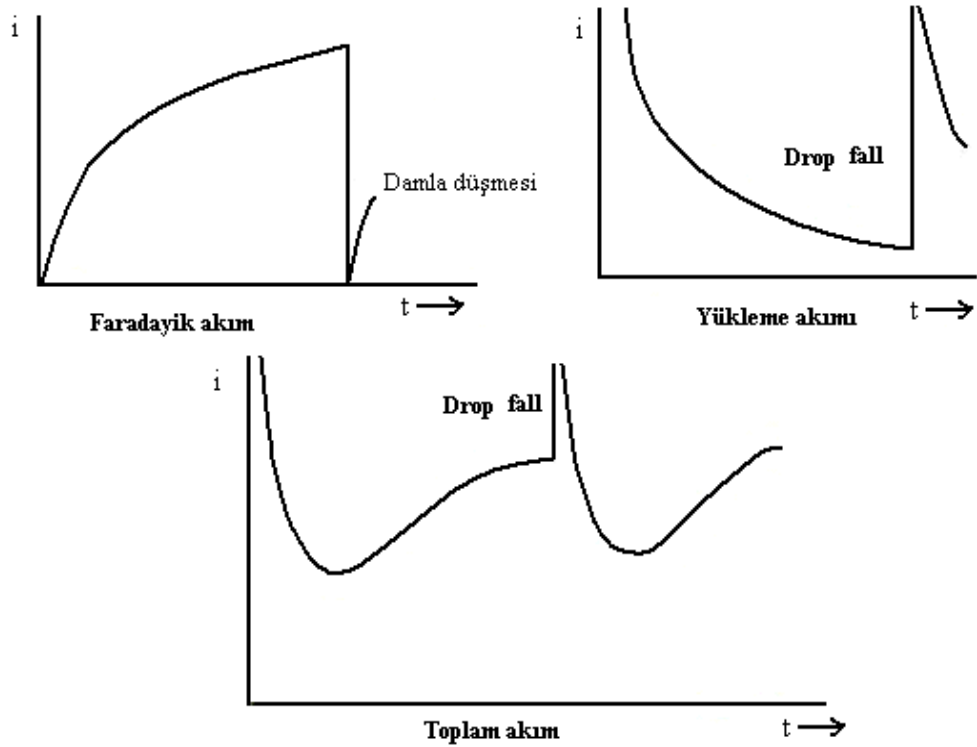
Şekil 3.6. Diferansiyel puls polarografisinde her damla için potansiyel polarogramı



Şekil 3.7. Diferansiyel puls polarografisinde tek bir damlanın gelişimi.

Diferansiyel puls polarogramının bir üstünlüğü, yarı dalga potansiyelleri 0,04 V ile 0,05 V kadar farklı olan maddeler için bile pik maksimumları elde edilmesidir. Oysaki; klasik ve normal puls polarografisi için dalga potansiyel farkı en az 0,2 V olmalıdır, aksi takdirde dalgalarda iyi bir çözüm elde edilemez. Ancak daha da önemlisi, diferansiyel puls polarografisi yöntemin duyarlılığını artırır. Diferansiyel puls polarografisinin yüksek duyarlılığı iki sebebe dayandırılabilir. Bunlardan birincisi, faradayik akımın artması, ikincisi ise kapasitif akımın azalmasıdır. Birincisini açıklamak için, potansiyel aniden 50 mV arttırıldığında elektrodu çevreleyen yüzey tabakasında meydana gelen olayları inceleyelim. Bu tabakada elektroaktif bir tür var ise, analit derişimini yeni potansiyel tarafından istenen seviyeye düşürecek bir akım artışı gözlenir. Fakat bu potansiyel için gerekli olan denge derişimine erişilince, akım difüzyonu karşılayacak bir seviyeye düşer ki, buna difüzyon kontrollü akım denir.

Klasik polarografide başlangıçtaki bu akım artışı gözlenmez, çünkü ölçümün yapıldığı süre, bu anlık akımın süresinden büyüktür. Diğer taraftan puls polarografisinde akım ölçümü, bu akım artışı tamamen sona ermeden önce yapılır. Böylece ölçülen akım hem difüzyon kontrollü bir bileşeni hem de yüzey tabakasındaki derişimi Nernst Eşitliği'nin gerektirdiği bir değere indirecek bir bileşeni içerir. Yani toplam akım difüzyon akımından birkaç kat daha büyüktür. Damla düşünce, çözeltilinin yeniden analit yönünden homojen hale geldiğine dikkat edilmelidir. Dolayısı ile, verilen herhangi bir potansiyel değerinde, her bir potansiyel pulsuna eşlik eden benzer bir akım artışı olur. Elektroda potansiyel pulsı ilk uygulandığında, damla üzerindeki yük arttığı için faradayik olmayan akımda da bir dalgalanma olur. Bu akım zamanla üstel olarak azalır ve yüzey alanının çok az değiştiği damla ömrünün sonuna doğru sıfıra yaklaşır. Dolayısıyla akımı bu anda ölçmek sureti ile faradayik olmayan artık akım büyük oranda azaltılır ve sinyal/gürültü oranı da artar. Bunun sonucunda duyarlılık artar. Diferansiyel puls polarografisinde tersinir elektrot reaksiyonlarında  $1 \times 10^{-8}$  M, tersinmez elektrot reaksiyonlarında ise  $5 \times 10^{-8}$  M madde tayini yapılabilmektedir. Destek elektrolit derişimi normal puls polarografisine göre daha az olup  $1 \times 10^{-2}$  M yeterlidir. Diferansiyel puls polarografisi tekniğinin normal puls polarografisinden farkı burada puls genliğinin sabit olmasıdır ve belli bir sürede doğrusal olarak artan bir potansiyel üzerine bindirilmiştir. Puls genliği 50-100 mV olabilir. Diferansiyel puls polarografisinde puls uygulamasının damla sonuna doğru yapılmasının nedeni damla büyüklüğünün maksimum olduğu anda faradayik akımın da maksimum, kapasitif akımın ise minimum olmasıdır (Şekil 3.8). Ayrıca pulslar damlayan cıva elektroduna damlama süresinin sonuna doğru uygulandığı için puls süresi içinde elektrodun alanı çok az değişir.



Şekil 3.8. Damlayan cıva elektrodunda damla ömrüne göre faradayik ve kapasitif akımın kıyaslaması.

### 3.1.3. Polarografide Nitel Analiz

Polarografi çalışmalarında uygulanan potansiyele karşı ölçülen akım grafiğe geçirildiğinde elde edilen S-dalgasından nitel analiz yapılır. Dalga yüksekliğinin yarısına karşılık gelen potansiyele ( $I_{d/2}$ 'ye karşılık gelen potansiyel) yarı dalga potansiyeli denir ve  $E_{1/2}$  ile gösterilir. Polarogramlardan ölçülen  $E_{1/2}$  değerleri, belirli bir ortamda her elektroaktif madde için nitel bir özellik taşır. Eğer iki ayrı türün  $E_{1/2}$ 'leri aynı ortamda aynı ise, yani pikleri çakışıyorsa, destek elektrolit ya da pH'nın değiştirilmesiyle veya kompleksleştirici ilavesiyle bu pikler birbirinden ayrılabilir. Voltametri de akım potansiyel ilişkisi ilk kez Heyrovsky ve İlkoviç tarafından türetilmiştir ve bu eşitlik "Heyrovsky-İlkoviç Eşitliği" olarak bilinir:

$$E = E_{1/2} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{id-i}{i} \quad (3.2)$$

Burada;

$E$  : Uygulanan potansiyel (mV)

$E_{1/2}$  : Yarı dalga potansiyeli (mV)

$i$  : Akım şiddeti ( $\mu\text{A}$ )

$i_d$  : Difüzyon akımı ( $\mu\text{A}$ )

$n$  : Aktarılan elektron sayısı

$F$  : Faraday sabiti (96500 C/mol)

Ölçülen akım şiddeti  $i$ , difüzyon akımının yarısına eşit olduğunda yani  $i = i_{d/2}$  olduğunda;  $\log[(i_d - i) / i] = 0$  olur. Bunun sonucunda da  $E = E_{1/2}$  olur. Yarı dalga potansiyeli  $E_{1/2}$  belirli bir tür için sadece ortamın pH'sına ve destek elektrolitin cinsine bağlıdır. Elektroaktif maddenin derişimine bağlı değildir. İki elektroaktif maddenin birbirinden ayrık polarografik dalga verebilmeleri için bunların  $E_{1/2}$  değerleri arasında 100 mV'tan fazla bir farkın olması gerekir. Bu farkın 100 mV'tan daha az olduğu durumlarda iki dalga birbiri ile örtüşür. Örtüşen dalgalar ortamın pH'sını veya destek elektrolit türünü değiştirerek ya da ortama analizi yapılacak maddelerden biri ile kompleks oluşturabilen bir ligand ekleyerek birbirinden ayrılabilir.

### 3.1.4. Polarografide Nicel Analiz

Polarografide difüzyon akımı, sınır akımı ile artık akım arasındaki farktır ve büyüklüğü elektroaktif türün derişimi ile doğru orantılıdır. Ayrıca polarografik ve voltametik analizlerde analitin ihmal edilecek kadar az kısmı elektrolizlendiğinden, madde tüketimi söz konusu değildir. Bu yüzden difüzyon akımı nicel analizde kullanılır. İlkviç difüzyon akımının nelere bağlı olduğunu incelemiş ve

$$I_d = 607 n D^{1/2} m^{2/3} t^{1/6} C \quad (3.3)$$

denklemini türetmiştir. Burada;

$I_d$  : Difüzyon akımı ( $\mu\text{A}$ )

$D$  : Difüzyon katsayısı ( $\text{cm}^2/\text{s}$ )

$m$  : Cıva akış hızı ( $\text{mg/s}$ )

$t$  : Bir damlanın kopma süresi (s)

$C$  : İndirgenen maddenin derişimi (mmol/L)

$n$  : Aktarılan elektron sayısı

Belirli bir analit için sabit şartlarda (sıcaklık, cıva akış hızı, damla ömrü)  $k = 607 \text{ nD}^{1/2} \text{ m}^{2/3} \text{ t}^{1/6}$  olup akım sadece derişime bağılı olur ve derişimle akım arasındaki ilişki aşığıdaki formülde verildiğı gibi basitleştirilebilir.

$$I_d = k \cdot C \quad (3.4)$$

Polarografide nicel analiz için aşığıdaki yöntemler kullanılır;

*Doğrudan karşılaştırma yöntemi* : Tayini yapılmak istenen analitin bilinen derişimde bir çözeltisi hazırlanır (standart çözeltisi) ve polarogramı alınır. Daha sonra derişimi hesaplanmak istenen çözeltinin polarogramı alınır. Her iki polarogramdan elde edilen difüzyon akımları karşılaştırılır ve orantı yolu ile bilinmeyen derişim hesaplanır.

*Kalibrasyon grafiğı yöntemi*: Tayini yapılmak istenen analitin saf hali alınıp bundan bilinen derişimlerde standart çözeltiler hazırlanır. Daha sonra her birinin polarogramı alınır ve difüzyon akımları ölçülür. Derişimlere karşılık gelen difüzyon akımları grafiğı geçirilerek kalibrasyon doğrusu elde edilir. Bilinmeyen derişimdeki çözeltinin de polarogramı alınarak difüzyon akımı ölçülür ve elde edilen bu akım değerine karşılık gelen derişim kalibrasyon doğrusundan bulunur.

*Standart ilave yöntemi*: Tayini yapılmak istenen analit çözeltisinin polarogramı alınıp difüzyon akımı ölçülür. Daha sonra bu analit çözeltisine, aynı maddenin bilinen derişimdeki çözeltisinden bilinen hacimlerde ilaveler yapılarak her ilaveden sonra polarogramlar alınır. Difüzyon akımları ölçülerek derişime karşı grafiğı geçirilir. Elde edilen doğrunun derişim eksenini kestiğı noktanın akım eksenine olan uzaklığı bilinmeyen derişimine karşılık gelir [50].

*İç standart ilave yöntemi*: İç standart, bir analizde belirli miktarda numuneye ve kalibrasyon standartlarına ilave edilen maddedir. Bu yöntemle hem sistematik hem de rastgele hataların giderilmesi mümkündür. Gerek kalibrasyon doğrusu yöntemi ile çalışırken, gerek standart ekleme yöntemi kullanılırken cıva kolonunun yüksekliğı, yani cıvanın kapilerden akış hızı değıştirilmemelidir. Kalibrasyon doğrusu oluşturulurken ortamın aynı iyonları içermesine dikkat edilmelidir. Standart ekleme yöntemi

kullanılırken bazen ortama derişimi bilinen başka bir iyon eklenir ve bu iç standardın difüzyon akımı ile bilinmeyen derişimdeki maddenin difüzyon akımları birbiriyle karşılaştırılır. İç standart ekleme yöntemi ile iki kez polarogram elde etmek yeterlidir. Özellikle karışımların analizinde, iç standart ekleme yöntemi kullanmak daha uygundur. Sabit miktarda iç standart ve değişen miktarda analizi yapılacak madde içeren bir dizi çözelti ile kalibrasyon doğrusu da oluşturulabilir. Bu doğrunun analizde kullanılabilmesi için iç standardın kantitatif analizin yapılacağı çözeltiye de aynı miktarda eklenmesi gerekir. Bu tür bir yöntemin kullanılması ile, yapılan ölçümlerin ortamın sıcaklığında ve viskozitesinde olabilecek değişmelerden etkilenmesi önlenmiş olur.

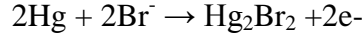
### **3.1.5. Polarografinin Uygulamaları**

Geçmişte normal polarografi, biyolojik ve biyokimyasal önemi olan birçok madde de dahil olmak üzere çok sayıda organik ve inorganik türün kantitatif tayininde kullanılıyordu. Günümüzde yüksek duyarlılığı, kolaylığı ve seçiciliğinden dolayı puls yöntemleri, klasik yöntemlerin hemen hemen yerini almıştır.

#### **3.1.5.1. İnorganik Uygulamalar**

Polarografik yöntem, inorganik maddelerin analizinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Örneğin bir çok metal katyonu, damlayan cıva elektrotta indirgenir. Hatta destek elektrolitin yüksek potansiyellerde reaksiyona girmesi kaydıyla alkali ve toprak alkali metaller bile indirgenebilir; burada yüksek indirgenme potansiyellerinden dolayı destek elektrolit olarak genelde tetra alkil amonyum halojenürler kullanılır. Katyonların başarılı bir şekilde polarografik tayini, çoğunlukla kullanılan destek elektrolite bağlıdır. Destek elektrolitin akıllıca seçimi, yöntemin seçiciliğini büyük oranda artırır. Örneğin destek elektrolit olarak KCl kullanılması durumunda demir(III) ve bakır(II) iyonları için elde edilen dalgalar birbiri üzerine bozucu etki yapar; ancak florür ortamında, demir(III)'ün yarı dalga potansiyeli -0,5 V değişirken, bakır(II)'nin yarı dalga potansiyeli bir voltun yüzde birkaçı gibi değişir. Dolayısı ile ortamda florür iyonu olduğunda, bu metal iyonları için birbirinden iyi bir şekilde ayrılmış iki dalgalı bir polarogram elde edilir.

Cıva ile suda çözünmeyen bileşikler veya kompleksler veren anyonlarda (halojenürler, siyanür, sülfasiyanür, tiyosülfat gibi) anodik polarogram verirler.



Böyle polarogramlarda difüzyon akımı anyona aittir. Ayrıca oksijen, hidrojen peroksit, kükürt dioksit gibi molekülleri yapılarında bulunduran inorganik maddelerin de polarogramları alınabilir. Polarografik yöntem bromat, iyodat, dikromat, vanadat, selenit ve nitrit gibi inorganik anyonların analizinde de kullanılabilir. Genellikle, bu maddelerin polarogramları çözeltinin pH'sından etkilenir, çünkü bunların indirgenmelerinde hidrojen iyonu rol alır. Tekrarlanabilir veriler elde etmek için ortamın sabit bir pH'ya tamponlanması gereklidir.

### 3.1.5.2. Organik uygulamalar

Bulduğundan beri polarografik yöntemler, organik bileşiklerin incelenmesinde ve analizinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Birçok fonksiyonel grup damlayan cıva elektrotta indirgenir. Böylece çok sayıda organik bileşiğin tayini mümkün olur. Bunun yanı sıra bir damlayan cıva elektrotta yükseltgenebilen fonksiyonel grupların sayısı, bağıl olarak sınırlıdır. Çünkü cıvanın yükseltgenmesinden dolayı, +0,4 V'tan (DKE'a karşı) daha büyük anodik potansiyeller uygulanamaz. Ayrıca yükseltgenebilir fonksiyonel gruplar platin, altın veya karbon mikro elektrotla voltametrik olarak çalışılabilir. Organik maddeler genellikle suda çözünmediklerinden, bunların polarogramları sulu organik çözücülerde gerçekleştirilirler. Destek elektrolit olarak da genellikle lityum ve tetraalkil amonyum tuzları kullanılır.

#### *Aktif fonksiyonel gruplar*

Aşağıdaki fonksiyonel gruplardan herhangi birini içeren organik bileşiklerin bir veya daha fazla polarografik dalga vermesi beklenebilir.

1. Karbonil grubu; Karbonil grubu içeren aldehitler, ketonlar ve kinonlar polarografik dalgalar oluşturur. Genellikle aldehitler ketonlara göre daha düşük potansiyellerde



indirgenir; karbonil çift bağının konfigürasyonunda daha düşük yarı dalga potansiyellerine neden olur.

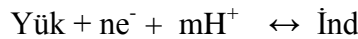
2. Bazı karboksilik asitler; Basit alifatik ve aromatik monokarboksilik asitler polarografik olarak indirgenirler. Karboksil gruplarının bir diğeri ile konjuge olduğu fumarik, maleik veya ftalik asit gibi dikarboksilik asitler karakteristik polarogramlar verir.
3. Peroksit ve epoksitler; Peroksit ve epoksitlerin bir kısmı polarogram verir.
4. Nitro, nitroso, amin oksit ve azo grupları; Bu gruplar genellikle damlayan cıva elektrot yüzeyinde indirgenirler.
5. Birçok organik halojen grubu; Halojen grubunun bir hidrojen atomu ile yer değiştirmesinden kaynaklanan bir polarografik dalga oluşturur.
6. Karbon/karbon çift bağı; Bu grup ancak, başka bir çift bağı, bir aromatik halkaya veya doymamış bir gruba konjuge olduğunda indirgenir.
7. Hidrokinonlar ve merkaptanlar; Bu gruplar yükseltgenerek anodik dalgalar oluştururlar.

Ayrıca, çok sayıdaki diğeri organik gruplar, analiz için kullanılacak katalitik hidrojen dalgalarına sebep olur. Bunlar; aminler, merkaptanlar, asitler ve heterosiklik azot bileşiklerini içerir [51].

### 3.1.6. Polarografik Analizi Etkileyen Parametreler

#### 3.1.6.1. Elektrot Reaksiyonları Üzerine Çözelti pH'sının Etkisi

Polarografide pH oldukça önemlidir. Birçok maddenin tayininde polarografiden faydalanılır. Organik maddelerin elektrotlarda indirgenmesi hidrojen iyonu ile olur. Nötral bir moleküle elektron katılması olurken hidrojen katılması da oluşabilir.



Bu tip tersinir bir reaksiyon için yazılacak Nernst eşitliğinde hidrojen iyonu da bulunacaktır.

$$E = E^0 + \left(\frac{RT}{nF}\right) \ln \left( \frac{C^{\text{yük}} C_{\text{H}^+}^m}{C^{\text{ind}}} \right) \quad (3.5)$$

Eşitlik 3.5'te görüldüğü gibi potansiyel, çözeltinin pH'sına bağlı olarak değişir. Dolayısıyla polarografik yarı dalga potansiyeli de pH'ya bağlıdır. Burada m, hidrojen iyonu sayısıdır. pH arttıkça, hidrojen iyonu azalacağından, yarı dalga potansiyeli daha negatif değere kayar. pH ile  $E_{1/2}$  arasındaki ilişkiden yararlanarak potansiyeli belirleyen adımdan önce ve potansiyel adımında hidrojen iyonu sayısı belirlenir.

$$E_{1/2} = E_{\text{abt}} + \frac{RT}{nF} \ln C_{\text{H}^+}^m \quad (3.6)$$

$$E_{1/2} = E_{\text{abt}} - \frac{RT}{nF} \ln C_{\text{H}^+}^m \quad (3.7)$$

Çoğu organik maddelerde, pH değiştiğinde reaksiyon mekanizması da değişir. Bazı organik maddeler ise ortamın asidik veya bazik olmasına göre elektroaktif veya elektroinaktif olabilirler. Çok basamaklı reaksiyonlarda ise, pH'ya bağlı olarak bazen bir veya birkaç dalga gözlemek mümkündür.

### 3.1.6.2. Destek Elektrolitin Seçimi

Destek elektrolit olarak genellikle KCl, HCl, NaOH, zayıf asit ve bazların tampon çözeltileri ve susuz ortamda trialkilamonyum tuzları kullanılır. Destek elektrolit hücrenin elektriksel direncini düşürerek ihtiyaç duyulan iletken ortamın sağlanmasına yardımcı olur, bazen de ortamda tampon görevi yapar. Ayrıca bazen ortamdaki bazı iyonları kompleksleştiren iyon görevi de görebilir. Ortama, destek elektrolit ilave edilerek, elektrot ve analiz edilecek madde arasındaki itme ve çekme kuvvetleri bertaraf edilir. Destek elektrolitin iyonları, çalışma potansiyeli aralığında inert olduğundan, analiz edilecek maddelerin yerine itilir ve çekilirler. Böylece polarogramı alınmak istenen elektroaktif maddenin elektrot yüzeyine sadece difüzyon yolu ile taşınması sağlanır.

Polarografik tekniklerde kullanılan destek elektrolit yeterince saf olmalıdır. Ayrıca destek elektrolit çalışma elektrodunun çalışma potansiyel aralığını daraltır nitelikte olmamalıdır. Başka bir deyişle, destek elektrolit anyonu, elektrodun metal iyonu ile kompleks oluşturmamalı, katyonu veya çözücüyü indirgeyerek katodik bölgeyi daraltmamalıdır. Bunların dışında eğer örnekte birden fazla analit varsa ve bunlardan

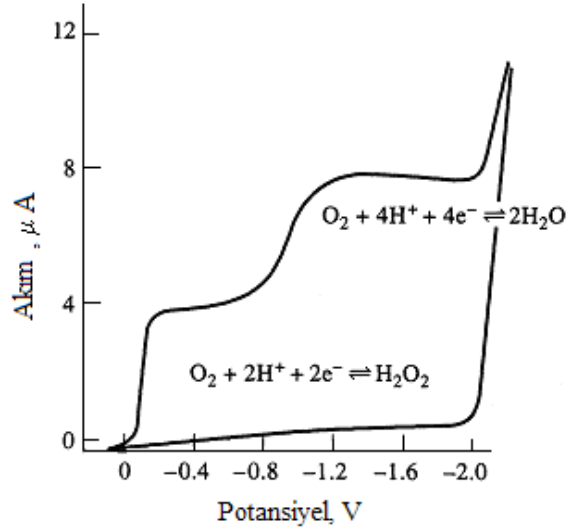
bazılarının voltametrik dalgaları çakışyorsa, destek elektrolit bu çakışmayı giderici özellikte olmalıdır.

### **3.1.6.3. Polarografik Maksimumların Giderilmesi**

Damlayan cıva elektrotla çalışıldığında, polarografik dalgaların sınır akım bölgelerinde ani ve derişimle doğrusal olarak değişmeyen akım değişimlerinden ibaret olan ve polarografik maksimum denilen tepecikler oluşur. Bunlar genellikle iki türdür. Ya hemen sınır akımla birlikte oluşurlar (birinci tür) ya da eğrinin düzlük kesiminde kambur biçiminde oluşurlar (ikinci tür). Maksimumlar diğer elektrotlarda oluşmaz. Bu oluşumun potansiyel ve yüzeydeki yük dengesi değişimine bağlı olarak çözeltinin elektrot yüzeyindeki hidrodinamik akışından kaynaklandığı sanılmaktadır. Maksimumların yüksekliği derişimle doğru orantılı olmadığı gibi, bu oluşumlar difüzyon akımının sağlıklı ölçülmesini de engeller. Bu nedenle giderilmesi gerekir. Ortama jelatin, triton X-100, metil kırmızısı gibi yüzey aktif maddeler katılarak giderilmeleri sağlanır. Yüzey aktif maddelerin aşırısı, sınır akım yüksekliğini de düşürdüğünden, ortamdaki derişimleri % 0,002 - % 0,001 aralığında olmalıdır. Tüm çalışma boyunca düzeyi sabit tutulmalıdır.

### **3.1.6.4. Oksijenin Uzaklaştırılması**

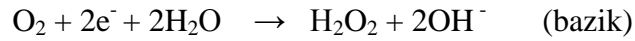
Atmosfer % 20 oranında oksijen içerdiğinden, 25 °C suda yaklaşık  $10^{-4}$  mol/L ya da 30 ppm kadar oksijen çözünür. Oksijen elektroaktif bir madde olup sulu ortamda iki basamaklı bir indirgenme tepkimesi verir. Polarogram hem asidik hem de bazik ortamda meydana gelir.



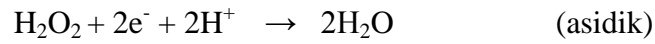
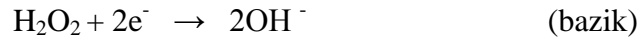
Şekil 3.9. Oksijenin polarogramı.

Tepkimeler iki aşamada gerçekleşir.

Birinci basamak tepkimeleri,



İkinci basamak tepkimeleri ise,



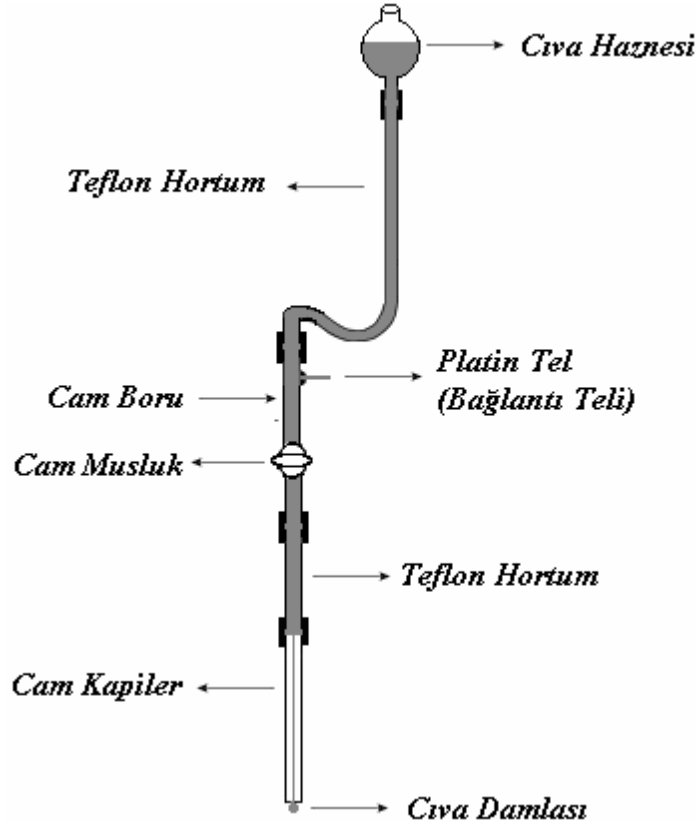
'dir. Bu tepkimelerin indirgenme potansiyelleri damlayan cıva elektrodunun (DME) çalışma aralığına denk düşer. Yukarıdaki tepkimeler polarografide iki çeşit probleme neden olurlar:

1. İndirgenme tepkimelerine ait polarogramlar da aynı çalışma aralığına düştüğünden bu bölgede alınan polarogramlar maskelenir ve iyi bir ayırma gözlenemez.
2. Oksijenin indirgenmesi sonucu oluşan  $H_2O_2$  ve  $OH^-$  elektroaktif maddeyle tepkime verebilir ve elektrot tepkimesini etkiler. Bu nedenlerle çözelti içinde bulunan çözünmüş oksijenin uzaklaştırılması gerekir. Bunun için maddenin polarogramı alınmadan önce çözelti içinden inert bir gaz olan azot gazı geçirilir [52]. İntert gaz geçirme süresi; 2-30 dakika kadardır. Pratikte, oksijene ait bu dalgalar tamamen kaybolana dek gaz geçirme işlemi sürdürülür. Ayrıca çalışma süresince sisteme atmosferik oksijenin difüzyonunu

önlemek amacıyla, çözelti inert gaz atmosferinde tutulur. Bazik çözeltilerle çalışıldığında, oksijen sodyum sülfid ile de giderilebilir.

### 3.1.6.5. Damlayan Cıva Elektrodu

Polarografide çalışma elektrodu olarak damlayan cıva elektrodu kullanılır. Bu elektrot ilk defa 1923 yılında Heyrovsky tarafından bulunmuştur. Genellikle iç çapı yaklaşık 0,05 mm ve uzunluğu 5 - 10 cm olan bir cam kapiler şeklindedir. Bu kapiler borunun bir ucu 1-50 mL kadar çözelti bulunan bir hücreye daldırılır, diğer ucu bir cıva haznesine bağlanır. Cıva, çözelti içerisine kapilerin yukarısında bulunan cıva sütununun hidrostatik basıncıyla, damlalar halinde düşer (Şekil 3.10). Damla büyüklüğü kılcal borunun iç yarıçapı ve damla süresi ile değişir.



Şekil 3.10. Damlayan cıva elektrot sistemi.

Damlayan cıva elektrodunun başlıca avantajları şöyle sıralanabilir [53].

1. Cıva geniş bir potansiyel aralığında soy metal özelliği gösterir. Üzerinde hidrojenin aşırı gerilimi büyük olduğundan oldukça negatif potansiyellerde çalışılabilir.

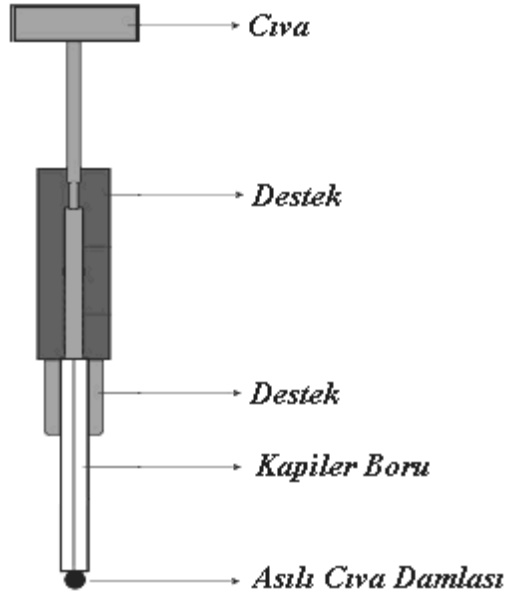
2. Elektrot her zaman taze yüzeye sahip olduğundan elektrokimyasal olay tekrarlanabilir özelliktedir.
3. Oluşan akım, dolayısıyla elektrokimyasal değişime uğrayan madde miktarı çok az olduğundan küçük hacimli çözeltilerde çalışabilir ve deney çok defa tekrar edilebilir.
4. Yüzeyi kolayca hesaplanabilir.
5. Oda sıcaklığında sıvı olduğundan homojen yüzeye sahiptir.

Damlayan cıva elektrodun bazı dezavantajları da vardır. Bunlar;

1. Cıva kolaylıkla yükseltgenir. Bu özelliği cıvanın anot olarak kullanılmasını büyük ölçüde sınırlar. +0,4 V'un üstündeki potansiyellerde, cıva(I) iyonu meydana gelir. Bu iyonun meydana geliş dalgası anotta yükseltgenebilen türlerin dalgalarını büyük ölçüde karıştırır. Ortamda şayet cıva(I) iyonu ile çökelek veya kompleks verecek iyonlar varsa, cıvanın yükseltgenmeye başlaması daha düşük potansiyellerde bile görülebilir.
2. Damlayan cıva elektrodun istenmeyen bir diğer yanı artık akım vermesidir.
3. Damlayan cıva elektrotta bazen kapiler tıkanmaları meydana gelebilir [ 54].

### **3.1.6.6. Asılı Cıva Damla Elektrodu**

Asılı cıva damlası elektrotlar (ACDE veya HMDE) tıpkı damlayan cıva elektrotlarda olduğu gibi cıva içeren bir hazneye bağlı çok ince bir kapiler cam borudan yapılırlar (Şekil 3.11). Damla bir vida düzeneği yardımıyla kılcal borunun ucunda oluşturulur. İstenilen büyüklükteki cıva damlası vidanın belli bir oranda döndürülmesi ile elde edilir.



Şekil 3.11. Asılı cıva damlası elektrot.

### 3.1.6.7. Referans Elektrotlar

Potansiyel ölçüm aletleri, sadece potansiyeldeki farkı ölçtüğünden tek bir elektrotla mutlak potansiyel ölçülemez. Bu nedenle potansiyel, sisteme bağlı ikinci bir elektrot olan referans (karşılaştırma) elektroda karşı ölçülür. Bu elektrotlar standart elektrotlar olarak adlandırılırlar. Bunların potansiyeli çalışılan çözeltiliye bağlı değildir. Ancak sıcaklıkla çok az bir değişim gösterebilirler. İdeal bir referans elektrot:

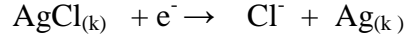
- 1) Tersinir olmalıdır ve Nernst eşitliğine uymalıdır.
- 2) Zamanla değişmeyen bir potansiyele sahip olmalıdır.
- 3) Küçük akımlar uygulandıktan kısa bir süre sonra ilk potansiyeline dönebilmelidir.
- 4) Sıcaklık değişimine çok küçük tepkiler vermelidir.

Tüm bu özellikleri taşıyan referans elektrot olmasa da bu değerlere en yakın olanı tercih edilmelidir.

#### *Gümüş/gümüş klorür (Ag/AgCl) elektrodu*

Ag/AgCl elektrodu seyreltik HCl çözeltisine batırılmış gümüş tele yükseltgeyici bir potansiyel uygulanarak hazırlanır. Böylece tele sıkıca bağlanmış ince bir tabaka halinde AgCl oluşur. Bu tel doygun KCl çözeltisine batırılır. Ancak AgCl aşırı klorürlü ortamda

kompleks oluşturacağından, KCl çözeltisi kompleks AgCl'le doyurulmalıdır. Bu elektrodun potansiyeli standart hidrojen elektroduna karşı ölçüldüğünde yaklaşık +0,2 V'dur. Elektrodun yarı-reaksiyonu;

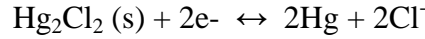


şeklindedir.

Bu elektrotlar 60 °C'ın üzerindeki sıcaklıklarda kullanılabilirler (275 °C'da bile çalışılabilir). Ancak gümüş iyonları proteinler gibi bazı maddelerle reaksiyon verebildiğinden elektrotla analit çözeltisinin bağlantısının kesilmesi gereklidir.

#### *Kalomel Referans Elektrot*

Kalomel (Hg<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) ve Hg'dan oluşmuş bir karışım olup, metalik cıva ve KCl çözeltisinden meydana gelir. Hazırlanması oldukça kolaydır. Bu elektrodun potansiyeli, klorür iyonlarının aktifliğine bağlıdır. Doygun kalomel elektrodun elektrot potansiyeli 25 °C'de standart hidrojen elektroduna göre +0,244 V'tur. Oluşan elektrot tepkimesi;



şeklindedir.

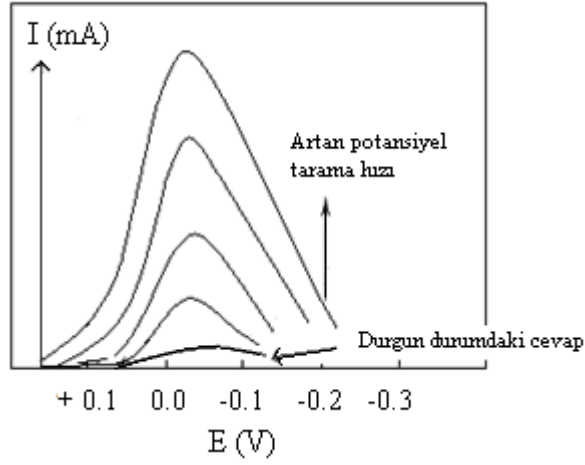
### **3.1.7. Potansiyel Tarama Teknikleri**

#### **3.1.7.1. Doğrusal Taramalı Voltametri (LSV)**

Durgun bir çözeltide çalışma elektrodu ile karşılaştırma elektrodu arasına 2-5 mV/s'lik tipik bir hızla doğrusal olarak artan bir potansiyel uygulanır. Bu sırada elektrotlardan geçen akım ölçülür. Potansiyel taraması durgun bir çözeltide yapıldığından konveksiyonla madde taşınması söz konusu değildir.

Doğrusal taramalı voltametri çalışmada çalışma elektroduna uygulanan potansiyel sıfırdan veya istenilen bir potansiyelden başlanarak istenilen potansiyele (E<sub>2</sub>) kadar değişik tarama hızlarında taranır. Şekil 3.12' de farklı tarama hızlarında alınan örnek bir voltamogram verilmiştir.





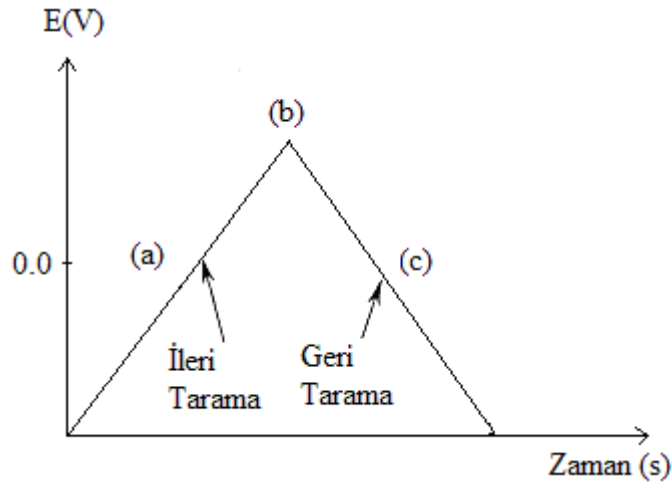
Şekil 3.12. Farklı potansiyel tarama hızlarında LSV voltamogramları.

Doğrusal taramalı voltametri de akım belli bir potansiyel değerine kadar artmakta ve bir maksimumdan sonra maddenin elektrot yüzeyine aktarımının yeterli hızda olmaması nedeniyle azalmaktadır. Akımın bu noktadan sonra azalması potansiyel taraması durdurulsa bile aynı şekilde olmaktadır.

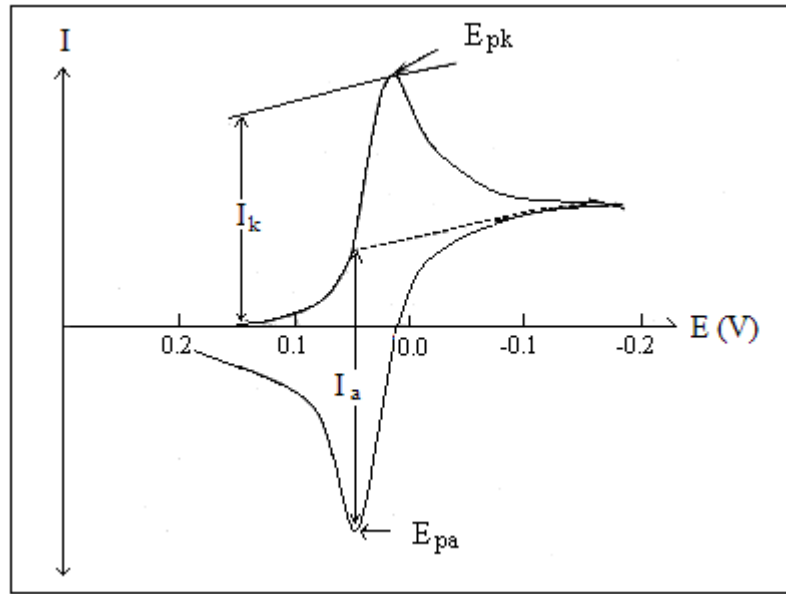
### 3.1.7.2. Dönüşümlü Voltametri (DV)

Dönüşümlü voltametri, elektroaktif maddelerin çalışılmasında kullanılan en yaygın metotlardan biridir. Bu metot genellikle bir bileşiğin, bir biyolojik materyalin veya bir elektrot yüzeyinin elektrokimyasal çalışmasında ilk uygulanan metottur. Dönüşümlü voltametri sonuçlarının geçerliliği, geniş bir potansiyel aralığında indirgenme-yükseltgenme olaylarının hızlı bir şekilde gözlenebilmesine dayanır.

Bir dönüşümlü voltamogram, potansiyel taraması süresince çalışma elektrodunda akımın ölçülmesiyle elde edilir. Akım, uygulanan potansiyele karşı ölçülen bir cevaptır. Bir dönüşümlü voltamogram elde etmek için, elektrot çözelti ara yüzeyine uygulanan potansiyel uyarı sinyalinin zamanla değişimi Şekil 3.13' te gösterilmiştir.



Şekil 3.13. Dönüşümlü voltametri uygulanan tipik bir potansiyel uyarı sinyali.



Şekil 3.14. Örnek DV voltamogramı.

Dönüşümlü voltametri ileri yönde tarama yapılırken madde indirgeniyorsa katodik bir pik ( $E_{pk}$ ), geri yöndeki potansiyel taramasında da bu indirgenmiş maddenin elektrotta tekrar yükseltgenmesinden dolayı anodik bir pik ( $E_{pa}$ ) gözlemlenebilir (Şekil 3.14).

Dönüşümlü voltametri kapasitif akımın en düşük olduğu bölgede çalışılır. Duyarlılık  $10^{-5}$  ile sınırlıdır. Yapılan taramanın hızı değiştirilebilir. Bunun sonucunda oluşan pik maksimumlarında, şekil değişikliği ve kaymalar olabilir. Voltamogramlarda gözlenen pik şekillerinden, çalışılacak maddenin hangi potansiyelde en uygun cevabı vereceği

anlaşılır. Dönüşümlü voltamogramların şekli ve yapısında seçilen potansiyel aralığının yanı sıra seçilen tarama hızı ile yapılan tarama sayısının da etkisi vardır. Bir dönüşümlü voltamogramdaki indirgenme yükseltgenme arasındaki gerilim farkı  $\Delta E_p$  ile ifade edilir.  $\Delta E_p$  bu değere yakın ise dönüşümlü (tersinir), uzak ise dönüşümsüz (tersinmez) olarak adlandırılır.

Bu teknik prensip olarak redoks tepkimelerinin mekanizmalarını incelemek ve bileşiklerin redoks özelliklerini karakterize etmek için kullanılır. Ayrıca; biyosentetik reaksiyonların incelenmesinde ve elektrokimyasal olarak sentezlenen serbest radikallerle ilgili çalışmalarda, çeşitli komplekslerde ve organometalik bileşiklerde ligandın veya metal iyonunun özelliklerini aydınlatmak için kullanılmaktadır [55].

Dönüşümlü voltamogramların ayrıntılı incelenmesi ile bir sistemin hangi potansiyellerde ve kaç adımda indirgenip yükseltgendiğini, elektrokimyasal açıdan tersinir olup olmadığını, indirgenme ya da yükseltgenme ürünlerinin kararlı olup olmadığını, elektrot tepkimesinde rol alan maddelerin yüzeye tutunup tutunmadıklarını kolayca anlamak mümkündür. Elektrot tepkimesinin tersinirliği azaldıkça katodik ve anodik pikler birbirinden daha ayrı potansiyellerde ve daha yayvan olarak gözlenir. Bir başka deyişle  $\Delta E_p$  değerleri elektrot tepkimesinin hız sabitinin bir ölçüsüdür.

### *Tersinir Sistemler*

Elektroaktif madde ile ürün arasında dengenin hızlı kurulduğu sistemlere tersinir sistemler denir. Elektrot tepkimesinin hızını belirleyen iki faktör vardır. Bunlar; elektron transferi ve kütle taşınmasıdır. Bir elektrot tepkimesinin tersinir olup olmadığını belirleyen en temel faktör, elektron transfer işleminin hızıdır [56].

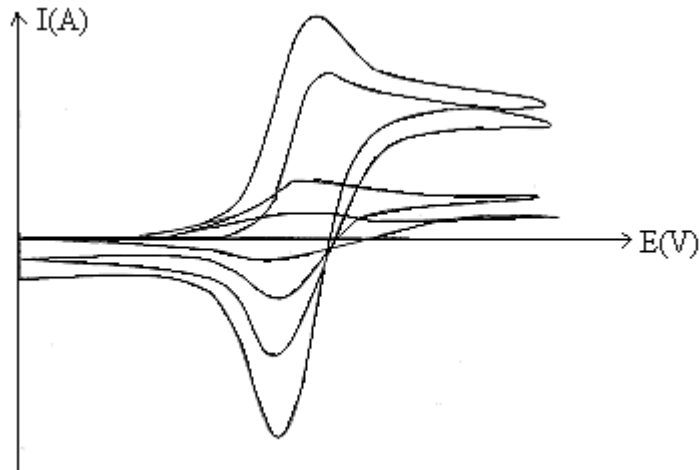
Tersinir sistemlerde potansiyel tarama hızı ileri yönde artırılarak, belli bir potansiyelden sonra sınır akımına ulaşılır. Bu noktadan sonra akım potansiyel ile değişmez. Potansiyel taraması ters yönde yapıldığında anodik pik gözlenir [57]. DV verileri ile tepkimenin tersinirlik testi yapılabilir. DV'de tersinir tepkimeler için pik akımı Randles-Sevcik eşitliği ile verilir

$$I_p = 2,69 \times 10^5 n^{2/3} A D^{1/2} C v^{1/2} \quad (3.8)$$

Bu eşitlikte,  $I_p$ , pik akımı (amper);  $n$ , alınan-verilen elektron sayısı;  $A$ , elektrot yüzey alanı ( $\text{cm}^2$ );  $D$ , difüzyon katsayısı ( $\text{cm}^2/\text{s}$ );  $C$ , konsantrasyon ( $\text{mol}/\text{cm}^3$ );  $v$ , tarama hızı ( $\text{V}/\text{s}$ ) olarak verilir [46].

Bu eşitliğe göre çizilen  $I_p - v^{1/2}$  grafiği doğrusal ve orjinden geçiyorsa sistem tersinirdir. Tersinir bir reaksiyonda katodik ve anodik pik akımları yaklaşık olarak birbirine eşittir. Gerçekte ise tersinir bir reaksiyonda anodik pik akımı katodik pik akımından biraz düşüktür. Bunun nedeni de elektroliz sırasında elektrodun yüzeyinde indirgenmiş olan elektroaktif maddenin bir kısmının çözeltiliye doğru difüzyonudur [55].

Tersinir sistemlerin birçoğunda eğer transfer edilen elektron sayısı ( $n$ ) biliniyorsa, bir dönüşümlü voltamogramdan birçok bilgi elde edilebilir. Eğer çalışılan ortam içinde iki elektroaktif tür bulunuyorsa veya elektroaktif madde iki basamakta yükseltgeniyor veya indirgeniyorsa, indirgenme ve yükseltgenmeye ait tarama bölgesinde iki pik görülür. Böyle bir sistem tersinir ve her bir elektron transfer basamağındaki  $n$  değerleri aynı ise pik akımları eşit yükseklikte olur. Tersinir bir elektrot reaksiyonu için örnek bir voltamogram Şekil 3.15'te görülmektedir.



Şekil 3.15. Tersinir bir elektrot reaksiyonu için farklı tarama hızlarında DV voltamogramları.

Normal polarografik ve voltametrik sonuçları kullanarak hızlı bir elektron transferinden sonra nispeten yavaş tersinir veya tersinir olmayan bir kimyasal reaksiyonun varlığını farketmek mümkün değildir. Dönüşümlü voltamogram ise böyle eşleşmiş bir kimyasal

reaksiyonun varlığını ilk bakışta gösterir. Çünkü eğer böyle bir durum varsa ve başlangıç maddesi de elektroaktif çiftin yükseltgenmiş türü ise, anodik pikin yüksekliğinden bir miktar daha azdır ya da anodik pik tamamen yoktur. Yine aynı şekilde dönüşümlü bir voltamogramdan, hızlı bir elektron transfer reaksiyonundan önce gerçekleşen nispeten yavaş bir kimyasal reaksiyonun varlığı da farkedilebilir [58-59].

### *Tersinmez Sistemler*

Eğer madde elektrotta tersinmez olarak indirgenir veya yükseltgenirse, elektrot yüzeyindeki elektron transfer mekanizması, yüksek bir aktivasyon enerjisine sahip yavaş bir basamağı içerir. Bu nedenle, elektrolizin meydana gelebilmesi için elektroda fazladan bir potansiyel uygulanmalıdır. Tersinmez sistemlerde elektron aktarım hızı yavaş olduğundan, Nernst eşitliği kullanılmaz. Bu durumda ters tarama yönünde yükseltgenme piki gözlenmez. Aynı durum, elektron aktarım basamağını takip eden çok hızlı bir kimyasal tepkime için de geçerlidir. Oluşan ürün hızlı bir şekilde başka bir maddeye dönüşeceğinden anodik pik gözlenmeyebilir.

### *Dönüşümlü Voltametriye Tersinirlik Testleri*

DV’de bir elektrot reaksiyonunun tersinir olup olmadığını belirlemek için bazı kriterler vardır [60]. Bunlar aşağıda özetlenmiştir:

Tersinir elektrot reaksiyonları için kriterler ;

1.  $\Delta E_p = E_{pa} - E_{pk} = 0,059 / n \text{ V}$
2.  $| I_{pa} / I_{pk} | = 1$
3.  $I_{pk}$  veya  $I_{pa}$ ,  $v^{1/2}$  ile doğrusal olarak değişir.
4.  $E_{pk}$  veya  $E_{pa}$   $v$ ’dan bağımsızdır.

Bir sistemin tersinir olması için yukarıdaki kriterlerin hepsinin geçerli olması gereklidir.  $I_p$  ve  $E_p$ ’nin  $v$  ile ilişkisi yeteri kadar geniş bir tarama hızı aralığında test edilmelidir. Yukarıdaki kriterlerden biri veya birkaçı geçerli değilse elektrot reaksiyonu ya tersinmez ya da kabul edilenden daha kompleks bir mekanizmaya sahiptir.

Tersinmez elektrot reaksiyonları için kriterler;

1. Anodik pik gözlenmez.
2.  $I_{pk}$ ,  $v^{1/2}$  ile doğrusal olarak değişir.
3.  $E_{pk}$ ,  $25^{\circ}C$ ' de tarama hızındaki 10 birimlik artmada  $-30/n$  mV'a kadar kayar.
4.  $E_p - E_{p/2} = 0,048 / \alpha n$  V'tur.

Tersinmez sistemlerde yukarıdaki kriterlerin tümünün sağlanması gereklidir [60].

Yarı - tersinir elektrot reaksiyonları için kriterler;

1.  $I_p$ ,  $v^{1/2}$  ile artar ancak doğrusal değildir.
2.  $I_{pa} / I_{pk} = 1$ 'dir ( eğer  $\alpha_k = \alpha_a = 0,5$  ise).
3.  $\Delta E_p$ ,  $0,059/n$  değerinden oldukça büyüktür ve tarama hızının artışı ile artar.
4.  $E_{pk}$ ,  $v$ 'nin artması ile negatif değerlere kayar.

Bazı durumlarda bir elektrot tepkimesini izleyen çözelti tepkimesinin ürünleri de elektroaktif ise dönüşümlü voltamogramlarda bunlara ait pikler de gözlenir ve böylece elektron aktarımına ait olayın mekanizması aydınlatılabilir.

### *DV'de Elektrot Yüzeyindeki Adsorpsiyonun İncelenmesi*

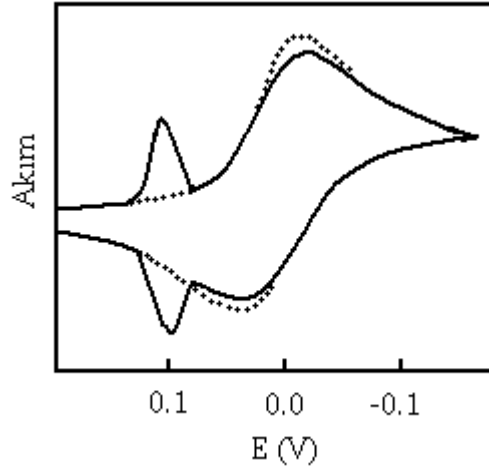
#### Çözünmüş ve Adsorbe Olmuş Türlerin Elektroaktif Olduğu Durumlar

Bu durum için kütle transferiyle ilgili kısmi diferansiyel denklemler kullanılacağı için matematiksel türetmeler oldukça karmaşıktır. Burada ya sadece adsorbe olmuş reaktantın (O) veya sadece adsorbe olmuş ürünün (R) tersinir elektron transfer reaksiyonu durumları incelenmektedir.

a) Ürünün (R) Kuvvetli Adsorpsiyonu:

Başlangıçta elektrot yüzeyindeki konsantrasyon, ana çözelti konsantrasyonu ile aynıdır ve R'nin adsorpsiyonu sıfırdır. Bu durumda, O ve R'nin difüzyon eşitlikleri, toplam madde göçü eşitliği, adsorpsiyon izotermi ve adsorpsiyon tersinir kabul edildiği için Nernst eşitliği ile çözülür. Bu çözümlerden elde edilen sonuçlar şöyle özetlenebilir. Bir ön dalga veya ön pik gözlenir ki bu pikin davranışı yalnız adsorbe olmuş türlerin

elektroaktif olduğu durumda gözlenen pikin davranışı ile aynıdır [60]. Bu pik difüzyon kontrollü pikten daha pozitif potansiyelerde gözlenir. Çünkü R'nin adsorpsiyon serbest enerjisi, O'nun adsorbe olmuş R'ye indirgenmesini, çözünmüş R'ye indirgenmesine göre kolaylaştırır. Adsorpsiyon olmadığı durumdaki dalgaya benzemesine rağmen difüzyon dalgasının şekli değişir (Şekil 3.16).

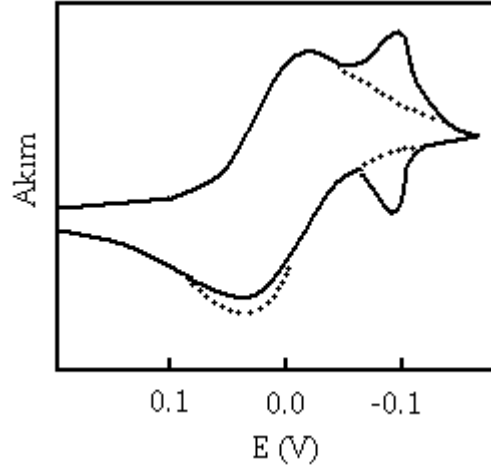


Şekil 3.16. Ürünün kuvvetli adsorpsiyonunda gözlenen ön pik.

Bu ön pikin yüksekliği tarama hızıyla doğru orantılı olduğu için ve difüzyon pikinin akımı ise tarama hızının karekökü ile arttığı için  $(i_p)_{ads}/(i_p)_{dif}$  oranı tarama hızı arttıkça artar.

#### b) Reaktantın (O) Kuvvetli Adsorpsiyonu:

Adsorbe olmuş O'dan dolayı arka pik gözlenir [61]. Bu arka pikin ortaya çıkma sebebi, adsorbe olmuş türün çözeltideki türe göre daha kararlı olmasıdır. Bu durumun genel tartışması ürünün (R) adsorpsiyonunda yapıldığı gibidir. İleri taramadaki difüzyon piki, O'nun adsorpsiyonundan etkilenmez. Çünkü tarama başlamadan önce elektrot yüzeyinden her uzaklıkta  $C_0(x,t)=C_0^*$  dur ve adsorpsiyon dengesine ulaştığı kabul edildiği için difüzyon dalgası değişmez. Çözünmüş "O" nun indirgenmesi muhtemelen hem serbest yüzeyde hem de adsorpsiyon tabakasında meydana gelir. Bu arka pikin şekli paraboliktir ve bir önceki bölümde tartışılan adsorpsiyon dalgasının özelliğini gösterir.



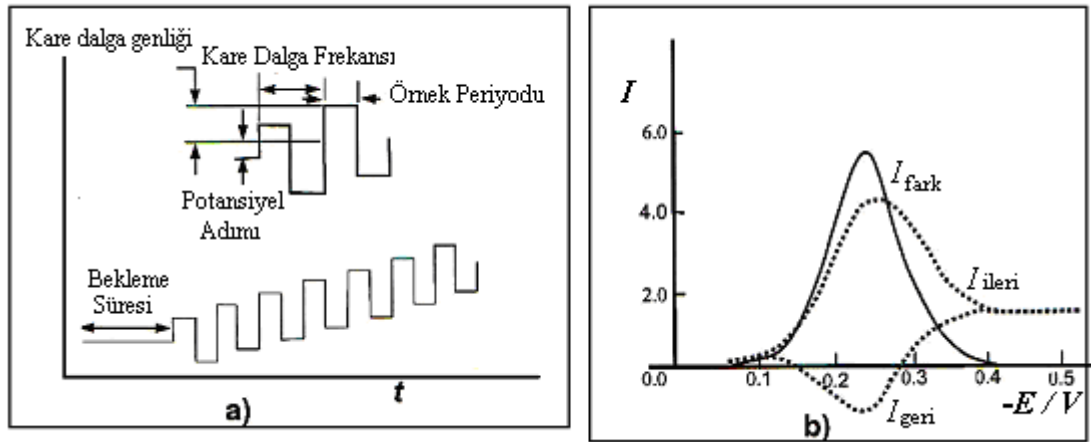
Şekil 3.17. Reaktantın kuvvetli adsorpsiyonunda gözlenen arka pik.

Adsorpsiyonun şiddetli olmaması halinde ise, adsorpsiyon piki, difüzyon piki ile çakışacağından dolayı, adsorpsiyon olup olmadığını anlamak için başka bir yöntem başvurulur. Bu yöntem göre,  $\log i_p$  değerleri,  $\log v$ 'ye karşı grafiğe geçirilir. Ürün veya analit, elektrot yüzeyine adsorbe oluyorsa,  $DV$ 'de pik akımı tarama hızının karekökü ile orantılı olarak değişmez ve  $\log i_p$ 'nin  $\log v$  ile değişiminin eğimi 0,5'ten farklı olur [46].

### 3.1.7.3. Kare Dalga Voltametri

Kare dalga voltametri (KDV), ilk defa Kemula (1930) tarafından adsorpsiyon olaylarının incelenmesi için düşünülmüş, ancak analitik kullanımı Fujinaga ve arkadaşları (1952) tarafından fark edilmiştir. Kare dalga voltametrisine hem teorik hem de cihaz geliştirilmesi bakımından en büyük katkı Barker (1952) tarafından yapılmıştır. Kare dalga voltametrisinin sabit elektrotlarda teorik ve uygulama bakımından gelişimi Osteryoung (1985) tarafından gerçekleştirilmiştir [46]. Cıva elektroduna uygulanan potansiyelin zamanla değişimi ve tersinir bir sistem için elde edilen potansiyel-akım eğrisi Şekil 3.18'de görülmektedir.





Şekil 3.18. Kare dalga voltametrisinde [a] potansiyel-zaman, [b] potansiyel-akım grafiği.

Potansiyel tarama grafiğinden de görüldüğü gibi ileri puls bir katodik, geri puls da bir anodik akımı ( $I_{geri}$ ) oluşturur. Genellikle voltamogramları elde etmek için bu akımların farkı olan  $\Delta I$  grafiğe geçilir. Bu fark derişim ile doğru orantılıdır ve pik potansiyeli de ( $E_p$ ) yarı dalga yüksekliğine karşı gelir. Elde edilen polarogram pik şeklinde olduğundan akım çok az hata ile okunabilir. Duyarlılığı yüksek ve ayırma gücü normal polarografiden çok fazladır. Puls yüksekliği 5-100 mV arasında uygulanırken tarama hızı 30-100 mV/s arasında değiştirilebilir.

#### 3.1.7.4. Sıyırma Voltametrisi (SV)

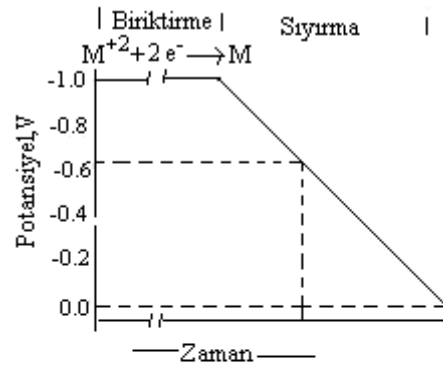
Bu yöntemde tayin edilecek maddenin elektrot yüzeyinde indirgenerek ya da yükseltgenerek biriktirilmesi sağlanır. Bu önderiştirme işlemi ile elektrot yüzeyindeki derişim çözeltidekine göre 10 - 1000 kat daha artmış olur. Böylece düşük miktarlarda madde analizi mümkün olmaktadır. Ön deriştirme işlemi sırasında çözelti karıştırılarak elektroaktif maddenin difüzyon ve elektrostatik çekimin yanı sıra konveksiyon yoluyla da elektroda ulaşması sağlanır. Biriktirme işlemi bittiğinde karıştırma durdurulur ve çözeltinin durgun hale gelmesi için belli bir süre beklenir. Bu süre denge süresi olarak bilinir. Bundan sonra elektrot yüzeyinde bulunan madde elektrokimyasal olarak ters bir potansiyel taramasıyla yüzeyden sıyırılır.

Sıyırma voltametrisinde pik yüksekliği, iyonların çözeltideki derişimine, önderiştirme potansiyeline ve süresine, çözeltinin karıştırılma hızına ve sıyırma sırasında uygulanan

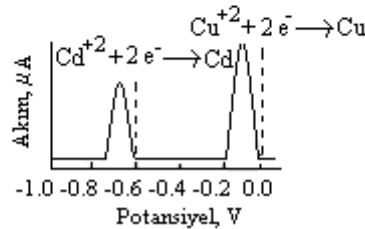
tarama hızına bağlıdır. Ön deriştirme potansiyeli, analizi yapılacak maddenin yarı dalga potansiyelinden ( $E_{1/2}$ ) 20-40 mV daha negatif değerde olmalıdır. Çözelti içindeki madde derişimi azaldıkça, önderiştirme süresi de artar. Asılı duran cıva damlası ile bu süre azalır. Çünkü cıva damlasının yüzeyi ufak ve küresel olduğundan damla yüzeyinin doygunluğa ulaşması hızlı olmaktadır .

Sıyırma voltametri önderiştirme ve sıyırma basamaklarının birbirinden farkına göre üçe ayrılır:

*Anodik sıyırma voltametri (ASV)*: Ön deriştirme süresince elektrot üzerinde cıva ve metal tarafından bir amalgam oluşur. Daha sonra indirgenmiş metali yükseltgemek için pozitif yönde bir potansiyel taraması (anodik tarama) yapılır. ASV’de çalışma elektroduna uygulanan potansiyel, maddenin yarı dalga potansiyelinden daha negatiftir. Şekil 3.19’da sıyırma voltametri için potansiyel-zaman eğrisi ve  $Cd^{+2}$  ve  $Cu^{+2}$  iyonlarına ait sıyırma voltametriyle elde edilen voltamogram görülmektedir.



(a)



(b)

Şekil 3.19. (a) Sıyırma voltamtrisinde elektroda uygulanan potansiyel-zaman eğrisi  
(b)  $Cd^{+2}$  ve  $Cu^{+2}$  iyonlarının sıyırma voltametriyle elde edilen voltamogramı.

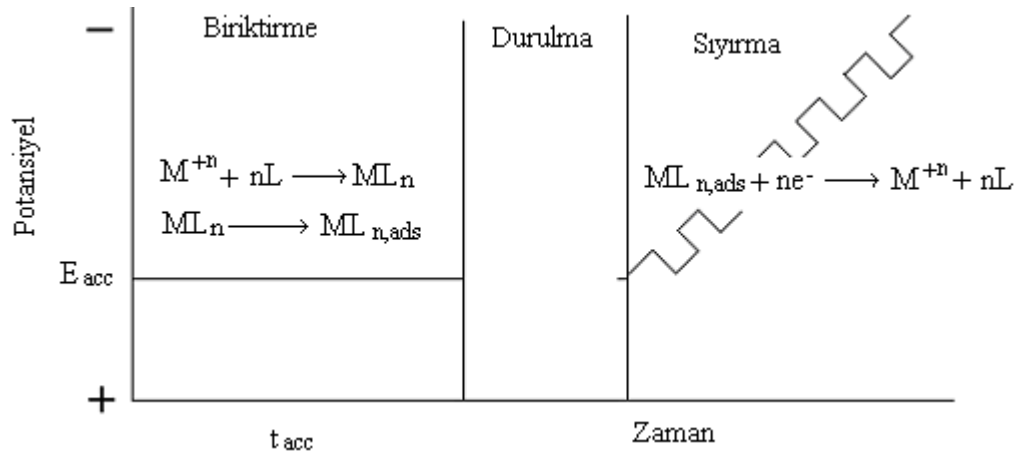
*Katodik sıyırma voltametri (KSV)*: Bu teknikte çalışma elektrodu inert değildir, önderiştirmenin oluşumunda aktif bir kısımdır. Cıva ile çözünmeyen tuzlar oluşturan

maddelerin varlığında, elektroda pozitif bir potansiyel uygulanması, cıva yüzeyinde çözünmez bir film oluşumuna neden olur. Daha sonra, elektrot yüzeyinde biriken tuzun indirgenmesi için negatif yönde bir potansiyel taraması (katodik tarama) yapılır. KSV’de çalışma elektroduna uygulanan potansiyel, maddenin yarı dalga potansiyelinden daha pozitifdir. Bu teknik Hg(I) iyonları ile çözünmeyen tuzlar oluşturan maddelerin (Cl, Se(IV), merkaptanlar (RSH), disülfidler (RSSR), sülfid vb.) belirlenmesinde kullanılır.

*Adsorptif sıyırma voltametrisi (AdSV):* Bu elektroanalitik teknikte analit önce çalışma elektrodu üzerinde adsorpsiyonla deriştirildikten sonra, yüzeyde toplanan bu tür ya da türlerin elektroanalitik ölçümleri yapılabilmektedir. Bu yöntemle yüzey aktif özellik gösteren birçok önemli organik madde ve bunlarla kompleks oluşturabilen çoğu metal iyonları nanomolar düzeyinde tayin edilebilmektedir.

Voltametric adsorpsiyon genel olarak iyon ya da moleküllerin elektrot yüzeyine tutunmasını ifade eder. Bu olay voltametric ölçüm sonuçlarını etkiler ve genelde ASV’de bu olaya problem gözüyle bakılır ve olmaması istenir. Bununla birlikte son yıllarda yapılan çalışmalar türlerin elektrot yüzeyinde kontrollü adsorpsiyonunun bir avantaj olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

Adsorptif sıyırma voltametricisinde kendiliğinden oluşan bir adsorpsiyon işlemi, elektrolizle biriktirilemeyen önemli türlerin eser ölçümlerinde bir ön deriştirme basamağı olarak kullanılırlar. Adsorbe olan maddenin voltametric yanıtının sonuçları, çözültide yalnız bulunan türlerin sonuçlarından daha büyüktür ve duyarlılıkta daha iyileştirilmiştir [62]. Yüzey aktif bir metal kompleksinin adsorptif katodik sıyırma voltametricisi (AdKSV) ile ölçümündeki adımları Şekil 3.20’de verilmiştir.



Şekil 3.20. Yüze aktif bir metal kompleksinin AdKSV ile ölçümündeki adımlar.

AdKSV ile madde tayini üç aşamadan oluşur. Bunlar sıra ile biriktirme, sıyırma ve durulma işlemleridir. Biriktirme sırasında ortamdaki maddeler birbiriyle etkileşir ve elektrot yüzeyinde adsorplanır. Durulma adımında bir süre beklenir ve sıyırma ise elektrot yüzeyinde biriken madde, potansiyel katodik bölgeye doğru taranarak sıyılır. Klinik ve farmasötik önemi olan pek çok organik molekül sulu çözeltilerden cıva yüzeyine adsorplanırlar. İyi bir karıştırma ile adsorpsiyon hızlanır ve analiz için yeterli miktarda analit biriktirmek için,  $10^{-7}$  M çözeltilerde sadece 1-5 dakika,  $10^{-9}$  M'lık çözeltilerde 10-20 dakika gerekir. Adsorpsiyon sıyırma voltametri çok düşük konsantrasyonlardaki çeşitli inorganik katyonların tayininde de kullanılmaktadır. Bu uygulamalarda genellikle, dimetilglioksim, kateşol ve bipyridin gibi yüze aktif kompleksleştiricilerle katyonlar kompleksleri haline dönüştürülür. Metodun tayin sınırı  $10^{-10}$  -  $10^{-11}$  M aralığındadır [63].

### 3.2. Analitik Yöntem Validasyonu (Yöntem Geçerlik Testleri)

Analitik yöntemler, çeşitli numunelerin nitel ve nicel analizinde, ilaç analizlerinde, biyolojik numune analizlerinde, biyoeşdeğerlik, biyoyararlanım çalışmalarında, farmakokinetik bilgilerin değerlendirilmesi ve yorumlanmasında kullanılan yöntemlerdir. Bu işlemlerin yapılabilmesi için iyi karakterize edilmiş, güvenilir sonuçların elde edilebileceği tamamen geçerli analitik yöntemlerin kullanılması veya geliştirilmesi gereklidir. Validasyon, analizi yapılacak madde için geliştirilen analiz

yönteminin seçilen aralıkta uygunluğunu, doğruluğunu, duyarlılığını, tekrar edilebilirliğini, sağlamlığını belirtmektedir.

### **3.2.1. Validasyonun Genel İşlemleri**

1. Cihazın kontrolü ve validasyonu, (tüm donanım ve yazılımlar için geçerlidir)
2. Geliştirilen yöntemin geçerliliğini kanıtlamak için veya geliştirilmiş olan bir yöntemdeki parametrelerde yapılan değişikliklerden sonra yapılan validasyon,
3. Cihaz ve ilgili yöntem seçildikten sonra ve validasyonları yapıldıktan sonra ayırma yöntemleri için gerçekleştirilen Sistem Uygunluk Testleri (SUT). Bu testler FDA ve Amerikan Farmakopesi (USP) tarafından önerilen ve sıvı kromatografisi ve diğer ayırma tekniklerinde yöntem geliştirmenin bir parçasını oluşturan testlerdir. Bir analitik yöntemin validasyonu; laboratuvar çalışmaları ile belirlenen ve istenen analitik uygulamaları için gerekli yöntem performans karakteristiklerinin bulunmasıdır. Performans karakteristikleri analitik parametreler cinsinden ifade edilir.

### **3.2.2. Tipik Validasyon Karakteristikleri**

**Doğruluk (Geri Kazanım):** Ölçülen bir değer gerçek değere veya kabul edilen değere ne kadar yakın olduğunu belirtir. Sonuçlar ortalama % geri kazanım olarak verilir. Ortama ilave edilen analitin (analizi yapılacak madde) analiz yapılan ortamdan hangi oranda geri alınabildiğini gösterir.

**Kesinlik:** Geliştirilen yöntemin çalışılan koşullar altında tekrarlanabilirliğinin ölçüsüdür. Başka bir ifade ile bir numuneye aynı yöntem birden çok sayıda uygulandığında analit için bulunan sonuçların birbirine yakınlığının bir ölçüsüdür. % BSS (Bağıl Standart Sapma) veya % VK (Varyasyon Katsayısı) olarak ifade edilir.

**Tekrarlanabilirlik :** Kısa zaman aralığı içerisinde aynı işlem koşulları altındaki kesinliği ifade eder.

**Orta-Kesinlik:** Orta kesinlik laboratuvar içi deneysel farklılıkları belirten bir kesinlik derecesidir. Farklı günlerde, farklı analizciler veya farklı cihazlar kullanılarak saptanabilen değerlerdir. Çalışmalar arası, deneyler arası veya günler arası kesinlik

olarak tanımlanan bu değer çalışmanın tam anlamda kesinliğini belirtir. Bu kesinliği sağlayan çalışma diğer kesinlik parametrelerini de sağlamış olur.

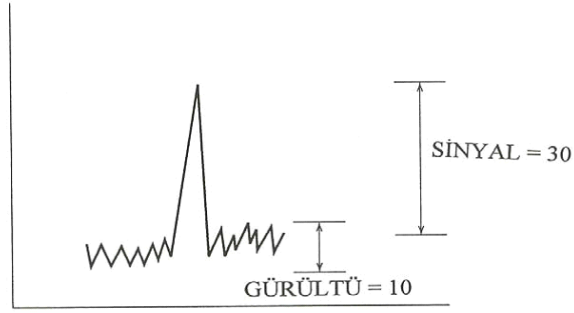
**Tekrar Elde Edilebilirlik:** Tekrar elde edilebilirlik özellikle ortak çalışma yapan farklı laboratuvarların uygulamaları sonucu elde edilen ve deneysel farklılıkları belirten bir kesinlik derecesidir. Özellikle yöntem tek biçimliliği (standardizasyonu) çalışmalarında kullanılan bir kesinlik değeridir. Geliştirilecek yöntem farklı laboratuvarlarda da aynı anda kullanılacaksa bu kesinliğin hesaplanması ve değerinin belirtilmesi gerekir.

**Seçicilik:** Analizi yapılacak maddenin numunede bulunan girişim yapma ihtimali bulunan diğer yardımcı veya etken maddeler yanında miktarının tam ve doğru olarak tayin edilebileceğini gösteren bir parametredir. Bu, kompleks numune karışımlarının analizinde girişim derecesinin de bir ölçüsüdür. Etken madde yanında safsızlıkların, parçalanma ürünlerinin, benzer kimyasal maddelerin veya plasebo bileşenlerin bulunduğu numune ile bulunmadıkları numunede yapılan miktar tayini analizlerde etken maddenin bulunan konsantrasyonları arasındaki fark olarak ifade edilir. Özellikle stabilite tayini çalışmalarında yapılması kesinlikle zorunlu olan bir parametredir. Seçicilik yeterli düzeyde değilse, yöntemin doğruluğu, kesinliği ve doğrusallığı hakkında bir şüphe uyanır. Seçicilik, miktar tayini sırasında gerekli validasyon işlemleri yapılırken, teşhis testleri ve safsızlıkların tayini sırasında yapılmalıdır.

**Teşhis Sınırı, Gözlenebilirlik Sınırı (TS):** Analizi yapılan örneğin belirlediği fakat nicel sınırlar içerisine girmediği en alt konsantrasyondur. Doğrudan, yapılan deneylerden veya hesapla bulunabilir. Doğrudan yapılan deneylerden, gözlenerek yapılan hesaplamalarda genel olarak Sinyal/Gürültü oranı 3 olarak alınır. Hesaplama yolu ile *Gözlenebilme sınırı* saptanmasında;

$$TS = 3,3 \times SS / m \quad (3.9)$$

eşitliği kullanılır. Bu eşitlikte SS, kör çözeltilerinde yöntem uygulandığında elde edilen sonuçlarının veya ilgili kalibrasyon doğrusunun kesişim değerinin standart sapması; m, ilgili kalibrasyon doğrusunun eğim değeridir.

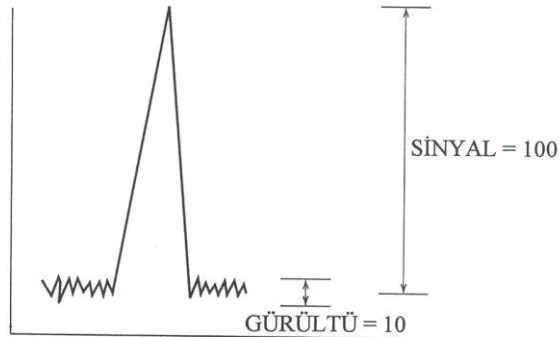


Şekil 3.21. Teşhis sınırını hesaplanmasında kullanılan sinyal/gürültü oranı şekli.

Tayin Alt Sınırı (TAS): Analizi yapılan maddenin kabul edilebilir düzeyde kesin ve doğru olarak miktarının tayin edilebileceği, doğrusallık sınırları içerisine girmeyen veya kalibrasyon eğrisinin en alt derişimini oluşturan konsantrasyon düzeyidir. Doğrudan yapılan deneylerden veya hesapla bulunabilir. Doğrudan yapılan deneylerden gözlenerek TAS tespiti için genel olarak Sinyal/Gürültü oranı 10 olarak alınır. Hesaplama yolu ile *Tayin Alt Sınırı* saptanmasında;

$$\text{TAS} = 10 \times \text{SS} / m \quad (3.10)$$

eşitliği kullanılır. SS= Kör çözeltilerinde yöntem uygulandığında elde edilen sonuçların veya y eksenindeki kesişim değerinin standart sapması, m=ilgili kalibrasyon doğrusunun eğim değeridir. SS ve m değerleri TS eşitliğinde kullanılan değerlerle aynıdır.



Şekil 3.22. Tayin alt hesaplanmasında kullanılan sinyal/gürültü oranı şekli.

**Doğrusallık:** Derişime karşı cevabın doğru orantılı olarak artması ve çizilen grafikte noktaların düz bir çizgi üzerinde yer almasıdır. Eğim (m), kesişim (n) ve korelasyon katsayısı (r) doğrusallığı veren parametrelerdir. Bunlar analit derişiminin ölçülen değerlere karşı regresyon analizleri ile matematiksel olarak hesaplanır. Doğrusallığı belirleyebilmek için stok çözümden en az 5 değişik derişimin hazırlanması ve analiz edilmesi gerekir.

**Kalibrasyon Doğrusu (Grafiği):** Analitin bilinen derişimleri ile cihazlarda ölçülen değerler arasındaki ilişkidir. Bir kalibrasyon eğrisi hazırlanırken seçilen derişimler daha önce yapılan çalışmalarla belirlenir. Doğrusal veya doğrusal olmayan sonuçlar elde edilebilir. Tayin alt sınırı ve tayin üst sınırı derişimleri de dahil olmak üzere çalışma aralığında en az 5 derişim için (kör hariç) cihazdan ölçülen değerlere göre hazırlanır. Doğrusal olmayan eğriler için daha fazla standart derişimin seçilmesi uygun olur.

**Duyarlılık:** Duyarlılık, doğrusallığın geçerli olduğu aralıktaki doğru denkleminin eğimidir. Pek çok kitapta aynı zamanda tayin alt sınırı olarak tanımlanmıştır. Tayin alt sınırı ne kadar küçükse yöntem o derece duyarlıdır.

**Çalışma Aralığı:** Yeterli doğruluk ve duyarlılıkta doğrusallığa sahip yöntemin geçerli olduğu alt ve üst sınırlar arasında yer alan derişim aralığıdır. Derişim aralığı genellikle seçilen yöntemin tipine göre değişir. Bu aralık yöntemin doğrusallığı bulunduktan sonra belirlenir [64].



## 4.BÖLÜM

### DENEYSEL ÇALIŞMALAR

#### 4.1. Polarografi Cihazı

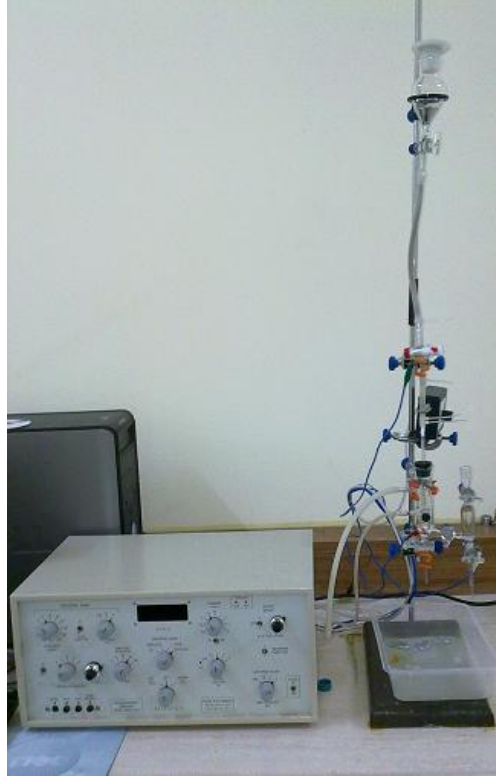
Diferansiyel puls polarografisi (DPP) ve dönüşümlü voltametri (DV) ölçümleri için iki farklı cihaz kullanılmıştır:

1. BAS model elektrokimyasal analizör (Bioanalytical Systems, epsilon potentiostat/galvanostat, USA) kullanılmıştır. Cihazının ana kısımları Şekil 4.1’de görülmektedir.



Şekil 4.1. BAS model elektrokimyasal analizör.

2. DPP cihazı PAR model 174-A polarografik analizör esas alınarak Ankara, Türkiye’de imal edilmiştir. Diferansiyel puls polarografi (DPP); hücre, damlayan cıva elektrodu ve zaman ayarlı damla düşürücüden oluşmaktadır.



Şekil 4.2. Polarografi cihazı

## 4.2. Hücre ve Elektrotlar

Çalışmada üç elektrotlu bir sistem kullanılmıştır. Çalışma elektrodu olarak damlayan cıva elektrodu, referans elektrot olarak Ag/AgCl (3 M NaCl) elektrot ve doymuş kalomel elektrot (DKE), karşıt elektrot olarak da Pt tel kullanılmıştır.

### 4.2.1. Damlayan Cıva Elektrot

Diferansiyel puls polarografisi çalışmalarında, çalışma elektrodu olarak kullanılan damlayan cıva elektrodu ile dönüşümlü voltametri çalışmalarında yer alan asılı cıva damla elektrodunda kullanılan cıva Merck'ten sağlanmıştır. Damlayan cıva elektrot cam hücreye yerleştirilir. Damlayan cıva elektrotta damla büyüklüğü, cıva hazne yüksekliği ve kapiler çapına bağlıdır. Damla hızı zaman ayarlı mekanik bir vurucu ile ayarlanır. Bu şekilde 0,5, 1 ve 2 saniye ömrü olan damlalar oluşturulabilir. Tüm çalışmalarda kolon yüksekliği ve cıva haznesi sabit bir yükseklikte tutulmuştur.

#### **4.2.2. Ag /AgCl Elektrot**

Diferansiyel puls polarografisi ve dönüşümlü voltametri çalışmalarında referans elektrot olarak Ag/AgCl (3 M NaCl) kullanılmıştır ve cam hücre içerisinde bulunan analit çözeltisine temas edecek şekilde hücreye bağlanmıştır.

#### **4.2.3. Doymuş Kalomel Elektrot**

Doymuş kalomel elektrot polarografi çalışmalarında referans elektrot olarak kullanılır. Doymuş kalomel elektrodun hazırlanması için; önce temizlenmiş cıva, klausek hücresinin referans elektrot kısmına konulmuştur. Daha sonra yaklaşık 25 mL damıtık suda doymuş KCl çözeltisi hazırlanmış ve hazırlanan doymuş KCl çözeltisi referans hücresi bölmesinde bulunan cıva üzerine eklenmiştir.

#### **4.2.4. Karşıt Elektrot**

Platin tel karşıt elektrot olarak kullanılmış ve cam hücre içerisinde bulunan analit çözeltisine temas edecek şekilde hücreye bağlanmıştır.

#### **4.2.5. Azot Gazı**

Polarogramlarda oksijenin indirgenmesine ait dalgalar gözlenebilir. Bundan dolayı bir maddenin polarogramı alınmadan önce, ortamda çözünmüş olan oksijenin uzaklaştırılması gerekir. Bunun için maddenin çözeltisinden inert bir gaz olan azot gazı geçirilmiştir.

### **4.3. pH metre**

pH ölçümleri WTW pH/ION 735 (WTW Instruments, Germany ) model dijital pH metre kullanılarak yapılmıştır.

#### 4.4. Cıvanın Temizlenmesi

Damlayan cıva elektrodunda kullanılan cıva yüksek saflıkta olup Merck'ten temin edilmiştir. Puls polarografisi tekniği ile  $1 \times 10^{-6}$  -  $1 \times 10^{-7}$  M madde tayini yapıldığından kullanılan cıvanın oldukça saf olması gerekmektedir. Bu sebepten dolayı yüksek saflıkta cıva kullanılmış ve kirlenen cıva aşağıda açıklandığı gibi temizlenmiştir. Kirlenen cıva bir behere alındıktan sonra bagetle karıştırılarak üzerinden bir süre çeşme suyu geçirilmiştir. Bir litrelik cam mezüre çeşme suyu konmuş ve üzerindeki çeşme suyu uzaklaştırılan cıva, mezürün üst kısmında tutulan ince platin tel süzgeçten geçirilerek yıkılmıştır. Mezürdeki çeşme suyu uzaklaştırılıp, süzülen cıva behere aktarıldıktan sonra çeşme suyu ile yıkama işlemi aynı şekilde dört defa tekrarlanmıştır. Daha sonra bir litrelik mezür, 15 M'lık derişik  $\text{HNO}_3$  çözeltilisinden 1:5 oranında ( $\text{HNO}_3:\text{H}_2\text{O}$ ) seyreltilerek hazırlanmış olan 3 M  $\text{HNO}_3$  çözeltilisi (cıva yıkama suyu) ile doldurulmuş ve cıva platin tel süzgeçten mezür boyunca zerrecikler halinde süzölmüştür. Cıva yıkama suyu ile yıkama işlemi dört kez tekrarlanmıştır. Temizlenen cıva, platin tel süzgeçten geçerek içine saf su konmuş olan mezür boyunca zerrecikler halinde süzölmüştür. Bu işlem cıvanın asitliğı giderilinceye kadar tekrarlanmıştır. Asitliğı giderilen temiz cıva bir behere alınmış ve süzgeç kağıdı ile iyice kurutulmuştur. Kurutulan cıva, cıva haznesine alındıktan sonra herhangi bir safsızlık içerip içermediğı alınan polarogramlar incelenerek kontrol edilmiştir.

#### 4.5. Reaktifler ve Özellikleri

Deneyleerde kullanılan çözeltilerin hazırlanmasında ve bütün çalışma boyunca saf su kullanılmıştır. Bütün reaktifler analitik saflıktadır. Damlayan cıva elektrodunda kullanılan cıva yüksek saflıkta olup Merck'ten sağlanmışır. Kullanılan reaktifler ve özellikleri aşağıda verilmiştir:

1. Melamin: ( $\text{C}_3\text{N}_6\text{N}_6$ ), 126,12 g/mol, Aldrich
2. Siyanürük asit: ( $\text{C}_3\text{H}_3\text{N}_3\text{O}_3$ ), 129,08 g/mol, Aldrich
3. Ammeline : ( $\text{C}_3\text{H}_5\text{N}_5\text{O}$ ), 127,10 g/mol, Fluka
4. Perklorik asit: ( $\text{HClO}_4$ ), d=1,60 kg/L, % 60, 100,46 g/mol, Merck

5. Hidroklorik asit: (HCl),  $d=1,19$  kg/ L, %37; 36,46 g/mol, Sigma-Aldrich
6. Asetik asit: (CH<sub>3</sub>COOH),  $d=1,05$  kg/ L; % 100'lik ; 60,05 g/mol, Sigma-Aldrich
7. Fosforik asit: (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>),  $d=1,71$  kg/L; 98 g/mol, % 85, Riedel
8. Borik asit: (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>), 61,83 g/mol, Sigma
9. Sodyum hidroksit: (NaOH), 40 g/mol, Sigma-Aldrich
10. EDTA: (C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>8</sub>.2H<sub>2</sub>O), 372,24 g/mol, %99-100 saflıkta, Sigma
11. Demir(III)klorür heksahidrat: (FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O), 270,30 g/mol, Merck
12. Krom(III)klorür heksahidrat: (CrCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O), 266,45 g/mol, Merck
13. Kurşun(II)nitrat: (Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) , 331,20 g/mol, Merck
14. Çinko(II) nitrat heksahidrat: (Zn(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O), 297,4 g/mol, Merck
15. Kadmiyum nitrat tetrahidrat: (CdN<sub>2</sub>O<sub>6</sub>. 4H<sub>2</sub>O), 308,47 g/mol, Sigma-Aldrich
16. Kobalt(II)nitrat heksahidrat: (CoN<sub>2</sub>O<sub>6</sub>.6H<sub>2</sub>O), 291,03 g/mol, Sigma-Aldrich
17. Nikel sülfat heksahidrat: (NiSO<sub>4</sub>. 6H<sub>2</sub>O), 262,85 g/mol, Sigma-Aldrich
18. Sodyum sülfat: (Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>), 126,04 g/mol, Sigma-Aldrich
19. Magnezyum(II)nitrat heksahidrat: (Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. 6H<sub>2</sub>O), 256,41 g/mol, Sigma
20. Asetonitril: (C<sub>2</sub>H<sub>7</sub>N),  $d=0,78$  kg/ L, 41,05 g/mol, Sigma-Aldrich
21. Etanol: (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O),  $d=0,788$  kg/ L, 46,07 g/mol, Sigma-Aldrich
22. Mangan sülfat monohidrat : (MnSO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O), 169,02 g/mol, Sigma
23. Kobalt(II)nitrat heksahidrat: (Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. 6 H<sub>2</sub>O) , 291,03 g/mol, Merck
24. Kalsiyum nitrat tetrahidrat: (Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. 4H<sub>2</sub>O), 236,15, Sigma
25. Bakır (II)nitrat monohidrat: (Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. H<sub>2</sub>O), 232,5 g/mol, Merck
26. Cıva(II)nitrat heksahidrat: (HgN<sub>2</sub>O<sub>6</sub>. 6H<sub>2</sub>O), 342,62 g/mol, Sigma-Aldrich
27. Sodyum klorür: (NaCl), 58,44 g/mol, Sigma
28. Sodyum nitrit : (NaNO<sub>2</sub>), 68,99 g/mol, Merck
29. Baryum(II)klorür dihidrat: (BaCl<sub>2</sub>. 2H<sub>2</sub>O), 244,263 g/mol, Merck
30. Alüminyum(III)klorür heksahidrat: (AlCl<sub>3</sub>. 6H<sub>2</sub>O), 241,431 g/mol, Merck
31. Selenyum dioksit: (SeO<sub>2</sub>), 110,959 g/mol, Sigma

#### 4.5.1. Çözeltilerin Hazırlanması

*0,01 M Melamin stok çözeltisinin hazırlanması*

0,01 M melamin stok çözeltisi hazırlamak için 0,3153 g melamin tartılıp 50 mL etanol ve bir miktar özel hazırlanmış saf suda çözülüp, ölçülü balona alınarak 250 mL'ye tamamlanmıştır.

*0,01 M Siyanürik asit stok çözeltisinin hazırlanması*

0,01 M siyanürik asit stok çözeltisi hazırlamak için 0,1291 g siyanürik asit tartılıp özel hazırlanmış saf su ile çözülüp, ölçülü balona alınarak 100 mL'ye tamamlanmıştır.

*0,01 M Ammeline stok çözeltisinin hazırlanması*

0,01 M ammeline stok çözeltisi hazırlamak için 0,0318 g ammelin tartılıp 5 mL 0,1 M NaOH ve özel hazırlanmış saf su ile çözülüp, ölçülü balona alınarak 25 mL'ye tamamlanmıştır.

*0,1 M HCl ( %37'lik  $d=1,19$  g/mL )*

HCl çözeltisinden 0,83 mL ölçülü balona alınarak özel hazırlanmış saf su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır.

*0,1 M HClO<sub>4</sub> (%60'lık  $d=1,83$  g/mL)*

HClO<sub>4</sub> çözeltisinden 0,92 mL ölçülü balona alınarak özel hazırlanmış saf su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır.

*0,1 M H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup> - HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup> tamponu*

9,08 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ve 11,87 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O ayrı ayrı tartılıp özel hazırlanmış saf su ile çözdükten sonra 1 L'ye tamamlanmış ve uygun miktarlarda karıştırılarak istenilen pH'ya ayarlanmıştır.

*NH<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub>Cl Tamponu*

13,375 g  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (susuz) tartılıp özel hazırlanmış saf su ile çözüldükten sonra, üzerine 35 mL derişik amonyak stok çözeltilisinden eklenmiş ve 1 L'ye tamamlanmıştır.

#### *1,0 M HAc/Ac tampon çözeltisi*

57,2 mL derişik asetik asit çözeltilisine, saf suyla yıkanmış 6,0 g katı NaOH eklenmiş ve özel hazırlanmış saf su ile ölçülü balonda 1L'ye tamamlanmıştır. pH-metre kullanılarak çözelti çalışma ortamına uygun pH'lara ayarlanmıştır.

#### *Britton-Robinson (BR) tamponunun hazırlanması*

Britton-Robinson tampon çözeltilisinin hazırlanması için 2,3 mL saf asetik asit, 2,7 mL %85'lik fosforik asit ve 2,5 g borik asit karıştırılıp özel hazırlanmış saf su ile 1 L'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan B-R tamponu 0,1 M NaOH veya 0,1 M HCl çözeltilisinden damla damla ilave edilerek pH'sı istenilen değerlere ayarlanmıştır.

#### *0,1 M EDTA çözeltisi*

3,7724 g EDTA'nın sodyum tuzu tartılmış ve bir miktar özel hazırlanmış saf su ilave edildikten sonra ısıtılarak çözülmüştür. Daha sonra ölçülü balona alınıp 100 mL'ye tamamlanmıştır.

#### *0,1 M NaOH çözeltisi*

0,40 g NaOH katısı tartılmış ve saf su ile çözüldükten sonra 100 mL'lik balon jodede saf su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır.

#### *Çeşitli iyonların stok çözeltilerinin hazırlanması*

Öncelikle deneylerde kullanılan iyonların 0,01 M'lık stok çözeltileri hazırlanmıştır.  $1 \times 10^{-3}$ ,  $1 \times 10^{-4}$ 'lük çözeltiler stok çözeltilerin seyreltilmesiyle günlük olarak hazırlanmıştır. Çünkü seyreltik çözeltilerin derişimleri zamanla değişebilmektedir. Çalışmalarda kullanılan bütün stok çözeltiler aşağıda açıklandığı gibi hazırlanmıştır.

0,01 M Cr(III) çözeltisi: 0,1332 g  $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  tartılıp özel hazırlanmış saf su ile çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 50 mL'ye tamamlanmıştır.

0,01 M Pb(II) çözeltisi: 0,331 g  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  tartılıp özel hazırlanmış saf su ile çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 100 mL'ye tamamlanmıştır.

0,01 M Zn(II) çözeltisi: 0,1487 g  $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  tartılıp özel hazırlanmış saf su ile çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 50 mL'ye tamamlanmıştır.

0,01 M Cd(II) çözeltisi: 0,308 g  $\text{CdN}_2\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  tartılıp özel hazırlanmış saf suyla çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 100 mL'ye tamamlanmıştır.

0,01 M Hg(II) çözeltisi: 0,857 g  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  tartılıp özel hazırlanmış saf suyla çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 250 mL'ye tamamlanmıştır.

0,01 M Co(II) çözeltisi : 0,1455 g  $\text{CoN}_2\text{O}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  tartılıp özel hazırlanmış saf suyla çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 50 mL'ye tamamlanmıştır.

0,01 M Ni(II) çözeltisi : 0,066 g  $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  tartılıp özel hazırlanmış saf suyla çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 25 mL'ye tamamlanmıştır.

0,01 M Cd(II) çözeltisi : 0,308 g  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  tartılıp özel hazırlanmış saf su ile çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 100 mL'ye tamamlanmıştır.

0,01 M Mg(II) çözeltisi : 0,128 g  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  tartılıp özel hazırlanmış saf su ile çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 50 mL'ye tamamlanmıştır.

0,01 M Fe(III) çözeltisi: 0,135 g  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  tartılıp özel hazırlanmış saf su ile çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 50 mL'ye tamamlanmıştır.

0,01 M Mn(II) çözeltisi: 0,084 g  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  tartılıp özel hazırlanmış saf su ile çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 50 mL'ye tamamlanmıştır.



0,01 M Ca(II) çözeltisi: 0,236 g  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  tartılıp özel hazırlanmış saf su ile çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 100 mL'ye tamamlanmıştır.

0,01 M Cu(II) çözeltisi: 0,232 g  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  tartılıp özel hazırlanmış saf su ile çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 100 mL'ye tamamlanmıştır.

0,01 M  $\text{NO}_3^-$  çözeltisi: 0,236 g  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , tartılıp özel hazırlanmış saf su ile çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 100 mL'ye tamamlanmıştır.

0,01M  $\text{Cl}^-$  çözeltisi: 0,5844 g NaCl, tartılıp özel hazırlanmış saf su ile çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 100 mL'ye tamamlanmıştır.

0,01 M  $\text{SO}_3^{2-}$  çözeltisi: 0,126 g  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ , tartılıp özel hazırlanmış saf su ile çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 100 mL'ye tamamlanmıştır.

0,01 M  $\text{NO}_2^-$  çözeltisi: 0,069 g  $\text{NaNO}_2$  tartılıp özel hazırlanmış saf su ile çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 100 mL'ye tamamlanmıştır.

0,01 M Ba(II) çözeltisi: 0,122 g  $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  tartılıp özel hazırlanmış saf su ile çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 50 mL'ye tamamlanmıştır.

0,01 M Al(III) çözeltisi: 0,121 g  $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , tartılıp özel hazırlanmış saf su ile çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 25 mL'ye tamamlanmıştır.

0,01 M Se(IV) çözeltisi: 0,055 g  $\text{SeO}_2$  tartılıp özel hazırlanmış saf su ile çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 50 mL'ye tamamlanmıştır.

## 5. BÖLÜM

### DENEYSEL BULGULAR VE TARTIŞMA

#### 5.1. Melaminin Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi, Tayini ve Analitik Uygulamaları

Melamin; plastikler, reçineler ve yapıştırıcıların yapımında sıklıkla kullanılan 1,3,5-triazin-2,4,6-triamin adına sahip olan kimyasal bir bileşiktir. Melamin; süt, süt ürünleri, evcil hayvan yemleri, buğday nişastası ve diğer protein destekli yiyeceklerde protein içeriğini artırıcı olarak kullanılmıştır. Ancak melaminin evcil hayvan yiyecekleri içine katılması sonucunda 2007 baharında kedi ve köpeklerin ölümüne yol açtığı tespit edilmiştir [5]. Avrupa'da melaminin plastik materyaller ve eşyalarda kullanımı onaylanmış olmasına karşın, gıdalara ve hayvan yemlerine ilavesi yasaklanmıştır. Bu nedenle eser miktardaki melaminin tayini önemlidir.

Literatürde melamin tayiniyle ilgili olarak diferansiyel puls polarografisi (DPP) ile yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışma ile literatürdeki bu boşluğun doldurulması amaçlanmıştır.

Çalışmanın ilk kısmında melaminin tayini için en uygun destek elektrolit ortamı belirlenmiştir. Ardından melaminin tayinine pH'nın etkisi incelenmiştir. Sonra da melaminin destek elektrolitteki tayini, bazı iyonların melaminin tayinine girişim etkileri, süt ve süt tozu numunelerine eklenen melaminin tayini ve geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. Ayrıca melaminin voltametrik davranışını incelemek için dönüşümlü voltametri (DV) çalışmaları yapılmıştır.

### 5.1.1. Destek Elektrolit Seçimi

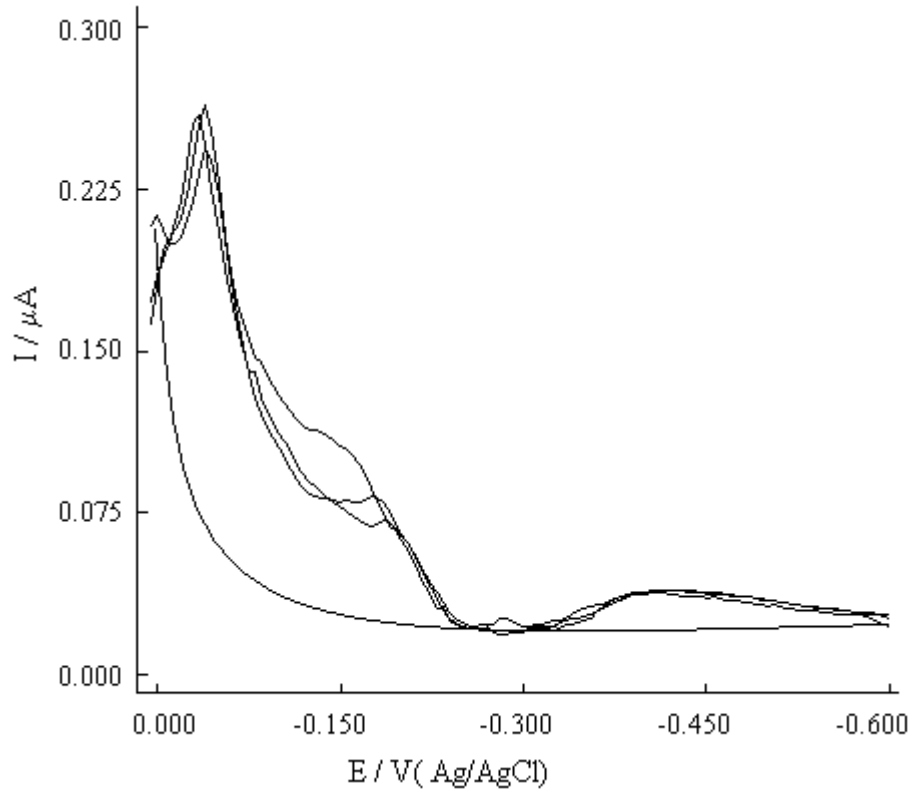
Melaminin tayini için çeşitli destek elektrolitler denenmiş, en uygun olanı seçilmeye çalışılmıştır. 0,1 M  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ - $\text{HPO}_4^{2-}$  (pH 11,0 ve 12,4), 0,1 M  $\text{NH}_3$ - $\text{NH}_4^+$  (pH 7,0 ve 10,0), 1,0 M HAc-NaAc (pH 4,0 ve 12,0), 0,1 M HCl, 0,1 M  $\text{HClO}_4$  elektrolitleri ve pH 2-13 aralığında Britton-Robinson tamponu (BRT) kullanılmıştır. Çalışılmış olan farklı elektrolit çözeltilerindeki melaminin piklerinin çeşitli özellikleri Tablo 5.1’de özet halinde verilmiştir.

Yukarıda bahsedilen destek elektrolitlerden polarografi hücresine 10,0’ar mL alınmış ve çözelti içinde çözünmüş halde bulunan oksijeni uzaklaştırmak için içerisinde 5 dakika % 99,999 saflıkta azot gazı geçirildikten sonra destek elektrolitlere ait polarogramlar kaydedilmiştir. Melaminin standart çözeltisinden polarografi hücresine art arda yapılan her ilaveden sonra hücreden tekrar azot gazı geçirilmiş ve polarogramlar kaydedilmiştir. Polarogramlar 5 mV/s potansiyel tarama hızı ve 50 mV/s puls genliği uygulanarak alınmıştır.

Yapılan çalışmalarda 0,1 M HCl ve 0,1 M  $\text{HClO}_4$  ortamlarında melamine ait pik kaydedilmemiştir. 1,0 M HAc-NaAc destek elektrolitinde pH 4,0’te melamine ait herhangi bir pik gözlenmezken, pH 12,0 HAc-NaAc elektrolitine eklenen 0,1 mL 0,1 M melamin varlığında -288 mV’ta yayvan bir pik kaydedilmiştir. 0,1 M HCl, 0,1 M  $\text{HClO}_4$ , pH 4,0’teki HAc-NaAc destek elektrolitlerinde melamine ait pik kaydedilmemesi asidik ortamların melamin tayini için uygun olmadığını göstermektedir.

#### 5.1.1.1. 0,1 M $\text{NH}_3$ - $\text{NH}_4^+$ Destek Elektrolitinde Melaminin Polarografik Davranışının İncelenmesi

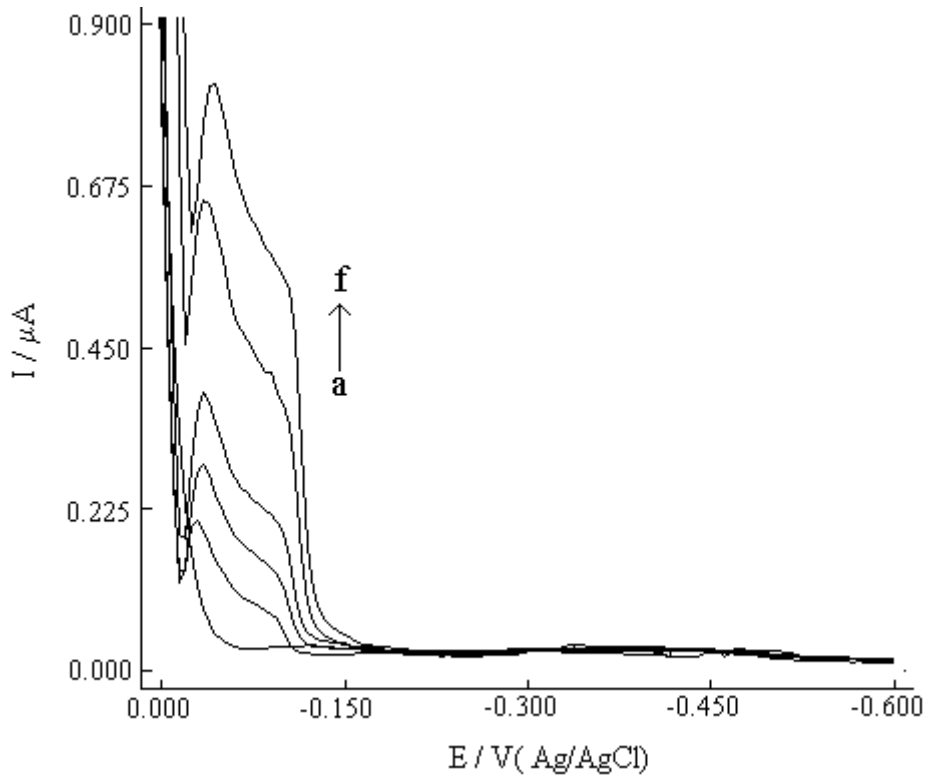
0,1 M  $\text{NH}_3$ - $\text{NH}_4^+$  destek elektrolitinde pH 10,0’ da pik gözlenmezken pH 7,0’de - 40 mV (keskin) ve -150 mV’ta (yayvan) olmak üzere iki pik gözlenmiştir. -40 mV’ta gözlenen pikin standart melamin ilaveleriyle pik akımlarındaki artışın orantılı olmadığı görülmüştür (Şekil 5.1).



Şekil 5.1. Melaminin pH=7,0  $\text{NH}_3\text{-NH}_4^+$  destek elektrolitindeki polarogramı.  
 a) 10,0 mL pH=7,0  $\text{NH}_3\text{-NH}_4^+$   
 b) a + 0,2 mL  $1 \times 10^{-3}$  M melamin  
 c) b + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M melamin  
 d) c + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M melamin

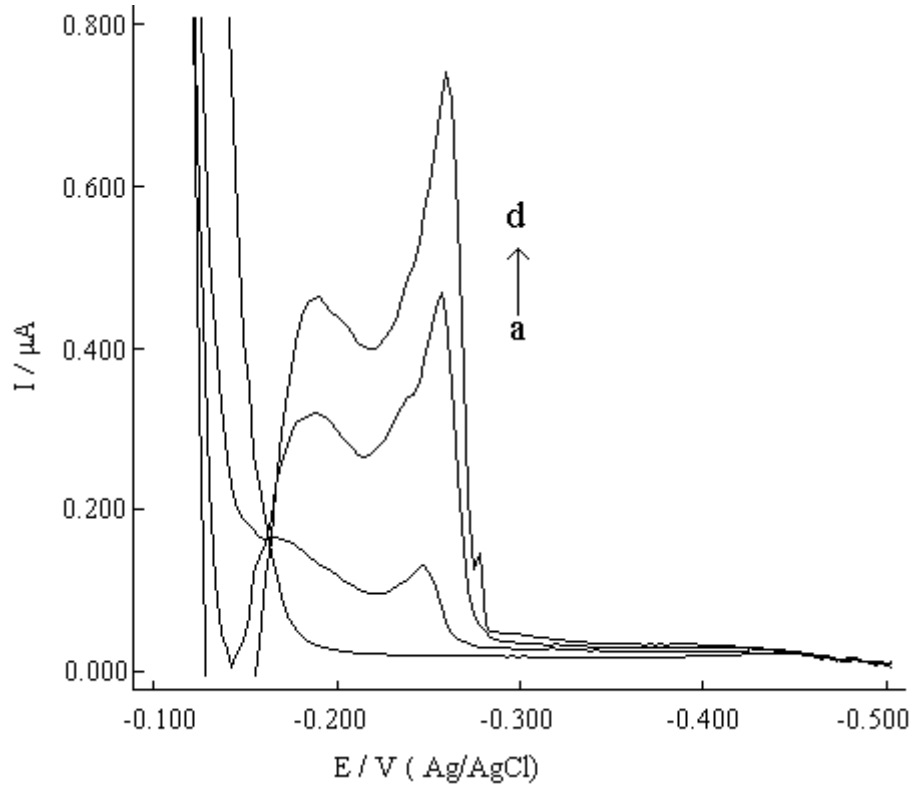
#### 5.1.1.2. 0,1 M $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ - $\text{HPO}_4^{2-}$ Destek Elektrolitinde Melaminin Polarografik Davranışının İncelenmesi

pH 11,0 ve pH 12,4  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ - $\text{HPO}_4^{2-}$  destek elektrolitinde çalışılmıştır. pH 11,0 fosfat destek elektrolitinde kaydedilen melaminin polarogramında -35 mV (keskin) ve -136 mV'ta (yayvan) olmak üzere iki pik kaydedilmiştir (Şekil 5.2). -35 mV'taki pikin pik akımlarındaki artışları takip etmek için art arda standart melamin ilaveleri yapılmıştır. Standart melamin ilavelerine karşı pik akımındaki artışların orantılı olmadığı görülmüştür (Şekil 5.2).



Şekil 5.2. Melaminin pH=11,0  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ - $\text{HPO}_4^{2-}$  destek elektrolitinde polarogramları.  
 a) 10,0 mL pH=11,0  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ - $\text{HPO}_4^{2-}$   
 b) a + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M melamin  
 c) b + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M melamin  
 d) c + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M melamin  
 e) d + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M melamin  
 f) e + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M melamin

pH 12,4 fosfat destek elektrolitinde alınan melaminin polarogramında -188 mV ve -257 mV'ta olmak üzere 2 tane pik kaydedilmiştir (Şekil 5.3). Fosfat elektrolitinde diğer destek elektrolitlerden farklı olarak melaminin 2. piki (-257 mV) daha keskindir. Ancak bu ortamda da pik şekillerinin çok düzgün olmadığı ve standart melamin ilaveleriyle pik akımlarındaki artışların orantılı olmadığı tespit edilmiştir (Şekil 5.3).



Şekil 5.3. Melaminin pH=12,4  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ - $\text{HPO}_4^{2-}$  destek elektrolitinde polarogramları.  
a) 10,0 mL pH=12,4  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ - $\text{HPO}_4^{2-}$  destek elektrolit  
b) a + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M melamin  
c) b + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M melamin  
d) c + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M melamin

Yukarıda belirtilen farklı destek elektrolitlerle, melaminin tayini için yapılan çalışmalar neticesinde standart melamin ilaveleriyle pik akımlarındaki artışların orantılı olmaması nedeniyle bu ortamların tayin için uygun olmadığına karar verilmiştir ve sonuçlar Tablo 5.1'de özetlenmiştir.

Tablo 5.1. Melaminin çeşitli destek elektrolitlerdeki polarografik davranışı

İyon	Elektrolit	$E_{\text{pik}}(\text{mV})$	$I(\mu\text{A})$	Pik şekli	C(M)
Melamin	pH=11,0 0,1 M $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ - $\text{HPO}_4^{2-}$	-35 -136	0,264 0,120	Keskin Yayvan	$2 \times 10^{-5} \text{M}$
	pH=12,4 0,1 M $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ - $\text{HPO}_4^{2-}$	-188 -257	0,316 0,461	Yayvan Keskin	
	pH=7,0 0,1M $\text{NH}_3$ - $\text{NH}_4^+$	-40 -150	0,200 0,115	Keskin Yayvan	
	pH=10,0 0,1 M $\text{NH}_3$ - $\text{NH}_4^+$	Pik yok	Pik yok	Pik yok	
	pH=4,0 1,0 M HAc-NaAc	Pik yok	Pik yok	Pik yok	$2 \times 10^{-4} \text{M}$
	pH=12,0 1,0 M HAc-NaAc	-288	0,070	Yayvan	$1 \times 10^{-2} \text{M}$
	0,1 M $\text{HClO}_4$	Pik yok	Pik yok	Pik yok	$5 \times 10^{-4} \text{M}$
	0,1M HCl	Pik yok	Pik yok	Pik yok	

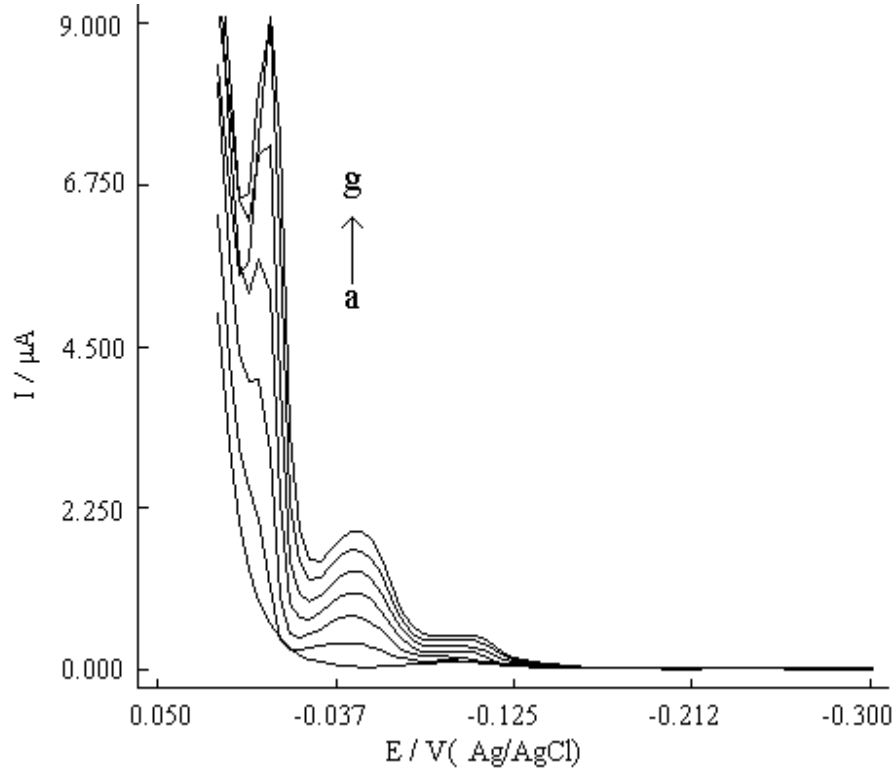
### 5.1.1.3. Britton-Robinson Tamponunda (BRT) Melaminin Polarografik Davranışının İncelenmesi

0,1 M  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ - $\text{HPO}_4^{2-}$ , 0,1 M  $\text{NH}_3$ - $\text{NH}_4^+$ , 1,0 M HAc-NaAc destek elektrolitleri ve çeşitli asidik ortamlar (0,1 M HCl, 0,1 M  $\text{HClO}_4$ ) elektrolit olarak denenmiş, melaminin tayini için bu ortamların uygun olmadığı tespit edilmiştir. Sonraki çalışmalarda geniş bir aralıkta çalışma olanağı veren B-R (Britton-Robinson) tamponu denenmeye karar verilmiştir. Hazırlanan BRT stok çözeltisinden, HCl ve NaOH çözeltileri kullanılarak pH 2-13 aralığında çözeltiler hazırlanmıştır. B-R tamponu ile yapılan çalışmalar aşağıda verilmiştir.

### 5.1.2. pH Etkisi

Çeşitli destek elektrolitler ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ - $\text{HPO}_4^{2-}$ ,  $\text{NH}_3$ - $\text{NH}_4^+$ , HAc-NaAc) ve son olarak B-R tamponu ile yapılan pH taraması neticesinde melaminin indirgenmesinin pH'ya bağlı olduğu tespit edilmiştir. B-R tamponunda pH 10,5'e kadar herhangi bir pik kaydedilmemiştir. pH 10,5-12,7 aralığında melaminin indirgenmesine ait üç tane pik kaydedilmiştir (Şekil 5.4).

Melaminin tayini için kaydedilen pH 11,2 B-R tampon çözeltisi içerisinde alınan diferansiyel puls polarogramlarında -5 mV (1. pik), -50 mV (2.pik) ve -107 mV (3. pik)' larda kaydedilen 3 pik Şekil 5.4'te gösterilmiştir. -5 mV'taki 1. pikin pik akımı oldukça yüksek olmasına rağmen pik şekli, pik akımlarındaki artışlar ve pik akımı artışlarının doğrusal olduğu derişim aralığı iyi olmadığı için melaminin tayininde bu pikin kullanımının uygun olmayacağı düşünülmüştür. -50 mV'taki 2.pikin pik akımları derişimle doğrusal bir artış gösterdiği ve pik şekilleri düzgün olduğu için tayin amaçlı kullanabileceğine karar verilmiş ve çalışmalar -50 mV'taki 2. pik üzerinden devam ettirilmiştir. Bu nedenle sonraki çalışmalar, -50 mV'taki 2.pikin pik akımlarını daha iyi takip edebilmek için 1. pik göz önüne alınmadan yapılmıştır.



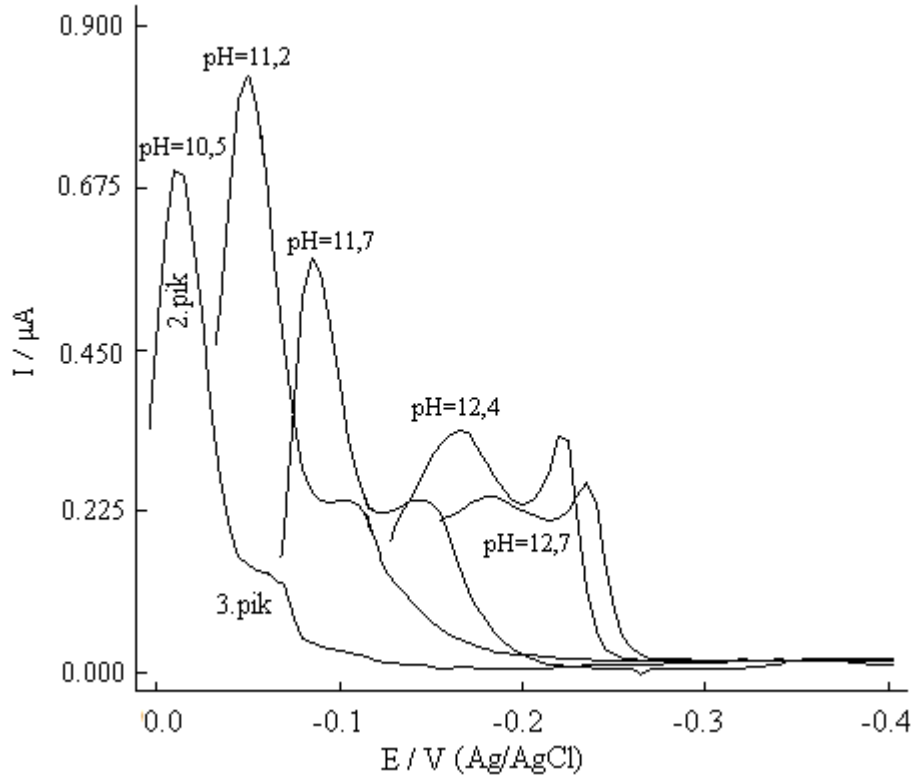
Şekil 5.4. Melaminin farklı derişimlerdeki diferansiyel puls polarogramları.

- a) 10,0 mL pH 11,2 B-R tampon çözeltisi
- b) a + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M melamin
- c) b + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M melamin
- d) c + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M melamin
- e) d + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M melamin
- f) e + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M melamin
- g) f + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M melamin

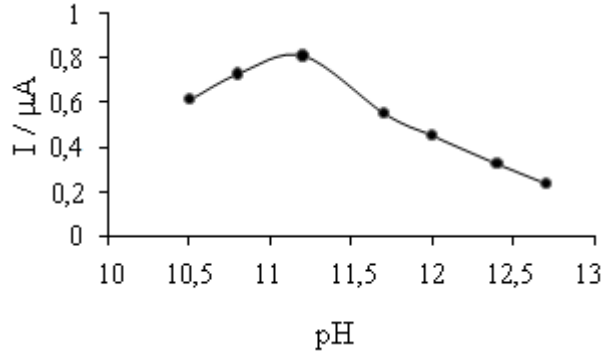


Şekil 5.5'te melaminin 2. ve 3. pik akımlarının pH ile değişimi gösterilmiştir. Bu piklerin pik potansiyelleri pH ile negatif değerlere kaymıştır. Ayrıca pH değiştikçe pik akımlarında da değişiklikler görülmüştür (Şekil 5.5).

Tayin için kullanılacak pike ait (2.pik) pik akımları pH'ya karşı grafiğe geçirilmiştir (Şekil 5.6). Melaminin 2. pikine ait pik yüksekliği pH 10,5 ile 11,2 aralığında artmış, pH 11,2'de maksimum değerine ulaşmıştır. pH 11,2'den sonra pik akımlarında azalmalar kaydedilmiştir (Şekil 5.6). pH arttıkça 3. pikin pik şekli keskinleşirken, 2. pik yayvanlaşmakta ve akımı azalmaktadır. pH 11,2 BRT elektrolitine melaminin standart ilavesiyle 2. pikin, pik akımlarındaki artışların 3. pike göre daha orantılı olduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışmalar neticesinde melaminin 2. indirgenme pikinin kantitatif kullanım için daha uygun olduğu tespit edilmiştir. 2. pikin pik şeklinin düzgün olduğu ve pik akımının en yüksek olduğu pH 11,2 çalışma ortamı olarak seçilmiştir. Melaminin B-R tamponu içinde pH 10,5-12,7 aralığındaki 2. ve 3. piklerine ait veriler Tablo 5.2' de özet halinde verilmiştir.



Şekil 5.5. 20 µM melaminin pH 10,5-12,7 aralığında B-R tamponundaki diferansiyel puls polarogramları.



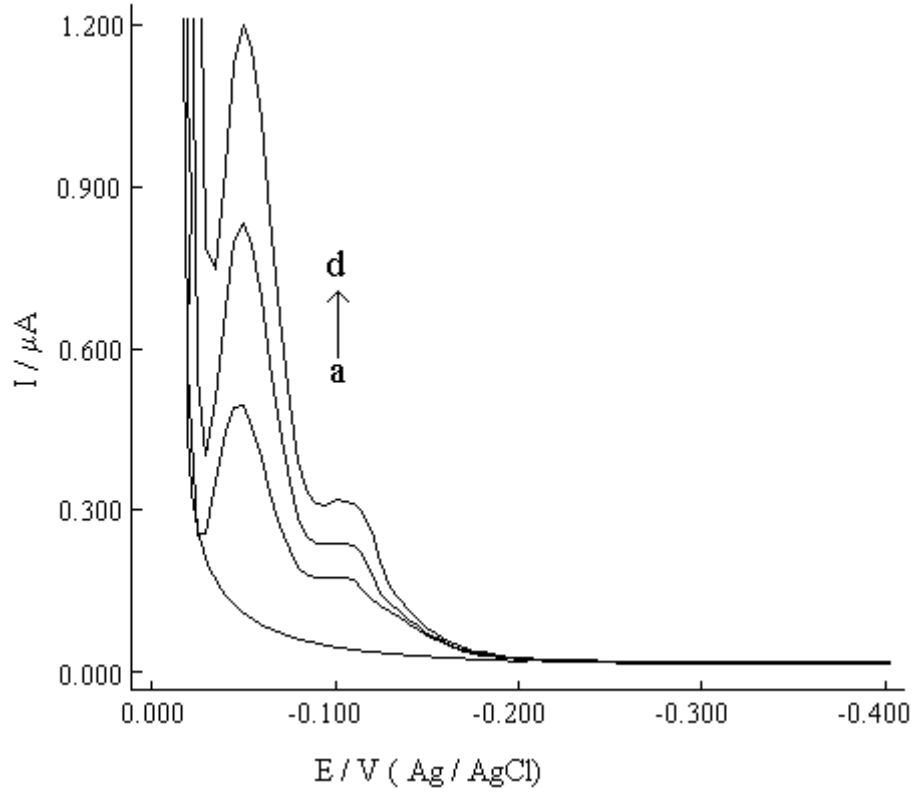
Şekil 5.6. DPP'de 20 µM melaminin tayini için kullanılan pikinin (2.pik) pik akımlarının pH ile değişimi.

Tablo 5.2. Britton-Robinson tamponunda melaminin polarografik davranışının pH ile değişiminin incelenmesi.

İyon	pH	E <sub>pik</sub> (mV)	I(µA)	Pik şekli	C(µM)
Melamin	pH=10,5	-10	0,700	Keskin	20 µM
		-64	0,120	Yayvan	
	pH=11,2	-50	0,829	Keskin	
		-107	0,230	Yayvan	
	pH=11,7	-85,6	0,574	Keskin	
		-148	0,237	Yayvan	
	pH=12,4	-165	0,331	Yayvan	
		-223	0,320	Keskin	
	pH=12,7	-182	0,213	Yayvan	
		-234	0,249	Keskin	

### 5.1.3. Melaminin Destek Elektrolitteki Tayini

Melaminin tayini için çalışma ortamı olarak pH 11,2 B-R tamponu belirlendikten sonra melaminin kantitatif tayini çalışılmıştır. Potansiyel taraması 0,0 V ile -0,6 V aralığında yapılmıştır. Bölüm 5.1.1'de anlatıldığı gibi hücreye art arda standart melamin çözeltisinden eklemeler yapılarak melamin tayini gerçekleştirilmiştir (Şekil 5.7). pH 11,2 BRT elektrolitindeki derişimi  $1 \times 10^{-5}$  M olan melaminin miktarı; standart ekleme yöntemiyle, %95 güven seviyesinde, deney 5 kez tekrarlandığında  $(0,99 \pm 0,03) \times 10^{-5}$  M olarak bulunmuştur. Sonuçlar Tablo 5.3'te verilmiştir.



Şekil 5.7. pH 11,2 B-R tamponunda melamin miktar tayini  
 a) 10,0 mL pH 11,2 B-R tampon çözeltisi  
 b) a + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M melamin  
 c) b + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M melamin  
 d) c + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M melamin

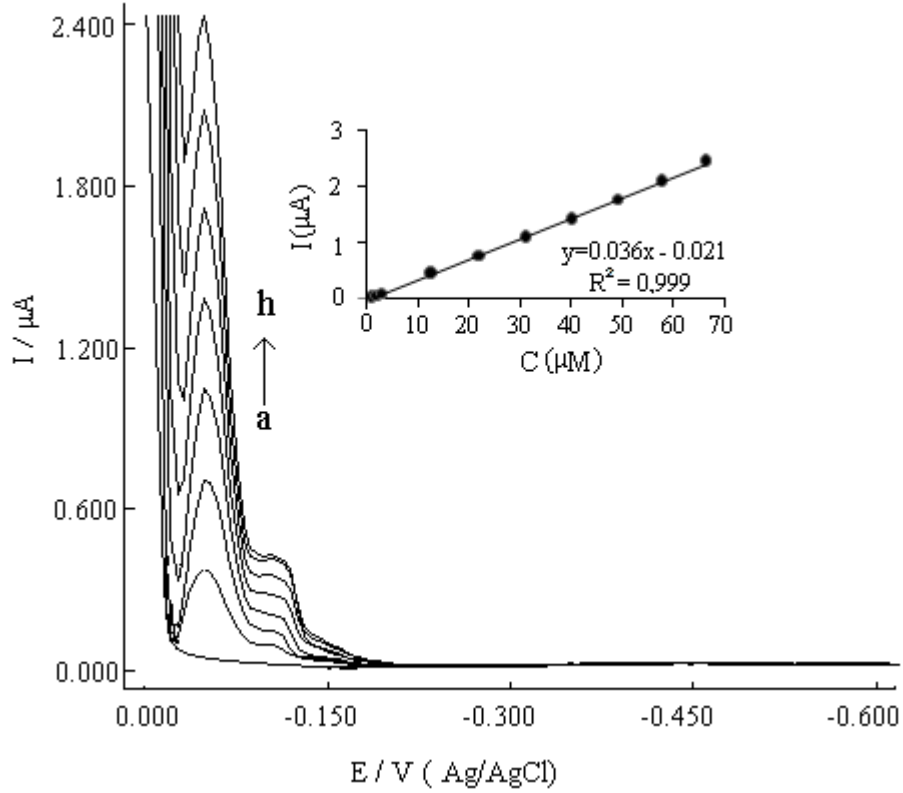
Tablo 5.3. pH 11,2 B-R tamponunda  $1 \times 10^{-5}$  M (hücre içindeki derişim) melaminin miktar tayini

Eklene melamin derişimi (M)	Bulunan melamin derişimi(M) $\bar{X}$	s	$\bar{X} \pm ts/\sqrt{N}$
$1 \times 10^{-5}$	$0,99 \times 10^{-5}$	$0,03 \times 10^{-5}$	$(0,99 \pm 0,03) \times 10^{-5}$

%95 GS, N=5

Melaminin tayin edilebilir aralığını belirlemek için kalibrasyon çalışmaları yapılmıştır. Melaminin  $1 \times 10^{-5}$ ,  $1 \times 10^{-4}$  ve  $1 \times 10^{-3}$  M'lık çözeltileri hazırlanmıştır. Melaminin tayin sınırını belirlemek için ilk olarak  $1 \times 10^{-5}$  M'lık melamin çözeltisinden 10,0 mL B-R tamponu bulunan elektrolit içine 0,1'er mL'lik ilaveler yapılmış, fakat bu derişimdeki melaminin piki DPP ile kaydedilememiştir. Tayin aralığını belirlemek için  $1 \times 10^{-4}$  ve  $1 \times 10^{-3}$  M'lık melamin çözeltilerinden de standart ilaveler yapılarak polarogramlar kaydedilmiş ve kalibrasyon grafiğı çizilmiştir (Şekil 5.8). Şekil 5.8'de destek

elektrolitteki melamin tayini için yapılan çalışmalardan elde edilen bazı derişimlerin polarogramları gösterilmiştir. pH 11,2 B-R tamponu ortamında hücreye farklı derişimlerdeki melamin çözeltisinin standart eklemeleriyle 1,0  $\mu\text{M}$  – 66,40  $\mu\text{M}$  aralığında pik akımı ve derişim arasında doğrusal bir ilişki görülmüştür (Şekil 5.8).



Şekil 5.8. Melaminin farklı derişimlerdeki diferansiyel puls polarogramları.

- a) 10,0 mL pH 11,2 B-R tampon çözeltisi
- b) a + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M melamin
- c) b + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M melamin
- d) c + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M melamin
- e) d + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M melamin
- f) e + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M melamin
- g) f + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M melamin
- h) g + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M melamin

Bu grafiğe ait denklem Eşitlik 5.3 ile verilmiştir.

$$I_p (\mu\text{A}) = 0,036 C (\mu\text{M}) - 0,021 (R^2 = 0,999) (n=10) \quad (5.3)$$

Tayin alt sınırı ve gözlenebilme sınırı değerleri doğrudan yapılan deneylerden bulunmuştur. Doğrudan yapılan deneylerden, gözlenerek yapılan hesaplamalarda genel olarak gözlenebilme sınırı için Sinyal/Gürültü oranı 3, tayin alt sınırı için

Sinyal/Gürültü oranı 10 olarak alınmıştır. Bu değerler sırasıyla 0,3  $\mu\text{M}$  ve 1,0  $\mu\text{M}$  olarak belirlenmiştir. DPP'nin yüksek duyarlılığıyla çok iyi bir tekrarlanabilirlik elde edilmiştir.

#### 5.1.4. Girişim etkisi

##### 5.1.4.1. Elektroaktif İyonların Girişim Etkilerinin İncelenmesi

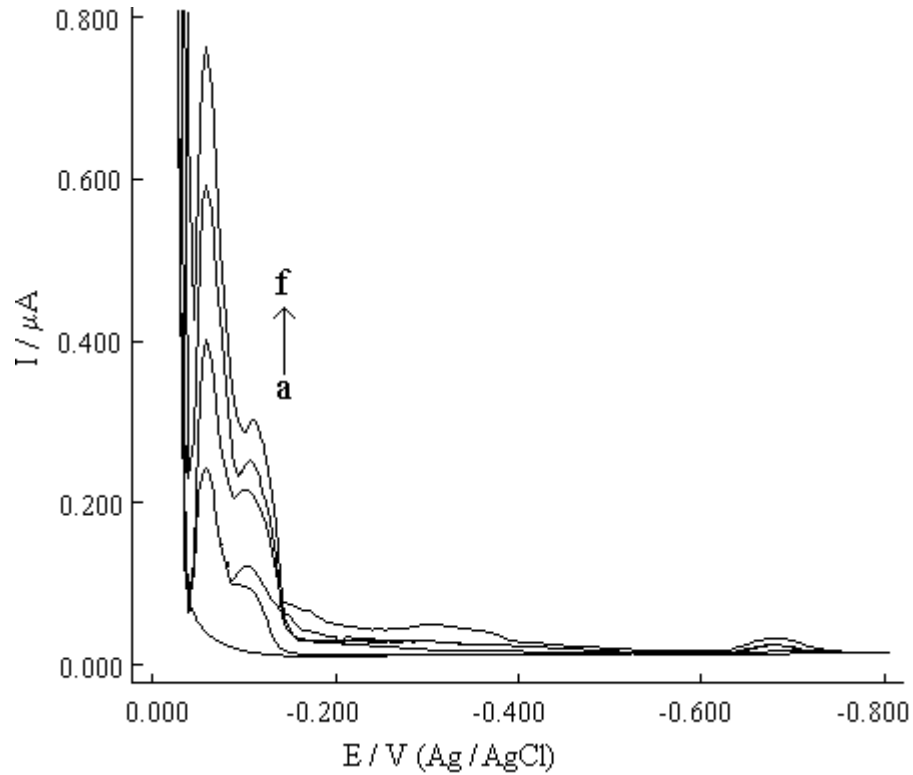
Melamin tayini için geliştirilen yöntemin seçiciliğini belirlemek amacıyla, süt ve süt tozunda bulunabilecek iyonlar ( $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Fe}^{+3}$  ve  $\text{Cu}^{+2}$ ) ve  $\text{Co}^{+2}$ ,  $\text{Ni}^{+2}$ ,  $\text{Pb}^{+2}$ ,  $\text{Zn}^{+2}$ ,  $\text{Cd}^{+2}$ ,  $\text{Hg}^{+2}$ ,  $\text{Mn}^{+2}$ ,  $\text{Se}^{+4}$ ,  $\text{Al}^{+3}$ ,  $\text{Ba}^{+2}$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{Cl}^-$  iyonlarının melaminin tayinine girişim etkileri incelenmiştir.

Öncelikle çalışılan ortamda girişim etkileri incelenecek iyonların, piklerinin olup olmadığını öğrenmek için iyonların 0-2200 mV aralığında ayrı ayrı polarogramları kaydedilmiştir. Daha sonra temizlenen polarografi hücresine 10,0 mL destek elektrolit ilave edilip, bu çözelti içine sırasıyla; 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M'lık standart melamin çözeltisinden, sonra 0,1 mL  $1 \times 10^{-2}$  girişim etkisi incelenecek iyondan, sonra da art arda 3 kez standart melamin (0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M) çözeltisinden ilave edilmiş ve geri kazanım hesaplamaları yapılmıştır. Her bir iyon için deneyler 3'er defa tekrar edilmiştir.

pH 11,2 B-R tamponunda  $\text{Co}^{+2}$ ,  $\text{Ni}^{+2}$ ,  $\text{Hg}^{+2}$ ,  $\text{Mn}^{+2}$ ,  $\text{Se}^{+4}$  ve  $\text{Pb}^{+2}$  iyonlarına ait pikler gözlenmemiştir.  $\text{Cu}^{+2}$  (-182 mV),  $\text{Fe}^{+3}$  (-1440 mV),  $\text{Cd}^{+2}$  (-660 mV),  $\text{Zn}^{+2}$  (-1351 mV) iyonlarına ait pikler ise belirtilen potansiyellerde kaydedilmiştir. Bu iyonların pik potansiyelleri melaminin -50 mV'teki pikinden daha negatif potansiyellerdedir ve bu yüzden, bu iyonların pikleriyle melaminin piki üst üste çakışmamıştır. Tablo 5.4'te belirtilen elektroaktif iyonların pik potansiyelleri melaminin potansiyelinden farklı yerde olduğu ve melaminin bu iyonlarla herhangi bir etkileşmesinin olmadığı melaminin pik akımlarının değişmemesinden anlaşılmıştır.

Elektroaktif iyonlardan  $\text{Cd}^{+2}$ 'nin melaminle girişimi örnek olarak aşağıda verilmiştir. Hücreye melamin ilavesinden sonra  $\text{Cd}^{+2}$  ilavesiyle -50 mV'teki melaminin pik yüksekliğinde herhangi bir değişme olmazken,  $\text{Cd}^{+2}$  iyonlarının -660 mV'ta piki gözlenmiştir (Şekil 5.9). Deneyler 3 defa tekrar edilmiş ve elde edilen

polarogramlardan,  $\text{Cd}^{+2}$  varlığında melaminin geri kazanımı %97,8 olarak hesaplanmıştır. Tayinin gerçekleştirileceği ortamda, melamin ve  $\text{Cd}^{+2}$  iyonları arasında herhangi bir reaksiyonunun gerçekleşmediği ve piklerinin üst üste çakışmadığı, yani girişim yapmadıkları tespit edilmiştir.



Şekil 5.9.  $\text{Cd}^{+2}$  iyonunun melaminin tayinine girişim etkisinin incelenmesi.

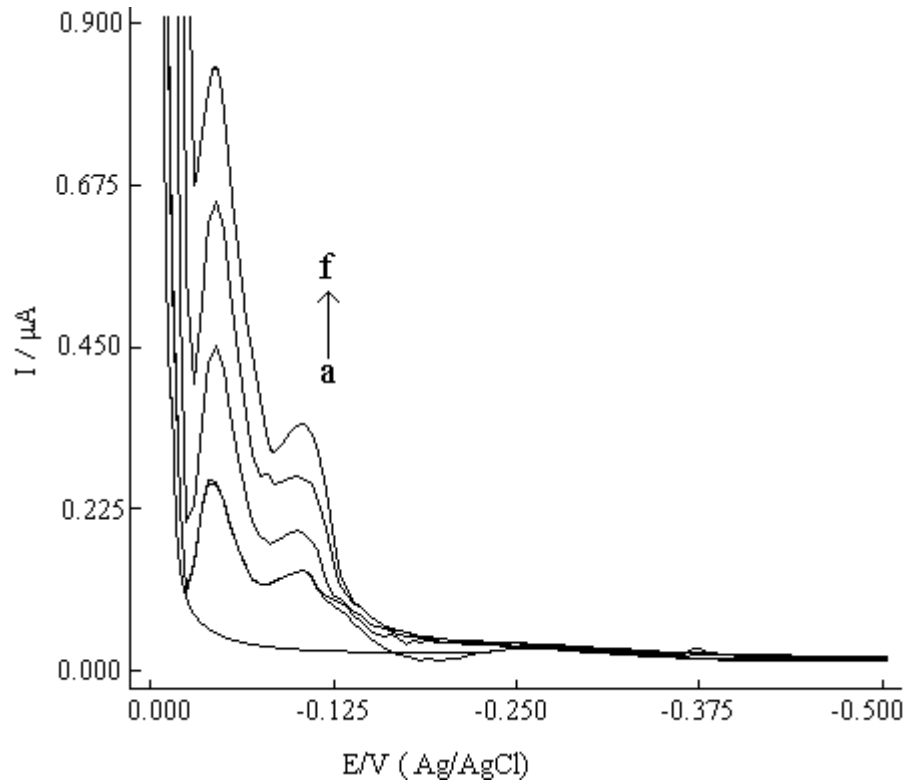
- a) 10,0 mL pH 11,2 B-R tampon çözeltisi
- b) a + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M melamin
- c) b + 0,1 mL  $1 \times 10^{-2}$  M  $\text{Cd}^{+2}$
- d) c + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M melamin
- e) d + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M melamin
- f) e + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M melamin

Diğer elektroaktif iyonlar (  $\text{Cu}^{+2}$ ,  $\text{Fe}^{+3}$ ,  $\text{Co}^{+2}$ ,  $\text{Ni}^{+2}$ ,  $\text{Pb}^{+2}$ ,  $\text{Zn}^{+2}$ ,  $\text{Cd}^{+2}$ ,  $\text{Hg}^{+2}$ ,  $\text{Mn}^{+2}$ ,  $\text{Se}^{+4}$  ) için de aynı deneyler yapılmış ve melaminin geri kazanımı toplu olarak Tablo 5.4'te verilmiştir.

#### 5.1.4.2. Elektroaktif Olmayan İyonların Girişim Etkilerinin İncelenmesi

Bazı elektroaktif iyonların girişim etkileri incelendikten sonra elektroaktif olmayan  $\text{Al}^{+3}$ ,  $\text{K}^{+}$ ,  $\text{Ba}^{+2}$ ,  $\text{Na}^{+}$ ,  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{NO}_3^{-}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  ve  $\text{Cl}^{-}$  iyonlarının da girişim etkileri

incelenmiştir. Deneyler elektroaktif iyonların girişim etkilerinin incelenmesinde anlatıldığı gibi yapılmıştır. Şekil 5.10'da örnek olarak  $\text{Ca}^{+2}$  iyonu için elde edilen polarogram verilmiştir.  $\text{Ca}^{+2}$  varlığında melaminin geri kazanımı % 96,9 olarak hesaplanmıştır.



Şekil 5.10.  $\text{Ca}^{+2}$  iyonunun girişim etkisinin incelenmesi

- a) 10,0 mL pH 11,2 B-R tampon çözeltisi
- b) a + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M melamin
- c) b + 0,1 mL  $1 \times 10^{-2}$  M  $\text{Ca}^{+2}$
- d) c + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M melamin
- e) d + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M melamin
- f) e + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M melamin

Diğer elektroaktif olmayan iyonlar ( $\text{Al}^{+3}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ba}^{+2}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  ve  $\text{Cl}^-$ ) için de benzer yolla elde edilen polarogramlardan yararlanarak, girişim etkisi incelenen iyonun bulunduğu ortamda melaminin geri kazanımı hesaplanmıştır. Polarografik olarak inaktif olan  $\text{Al}^{+3}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ba}^{+2}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  ve  $\text{Cl}^-$  iyonlarının da melaminin indirgenme pikine önemli bir girişim etkilerinin olmadığı tespit edilmiştir. Melaminin incelenen iyonlar varlığında geri kazanım sonuçları Tablo 5.4'te verilmiştir.

Tablo 5.4. pH 11,2 B-R tamponunda  $1 \times 10^{-5}$  M melamine bazı iyonların girişim etkilerinin incelenmesi.

Girişim etkisi incelenen iyonlar	C (M)	Melaminin % geri kazanımı	Girişim etkisi incelenen iyonlar	C(M)	Melaminin % geri kazanımı
Pb <sup>2+</sup>	1x10 <sup>-4</sup>	98,9	Al <sup>3+</sup>	1x10 <sup>-4</sup>	97,3
Ni <sup>2+</sup>		98,6	K <sup>+</sup>		97,8
Cd <sup>2+</sup>		97,8	Ba <sup>2+</sup>		95,3
Fe <sup>3+</sup>		95,0	Mg <sup>2+</sup>		99,8
Zn <sup>2+</sup>		90,0	Ca <sup>2+</sup>		96,9
Se <sup>4+</sup>		98,9	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>		97,8
Co <sup>2+</sup>		97,9	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>		99,8
Cu <sup>2+</sup>		95,8	Cl <sup>-</sup>		95,8
Mn <sup>2+</sup>		94,7	Se <sup>4+</sup>		98,9

Tablo 5.4'te görüldüğü gibi incelenen iyonların varlığında melaminin geri kazanımı % 90-% 99,8 arasındadır. İncelenen iyonların varlığında melamin için yüksek geri kazanım değerleri elde edilmiştir ve bu yüzden bu iyonların melaminin tayinine önemli bir girişim etkileri olmadığı belirlenmiştir.

### 5.1.5. Melaminin Süt ve Süt Tozundaki Tayini

Melamin tayini için DPP ile geliştirilen yöntemin gerçek numunelere uygulamasını test etmek için, önerilen metot melamin eklenmiş süt ve süt tozu numunelerine uygulanmıştır. Yeni geliştirilen metodun başlıca avantajları daha yüksek duyarlılığa sahip olması ve matris etkisinin en az olmasıdır. Buna ek olarak metot basit, hızlı ve ucuz olduğu için süt, süt tozu numunelerindeki melaminin hızlı tayini için mükemmel alternatif bir araçtır. Metot; temizleme, ön deriştirme gibi zahmetli, zaman alan ve kirliliğe sebep olan basamaklar gerektirmemektedir.

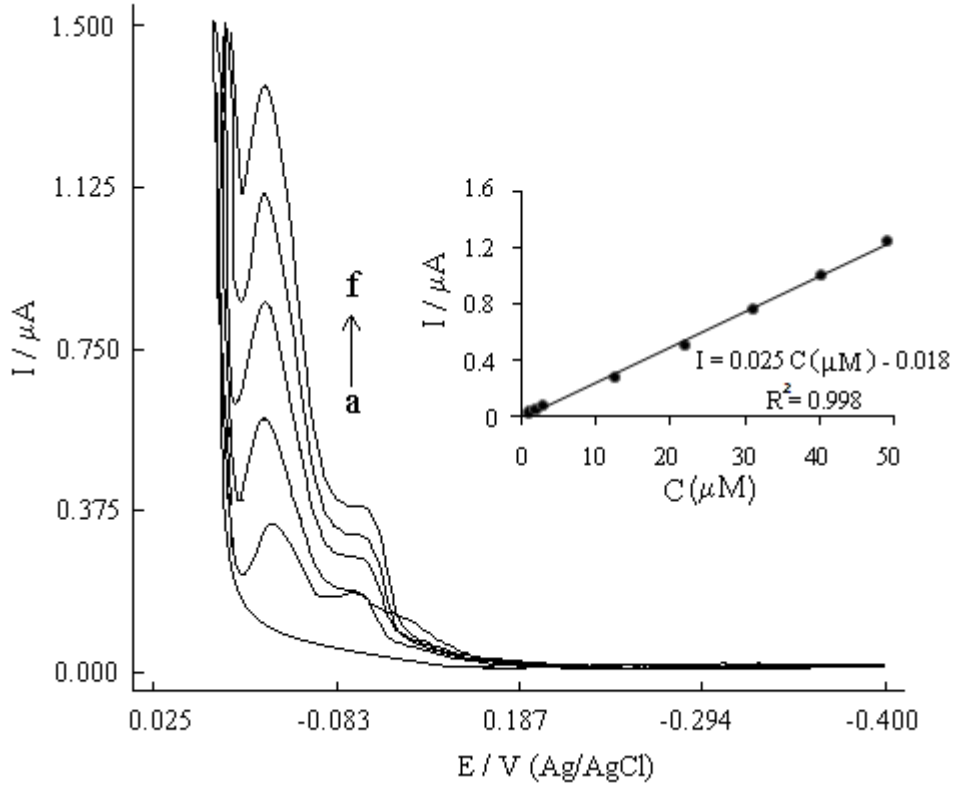
#### 5.1.5.1. Süt Numunelerindeki Melaminin Tayini

Süt numunelerindeki melaminin tayini için 1,0 mL süt örneği üzerine 1,0 mL  $1 \times 10^{-2}$  M standart melamin çözeltisi ilave edilerek, süt numunesi içinde bulunabilecek organik ya da inorganik maddelerle melaminin etkileşmesi sağlanmıştır. Ardından süttteki proteinleri çöktürmek amacı ile 8,0 mL asetonitril ilave edilmiştir. Numunenin 20



1 dakika homojen hale gelmesi beklendikten sonra, 9000 rpm'de 20 dakika santrifüj edilip berrak kısım alınmış ve süt proteininin artıkları atılmıştır. Böylece içerisinde  $1 \times 10^{-3}$  M melamin bulunan süt numunesi elde edilmiştir. Aynı şekilde  $1 \times 10^{-4}$  ve  $1 \times 10^{-5}$  M'lık melamin içeren süt numuneleri de ayrı ayrı hazırlanmıştır. Ayrıca içerisinde melamin bulunmayan süt numunesi tank çözeltisi hazırlamak için 1,0 mL süt, 1 mL saf su ve 8 mL asetonitril çözeltileri karıştırılmıştır. Daha sonra da süt numunesinin hazırlanışındaki işlemler bu numuneye de uygulanmıştır. pH'sı 11,2 olan 9,9 mL BRT çözeltisi ve 0,1 mL tank çözelti polarografi hücresine ilave edilip polarogram kaydedilmiştir. Daha sonra hücreye her seferinde, önce  $1 \times 10^{-4}$  M'lık melamin içeren süt numunesinden sonra da  $1 \times 10^{-3}$  M'lık melamin içeren süt numunesinden 0,1'er mL'lik standart ilaveler yapılarak polarogramlar kaydedilmiş ve kalibrasyon grafiği çizilmiştir. Şekil 5.11'de süt numunesindeki melamin tayini için yapılan çalışmadan elde edilen bazı derişimlerin polarogramları gösterilmiştir. Süt numunesi içeren pH=11,2 BRT elektroliti içerisinde melaminin indirgenme piki -44 mV'ta kaydedilmiştir (Şekil 5.11).

Süt numunesindeki melaminin tayini için elde edilen kalibrasyon doğrusunun denklemi Eşitlik 5.5'te verilmiştir. Elde edilen bu kalibrasyon grafiğinden tayin aralığı  $1 \mu\text{M}$  -  $58 \mu\text{M}$  olarak tespit edilmiştir.



Şekil 5.11. Süt numunesindeki melaminin diferansiyel puls polarogramları.

- a) 9,9 mL BRT çözeltisi (pH=11,2) + 0,1 mL tanık çözelti
- b) a + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M süt numunesi
- c) b + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M süt numunesi
- d) c + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M süt numunesi
- e) d + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M süt numunesi
- f) e + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M süt numunesi

Süt için,

$$I(\mu A) = 0,025C (\mu M) - 0,018 \quad (R^2 = 0,998) \quad (5.5)$$

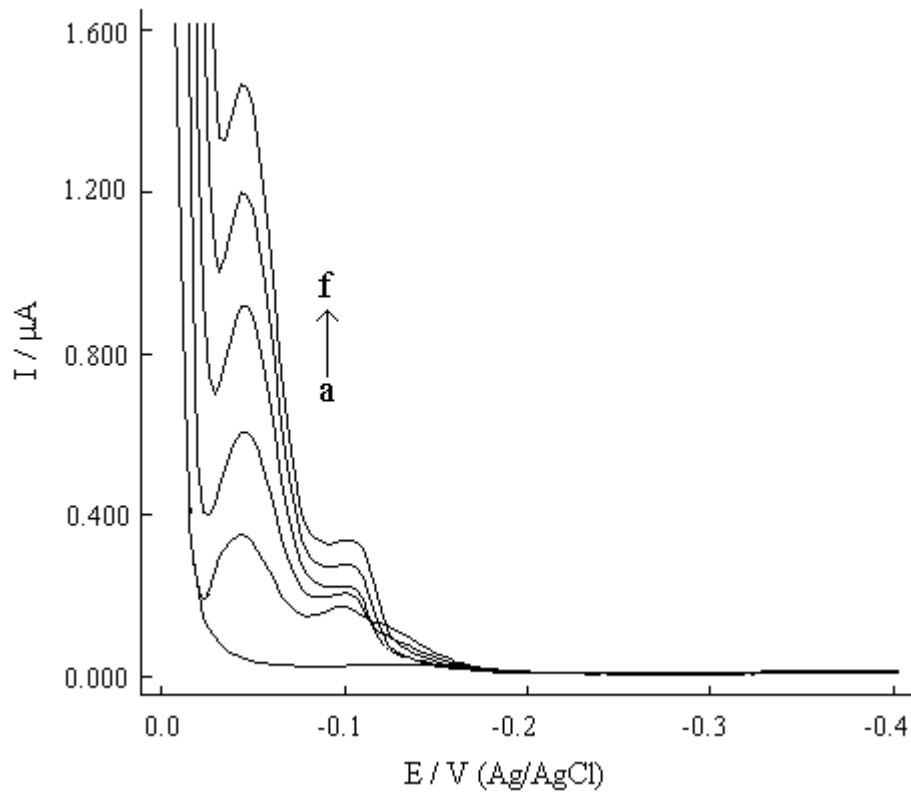
Süt numunesindeki melamin için tayin alt sınırı ve gözlenebilme sınırı değerleri doğrudan yapılan deneylerden bulunmuş ve gözlenebilme sınırı  $0,3 \mu M$ , tayin alt sınırı ise  $1 \mu M$  olarak belirlenmiştir.

### 5.1.5.2. Süt Numunelerinde Melaminin Geri Kazanımının İncelenmesi

Süt numunesinde melaminin geri kazanımını incelemek için polarografi hücresine 9,9 mL B-R tamponu, 0,1 mL tanık çözeltiden ilave edilmiştir. Bu çözelti içine 2 defa içerisinde  $0,1 \text{ mL } 1 \times 10^{-3} \text{ M}$  melamin içeren süt numunesinden ilave edilmiş, sonra art

arda 3 defa 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M'lık standart melamin çözeltisinden ilave edilip polarogramlar kaydedilmiştir. Geri kazanımlar, süt numunelerindeki melaminin pik akımları ölçülerek ve standart eklemelerdeki akım artışları ile karşılaştırılarak hesaplanmıştır. Tanık çözeltinin polarogramında melamine ait pik kaydedilmemiştir (Şekil 5.12).

Süte eklenen melaminin polarografik tayini için, üç deney yapılmış ve bu üç deneyin ortalaması alınarak geri kazanımı hesaplanmış ve Tablo 5.6'da verilmiştir. Sütte melaminin geri kazanım değeri % 95, varyasyon katsayısı (VK) 2,1 olarak hesaplanmıştır.

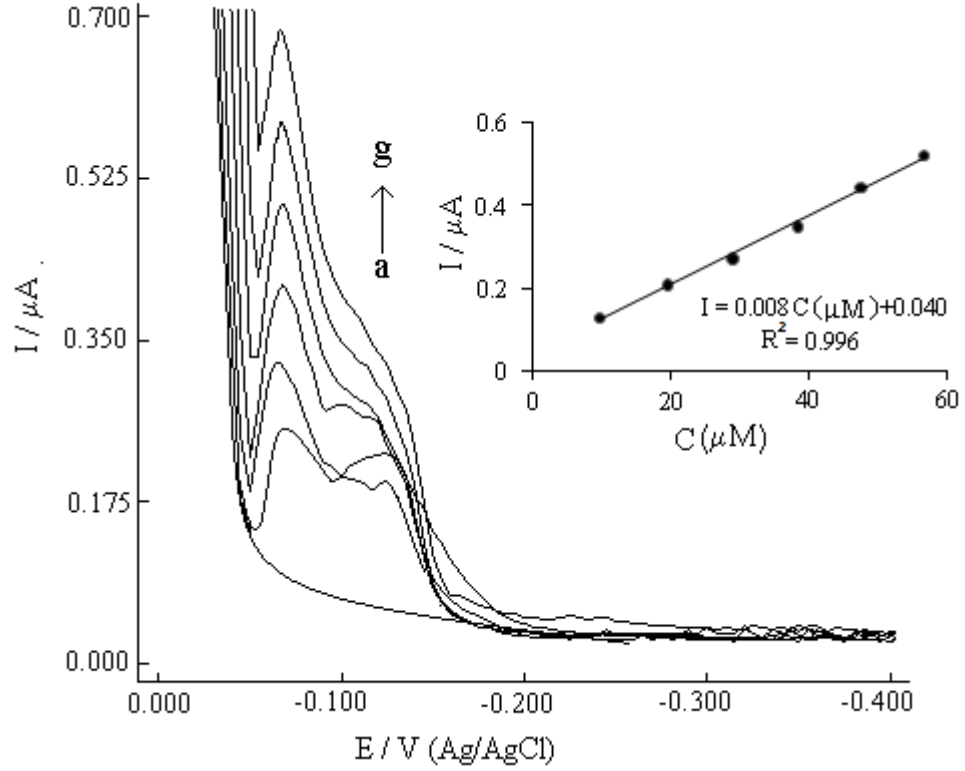


Şekil 5.12. Süt numunesindeki melaminin geri kazanım çalışması

- a) 9,9 mL BRT çözeltisi (pH=11,2) + 0,1 mL tanık çözeltisi
- b) a + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M süt numunesi
- c) b + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M süt numunesi
- d) c + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M melamin
- e) d + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M melamin
- f) e + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M melamin

### 5.1.5.3. Süt Tozu Numunelerindeki Melaminin Tayini

0,5 g süt tozu tartılıp içerisinde 1,0 mL  $1 \times 10^{-2}$  M melamin numunesi ilave edilmiş, süt tozu içindeki proteinleri çöktürmek amacıyla 9,0 mL asetonitril çözeltisiyle karıştırılmıştır. Numune 20 dakika homojen hale gelmesi beklendikten sonra, 9000 rpm'de 20 dakika santrifüj edilip berrak kısım alınmış ve süt proteininin artıkları atılmıştır. Böylece içerisinde  $1 \times 10^{-3}$  M melamin bulunan süt tozu numunesi elde edilmiştir. Aynı şekilde  $1 \times 10^{-4}$  M'lık melamin içeren süt tozu numunesi de hazırlanmıştır. Ayrıca içerisinde melamin bulunmayan süt tozu numunesi yani tanık çözeltinin hazırlanması için 0,5 g süt tozu, 1 mL saf su ve 9 mL asetonitril çözeltileri karıştırılmıştır. Daha sonra da süt tozu numunesinin hazırlanışındaki işlemler yapılmıştır. Ardından pH'sı 11,2 olan 9,9 mL BRT çözeltisi ve 0,1 mL tanık çözelti polarografi hücresine ilave edilmiştir. Daha sonra hücreye her seferinde, önce  $1 \times 10^{-4}$  M'lık, sonra  $1 \times 10^{-3}$  M'lık melamin içeren süt tozu numunesinden 0,1'er mL'lik standart ilaveler yapılarak polarogramlar kaydedilmiş ve kalibrasyon grafiği çizilmiştir (Şekil 5.13). Ancak  $1 \times 10^{-4}$  M'lık süt tozu numunesindeki melamine ait pikler gözlenememiştir. Süt tozu numunesi içeren pH=11,2 BRT elektroliti içerisinde melaminin piki -65 mV'ta kaydedilmiştir (Şekil 5.13). Kalibrasyon grafiğinden çalışma aralığı  $9,9 \mu\text{M} - 57 \mu\text{M}$  olarak bulunmuştur.



Şekil 5.13. Süt tozu numunesindeki melaminin diferansiyel puls polarogramları.

- a) 9,9 mL BRT çözeltisi (pH=11,2) + 0,1 mL tanık çözeltisi
- b) a + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M süt tozu numunesi
- c) b + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M süt tozu numunesi
- d) c + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M süt tozu numunesi
- e) d + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M süt tozu numunesi
- f) e + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M süt tozu numunesi
- g) f + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M süt tozu numunesi

Süt tozu için;

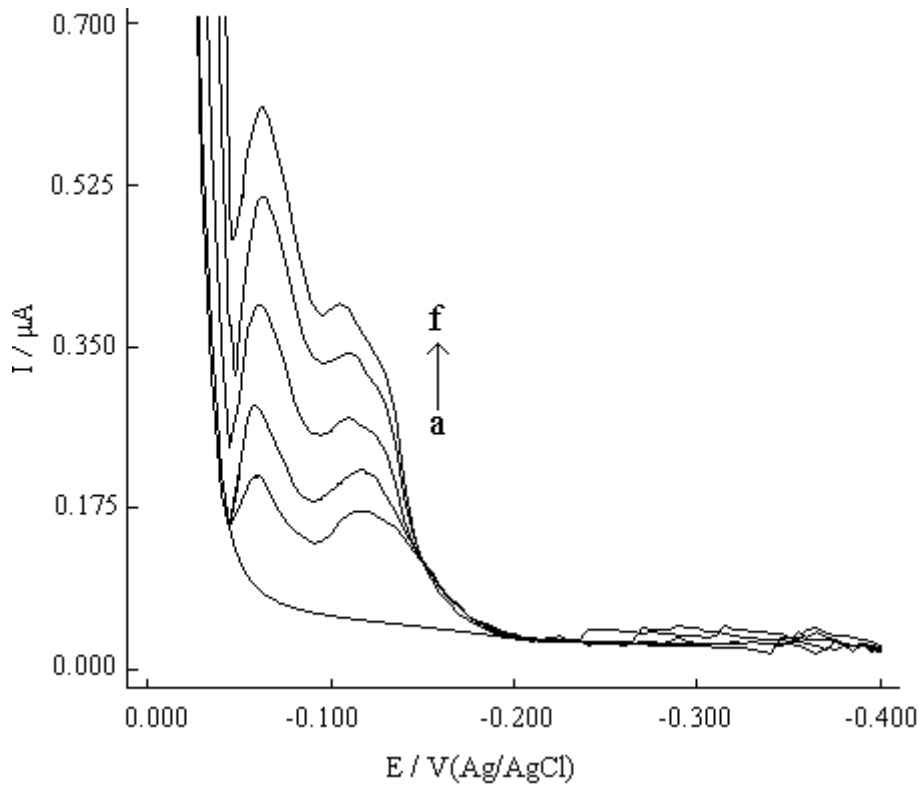
$$I(\mu A) = 0,008 C (\mu M) + 0,040 (R^2 = 0,996) \quad (5.7)$$

Süt tozu numunesindeki melamin için gözlenebilme sınırı  $3,3 \mu M$ , tayin alt sınırı ise  $9,9 \mu M$  olarak bulunmuştur.

#### 5.1.5.4. Süt Tozu Numulerinde Melaminin Geri Kazanımının İncelenmesi

Süt tozu numunesindeki melaminin geri kazanımını Bölüm 5.1.5.2’de anlatıldığı gibi yapılmıştır. Tanık çözeltinin polarogramında melamine ait pik kaydedilmemiştir (Şekil

5.14). Şekil 5.14'te süt tozundaki melaminin geri kazanımına ait polarogramlar verilmiştir. Süt tozuna eklenen melaminin polarografik tayini için, üç deney yapılmış ve geri kazanımları hesaplanarak sonuçlar Tablo 5.5'te verilmiştir. Süt tozunda melaminin geri kazanım değeri % 87, varyasyon katsayısı (VK) 3,7 olarak bulunmuştur. Tablo 5.6'da süt ve süt tozu örneklerine eklenen melaminin geri kazanım sonuçları özet halinde verilmiştir.



Şekil 5.14. Süt tozu numunesindeki melaminin diferansiyel puls polarogramları.

- a) 9,9 mL BRT çözeltisi (pH=11,2) + 0,1 mL tanık çözeltisi
- b) a + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M süt tozu numunesi
- c) b + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M süt tozu numunesi
- d) c + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M melamin
- e) d + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M melamin
- f) e + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M melamin

Tablo 5.5. Süt ve süt tozu numunelerindeki melaminin tayini (polarografi hücresinde).

	Eklenen Melamin	Bulunan Melamin	${}^a\bar{x} \pm \frac{ts}{\sqrt{N}}$	VK ( $\frac{s}{\bar{x}} \cdot 100$ )	%Geri kazanım
Süt (M)	$1 \times 10^{-5}$	$0,95 \times 10^{-5}$	$(0,95 \pm 0,05) \times 10^{-5}$	2,1	95
Süt tozu(M)	$1 \times 10^{-5}$	$0,87 \times 10^{-5}$	$(0,87 \pm 0,08) \times 10^{-5}$	3,7	87

% 95 Güven seviyesi (N=3)

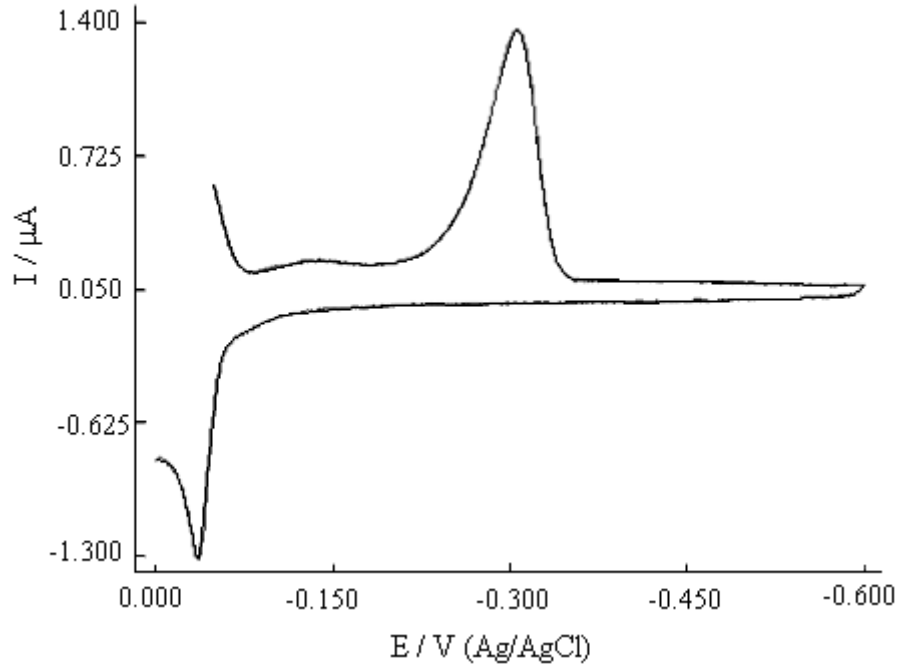
Geri kazanım değerlerinin yüksek ve varyasyon katsayısı (VK) değerlerinin düşük olması, süt ve süt tozu numunelerinde melaminin tayininin DPP ile yapılabileceğini göstermektedir. Geliştirilen metot için farklı koşullarda elde edilen gözlenebilme sınırı ve tayin alt sınırı değerleri özet halinde Tablo 5.6'da verilmiştir. Melaminin pik potansiyelleri destek elektrolit, süt ve süt tozu numunelerinde farklılık göstermiştir (Tablo 5.6). Bunun nedeni hücreye süt ve süt tozu numunelerinin ilavesi ile elektrolit ortamının kısmen değişmesidir. Destek elektrolit ve süt numunelerinde gözlenebilme ve tayin alt sınırları aynıyken, süt tozu numunesinde ise daha büyüktür. Bu durum süt tozlarının, daha yoğun matriks ortamına sahip olması nedeniyle tayini zorlaştırmasından kaynaklanıyor olabilir.

Tablo 5.6. Melaminin tayini için farklı koşullarda pik potansiyelleri, gözlenebilme ve tayin alt sınırı değerleri.

	Melaminin pik potansiyeli (mV)	Gözlenebilme sınırı ( $\mu\text{M}$ )	Tayin alt sınırı ( $\mu\text{M}$ )
Elektrolit	-50	0,3	1,0
Süt	-44	0,3	1,0
Süt tozu	-65	3,3	9,9

### 5.1.6. Melaminin Dönüşümlü Voltametri (DV) Çalışmaları

Melaminin voltametrik davranışını incelemek için dönüşümlü voltametri (DV) çalışmaları yapılmıştır. Bunun için 10,0 mL B-R tamponu içeren hücreden 5 dakika boyunca azot gazı geçirilmiştir. Sonra hücreye 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M'lık standart melamin çözeltisinden ilave edilerek polarogramı alınmıştır. Daha sonra tekrar aynı standart melamin çözeltisinden 0,1 mL'lik melamin ilaveleri yapılarak, melaminin pik akımındaki artışlar takip edilmiştir. Dönüşümlü voltamogramların alınması için geniş bir aralıkta (0 V'tan başlanarak -2000 V'a kadar) önce negatif yönde daha sonra da pozitif yönde potansiyel taraması yapılmıştır. Dönüşümlü voltamogramda geniş aralıkta yapılan potansiyel taramasında herhangi yeni bir pik kaydedilmediği için, sonraki çalışmalarda pik şekillerinin daha düzgün elde edildiği 0 V ile -600 mV aralığında potansiyel taraması yapılarak voltamogramlar kaydedilmiştir (Şekil 5.15 ve 5.16).



Şekil 5.15. 30  $\mu\text{M}$  melaminin pH 11,2 B-R tamponundaki dönüşümlü voltamogramı. Tarama hızı; 200  $\text{mV s}^{-1}$

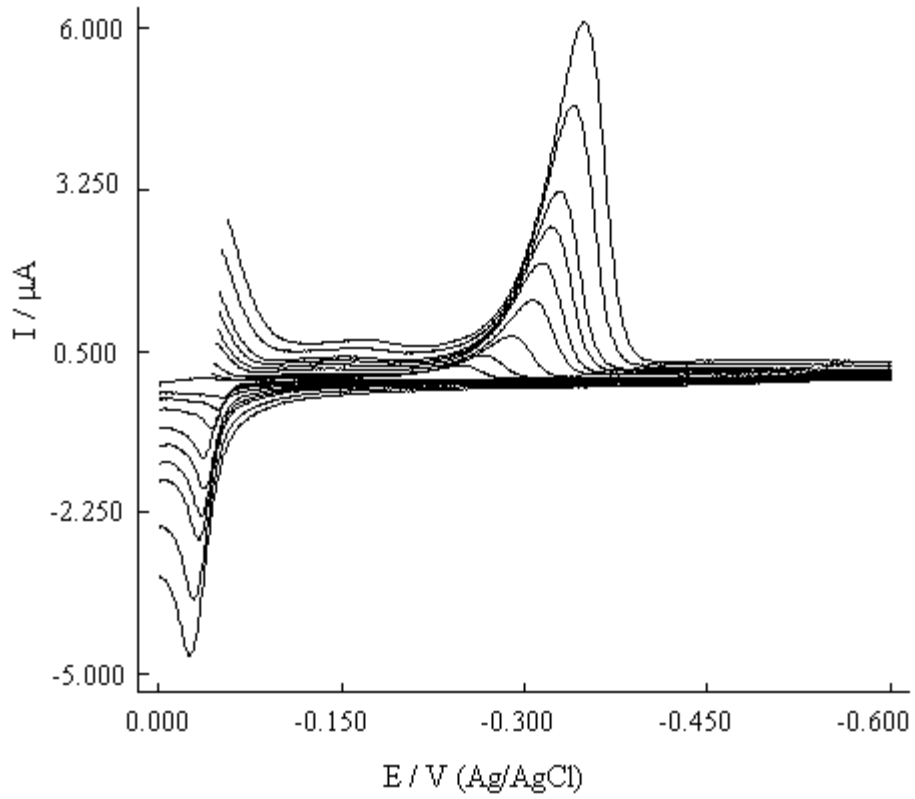
Melaminin pH 11,2 B-R tamponundaki dönüşümlü voltamogramında -307  $\text{mV}$ 'ta bir katodik pik, yapılan geri tarama sonucunda da -37  $\text{mV}$ 'ta bir anodik pik kaydedilmiştir (Şekil 5.15). -307  $\text{mV}$ 'taki katodik pikle -37  $\text{mV}$ 'taki anodik pik, melaminin DPP' sinde -50  $\text{mV}$ 'ta kaydedilen 2. pike karşılık gelmektedir. Melaminin DPP'sinde kaydedilen 3. pik DV ile kaydedilememiştir.

Tarama hızı ile pik yüksekliğinin değişimi incelendiğinde difüzyon, adsorpsiyon ve elektron aktarımına eşlik eden kimyasal reaksiyonlarla ilgili birçok bilgi edinilebilir. Bu nedenle melaminin pH 11,2 B-R tamponunda farklı tarama hızlarında dönüşümlü voltamogramları kaydedilmiştir. Potansiyel taramaları 25, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 750 ve 1000  $\text{mV/s}$ 'lik tarama hızlarında yapılmıştır. Şekil 5.16'da pH 11,2 BRT'de 25-1000 tarama hızı aralığında 30  $\mu\text{M}$  melaminin 2. indirgenme piki için (tayin amaçlı kullanılan pik) tarama hızı ile pik potansiyelleri ve pik akımlarındaki değişimi gösteren voltamogramlar verilmiştir.

Melaminin indirgenme pikinin katodik pik akımları tarama hızı arttıkça artmaktadır, pik potansiyelleri de negatife kaymıştır (Şekil 5.16). Anodik pik akımları da tarama hızı



arttıkça artmıştır. DV çalışmalarından (Şekil 5.16) elde edilen sonuçlar Tablo 5.7’de verilmiştir.



Şekil 5.16. 30 µM melaminin dönüşümlü voltamogramının tarama hızı ile değişiminin incelenmesi. Tarama hızı;25, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 750, 1000 mVs<sup>-1</sup>

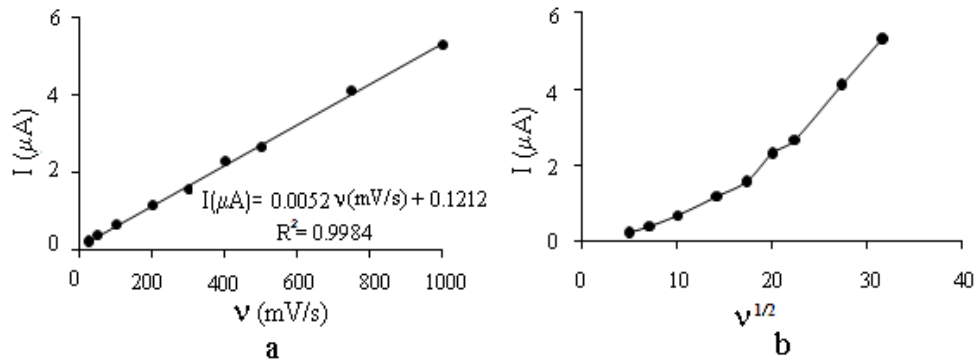
Tablo 5.7. Dönüşümlü voltametri çalışmalarında tarama hızına karşı elde edilen pik akımları ve pik potansiyellerinin verileri.

Tarama hızı (mV/s)	$I_{pk}(\mu A)$	$-E_{pk}$ (mV)	$I_{pa}(\mu A)$
25	0,2228	249,1	0,2940
50	0,3479	267,2	0,4860
100	0,6744	290,1	0,8010
200	1,1780	307,0	1,2940
300	1,7670	314,7	1,8510
400	2,3194	322,9	2,2870
500	2,8199	327,8	2,7150
750	4,1199	339,3	3,6990
1000	5,5360	347,5	4,7020

Melaminin indirgenme mekanizmasının difüzyon ya da adsorpsiyon kontrollü olup olmadığı yapılan DV çalışmalarıyla anlaşılabilir. Bu nedenle melaminin indirgenme

mekanizmasında adsorpsiyonun etkili olup olmadığı araştırılmıştır. Dönüşümlü voltametri tekniğinden elde edilen voltamogramlara ilk bakışta adsorpsiyon testi yapılabilir. Elektrot yüzeyine kuvvetli bir şekilde adsorplanma özelliğine sahip olan bir moleküle ait voltamogramda, adsorplanan türe bağlı olarak difüzyon pikinden daha negatif veya daha pozitif potansiyellerde farklı bir pik gözlenir. Bu pike adsorpsiyon piki denir. Ayrıca difüzyon pikine göre bulunduğu konumdan hangi türün adsorbe olduğu anlaşılabilir. Fakat adsorplanma zayıf bir şekilde gerçekleşiyorsa bu pik gözlenmez [44].

Melaminin dönüşümlü voltamogramında kuvvetli adsorpsiyonun varlığını gösteren adsorpsiyon pikleri kaydedilmemiştir. Ancak bazı durumlarda adsorpsiyon zayıf olabilir. Bu durumda da zayıf adsorpsiyonun var olup olmadığı araştırılmalıdır. Bunun için ilk önce tarama hızı ve tarama hızının kareköküne karşı pik akımlarının değişimi grafiğe geçirilmiştir (Şekil 5.17).



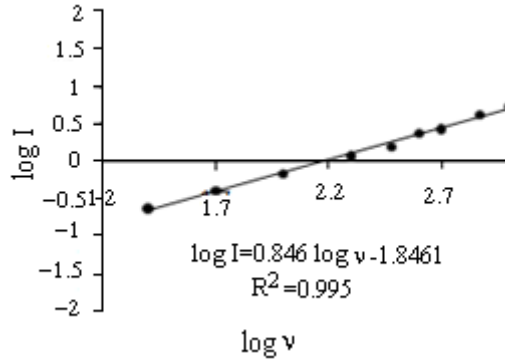
Şekil 5.17. 30  $\mu\text{M}$  melaminin pH 11,2 BRT de pik akımlarının (a) tarama hızı, (b) tarama hızının karekökü ile değişiminin incelenmesi.

Melaminin pik akımıyla tarama hızı arasında doğrusal bir ilişki görülmektedir (Şekil 5.17.a). Eşitlik 5.1'deki  $R^2$  değeri, doğrusal ilişkinin oldukça yüksek olduğunu göstermektedir.

$$I_{\text{pk}} (\mu\text{A}) = 0,0052 v (\text{mV/s}) + 0,1212 \quad (R^2 = 0,998) \quad (5.1)$$

25-1000  $\text{mVs}^{-1}$  aralığında melaminin 2. indirgenme pikinin  $I_{\text{pk}}$  şiddeti ile tarama hızı arasında doğrusal ilişki gözlenirken  $I_{\text{pk}} - v^{1/2}$  arasında doğrusal olmayan bir ilişki

gözlenmektedir (Şekil 5.17).  $I_{pk} - v$  arasında doğrusal ilişki gözlenmesi adsorpsiyon kontrollü [44] bir sürecin varlığını göstermiştir. Ayrıca tarama hızının logaritmasına karşı pik akımının logaritması grafiğe geçirilmiştir (Şekil 5.18). Melaminin  $\log I - \log v$  grafiğinin eğimi 0,846 olarak bulunmuştur (Şekil 5.18). Bu grafiğin eğiminin 1'e yakın olması elektrot reaksiyonunun adsorpsiyon kontrollü olduğunu göstermektedir [44].



Şekil 5.18. Melaminin pH 11,2 BRT'de  $\log v$ 'ye karşılık  $\log I_{pk}$ 'nın değişiminin incelenmesi.

$$\log I_{pk} (\mu A) = 0,846 \log v (mV/s) - 1,8461 (R^2 = 0,995) \quad (5.2)$$

DV verilerinden yararlanarak melaminin indirgenme reaksiyonunun tersinirliği de incelenebilir. Tersinir bir elektrokimyasal tepkimede anodik pik potansiyeli ( $E_{pa}$ ) ile katodik pik potansiyeli ( $E_{pk}$ ) arasında en fazla  $59/n$  mV'luk bir gerilim farkı olmalı ve aynı zamanda anodik pik akımı ( $I_{pa}$ ) katodik pik akımına ( $I_{pk}$ ) eşit olmalıdır. Buradaki  $n$  aktarılan elektron sayısıdır. Elektrot tepkimesinin tersinirliği azaldıkça anodik ve katodik pikler birbirinden daha farklı gerilimlerde ve daha yayvan olarak gözlenir. Tam tersinmez bir elektrot tepkimesinde ise ürünün çok hızlı bir şekilde tüketilmesinden ötürü geri pik tamamen kaybolur [65].

Melaminin DPP' sinde  $-50$  mV'ta kaydedilen indirgenme piki için, ileri taramada  $-307$  mV'ta katodik bir pik geri taramada da  $-37$  mV'ta anodik pik elde edilmesi nedeniyle sistem tam tersinmez değildir. Melaminin  $200$  mV/s tarama hızında anodik ve katodik pik potansiyelleri arasındaki fark  $\Delta E_p = E_{pk} - E_{pa} = 307 - 37 = 270$  mV,  $59/n$  mV değerinden çok büyüktür ve pik potansiyelleri birbirinden çok ayrılmıştır (Tablo 5.7). Bu nedenle sistemin tam tersinir olmadığı düşünülmektedir. Bu durumda indirgenme mekanizması yarı tersinir olabilir. Melaminin pik akımları yarı tersinir sistemlerde olduğu gibi tarama

hızının karekökü ile artmaktadır (Şekil 5.17.b) [60]. Yarı tersinir sistemlerde  $I_{pa} / I_{pk} = 1$ 'dir (eğer  $\alpha_k = \alpha_a = 0,5$  ise) [60]. Melamin içinde 200 mV/s tarama hızında  $I_{pk}=1,1780$   $\mu A$  ve  $I_{pa}= 1,2940$   $\mu A$  olarak ölçülmüş ve  $I_{pk}/I_{pa} = 0,910$  olarak bulunmuştur (Tablo 5.7). Yarı tersinir sistemlerde  $E_{pk}$ ,  $v$ 'nin artması ile negatif değerlere kayar [60]. Melaminin de 25-1000 mV/s aralığındaki katodik pik potansiyeli 249,1 mV'tan 347,5 mV'a kadar kaydığı görülmüştür (Tablo 5.7). Elde edilen bu sonuçlara göre melaminin indirgenme mekanizmasının yarı tersinir olabileceği düşünülmektedir.

## 5.2. Siyanürik Asidin Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi, Tayini ve Analitik Uygulamaları

Siyanürik asit (2,4,6 trihidroksi-1,3,5, triazin) bir s-triazindir ve melaminin türevidir. Siyanürik asit 1958'den beri havuz sularında stabilizör olarak kullanılmaktadır [9] ve çamaşır suları, endüstriyel temizleyiciler ve otomatik bulaşık makinası ürünleri vb. ürünlerde, bir bileşen olarak geniş bir kullanım alanı olan endüstriyel öneme sahip bir kimyasaldır [8]. Ancak yapılan bazı araştırmalar sonucunda siyanürik asidin sağlık için tehlikeleri olabileceği tespit edilmiştir [10]. Siyanürik asit melaminin bir türevi olduğu için melamin üretimi esnasında siyanürik asitte oluşabilmektedir. Bu nedenle bazı araştırmacılar melamin tayini yanında siyanürik asidin de tayinini gerçekleştirmişlerdir. Siyanürik asidin tayininde çok sayıda kromatografik ve spektroskopik yöntemler kullanılmaktadır [6,7]. Ancak, literatürde siyanürik asidin polarografik olarak tayininin yapıldığı sadece bir çalışmaya rastlanmıştır. DPP'nin kullanıldığı bu çalışmada siyanürik asidin tayin edilebilir derişim aralığı  $10^{-5}$ - $10^{-3}$  M olarak belirtilmiştir [15]. Bu çalışmayla ise daha düşük miktarlardaki (eser miktarda) siyanürik asidin tayininin yapılması amaçlanmıştır.

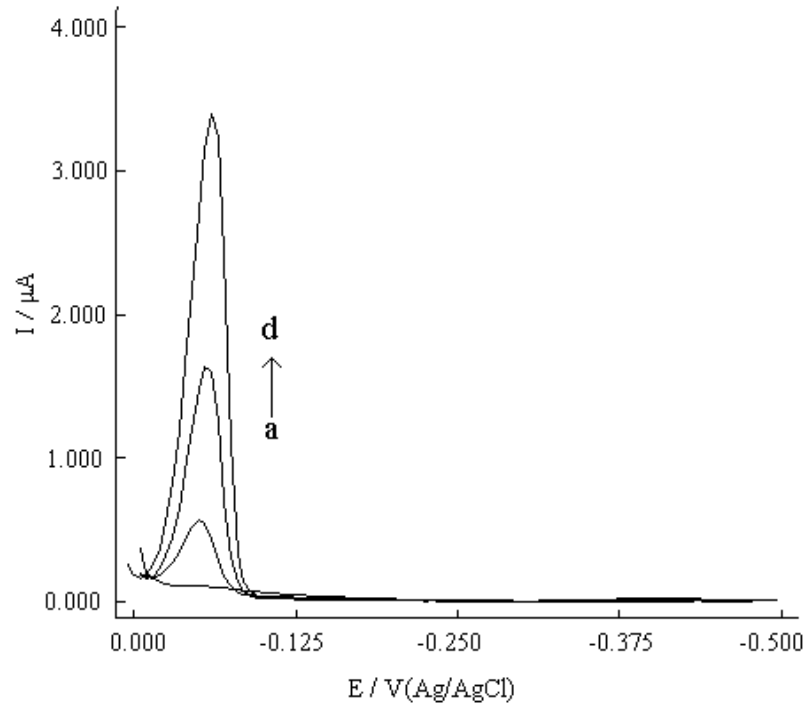
Çalışmanın ilk kısmında siyanürik asidin tayini için en uygun destek elektrolit belirlenmiş ve pH'nın etkisi incelenmiştir. Sonra siyanürik asidin destek elektrolitteki tayini, bazı iyonların siyanürik asidin tayinine girişim etkileri, havuz suyundaki siyanürik asit tayini, süt numunesine eklenen siyanürik asidin geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. Ayrıca siyanürik asidin voltametrik davranışını incelemek için dönüşümlü voltametri (DV) çalışmaları yapılmıştır.

### 5.2.1. Destek Elektrolit Seçimi

Siyanürik asit tayini için çeşitli destek elektrolitlerle çalışılmış, en uygun olanı seçilmeye çalışılmıştır. 0,1 M  $\text{NH}_3\text{-NH}_4^+$  tamponu (pH 10), 0,1 M HCl, 0,1 M  $\text{HClO}_4$  ve BRT (Britton-Robinson tamponu) (pH 2-13) denenmiştir. Deneyler Bölüm 5.1.1'deki gibi yapılmıştır. 0,1 M HCl ve 0,1 M  $\text{HClO}_4$  destek elektrolit ortamlarında yapılan çalışmalarda herhangi bir pik kaydedilememiştir.

#### 5.2.1.1. 0,1 M $\text{NH}_3\text{-NH}_4^+$ Destek Elektrolitinde Siyanürik Asidin Polarografik Davranışının İncelenmesi

0,1 M  $\text{NH}_3\text{-NH}_4^+$  destek elektrolitinde pH 10,0'da çalışılmış ve siyanürik asidin diferansiyel puls polarogramında -55 mV'ta bir piki kaydedilmiştir (Şekil 5.19). -55 mV'ta gözlenen pikin pik şekilleri düzgün olmasına rağmen standart siyanürik asit ilaveleriyle pik akımlarındaki artışlar orantılı olmadığı için çalışma ortamı olarak 0,1 M  $\text{NH}_3\text{-NH}_4^+$  elektroliti seçilmemiştir.



Şekil 5.19. Siyanürik asidin pH 10  $\text{NH}_3\text{-NH}_4^+$  destek elektrolitindeki diferansiyel puls polarogramları.

- a) 10,0 ml pH 10 0,1 M  $\text{NH}_3\text{-NH}_4^+$  tampon çözeltisi
- b) a + 0,2 mL  $1 \times 10^{-3}$  M siyanürik asit
- c) b + 0,2 mL  $1 \times 10^{-3}$  M siyanürik asit
- d) c + 0,2 mL  $1 \times 10^{-3}$  M siyanürik asit

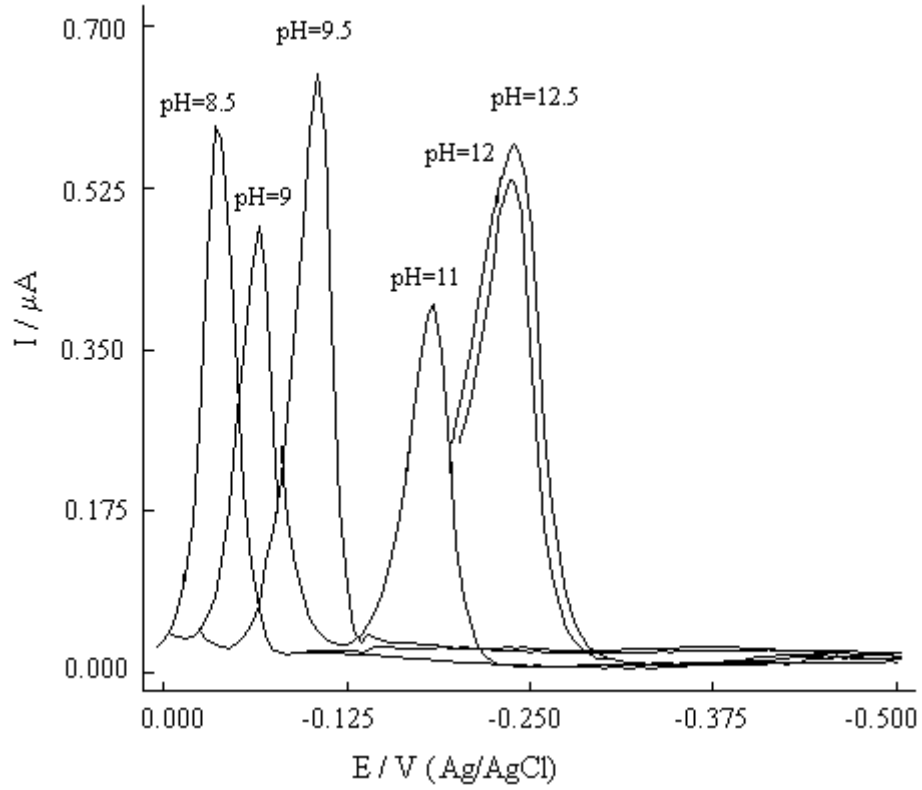
### 5.2.1.2. Britton-Robinson Tamponunda Siyanürik Asidin Polarografik Davranışının İncelenmesi

0,1 M  $\text{NH}_3\text{-NH}_4^+$  (pH 10,0) ve çeşitli asidik ortamlar (0,1 M HCl, 0,1 M  $\text{HClO}_4$ ) destek elektrolit olarak denenip, bu ortamların siyanürik asidin tayini için uygun olmadığı anlaşıldıktan sonra B-R (Britton-Robinson) tamponuyla çalışılmaya karar verilmiştir. B-R tamponu ile yapılan çalışmalar aşağıda verilmiştir.

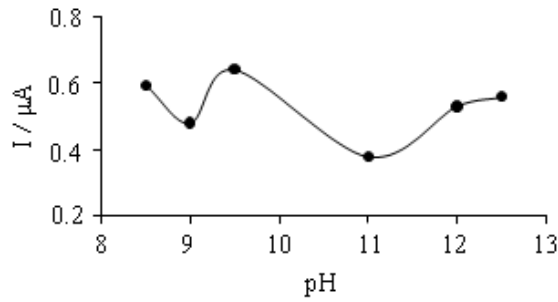
### 5.2.2. pH Etkisi

Siyanürik asidin indirgenmesine pH'nın etkisini incelemek için hücredeki derişimi 40  $\mu\text{M}$  olan siyanürik asidin farklı pH'lardaki polarogramları kaydedilmiştir (Şekil 5.20). B-R tamponunda pH 8,5'a kadar herhangi bir pik kaydedilmezken, pH 8,5-12,5 aralığında siyanürik asidin indirgenmesine ait tek pik kaydedilmiştir (Şekil 5.20). Bu piklerin akımları pH'ya karşı grafiğe geçirilmiştir (Şekil 5.21).

Siyanürik asidin indirgenme pikine ait olan pik potansiyelleri pH ile negatif değerlere kaymıştır. Siyanürik asidin pik potansiyeli pH 8,5 ile pH 12,5 aralığında -37 mV'tan -240 mV'a kadar değişmiştir (Tablo 5.8). Ayrıca pH değişikliği ile pik akımlarında da değişiklikler görülmüştür (Şekil 5.21). Bu durum siyanürik asidin indirgenmesinde pH'nın ne kadar etkili olduğunu göstermektedir. Bu nedenle yapılan çalışmalarda uygun pH'nın belirlenmesi çok önemlidir. İndirgenme pikine ait pik yüksekliği pH 9,5'ta maksimum değerine ulaşmıştır ve pik şeklide tayin çalışması için uygundur. Bu nedenle siyanürik asit tayini için pH 9,5 B-R tamponu, çalışma ortamı olarak seçilmiştir. Tablo 5.8'de siyanürik asidin Britton-Robinson tamponundaki polarografik davranışı özet halinde verilmiştir.



Şekil 5.20. 40  $\mu\text{M}$  siyanürik asidin pH 8,5-12,5 aralığında B-R tamponundaki diferansiyel puls polarogramları.



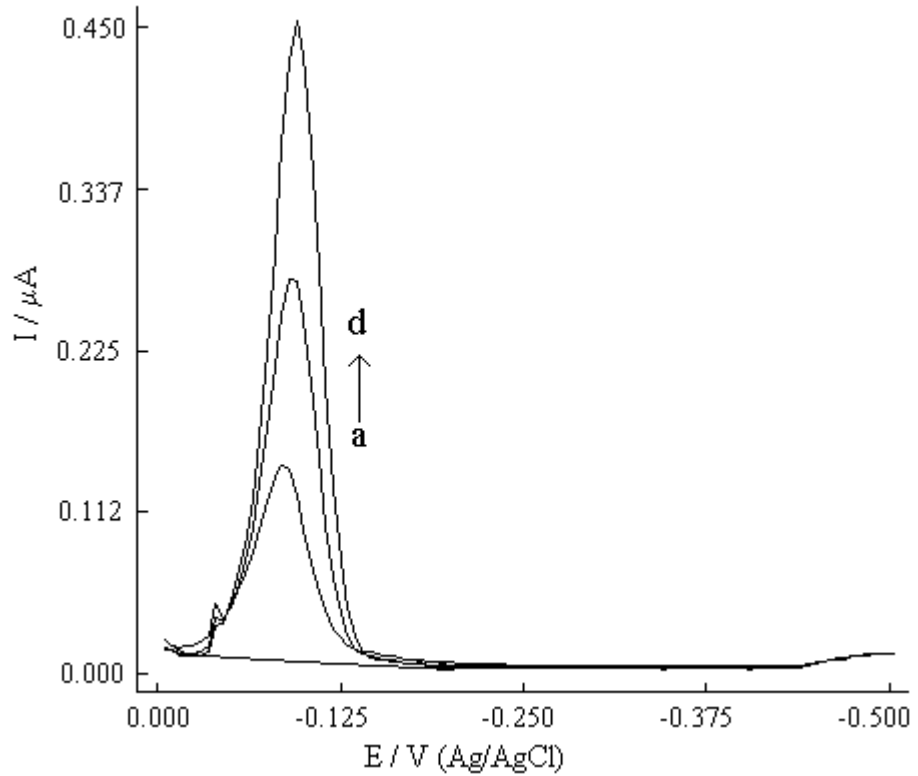
Şekil 5.21. DPP’de Britton-Robinson tamponunda 40  $\mu\text{M}$  siyanürik asidin indirgenme pik akımlarının pH ile değişimi.

Tablo 5.8. Britton-Robinson tamponunda siyanürik asidin polarografik davranışının pH ile değişiminin incelenmesi.

İyon	Elektrolit	$E_{\text{pik}}(\text{mV})$	$I(\mu\text{A})$	Pik şekli	C(M)
Siyanürik asit	pH=8,5	-37	0,592	Keskin	30 $\mu\text{M}$
	pH= 9,0	-64	0,481	Keskin	
	pH=9,5	-105	0,642	Keskin	
	pH=11,0	-185	0,380	Keskin	
	pH=12,0	-237	0,530	Keskin	
	pH=12,5	-240	0,560	Keskin	

### 5.2.3. Siyanürik Asidin Destek Elektrolitteki Tayini

Siyanürik asidin tayini için çalışma ortamı olarak pH 9,5 B-R tamponu belirlendikten sonra siyanürik asidin destek elektrolitteki kantitatif tayini çalışılmıştır. pH 9,5 B-R tamponu içerisinde siyanürik asidin piki -105 mV'ta kaydedilmiştir. Bölüm 5.1.1'de anlatıldığı gibi deneyler yapılmış ve hücreye art arda standart siyanürik asit çözeltilisinden eklemeler yapılarak siyanürik asit tayini gerçekleştirilmiştir (Şekil 5.22). Deney 5 defa tekrar edilmiştir. Standart ekleme yöntemiyle pH 9,5 B-R tamponundaki derişimi  $1 \times 10^{-5}$  M olan siyanürik asit miktarı, %95 güven seviyesinde  $(0,97 \pm 0,02) \times 10^{-5}$  M olarak bulunmuştur. Sonuçlar Tablo 5.9'da verilmiştir.



Şekil 5.22. pH 9,5 B-R tamponunda siyanürik asidin miktar tayini.

- a) 10,0 mL pH 9,5 B-R tampon çözeltisi
- b) a + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M siyanürik asit
- c) b + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M siyanürik asit
- d) c + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M siyanürik asit

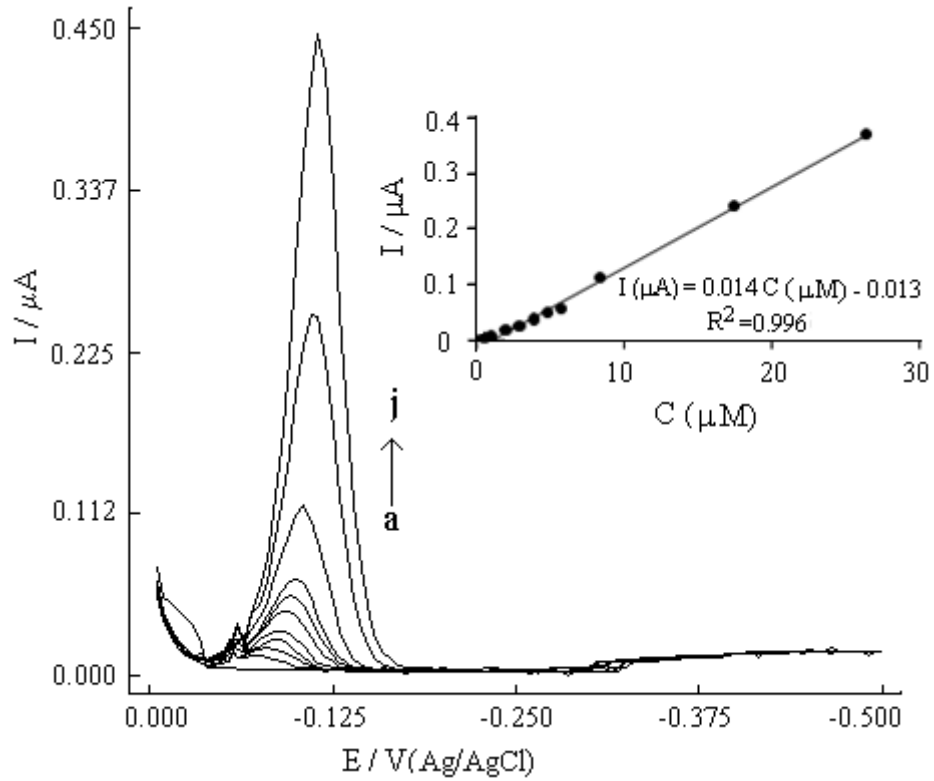


Tablo 5.9. pH 9,5 B-R tamponu ortamında  $1 \times 10^{-5}$  M (hücre içindeki derişim) siyanürik asidin miktar tayini.

Eklenen siyanürik asit derişimi (M)	Bulunan siyanürik asit derişimi $\bar{X}$ (M)	s	$\bar{x} \pm \frac{ts}{\sqrt{N}}$
$1 \times 10^{-5}$	$0,97 \times 10^{-5}$	$0,02 \times 10^{-5}$	$(0,97 \pm 0,02) \times 10^{-5}$

%95 GS, N=5

Siyanürik asidin tayin aralığını belirlemek için kalibrasyon çalışması yapılmıştır. pH 9,5 B-R tamponunda farklı derişimlerdeki siyanürik asit çözeltisinin standart eklemelerinde,  $0,5 \mu\text{M} - 26,4 \mu\text{M}$  aralığında pik akımı ve derişim arasında doğrusal bir ilişki görülmüştür (Şekil 5.23).



Şekil 5.23. Siyanürik asidin farklı konsantraslardaki DPP polarogramları.

- 9,90 mL pH 9,5 B-R tampon çözeltisi
- a + 0,05 mL  $1 \times 10^{-4}$  M siyanürik asit
- b + 0,05 mL  $1 \times 10^{-4}$  M siyanürik asit
- c + 0,05 mL  $1 \times 10^{-4}$  M siyanürik asit
- d + 0,05 mL  $1 \times 10^{-4}$  M siyanürik asit
- e + 0,1 mL  $1 \times 10^{-4}$  M siyanürik asit
- f + 0,1 mL  $1 \times 10^{-4}$  M siyanürik asit
- g + 0,1 mL  $1 \times 10^{-4}$  M siyanürik asit
- h + 0,4 mL  $1 \times 10^{-4}$  M siyanürik asit
- i + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M siyanürik asit
- j) i + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M siyanürik asit

$$I_p (\mu A) = 0,014 C (\mu M) - 0,013 (R^2 = 0,996) \quad (5.11)$$

Siyanürik asit için gözlenebilme sınırı 0,15  $\mu M$  ve tayin alt sınırı 0,5  $\mu M$  olarak bulunmuştur. DPP'nin yüksek duyarlılığıyla çok iyi bir tekrarlanabilirlik elde edilmiştir.

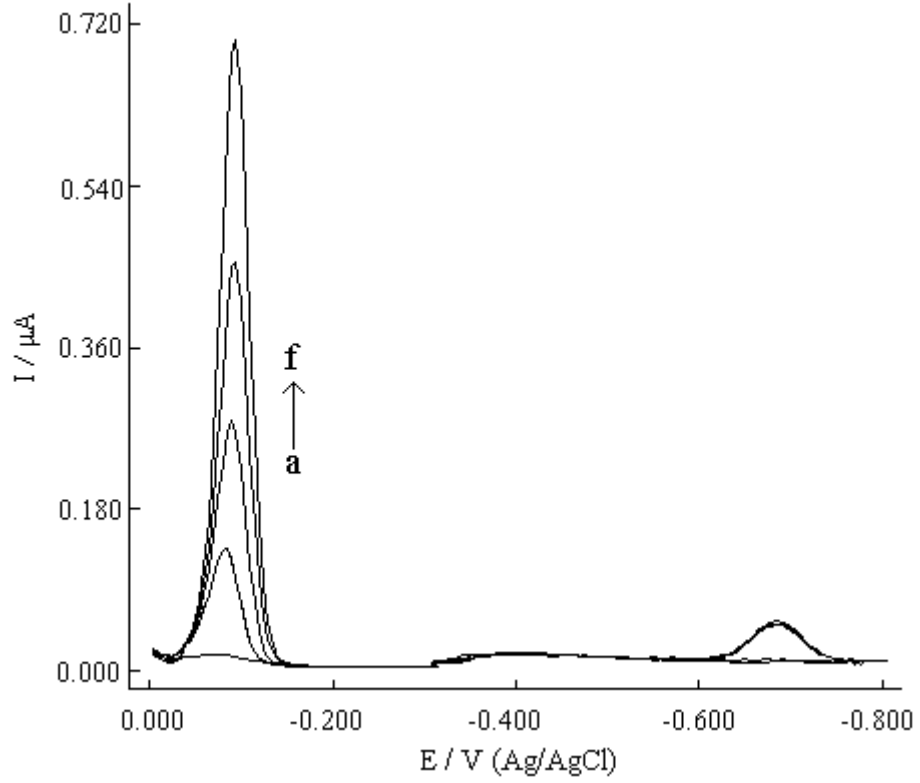
#### 5.2.4. Girişim Etkisi

##### 5.2.4.1. Elektroaktif İyonların Girişim Etkilerinin İncelenmesi

Siyanürik asit için önerilen metodun seçiciliğini kontrol etmek amacıyla, havuz suyunda veya sütte bulunabilecek bazı inorganik iyonların girişim etkileri incelenmiştir. Girişim etkileri incelenen iyonlar; damlayan cıva elektrodu üzerinde indirgenen ya da yükseltgenen yani elektroaktif olan  $Cu^{+2}$ ,  $Fe^{+3}$ ,  $Co^{+2}$ ,  $Ni^{+2}$ ,  $Pb^{+2}$ ,  $Zn^{+2}$ ,  $Cd^{+2}$ ,  $Hg^{+2}$ ,  $Mn^{+2}$ ,  $Se^{+4}$ ,  $SO_3^{2-}$ ,  $NO_2^-$  iyonları ve  $K^+$ ,  $Ba^{+2}$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{+2}$ ,  $Mg^{+2}$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $Cl^-$ ,  $NO_3^-$  gibi elektroaktif olmayan iyonlardır.

Deneyle Bölüm 5.1.4.1'de anlatıldığı gibi yapılmıştır. Her bir iyon için deneyler 3'er defa tekrar edilmiştir.  $Cu$  (-198 mV),  $Fe$  (-1524 mV),  $Cd$  (-710 mV),  $Ni$  (-1174 mV),  $Mn$  (-1603 mV) iyonlarının pik potansiyelleri siyanürik asidin pik potansiyelinden daha negatif potansiyellerdedir. Bu yüzden, bu iyonların pikleriyle siyanürik asidin piki üst üste çakışmamaktadır.  $SO_3^{2-}$  (-34 mV) iyonunun pik potansiyeli siyanürik asidin pik potansiyelinden daha pozitif potansiyeldedir ve siyanürik asidin pik potansiyeliyle çakışmadığı için önemli bir girişim etkisi olmadığı belirlenmiştir.  $Co^{+2}$ ,  $Hg^{+2}$ ,  $Pb^{+2}$ ,  $Zn^{+2}$ ,  $Mn^{+2}$ ,  $Se^{+4}$ ,  $Cr^{+3}$ ,  $NO_2^-$  iyonlarının ise bu ortamda pikleri gözlenmemiştir.

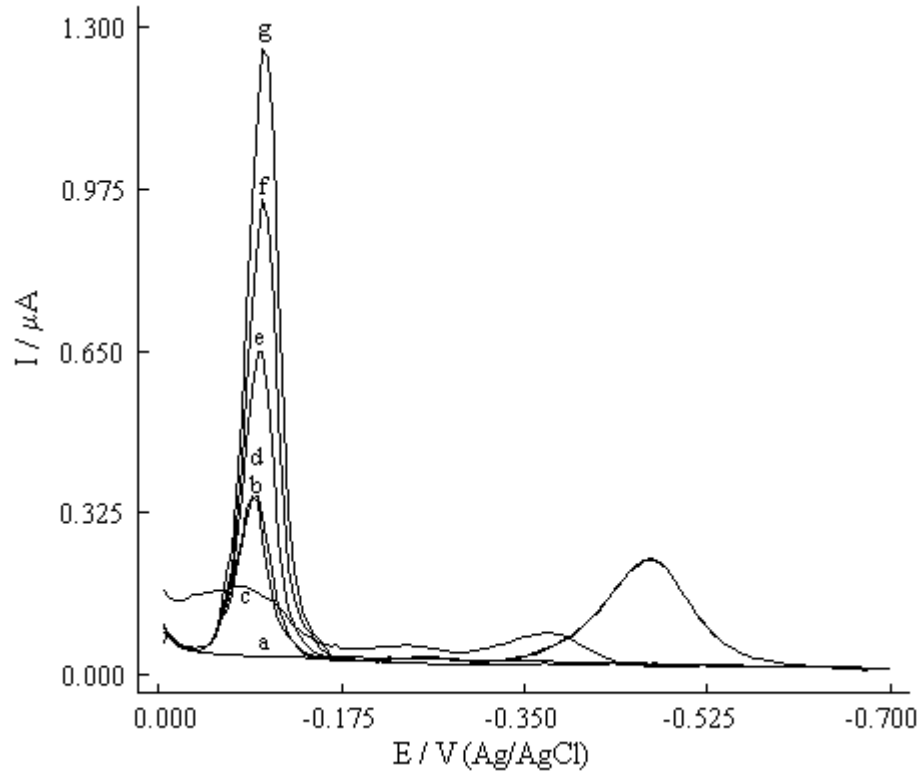
Girişim etkisi incelenen elektroaktif iyonlara örnek olarak kadmiyum iyonlarının çalışması verilmiştir. Siyanürik asidin piki kaydedildikten sonra ortama  $Cd^{+2}$  ilave edildiğinde -105 mV'taki siyanürik asidin pik yüksekliğinde değişme olmazken,  $Cd^{+2}$  iyonlarının -710 mV'ta piki gözlenmiştir (Şekil 5.24). Elde edilen polarogramlardan,  $Cd^{+2}$  varlığında siyanürik asidin geri kazanımı % 97,2 olarak hesaplanmıştır. Tayinin gerçekleştirileceği ortamda, siyanürik asit ve  $Cd^{+2}$  iyonları arasında, herhangi bir reaksiyonunun gerçekleşmediği ve piklerinin üst üste çakışmadığı, yani girişim yapmadıkları tespit edilmiştir.



Şekil 5.24.  $\text{Cd}^{2+}$  iyonunun girişim etkisinin incelenmesi.

- a) 10,0 mL pH 9,5 B-R tampon çözeltisi
- b) a + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M siyanürik asit
- c) b + 0,1 mL  $1 \times 10^{-2}$  M  $\text{Cd}^{2+}$
- d) c + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M siyanürik asit
- e) d + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M siyanürik asit
- f) e + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M siyanürik asit

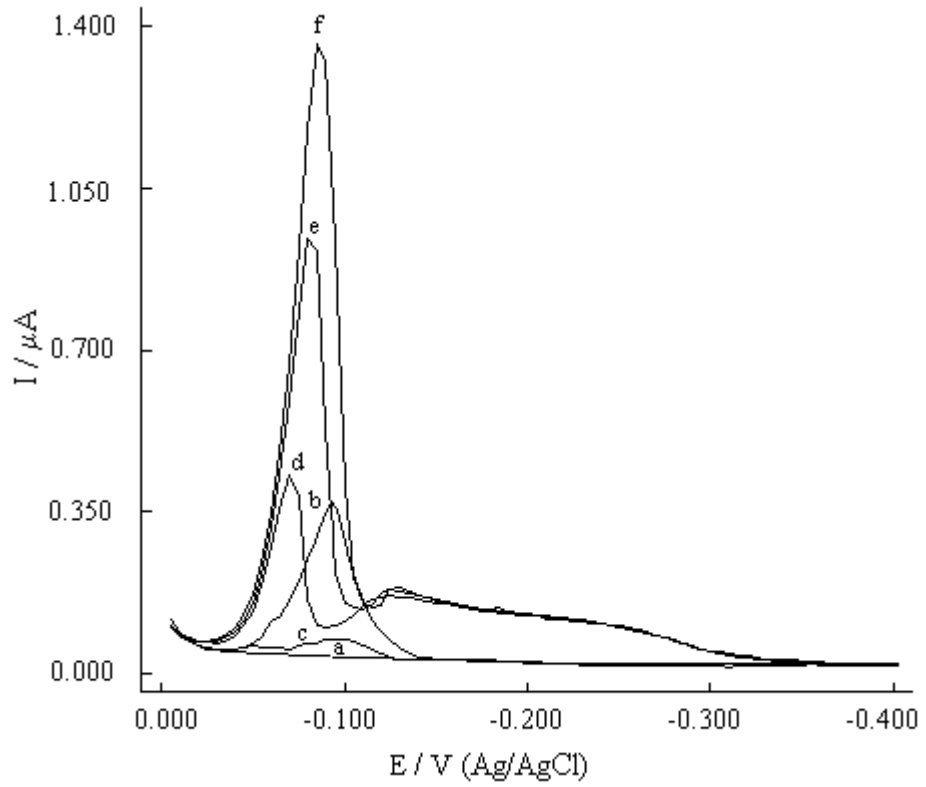
Girişim etkileri araştırılan elektroaktif iyonlardan  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Se}^{4+}$ ,  $\text{SO}_3^{2-}$ ,  $\text{NO}_2^-$  iyonları için önemli bir girişim etkisi gözlenmezken, siyanürik asit derişiminin 10 katı kadar  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$  iyonları ilave edildiğinde siyanürik asidin pik akımlarının azaldığı görülmüştür. Bu nedenle önce  $\text{Cu}^{2+}$  'nin girişim etkisini ortadan kaldırmak için ortama  $\text{Cu}^{2+}$  ile kararlı bir kompleks veren, EDTA kompleksi ilave edilmiştir. Polarografi hücresine  $1 \times 10^{-2}$  M'lık EDTA'dan 0,1 mL ilaveler yapılarak her seferinde polarogramlar kaydedilmiştir. EDTA'nın derişimi  $\text{Cu}^{2+}$  iyonlarının derişiminin 10 katı olduğunda girişim etkisinin ortadan kalktığı, siyanürik asit pik akımının  $\text{Cu}^{2+}$  çözeltisi eklenmeden önceki pik akım değerine gelmesinden anlaşılmış ve standart siyanürik asit ilaveleri ile geri kazanım çalışmaları yapılmıştır.



Şekil 5.25.  $\text{Cu}^{+2}$  iyonunun girişim etkisinin incelenmesi.

- a) 10,0 mL pH 9,5 B-R tampon çözeltisi
- b) a + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M siyanürik asit
- c) b + 0,1 mL  $1 \times 10^{-2}$  M  $\text{Cu}^{+2}$
- d) c + 1,0 mL  $1 \times 10^{-2}$  M EDTA
- e) d + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M siyanürik asit
- f) e + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M siyanürik asit
- g) f + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M siyanürik asit

$\text{Hg}^{+2}$  iyonlarında siyanürik asit piki üzerine girişim etkisi olduğu belirlenmiştir (Şekil 5.26).  $\text{Hg}^{+2}$ 'de EDTA ile kararlı bir kompleks oluşturmaktadır. Bu nedenle  $\text{Hg}^{+2}$ 'nin girişim etkisinin giderilmesinde de EDTA çözeltisi kullanılmıştır.  $\text{Hg}^{+2}$ 'nin girişiminin engellenmesinde de  $\text{Hg}^{+2}$ 'nin 3 katı kadar EDTA ilave edilmiştir. Sonra polarografi hücresine, standart siyanürik asit çözeltisi eklenerek geri kazanımı hesaplanmıştır.  $\text{Hg}^{+2}$ 'nin girişim etkisinin incelenmesi sırasında kaydedilen polarogramlar Şekil 5.26'da verilmiştir.

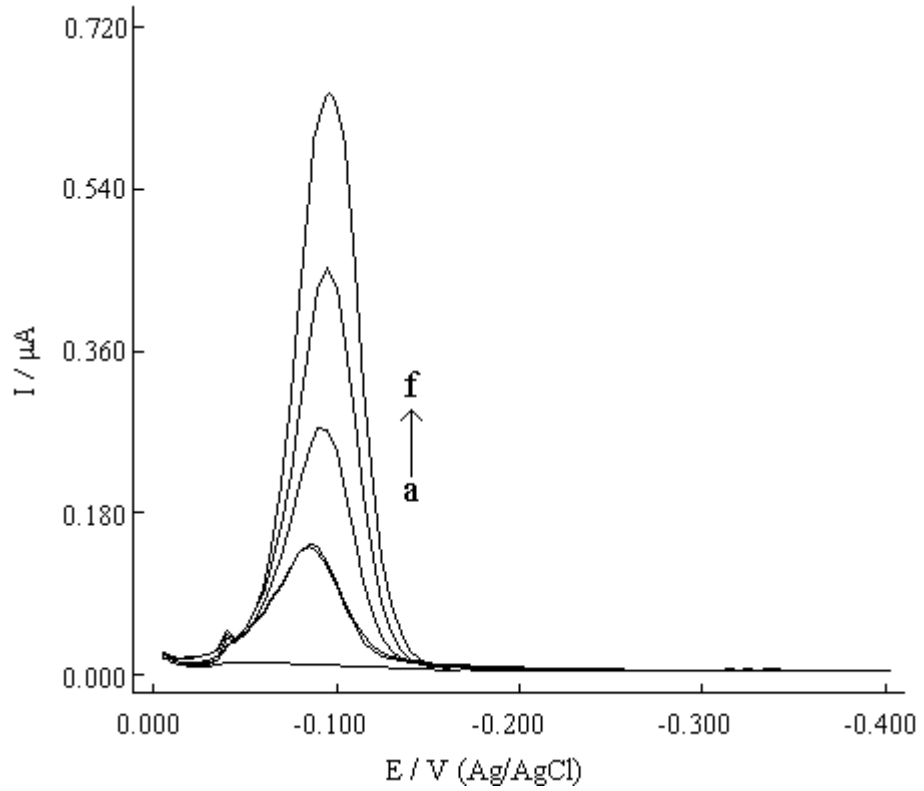


Şekil 5.26.  $\text{Hg}^{+2}$  iyonunun girişim etkisinin incelenmesi.

- a) 10,0 mL pH 9,5 B-R tampon çözeltisi
- b) a + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M siyanürik asit
- c) b + 0,1 mL  $1 \times 10^{-2}$  M  $\text{Hg}^{+2}$
- d) c + 0,3 mL  $1 \times 10^{-2}$  M EDTA
- e) d + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M siyanürik asit
- f) e + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M siyanürik asit

#### 5.2.4.2. Elektroaktif Olmayan İyonların Girişim Etkilerinin İncelenmesi

Çalışılan elektroaktif olmayan iyonlar  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ba}^{+2}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  ve  $\text{Cl}^-$  'dür. Deneyle Bölüm 5.1.4.1'deki gibi yapılmıştır. Girişim etkisi incelenen elektroaktif olmayan iyonlara örnek olarak  $\text{Ca}^{+2}$  iyonlarının çalışması verilmiştir (Şekil 5.27).



Şekil 5.27.  $\text{Ca}^{+2}$  iyonunun girişim etkisinin incelenmesi.

- a) 10,0 mL pH 9,5 B-R tampon çözeltisi
- b) a + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M siyanürik asit
- c) b + 0,1 mL  $1 \times 10^{-2}$  M  $\text{Ca}^{+2}$
- d) c + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M siyanürik asit
- e) d + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M siyanürik asit
- f) e + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M siyanürik asit

Diğer elektroaktif olmayan iyonlar ( $\text{K}^+$ ,  $\text{Ba}^{+2}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  ve  $\text{Cl}^-$ ) için de benzer yolla elde edilen polarogramlardan yararlanarak girişim etkisi incelenen iyonun bulunduğu ortamda siyanürik asidin geri kazanımı hesaplanmıştır (Tablo 5.10). Polarografik olarak inaktif olan  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ba}^{+2}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  ve  $\text{Cl}^-$  iyonlarının da siyanürik asidin indirgenme pikine girişim etkilerinin olmadığı tespit edilmiştir.

Tablo 5.10. pH 9,5 B-R tamponunda  $1 \times 10^{-5}$  M siyanürük asite bazı iyonların girişim etkilerinin incelenmesi.

Girişim etkisi incelenen iyonlar	C (M)	Siyanürük asidin % geri kazanımı	Girişim etkisi incelenen iyonlar	C(M)	Siyanürük asidin % geri kazanımı
Pb <sup>2+</sup>	1x10 <sup>-4</sup>	97,3	SO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	1x10 <sup>-4</sup>	103,0
Ni <sup>2+</sup>		96,8	K <sup>+</sup>		100,0
Cd <sup>2+</sup>		97,2	Ba <sup>2+</sup>		99,4
Fe <sup>3+</sup>		80,0	Mg <sup>2+</sup>		95,7
Zn <sup>2+</sup>		94,4	Ca <sup>2+</sup>		98,6
Na <sup>+</sup>		100,0	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>		96,7
Co <sup>2+</sup>		97,2	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>		94,4
Cu <sup>2+</sup>		100,0	Cl <sup>-</sup>		98,6
Mn <sup>2+</sup>		94,4	Hg <sup>2+</sup>		82,7
Se <sup>4+</sup>		93,7	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>		99,1

Tablo 5.10'da görüldüğü gibi incelenen iyonların varlığında siyanürük asidin geri kazanımı % 80 - % 103 arasındadır. İncelenen iyonların varlığında siyanürük asit için yüksek geri kazanım değerleri elde edilmiştir ve bu yüzden önemli bir girişim etkisi olmadığı belirlenmiştir.

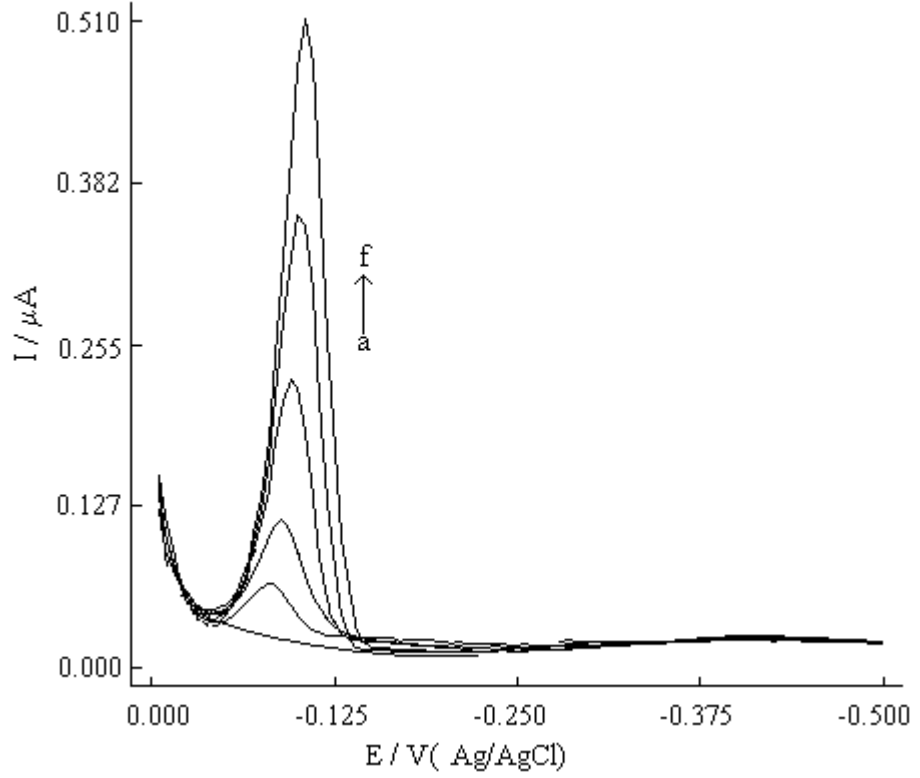
### 5.2.5. Havuz Suyu ve Süte Uygulama

Siyanürük asit tayini için DPP ile geliştirilen yöntemin gerçek numunelere uygulamasını kontrol etmek için, önerilen metot havuz suyuna ve siyanürük asit eklenmiş süt numunelerine uygulanmıştır.

#### 5.2.5.1. Havuz Suyunda Siyanürük Asit Tayini

Havuz suyu numunesi, içerisindeki siyanürük asit miktarı bilinmeyen Ankara'daki bir havuzdan alınmıştır. Havuz suyundaki siyanürük asidin tayini için polarografi hücresine 8,0 mL B-R tamponu ilave edilmiş ve polarogramı kaydedilmiştir. Bu çözelti içine 2 defa 1 mL havuz suyu numunesinden ilave edilmiş, daha sonra 3 kez 0,05 mL  $10^{-3}$  M siyanürük asit ilaveleri yapılmış ve polarogramları kaydedilmiştir (Şekil 5.28). Standart ekleme yöntemi kullanılarak numunelerdeki siyanürük asit tayini yapılmıştır. Havuz

suyu numunelerindeki siyanürik asit miktarı, pik akımları ölçülerek ve standart eklemelerdeki akım artışları ile karşılaştırılarak hesaplanmıştır.



Şekil 5.28. Yüzme havuzu suyundaki siyanürik asidin tayini.

- a) 8 mL pH=9,5 B-R tamponu
- b) a + 1,0 mL yüzme havuzu suyu
- c) b + 1,0 mL yüzme havuzu suyu
- d) c + 0,05 mL  $10^{-3}$  M siyanürik asit
- e) d + 0,05 mL  $10^{-3}$  M siyanürik asit
- f) e + 0,05 mL  $10^{-3}$  M siyanürik asit

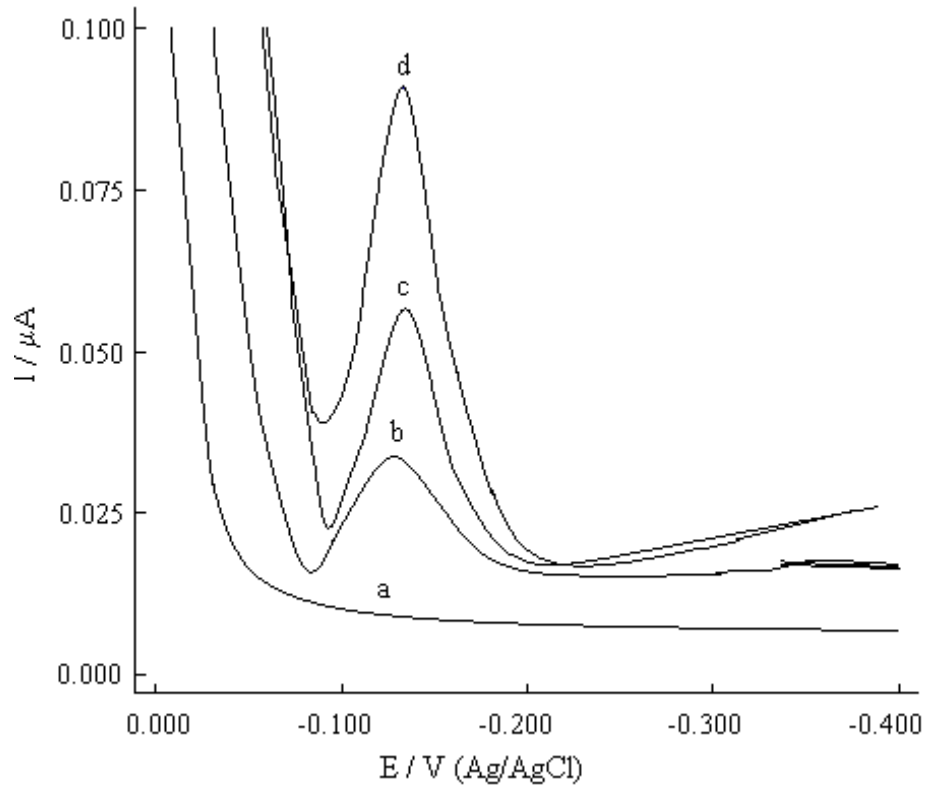
Havuz suyu numunesi içinde; siyanürik asit miktarı, % 95 güven seviyesinde  $19,7 \pm 3,6$   $\mu\text{M}$  ( $2,54 \pm 0,47$   $\mu\text{g/mL}$ ) olarak tayin edilmiştir. Deney 4 defa tekrar edilmiştir. Ulusal Yüzme Havuzu Vakfı, stabilizör olarak kullanılan siyanürik asit düzeylerini 10-100 mg  $\text{L}^{-1}$  derişim aralığında önermektedir. Bu çalışmada, tayin edilen havuz suyu örneği 2,54  $\mu\text{g/mL}$  olarak bulunmuştur ve bu aralığın altındadır. Yani çalışılan havuz suyundaki siyanürik asit miktarı stabilizör olarak kullanımı için yeterli düzeyde değildir.



### 5.2.5.2. Süt Numunelerindeki Siyanürik Asidin Tayini

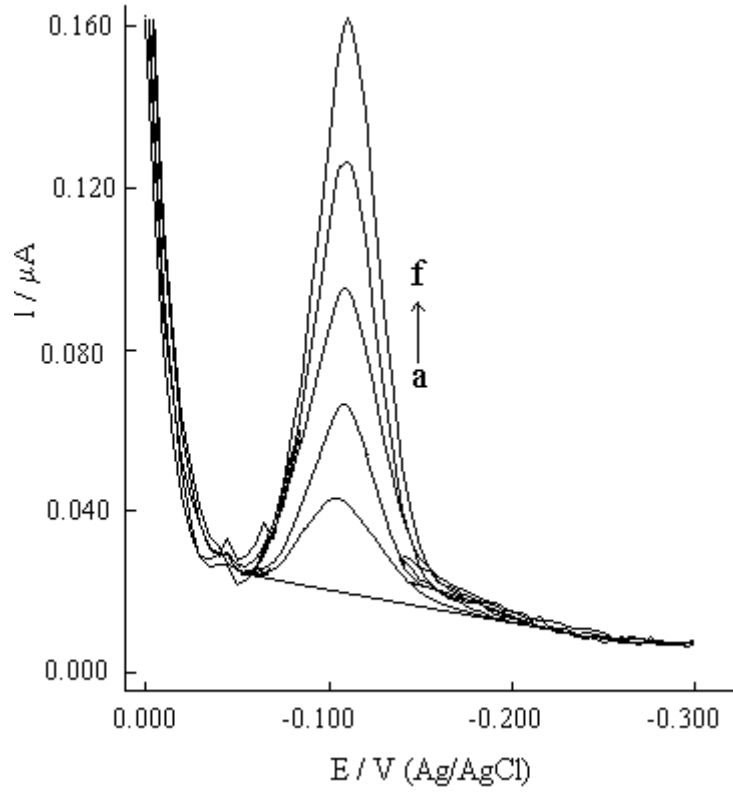
Süt numunelerinde siyanürik asidin tayini için numune hazırlaması Bölüm 5.1.5.1’de melaminin süt numunelerindeki tayininde anlatıldığı gibi yapılmıştır.

Süt numunesinde 1  $\mu\text{M}$  siyanürik asidin geri kazanımını incelemek için polarografi hücresine 7,9 mL B-R tamponu, 0,1 mL tanık çözeltilerden ilave edilmiş ve potansiyel taraması yapılmıştır. Bu çözelti içine 2 defa içerisinde 1 mL  $1 \times 10^{-5}$  M siyanürik asit içeren süt numunesinden ilave edilmiş, sonra 1 mL  $1 \times 10^{-5}$  M’lık standart siyanürik asit çözeltisinden ilave edilmiş ve polarogramlar kaydedilmiştir (Şekil 5.29). Tanık çözeltilerin polarogramında siyanürik aside ait pik kaydedilmemiştir.



Şekil 5.29. Süt numunesindeki siyanürik asidin diferansiyel puls polarogramları.  
a) 7,9 mL BRT çözeltisi (pH=9,5) + 0,1 mL tanık çözelti  
b) a + 1 mL  $1 \times 10^{-5}$  M süt numunesi  
c) b + 1 mL  $1 \times 10^{-5}$  M süt numunesi  
d) c + 1 mL  $1 \times 10^{-5}$  M siyanürik asit

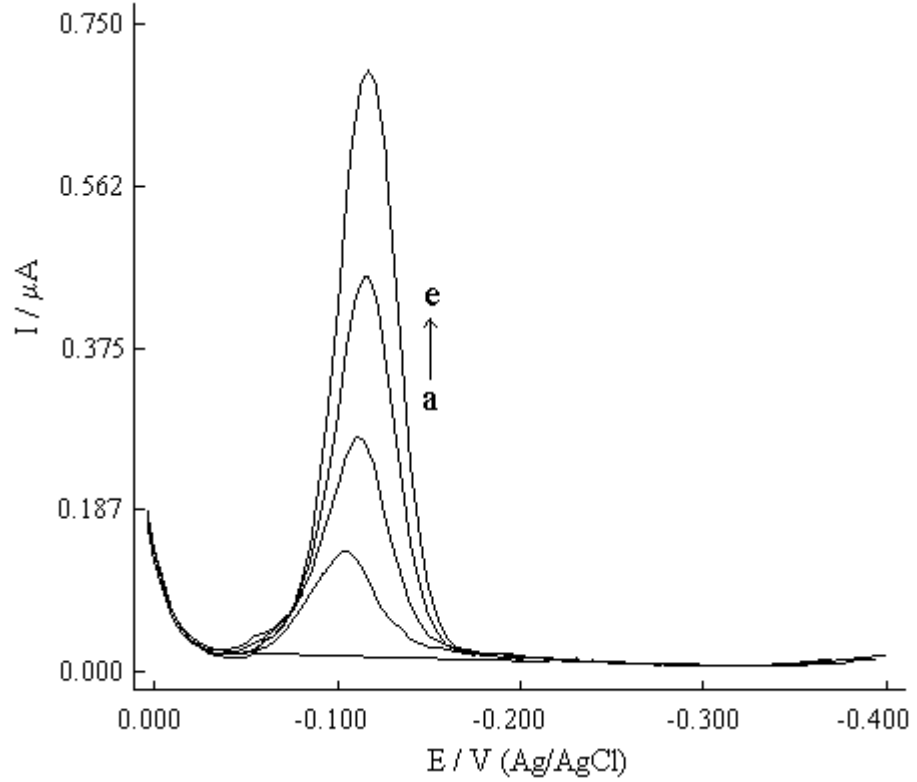
Süt numunesinde 2  $\mu\text{M}$  siyanürik asidin de geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. Bunun için pH'sı 9,5 olan 9,9 mL BRT çözeltisi ve 0,1 mL tanık çözelti polarografi hücresine ilave edilip polarogramı kaydedilmiştir. Bu çözelti içine 3 kez içerisinde 0,2 mL  $1 \times 10^{-4}$  M'lık siyanürik asit içeren süt numunesinden ilave edilmiş, 2 kez de 0,2 mL  $1 \times 10^{-4}$  M'lık siyanürik asit stok çözeltilerinden ilave edilerek polarogramları ayrı ayrı kaydedilmiştir (Şekil 5.30).



Şekil 5.30. Süt numunesindeki siyanürik asidin diferansiyel puls polarogramları.

- a) 9,9 mL BRT çözeltisi (pH=9,5) + 0,1 mL tanık çözelti
- b) a + 0,2 mL  $1 \times 10^{-4}$  M süt numunesi
- c) b + 0,2 mL  $1 \times 10^{-4}$  M süt numunesi
- d) c + 0,2 mL  $1 \times 10^{-4}$  M süt numunesi
- e) d + 0,2 mL  $1 \times 10^{-4}$  M siyanürik asit
- f) e + 0,2 mL  $1 \times 10^{-4}$  M siyanürik asit

Süt numunesinde 10  $\mu\text{M}$  siyanürik asidinde geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. pH'sı 9,5 olan 9,9 mL BRT çözeltisi ve 0,1 ml tanık çözelti polarografi hücresine ilave edilmiş ve polarogramı kaydedilmiştir. Bu çözelti içine 3 kez içerisinde 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M'lık siyanürik asit içeren süt numunesinden ilave edilmiş, 2 kez de 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M'lık siyanürik asit stok çözeltilerinden ilave edilerek polarogramları ayrı ayrı kaydedilmiştir (Şekil 5.31).



Şekil 5.31. Süt numunesindeki siyanürik asidin diferansiyel puls polarogramları.

a) 9,9 mL BRT çözeltisi (pH=9,5) + 0,1 mL tanık çözelti

b) a + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M süt numunesi

c) b + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M süt numunesi

d) c + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M siyanürik asit

e) d + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M siyanürik asit

Süte eklenen  $1 \mu\text{M}$ ,  $2 \mu\text{M}$  ve  $10 \mu\text{M}$  siyanürik asidin polarografik tayini için, dört deney yapılmış ve bu dört deneyin ortalaması alınarak geri kazanım sonuçları, varyasyon katsayısı (VK) ve  $\bar{x} \pm \frac{ts}{\sqrt{N}}$  değerleri hesaplanmış ve Tablo 5.11’de verilmiştir.

Tablo 5.11. Süt numunelerindeki siyanürik asidin tayini (polarografi hücresinde).

Eklenen ( $\mu\text{M}$ )	Bulunan( $\mu\text{M}$ ) $^a \bar{x} \pm \frac{ts}{\sqrt{N}}$	VK ( $\frac{s}{\bar{x}} \cdot 100$ )	% Geri kazanım
-	$^b -$	-	-
1	$0,75 \pm 0,06$	4,8	75,0
2	$1,95 \pm 0,14$	4,5	97,5
10	$9,15 \pm 0,20$	1,4	91,5

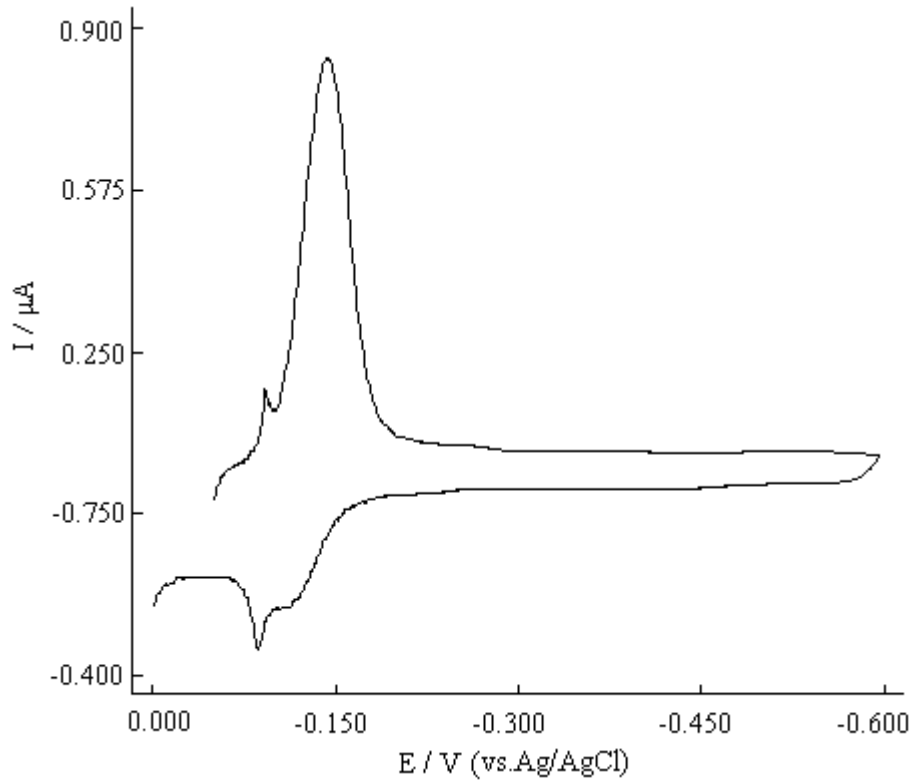
<sup>a</sup> % 95 Güven seviyesi (N=4)

<sup>b</sup> - gözlenmedi

Tablo 5.11’de çeşitli miktarlarda süte ilave edilen siyanürik asidin geri kazanım sonuçları verilmiştir. Yeterli düzeyde geri kazanımlar ve düşük varyasyon katsayısı (VK) değerleri sütteki siyanürik asidin tayininde geliştirilen yöntemin duyarlı olduğunu göstermektedir.

### 5.2.6. Siyanürik Asidin Dönüşümlü Voltametri (DV) Çalışmaları

Siyanürik asidin voltametrik davranışını incelemek için dönüşümlü voltametri (DV) çalışmaları yapılmıştır. Siyanürik asidin dönüşümlü voltamogramları pH 9,5 B-R tamponunda farklı tarama hızlarında kaydedilmiştir. Deneyler Bölüm 5.1.6’da anlatıldığı gibi yapılmıştır. Elde edilen voltamogramlar aşağıda verilmiştir (Şekil 5.32 ve 5.33). Şekil 5.32’de B-R tamponunda (pH 9,5’te) 40  $\mu\text{M}$  siyanürik asidin dönüşümlü voltamogramı görülmektedir.

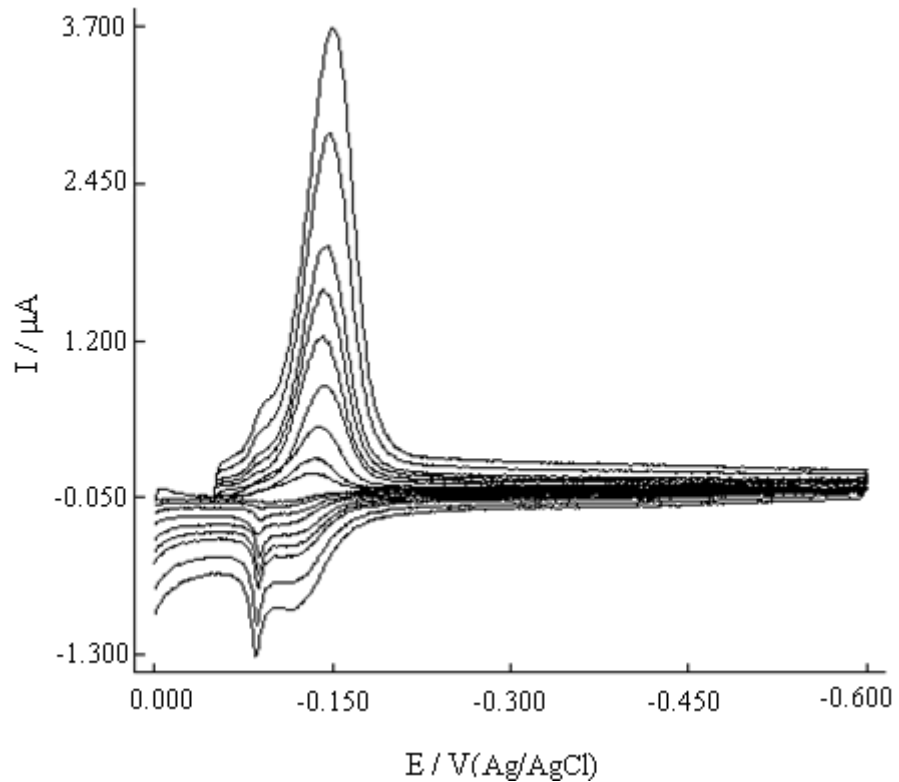


Şekil 5.32. 40  $\mu\text{M}$  siyanürik asidin pH 9,5 B-R tamponundaki dönüşümlü voltamogramı. Tarama hızı; 200  $\text{mV s}^{-1}$

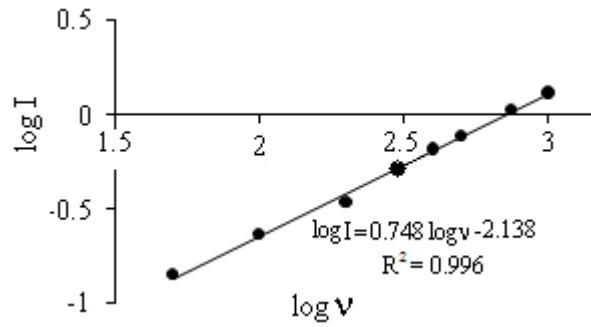
Siyanürik asidin DV voltamogramında -142 mV’te tek katodik pik görülürken yapılan geri tarama sonucunda da -106 mV’te anodik bir pik görülmüştür (Şekil 5.32).

Siyanürik asidin dönüşümlü voltamogramında görülen ön pikler siyanürik asidin indirgenmesi sonucu oluşan ürünün kuvvetle adsorplandığını göstermektedir [44]. Farklı tarama hızlarında siyanürik asidin pik potansiyelleri ve pik akımları da incelenmiştir (Tablo 5.12). Potansiyel taramaları 25, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 750 ve 1000 mV/s'lik tarama hızlarında yapılmıştır. Şekil 5.33'te pH 9,5 BRT'de 25-1000 tarama hızı aralığında 40  $\mu$ M siyanürik asidin indirgenme piki için tarama hızı ile pik potansiyelleri ve pik akımlarındaki değişimi gösteren voltamogramlar verilmiştir. Siyanürik asidin pikinin katodik ve anodik pik akımları tarama hızı arttıkça artmaktadır (Şekil 5.33).

Şekil 5.34'de ön pik için  $\log v$ 'e karşılık  $\log I_{pa}$  grafiği verilmiştir. Doğrunun eğiminin 0,748 olması da adsorpsiyonun varlığını desteklemektedir.



Şekil 5.33. 40  $\mu$ M siyanürik asidin dönüşümlü voltamogramının tarama hızı ile değişimi. Tarama hızı; 25, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 750, 1000 mVs<sup>-1</sup>

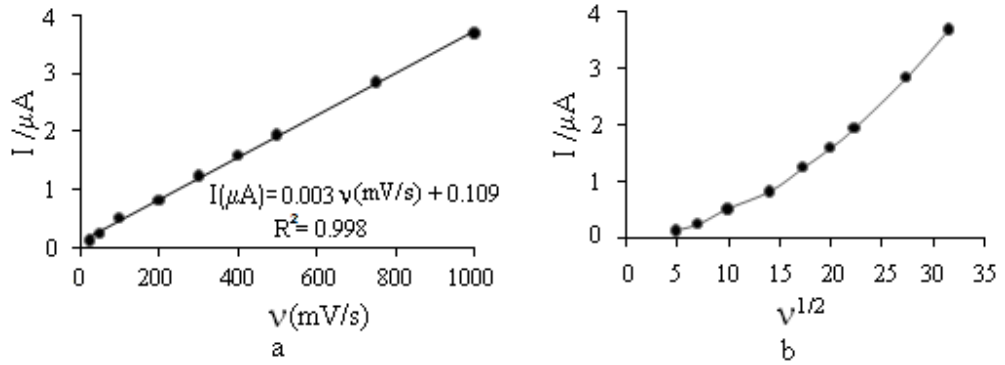


Şekil 5.34. 40  $\mu$ M siyanürik asidin ön pikinin pH 9,5 B-R tamponunda  $\log v$ 'ye karşı  $\log I_{pk}$  'nın değişiminin incelenmesi.

Tablo 5.12. Dönüşümlü voltametri çalışmasında tarama hızına karşı elde edilen pik akımı ve pik potansiyellerinin verileri.

Tarama hızı (mV/s)	Akım( $\mu$ A)	$E_{pk}$ (mV)
25	0,1321	-136
50	0,2556	-136
100	0,5148	-138
200	0,8235	-143
300	1,2432	-143
400	1,6012	-143
500	1,9469	-144
750	2,8481	-147
1000	3,6877	-149

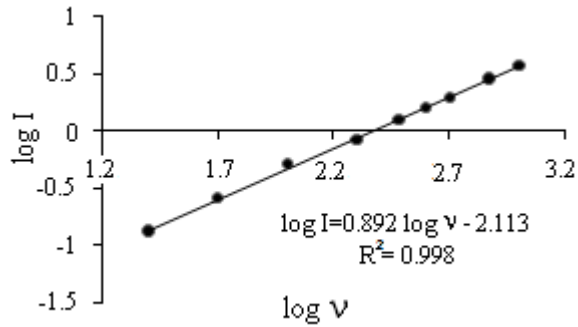
Tarama hızı ve tarama hızının kareköküne karşı pik akımlarının değişimi grafiğe geçirilmiştir (Şekil 5.35). 25-1000  $mVs^{-1}$  aralığında siyanürik asidin pikinin  $I_{pk}$  şiddeti ile tarama hızı arasında doğrusal ilişki varken  $I_{pk} - v^{1/2}$  arasında doğrusal olmayan bir ilişki vardır (Şekil 5.35).  $I_{pk} - v$  arasında doğrusal ilişki gözlenmesi elektrot reaksiyonunun adsorpsiyon kontrollü olduğunu göstermektedir [44]. Eşitlik 5.9'daki  $R^2$  değeri, doğrusal ilişkinin oldukça yüksek olduğunu göstermektedir.



Şekil 5.35. 40  $\mu\text{M}$  siyanürik asidin pH 9,5 BRT’de pik akımlarının (a) tarama hızı ve (b) tarama hızının karekökü ile değişiminin incelenmesi

$$I_{\text{pk}} (\mu\text{A}) = 0,003 v (\text{mV/s}) + 0,109 (R^2 = 0,998) \quad (5.9)$$

Siyanürik asit  $\log I - \log v$  grafiğinin eğimi Şekil 5.36’da görülmektedir. Grafiğin eğiminin 0,5’ten büyük olması (0,892) elektrot reaksiyonunun adsorpsiyon kontrollü olduğunu desteklemektedir. Şekil 5.35’te verilen dönüşümlü voltamogramındaki siyanürik asidin pikinin anodik pik akımının katodik pik akımından daha küçük oluşu da siyanürik asidin cıva elektrot yüzeyinde adsorplandığını göstermektedir [44].



Şekil 5.36. 40  $\mu\text{M}$  siyanürik asidin pH 9,5 B-R tamponunda  $\log v$ ’ye karşı  $\log I$ ’nin değişiminin incelenmesi.

$$\log I_{\text{p}}(\mu\text{A}) = 0,892 \log v (\text{mV/s}) - 2,113 \quad R^2 = 0,998 \quad (5.10)$$

### 5.3. Ammelinin Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi, Tayini ve Analitik Uygulamaları

Ammelin (4,6-diamino-2-hidroksi-1,3,5-triazin) bir s-Triazindir ve melaminin türevidir. Bu nedenle literatürde melamin tayini yanında ammelinin tayinin yapıldığı çalışmalar

vardır. Ammelinin tayininde kullanılan çeşitli kromatografik ve spektroskopik yöntemler vardır [6,17,20]. Ancak, ammelin tayini için yapılan herhangi bir elektrokimyasal ya da polarografik çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmayla polarografik olarak eser miktarda ammelin tayininin yapılması amaçlanmıştır.

Çalışmada öncelikle ammelinin tayinine pH'nın etkisi incelenmiştir. Sonra ammelinin destek elektrolitteki tayini, süt numunesindeki geri kazanımları ve bazı iyonların ammelin tayinine girişimleri araştırılmıştır. Ayrıca ammelinin voltametrik davranışını incelemek için dönüşümlü voltametri (DV) çalışmaları yapılmıştır.

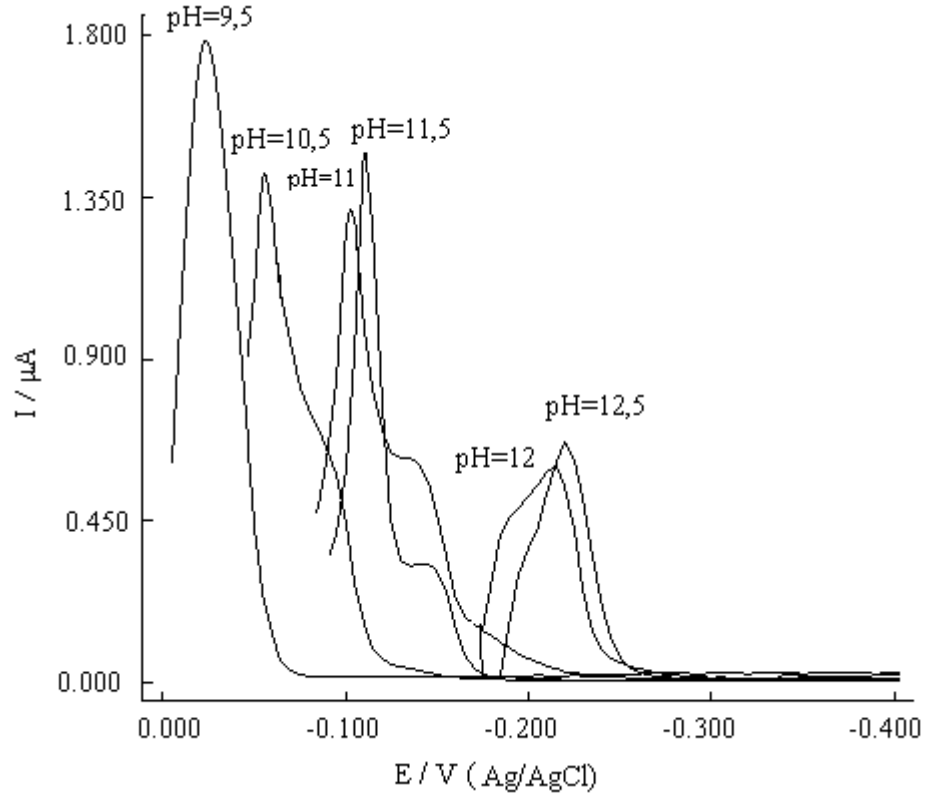
### **5.3.1. Destek Elektrolit Seçimi**

Ammelinin polarografik davranışını incelenmek için geniş bir aralıkta çalışma olanağı sunan BRT (Britton-Robinson tamponu) kullanılmıştır. Ammelinin indirgenmesine pH'nın etkisini incelemek için 30 µM ammelinin farklı pH' lardaki polarogramları kaydedilmiştir (Şekil 5.37).

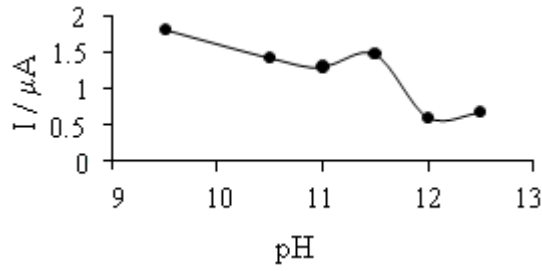
### **5.3.2. pH Etkisi**

Britton-Robinson tamponu ile yapılan pH taraması neticesinde ammelinin indirgenmesinin pH'ya bağlı olduğu anlaşılmıştır. B-R tamponunda pH 2-9,5 aralığında pik kaydedilmemiştir. pH 9,5-12,5 aralığında ammelinin indirgenmesine ait bir ya da iki tane pik kaydedilmiştir (Şekil 5.37) ve pH'ya karşı pik akımları grafiğe geçirilmiştir (Şekil 5.38). İndirgenme pikine ait pik yüksekliği pH 9,5'ta maksimum değerine ulaşmaktadır ve pik şekli de tayin çalışması için uygundur. Bu nedenle ammelin tayini için pH 9,5 B-R tamponu çalışma ortamı olarak seçilmiştir. Tablo 5.13'te ammelinin Britton-Robinson tamponundaki polarografik davranışı özet halinde verilmiştir.





Şekil 5.37. 30  $\mu\text{M}$  ammelinin pH 9,5-12,5 aralığında B-R tamponundaki diferansiyel puls polarogramları.



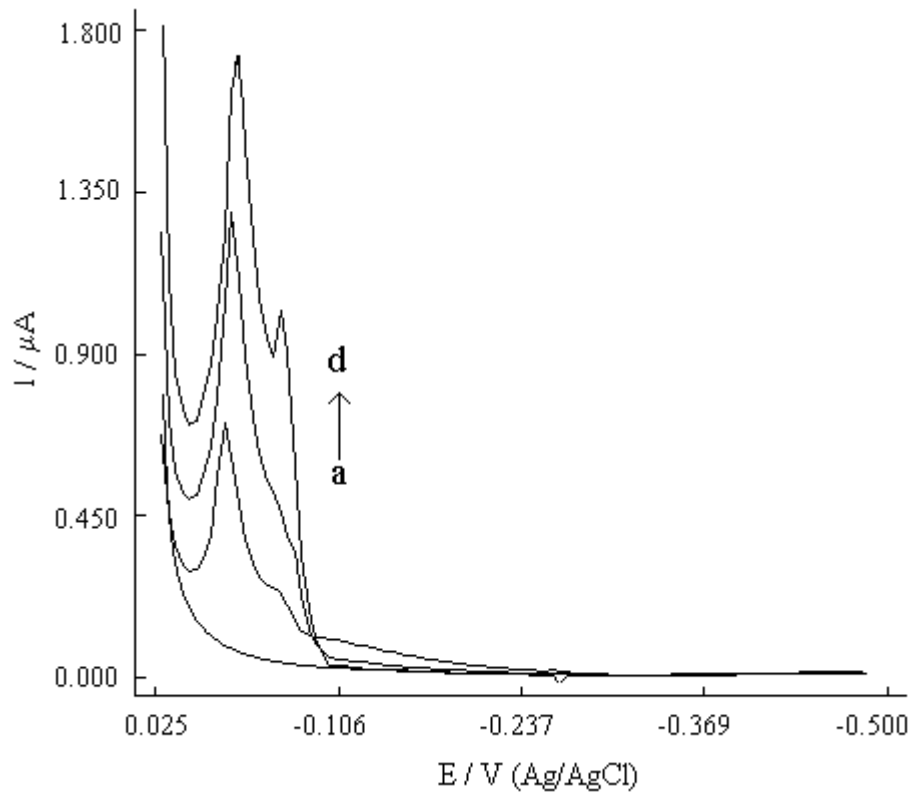
Şekil 5.38. 30  $\mu\text{M}$  ammelinin pik akımlarının pH ile değişimi.

Tablo 5.13. Britton-Robinson tamponunda ammelinin polarografik davranışının pH ile değişiminin incelenmesi.

İyon	Elektrolit	$E_{\text{pik}}(\text{mV})$	$I(\mu\text{A})$	Pik şekli	$C(\mu\text{M})$
Ammelin	pH=9,5	-30	1,780	Keskin	30 $\mu\text{M}$
	pH=10,5	-55	1,415	Keskin	
	pH=11,0	-102	1,305	Keskin	
	pH=11,5	-110	1,500	Keskin	
	pH=12,0	-213	0,595	Yayvan	
	pH=12,5	-220	0,665	Yayvan	

### 5.3.3. Ammelinin Destek Elektrolitteki Tayini

Ammelinin destek elektrolitteki tayini standart eklemeye yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. pH 9,5 B-R tamponu içinde ammelinin indirgenme piki -30 mV'ta kaydedilmiştir. Bölüm 5.1.1'de anlatıldığı gibi deneyler yapılmış ve hücreye art arda standart ammelin çözeltisinden eklemeler yapılarak ammelin tayini gerçekleştirilmiştir (Şekil 5.39). Deney 5 defa tekrar edilmiştir. pH 9,5 B-R tamponundaki derişimi  $1 \times 10^{-5}$  M olan ammelinin miktarı, % 95 güven seviyesinde  $(1,01 \pm 0,05) \times 10^{-5}$  M olarak bulunmuştur. Deney sonuçları Tablo 5.14'te verilmiştir.



Şekil 5.39. pH 9,5 B-R tamponunda ammelinin miktar tayini.

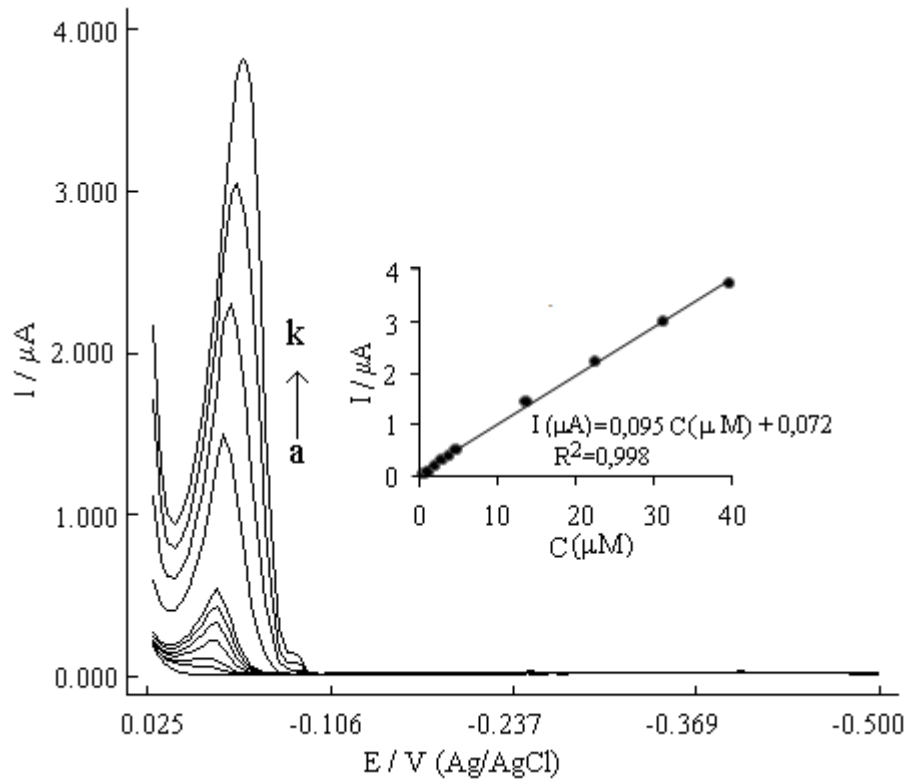
- a) 10,0 mL pH 9,5 B-R tampon çözeltisi
- b) a + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M ammelin
- c) b + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M ammelin
- d) c + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M ammelin

Tablo 5.14. pH 9,5 B-R tamponu ortamında  $1 \times 10^{-5}$  M (hücre içindeki derişim) ammelinin miktar tayini.

Eklenen ammelin derişimi (M)	Bulunan ammelin derişimi $\bar{X}$ (M)	s	$\bar{x} \pm \frac{ts}{\sqrt{N}}$
$1 \times 10^{-5}$	$1,01 \times 10^{-5}$	$0,04 \times 10^{-5}$	$(1,01 \pm 0,05) \times 10^{-5}$

%95 GS, N=5

Ammelinin tayin aralığını belirlemek için kalibrasyon çalışması yapılmıştır (Şekil 5.40). Elde edilen sonuçlara göre ammelinin derişimlerine karşı pik akımları grafiğe geçirilmiştir (Şekil 5.40). pH 9,5 B-R tamponunda ammelinin art arda standart eklemelerinde  $0,5 \mu\text{M} - 39,65 \mu\text{M}$  aralığında pik akımı ve derişim arasında doğrusal bir ilişki görülmüştür (Şekil 5. 40). Bu grafiğe ait denklem Eşitlik 5.13'te verilmiştir.



Şekil 5.40. Ammelinin farklı derişimlerdeki diferansiyel puls polarogramları.

- a) 9,5 mL pH 9,5 B-R tampon çözeltisi
- b) a + 0,5 mL  $1 \times 10^{-5}$  M ammelin
- c) b + 0,05 mL  $1 \times 10^{-4}$  M ammelin
- d) c + 0,1 mL  $1 \times 10^{-4}$  M ammelin
- e) d + 0,1 mL  $1 \times 10^{-4}$  M ammelin
- f) e + 0,1 mL  $1 \times 10^{-4}$  M ammelin
- g) f + 0,1 mL  $1 \times 10^{-4}$  M ammelin
- h) g + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M ammelin
- i) h + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M ammelin
- j) i + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M ammelin
- k) j + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M ammelin

$$I_p (\mu A) = 0,095 C (\mu M) + 0,072 \quad (R^2 = 0,998) (n=10) \quad (5.13)$$

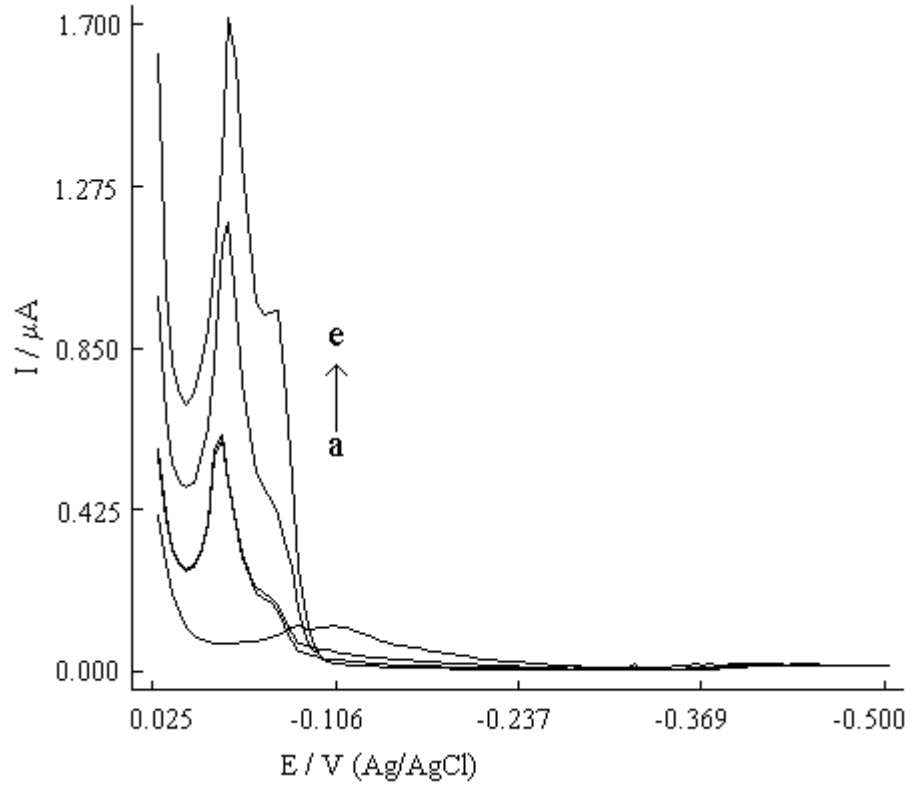
Tayin alt sınırı ve gözlenebilme sınırı değerleri doğrudan yapılan deneylerden bulunmuş ve gözlenebilme sınırı ve tayin alt sınırı değerleri sırasıyla  $0,15 \mu M$  ve  $0,5 \mu M$  olarak hesaplanmıştır.

### 5.3.4. Girişim Etkisinin İncelenmesi

#### 5.3.4.1. Elektroaktif İyonların Girişim Etkilerinin İncelenmesi

Ammelin tayini için geliştirilen yöntemin seçiciliğini belirlemek amacıyla, sütte bulunan iyonlar ( $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Fe}^{+3}$  ve  $\text{Cu}^{+2}$ ) ve  $\text{Co}^{+2}$ ,  $\text{Pb}^{+2}$ ,  $\text{Zn}^{+2}$ ,  $\text{Cd}^{+2}$ ,  $\text{Mn}^{+2}$ ,  $\text{Se}^{+4}$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{Ba}^{+2}$ ,  $\text{NO}_3^{2-}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{Cl}^-$  iyonlarının ammelinin tayinine girişim etkileri incelemiştir. Deneyle Bölüm 5.1.4.1’de anlatıldığı gibi yapılmıştır. pH 9,5 B-R tamponunda  $\text{Co}^{+2}$ ,  $\text{Mn}^{+2}$ ,  $\text{Se}^{+4}$  ve  $\text{Pb}^{+2}$  iyonlarına ait pikler gözlenmemiştir.  $\text{Cu}^{+2}$  (-182 mV),  $\text{Fe}^{+3}$  (-1440 mV),  $\text{Cd}^{+2}$  (-660 mV),  $\text{Zn}^{+2}$  (-1351 mV) iyonlarına ait pikler ise belirtilen potansiyellerde kaydedilmiştir. Bu iyonların pik potansiyelleri ammelinin -30 mV’teki pikinden daha negatif potansiyellerde olduğu için, iyonların pikleriyle ammelinin piki üst üste çakışmamıştır.

Elektroaktif iyonlardan nitritin ( $\text{NO}_2^-$ ) ammelinle girişimine ait polarogram örnek olarak verilmiştir. pH 9,5 BRT elektrolitinde  $\text{NO}_2^-$ ’in indirgenmesine ait bir pik kaydedilmemiştir (Şekil 5.41). Elde edilen polarogramlardan,  $\text{NO}_2^-$  varlığında ammelinin geri kazanımı % 97,6 olarak hesaplanmıştır.



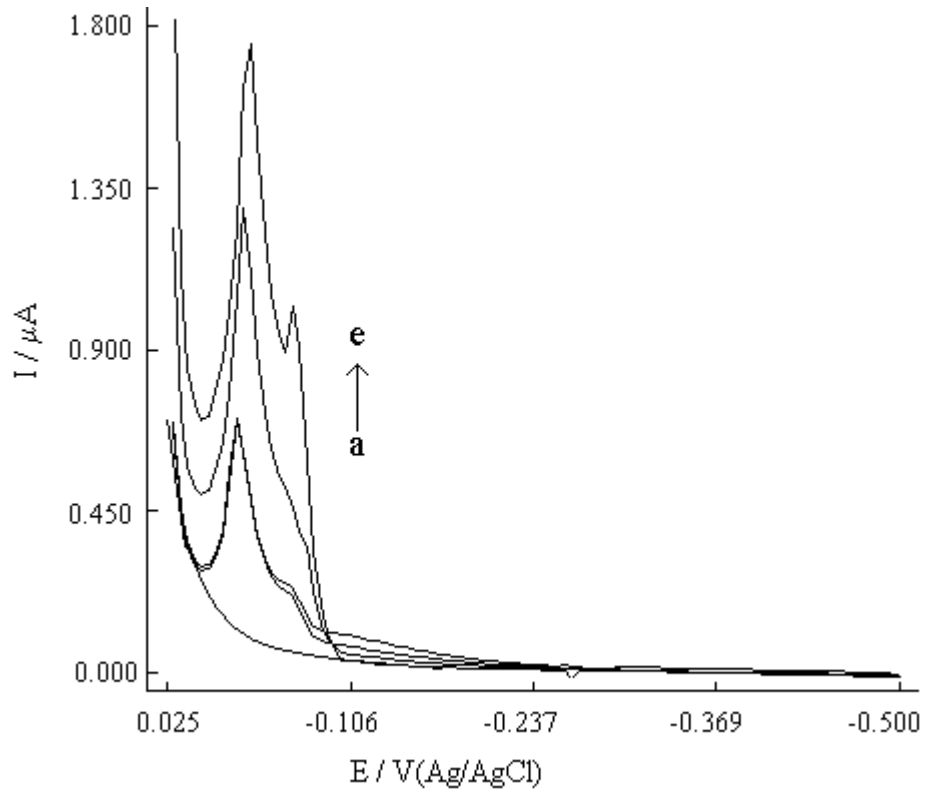
Şekil 5.41.  $\text{NO}_2^-$  iyonunun girişim etkisinin incelenmesi.

- a) 10,0 mL pH 9,5 B-R tampon çözeltisi
- b) a + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M ammelin
- c) b + 0,1 mL  $1 \times 10^{-2}$  M  $\text{NO}_2^-$
- d) c + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M ammelin
- e) d + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M ammelin

Tayinin gerçekleştirileceği ortamda, ammelin ve  $\text{NO}_2^-$  iyonları arasında, herhangi bir reaksiyonunun gerçekleşmediği ve piklerinin üst üste çakışmadığı, yani girişim yapmadıkları tespit edilmiştir.

### 5.3.4.2. Elektroaktif Olmayan İyonların Girişim Etkilerinin İncelenmesi

Çalışılan elektroaktif olmayan iyonlar  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ba}^{+2}$ ,  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  ve  $\text{Cl}^-$  dir. Örnek olarak  $\text{K}^+$  iyonunun girişim etkisi aşağıda verilmiştir (Şekil 5.42).



Şekil 5.42.  $K^+$  iyonunun girişim etkisinin incelenmesi.

- a) 10,0 mL pH 9,5 B-R tampon çözeltisi
- b) a + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M ammelin
- c) b + 0,1 mL  $1 \times 10^{-2}$  M  $K^+$
- d) c + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M ammelin
- e) d + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M ammelin

Diğer elektroaktif olmayan iyonlar ( $Ba^{+2}$ ,  $Ca^{+2}$ ,  $Mg^{+2}$ ,  $NO_3^-$ ,  $SO_4^{2-}$  ve  $Cl^-$ ) için de benzer yolla elde edilen polarogramlardan yararlanarak girişim etkisi incelenen iyonun bulunduğu ortamda ammelinin geri kazanımı hesaplanmıştır. Polarografik olarak inaktif olan  $K^+$ ,  $Ba^{+2}$ ,  $Ca^{+2}$ ,  $Mg^{+2}$ ,  $NO_3^-$ ,  $SO_4^{2-}$  ve  $Cl^-$  iyonlarının da ammelinin indirgenme pikine girişim etkilerinin olmadığı tespit edilmiştir. Ammelinin incelenen iyonlar varlığında geri kazanım sonuçları Tablo 5.15'te verilmiştir.

Tablo 5.15. pH 9,5 B-R tamponunda  $1 \times 10^{-5}$  M ammeline bazı iyonların girişim etkilerinin incelenmesi.

Girişimi incelenen iyonlar	C (M)	Ammelinin % geri kazanımı	Girişimi incelenen iyonlar	C(M)	Ammelinin % geri kazanımı
Pb <sup>2+</sup>	1x10 <sup>-4</sup>	97,6	K <sup>+</sup>	1x10 <sup>-4</sup>	101,5
Mn <sup>2+</sup>		96,6	Ba <sup>2+</sup>		95,2
Cd <sup>2+</sup>		95,8	Mg <sup>2+</sup>		96,2
Fe <sup>3+</sup>		91,7	Ca <sup>2+</sup>		98,0
Zn <sup>2+</sup>		96,2	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>		101,5
Se <sup>4+</sup>		98,1	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>		96,6
Co <sup>2+</sup>		100,0	Cl <sup>-</sup>		99,0
Cu <sup>2+</sup>		97,6	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>		97,6

Tablo 5.15'te görüldüğü gibi incelenen iyonların varlığında ammelinin geri kazanımı % 91,7 - % 101,5 arasındadır. Ammelin için yüksek geri kazanım değerleri elde edilmesi bu iyonların ammelinin tayinine önemli bir girişim etkilerinin olmadığı göstermektedir.

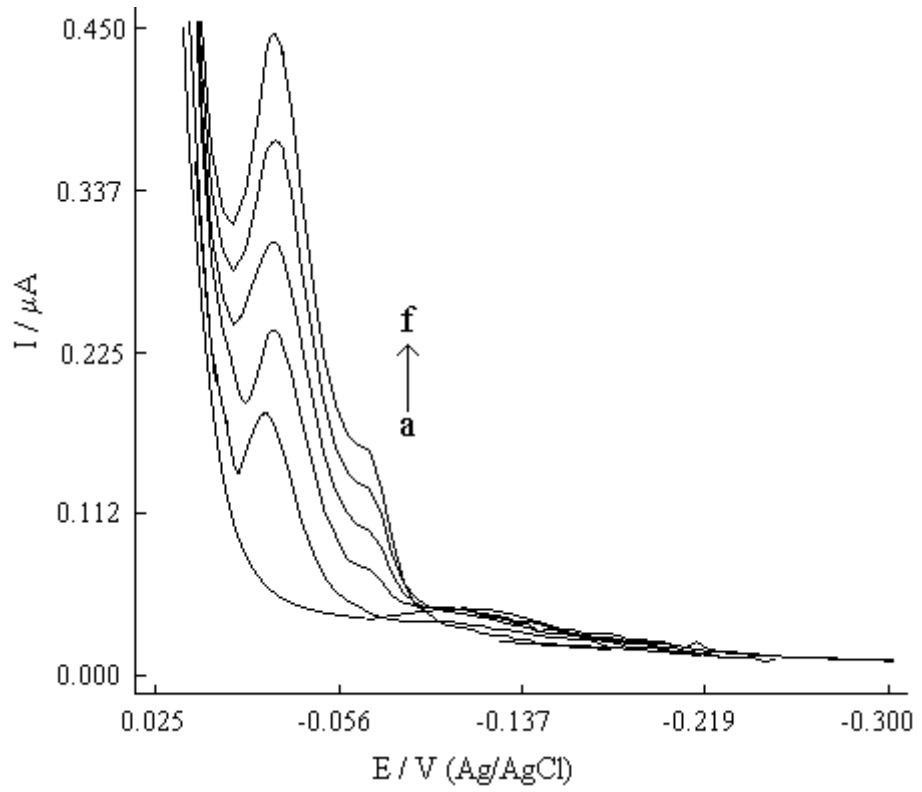
### 5.3.5. Ammelinin Süt Numunelerindeki Tayini

Ammelin tayini için DPP ile geliştirilen yöntemin gerçek numunelere uygulamasını test etmek için, önerilen metot ammelin eklenmiş süt numunelerine uygulanmıştır. Süt numunelerindeki ammelinin tayini için numune hazırlaması Bölüm 5.1.5.1'de anlatıldığı gibi yapılmıştır.

#### 5.3.5.1. Süt Numunesindeki Ammelinin Geri Kazanımının İncelenmesi

Süt numunesinde ammelinin geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. Bunun için pH'sı 9,5 olan 9,9 mL BRT çözeltisi ve 0,1 mL tanık çözelti polarografi hücreğine ilave edilip polarogramı kaydedilmiştir. Bu çözelti içine 2 kez içerisinde 0,2 mL  $1 \times 10^{-4}$  M'lık ammelin içeren süt numunesinden ilave edilmiş, 3 kez de 0,2 mL  $1 \times 10^{-4}$  M'lık ammelin stok çözeltilerinden ilave edilerek polarogramları ayrı ayrı kaydedilmiştir (Şekil 5.43).

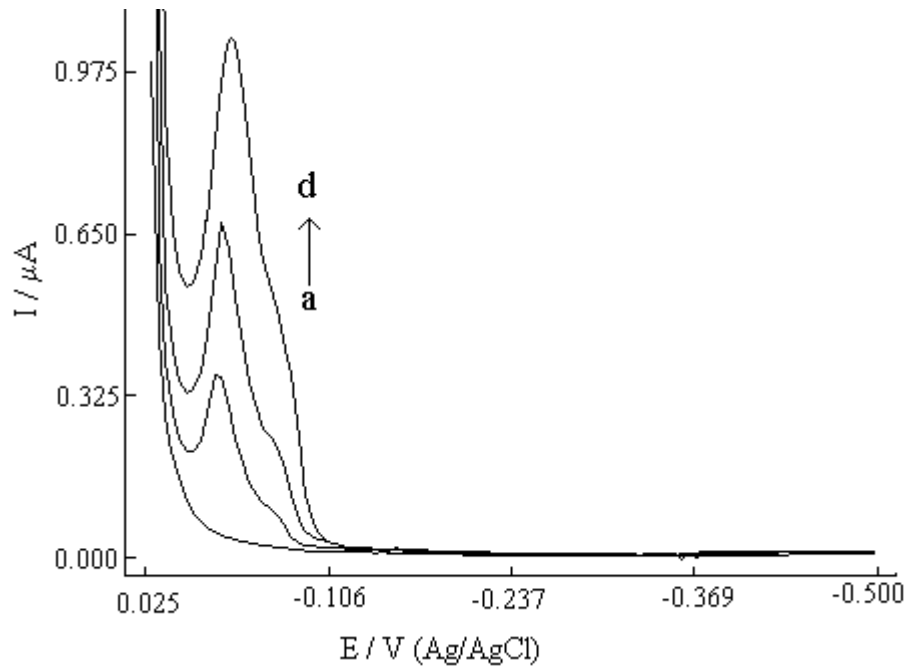




Şekil 5.43. Süt numunesindeki ammelinin diferansiyel puls polarogramları.

- a) 9,9 mL BRT çözeltisi (pH=9,5) + 0,1 mL tanık çözelti
- b) a + 0,2 mL  $1 \times 10^{-4}$  M süt numunesi
- c) b + 0,2 mL  $1 \times 10^{-4}$  M süt numunesi
- d) c + 0,2 mL  $1 \times 10^{-4}$  M ammelin
- e) d + 0,2 mL  $1 \times 10^{-4}$  M ammelin
- f) e + 0,2 mL  $1 \times 10^{-4}$  M ammelin

Süt numunesinde  $10 \mu\text{M}$  ammelinin geri kazanımını da yapılmıştır. Tanık çözeltinin polarogramında ammeline ait pik kaydedilmemiştir (Şekil 5.44).



Şekil 5.44. Süt numunesindeki ammelinin diferansiyel puls polarogramları.

- a) 9,9 mL BRT çözeltisi (pH=9,5) + 0,1 mL tanık çözeltisi  
 b) a + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M süt numunesi  
 c) b + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M süt numunesi  
 d) c + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M ammelin

Süte eklenen ammelinin polarografik tayini için, dört deney yapılmış ve bu dört deneyin ortalaması alınarak geri kazanım sonuçları hesaplanmış ve Tablo 5.16'da verilmiştir. Geri kazanımlar, süt numunelerindeki ammelinin pik akımları ölçülerek ve standart eklemelerdeki akım artışları ile karşılaştırılarak hesaplanmıştır.

Süte eklenen  $2 \mu\text{M}$  ve  $10 \mu\text{M}$  ammelinin geri kazanım değerleri, varyasyon katsayıları (VK),  $\bar{x} \pm \frac{ts}{\sqrt{N}}$  değerleri hesaplanmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 5.16'da verilmiştir.

Tablo 5.16. Süt numunelerindeki ammelinin tayini (polarografi hücresinde).

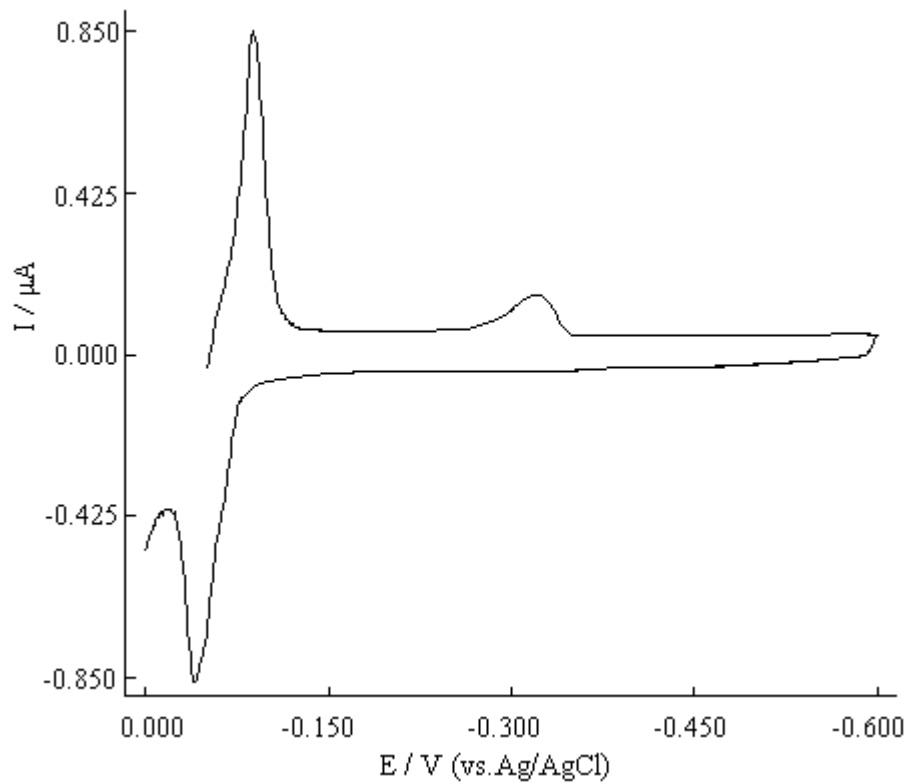
Eklenen ( $\mu\text{M}$ )	Bulunan( $\mu\text{M}$ ) ${}^a\bar{x} \pm \frac{ts}{\sqrt{N}}$	VK ( $\frac{s}{\bar{x}} \cdot 100$ )	% Geri kazanım
-	${}^b-$	-	-
2	$1,97 \pm 0,12$	3,55	% 98,75
10	$8,77 \pm 0,85$	6,09	% 87,70

<sup>a</sup> %95 Güven seviyesi (N=4)

<sup>b</sup> gözlenmedi

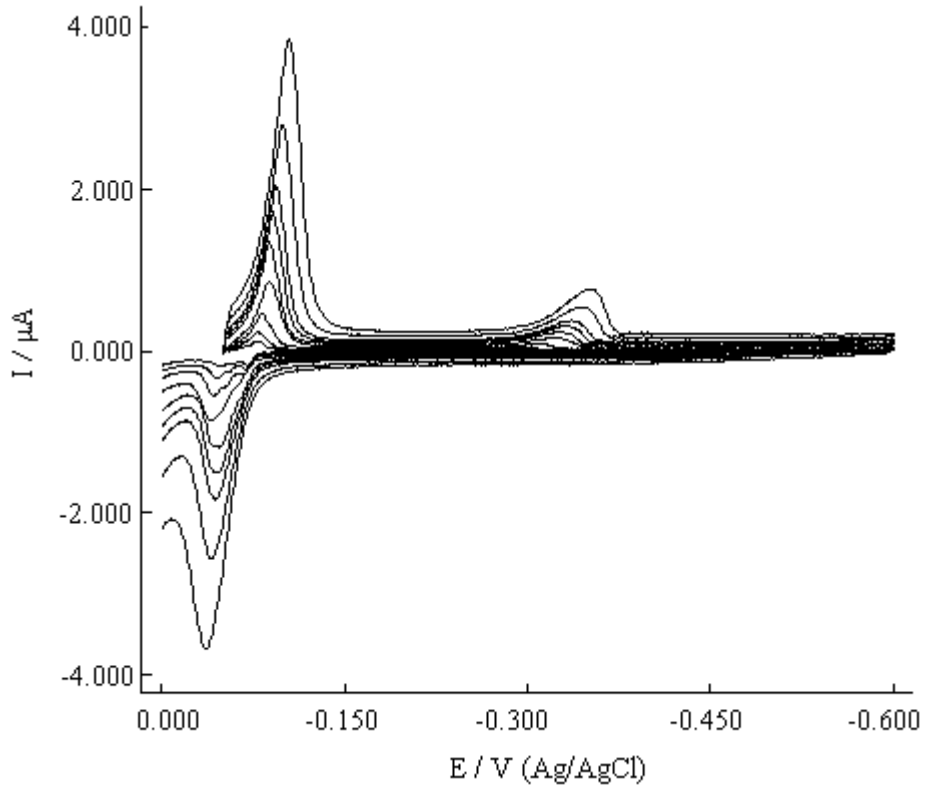
### 5.3.6. Ammelinin Dönüşümlü Voltametri (DV) Çalışmaları

Ammelinin voltametrik davranışını incelemek için dönüşümlü voltametri (DV) çalışmaları yapılmıştır. Deneyler 5.1.6'da anlatıldığı gibi yapılmıştır. Şekil 5.45'te B-R tamponunda (pH 9,5) 20  $\mu\text{M}$  ammelinin dönüşümlü voltamogramı görülmektedir. Ammelinin DV voltamogramında -88 mV ve -323 mV'ta iki katodik pik kaydedilirken yapılan geri tarama sonucunda da -41 mV'ta bir anodik pik kaydedilmiştir.



Şekil 5.45. 20  $\mu\text{M}$  ammelinin pH 9,5 B-R tamponundaki dönüşümlü voltamogramı.  
Tarama hızı; 200  $\text{mV s}^{-1}$

Farklı tarama hızlarında ammelinin pik potansiyelleri ve pik akımları incelenmiştir. Potansiyel taramaları 25, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 750 ve 1000  $\text{mV/s}$ 'lik tarama hızlarında yapılmıştır. pH 9,5 BRT'de 25-1000 tarama hızı aralığında 20  $\mu\text{M}$  ammelinin indirgenme piki için tarama hızı ile pik potansiyelleri ve pik akımlarındaki değişimi gösteren voltamogram verilmiştir (Şekil 5.46).



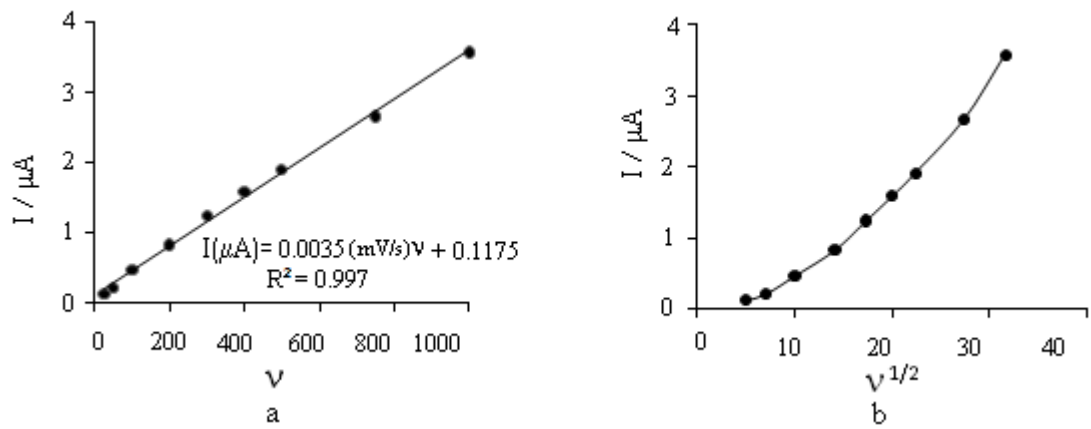
Şekil 5.46. 20  $\mu\text{M}$  ammelinin dönüşümlü voltamogramının tarama hızı ile değişimi. Tarama hızı; 25, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 750, 1000  $\text{mV s}^{-1}$

Ammelinin indirgenme pikinin katodik ve anodik pik akımları da tarama hızı arttıkça artmış, pik potansiyel değerlerinde önemli bir kayma görülmemiştir (Şekil 5.46). DV çalışmalarından (Şekil 5.45 ve 5.46) elde edilen sonuçlar Tablo 5.17’de verilmiştir.

Tablo 5.17. Dönüşümlü voltametri çalışmasında tarama hızına karşı elde edilen pik akımları ve pik potansiyellerinin verileri.

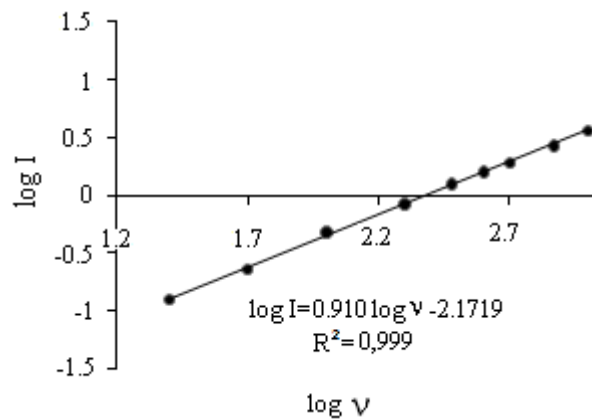
Tarama hızı ( $\text{mV/s}$ )	$I_{\text{pk}} (\mu\text{A})$	$I_{\text{pa}} (\mu\text{A})$	$-E_{\text{pk}} (\text{mV})$	$-E_{\text{pa}} (\text{mV})$
25	0,1251	0,1556	-79	-51
50	0,2258	0,3082	-78	-46
100	0,4761	0,5127	-82	-43
200	0,8392	0,7965	-88	-41
300	1,2482	1,0986	-88	-48
400	1,5930	1,4160	-91	-46
500	1,9165	1,6999	-94	-44
750	2,6673	2,3896	-99	-41
1000	3,5798	3,4730	-105	-37

Tarama hızı ve tarama hızının kareköküne karşı pik akımlarının değişimi grafiğe geçirilmiştir (Şekil 5.47). Ammelinin pik akımıyla tarama hızı arasında doğrusal bir ilişki görülmüştür (Şekil 5.47). 25-1000  $\text{mVs}^{-1}$  aralığında ammelinin 1. pikinin  $I_{pk}$  şiddeti ile tarama hızı arasında doğrusal ilişki gözlenirken  $I_{pk} - v^{1/2}$  arasında doğrusal olmayan bir ilişki gözlenmesi ammelinin elektrot reaksiyonunu adsorpsiyon kontrollü [44] olduğunu göstermektedir. Ammelinin  $\log I - \log v$  grafiğinin (Şekil 5.48) eğiminin 0,910 (0,5'ten büyük) olması da adsorpsiyonun varlığını desteklemektedir.



Şekil 5.47. 30  $\mu\text{M}$  ammelinin pH 9,5 BRT'de pik akımlarının tarama hızı ve tarama hızının karekökü ile değişiminin incelenmesi.

$$I (\mu\text{A}) = 0,0035 v (\text{mV/s}) + 0,1175 \quad (R^2 = 0,997) \quad (5.15)$$



Şekil 5.48. Ammelinin pH 9,5 BRT'de  $\log v$ 'ye karşı  $\log I$ 'nin değişiminin incelenmesi.

$$\log I (\mu\text{A}) = 0,910 \log v - 2,1719 \quad R^2 = 0,999 \quad (5.16)$$

## 6. BÖLÜM

### SONUÇLAR

Melamin, siyanürik asit ve ammelin ile ilgili yapılan çalışmalar özet halinde sırasıyla aşağıda verilmiştir:

Yapılan literatür araştırması sonucunda melaminin polarografik olarak tayininin yapıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada melaminin diferansiyel puls polarografisiyle (DPP) tayini için yöntem geliştirilmiş ve bu yöntem süt ve süt tozu numunelerine uygulanmıştır. Melaminin elektrokimyasal davranışları DPP ve DV teknikleri kullanılarak incelenmiştir. Melaminin tayini için farklı destek elektrolit ve pH'larda (0,1 M  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ - $\text{HPO}_4^{2-}$  (pH 11,0 ve 12,4), 0,1 M  $\text{NH}_3$ - $\text{NH}_4^+$  (pH 7,0 ve 10,0), 1,0 M HAc-NaAc (pH 4,0 ve 12,0), 0,1 M HCl, 0,1 M  $\text{HClO}_4$  ve B-R (pH 10,5-12,7) çalışılmış ve en uygun çalışma ortamı olarak pH 11,2 B-R tamponu belirlenmiştir. Yapılan çalışmalarda melaminin indirgenmesinin pH'ya bağlı olduğu tespit edilmiştir. Melaminin tayini için pH 11,2 B-R tampon çözeltisi içerisinde alınan DPP'lerde -5 mV (1. pik), -50 mV (2. pik) ve -107 mV (3. pik)'ta olmak üzere 3 pik kaydedilmiştir (Şekil 5.4). Bu piklerden -50 mV'teki pikin akımları derişimle doğrusal bir artış gösterdiği ve pik şekilleri düzgün olduğu için tayin amaçlı kullanılmıştır. Melaminin destek elektrolitteki tayini için standart ekleme yöntemi kullanıldığında, % 95 güven seviyesinde  $1 \times 10^{-5}$  M melaminin pH 11,2 BRT elektrolitindeki derişimi,  $(0,99 \pm 0,03) \times 10^{-5}$  M olarak bulunmuştur. Kalibrasyon grafiğiyle yapılan çalışmada melaminin tayin aralığı 1,0  $\mu\text{M}$  - 66,4  $\mu\text{M}$  olarak hesaplanmıştır. Bu doğrusallık melaminin DPP yöntemiyle tayin edilebileceğini göstermiştir. Gözlenebilme sınırı 0,3 ve tayin sınırı da 1,0  $\mu\text{M}$  olarak hesaplanmıştır. Melamin için DPP ile geliştirilen yöntemin gerçek numunelere uygulamasını kontrol etmek amacıyla, önerilen metot süt ve süt tozu numunelerine uygulanmıştır. Süt numunesindeki melamin için tayin aralığı 1  $\mu\text{M}$  - 58

$\mu\text{M}$ , gözlenebilme sınırı  $0,3 \mu\text{M}$ , tayin alt sınırı  $1 \mu\text{M}$  olarak bulunmuştur. Süt tozu numunesindeki melamin için tayin aralığı  $9,9 \mu\text{M} - 57 \mu\text{M}$ , gözlenebilme sınırı  $3,3 \mu\text{M}$ , tayin sınırı ise  $9,9 \mu\text{M}$  olarak hesaplanmıştır. Süt ve süt tozundaki melaminin geri kazanımı sırasıyla % 95 ve % 87 (Tablo 5.5) olarak tespit edilmiştir. Melaminin tayini için geliştirilen yöntemin seçiciliğini belirlemek amacıyla  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Fe}^{+3}$  ve  $\text{Cu}^{+2}$ ,  $\text{Co}^{+2}$ ,  $\text{Ni}^{+2}$ ,  $\text{Pb}^{+2}$ ,  $\text{Zn}^{+2}$ ,  $\text{Cd}^{+2}$ ,  $\text{Hg}^{+2}$ ,  $\text{Mn}^{+2}$ ,  $\text{Se}^{+4}$ ,  $\text{Al}^{+3}$ ,  $\text{Ba}^{+2}$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  ve  $\text{Cl}^-$  iyonlarının melaminin tayinine girişim etkileri incelenmiştir (Tablo 5.4). İncelenen iyonların varlığında melaminin geri kazanımının % 90 - % 99,8 aralığında olduğu belirlenmiştir. Melamin için yüksek geri kazanım değerleri elde edilmiştir, bu da melaminin tayini için geliştirilen yöntemin seçiciliğinin iyi olduğunu göstermektedir. Melaminin DV voltamogramında  $-307 \text{ mV}$ 'ta katodik bir pik görülürken yapılan geri tarama sonucunda da  $-37 \text{ mV}$ 'ta anodik bir pik görülmüştür (Şekil 5.15). Melaminin  $25-1000 \text{ mVs}^{-1}$  aralığında dönüşümlü voltamogramları alınmış ve tarama hızı ( $\nu$ ) ve tarama hızının kareköküne karşı pik akımları ( $I_p$ ) grafiğe geçirilmiştir. Melaminin  $I_p$  ile  $\nu$  arasında doğrusal ilişki gözlenmiştir (Şekil 5.17).  $I - \nu$  arasında doğrusal ilişki gözlenmesi adsorpsiyon kontrollü bir sürecin varlığını göstermiştir [44]. Ayrıca  $\log I - \log \nu$  grafiği çizilmiş ve grafiğinin eğimi  $0,846$  olarak bulunmuştur (Şekil 5.18). Bu grafiğin eğiminin 1'e yakın olması elektrot reaksiyonunun adsorpsiyon kontrollü olduğunu göstermektedir. DV verilerinden yararlanarak melaminin indirgenme reaksiyonunun tersinirliğini incelemek için tersinirlik testleri uygulanmıştır [60] ve bu testlerin sonuçlarına göre melaminin indirgenme mekanizmasının yarı tersinir olabileceği düşünülmektedir.

Siyanürik asidin elektrokimyasal davranışları DPP ve DV teknikleri kullanılarak incelenmiş, DPP ile tayini için yöntem geliştirilmiş ve bu yöntem havuz suyu ve süt numunelerine uygulanmıştır. Siyanürik asidin tayini için farklı destek elektrolit ve pH' larda ( $0,1 \text{ M NH}_3\text{-NH}_4^+$  tamponu (pH 10),  $0,1 \text{ M HCl}$ ,  $0,1 \text{ M HClO}_4$  ve BRT (pH 2-13)) çalışılmış siyanürik asidin indirgenmesinin pH'ya bağlı olduğu tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalar neticesinde en uygun çalışma ortamının pH 9,5 BRT olduğu tespit edilmiştir. Siyanürik asidin pH 9,5 B-R tampon çözeltisi içerisinde alınan DPP'lerinde  $-105 \text{ mV}$  (keskin) tek bir pik kaydedilmiştir. Siyanürik asidin 9,5 BRT'deki tayini için standart ekleme yöntemi kullanıldığında  $1 \times 10^{-5} \text{ M}$  olan siyanürik asit miktarı, % 95 güven seviyesinde  $(0,97 \pm 0,02) \times 10^{-5} \text{ M}$  olarak bulunmuştur. Kalibrasyon grafiğiyle yapılan

çalışmada siyanürik asit için 0,5  $\mu\text{M}$  - 26,4  $\mu\text{M}$  aralığında pik akımı ve derişim arasında doğrusal bir ilişki görülmüştür. Gözlenebilme sınırı 0,15  $\mu\text{M}$  ve tayin alt sınırı 0,5  $\mu\text{M}$  olarak hesaplanmıştır. Siyanürik asit tayini için DPP ile geliştirilen yöntemin gerçek numunelere uygulamasını kontrol etmek için, önerilen metot havuz suyuna ve siyanürik asit eklenmiş süt numunelerine uygulanmıştır. Havuz suyu numunesi içinde; siyanürik asit miktarı, % 95 güven seviyesinde  $19,7 \pm 3,6 \mu\text{M}$  ( $2,54 \pm 0,47 \mu\text{g/mL}$ ) olarak tayin edilmiştir. Süte eklenen 1  $\mu\text{M}$ , 2  $\mu\text{M}$  ve 10  $\mu\text{M}$  siyanürik asit için geri kazanımları sırasıyla %75,0 , %97,5 ve %91,5 (Tablo 5.11) olarak bulunmuştur. Siyanürik asit için önerilen metodun seçiciliği havuz suyunda veya sütte bulunabilecek bazı inorganik iyonların varlığında araştırılmıştır (Tablo 5.10). Girişim etkileri araştırılan iyonlardan  $\text{Fe}^{+3}$ ,  $\text{Co}^{+2}$ ,  $\text{Ni}^{+2}$ ,  $\text{Pb}^{+2}$ ,  $\text{Zn}^{+2}$ ,  $\text{Cd}^{+2}$ ,  $\text{Mn}^{+2}$ ,  $\text{Se}^{+4}$ ,  $\text{SO}_3^{2-}$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ba}^{+2}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{Cl}^-$  iyonları için girişim etkisi gözlenmezken  $\text{Cu}^{+2}$ ,  $\text{Hg}^{+2}$  iyonlarının siyanürik asidin 10 katı kadar ilave edildiğinde girişim yaptıkları tespit edilmiştir.  $\text{Cu}^{+2}$ 'nin girişimi  $\text{Cu}^{+2}$  iyonlarının 10 katı,  $\text{Hg}^{+2}$ 'nin girişimi  $\text{Hg}^{+2}$  iyonlarının 3 katı kadar EDTA ilave edilerek giderilebilmiş ve geri kazanımları hesaplanmıştır. Siyanürik asidin DV voltamogramında -142 mV'ta tek katodik pik görülürken yapılan geri tarama sonucunda da -106 mV'ta anodik bir pik görülmüştür (Şekil 5.32). Siyanürik asidin dönüşümlü voltamogramında (DV) görülen ön pikler siyanürik asidin indirgenmesi sonucu oluşan ürünün kuvvetle adsorplandığını göstermektedir. Ayrıca 25-1000  $\text{mVs}^{-1}$  aralığında siyanürik asidin pikinin tarama hızı ile  $I_{\text{pk}}$  şiddetinin doğrusal olarak artması ve  $\log I - \log v$  grafiğinin eğiminin 0,5'ten büyük (0,892) olması siyanürik asidin indirgenmesinin adsorpsiyon kontrollü [44] olduğunu göstermektedir.

Yapılan literatür araştırması sonucunda ammelin ile ilgili yapılan elektrokimyasal bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada ammelinin elektrokimyasal davranışı DPP ve DV teknikleri kullanılarak incelenmiştir, DPP ile tayini için yöntem geliştirilmiş ve bu yöntem süt numunelerine uygulanmıştır. Ammelinin polarografik davranışını incelenmek için B-R tamponu kullanılmış ve yapılan pH taraması neticesinde ammelinin indirgenmesinin pH'ya bağlı olduğu anlaşılmıştır. Ammelin için en uygun çalışma ortamı olarak pH 9,5 BRT tespit edilmiştir. Ammelinin pH 9,5 B-R tampon çözeltisi içerisinde alınan DPP'sinde -30 mV (keskin) tek bir pik kaydedilmiştir. Ammelinin 9,5 BRT'deki tayini için standart ekleme yöntemi kullanıldığında  $1 \times 10^{-5}$  olan ammelinin miktarı, % 95 güven seviyesinde  $(1,01 \pm 0,05) \times 10^{-5}$  M olarak



hesaplanmıştır. Kalibrasyon grafiğiyle yapılan çalışmada ammelinin tayin aralığı 0,5  $\mu\text{M}$  - 39,65  $\mu\text{M}$  olarak bulunmuştur. Gözlenebilme sınırı 0,15  $\mu\text{M}$  ve tayin alt sınırı 0,5  $\mu\text{M}$  olarak hesaplanmıştır. Ammelinin tayini için DPP ile geliştirilen yöntemin gerçek numunelere uygulamasını kontrol etmek için, önerilen metot ammelin eklenmiş süt numunelerine uygulanmıştır. Süte eklenen 2  $\mu\text{M}$  ve 10  $\mu\text{M}$  ammelinin geri kazanımları sırasıyla % 98,75 ve % 87,70 olarak hesaplanmıştır (Tablo 5.16). Yeterli düzeydeki geri kazanımlar sütteki ammelinin tayininde geliştirilen yöntemin seçiciliğinin iyi olduğunu göstermektedir. Ammelin tayini için geliştirilen yöntemin seçiciliğini belirlemek için  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Fe}^{+3}$  ve  $\text{Cu}^{+2}$ ,  $\text{Co}^{+2}$ ,  $\text{Ni}^{+2}$ ,  $\text{Pb}^{+2}$ ,  $\text{Zn}^{+2}$ ,  $\text{Cd}^{+2}$ ,  $\text{Hg}^{+2}$ ,  $\text{Mn}^{+2}$ ,  $\text{Se}^{+4}$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{Al}^{+3}$ ,  $\text{Ba}^{+2}$ ,  $\text{NO}_3^{2-}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{Cl}^-$  iyonlarının ammelinin tayinine girişim etkileri incelemiştir (Tablo 5.15). Bu iyonların girişim yapmadıkları tespit edilmiştir. Ammelinin dönüşümlü voltamogramları alınmış ve tarama hızı ve tarama hızının kareköküne karşı pik akımlarının değişimi grafiğe geçirilmiştir. Ammelinin  $I - \nu$  arasında doğrusal bir ilişki görülmesi ammelinin indirgenmesinde adsorpsiyonun etkili olduğunu göstermektedir. Ammelinin  $\log I - \log \nu$  grafiğinin eğiminin 0,5'ten büyük (0,910) olması da adsorpsiyonun varlığını göstermektedir.

Sonuç olarak; melamin, siyanürik asit ve ammelinin tayini için hızlı, kolay, doğru, kesin, duyarlı, seçici ve herhangi bir ayırma işlemine gerek duyulmayan polarografik teknikler geliştirilmiş ve bunların melamin için süt ve süt tozu örneklerine, siyanürik asit için havuz suyu ve süt örneklerine, ammelin için süt örneklerine uygulanabilirliği gösterilmiştir. Geliştirilen yöntemin basit ve hızlı olması nedeniyle kaynaklardaki melamin, siyanürik asit ve ammelin tayini için geliştirilmiş yöntemlere alternatif bir metot olarak sunulmuştur.

**KAYNAKLAR**

1. Fessenden, R. J., Fessenden J.S., Logue, M.W., Organik Kimya , Güneş Kitapevi, Ankara, 2001.
2. Gerdan, G., Bazı Dikloro-s-Triazin Reaktif Boyarmaddelerinin Sentezi ve Yapılarının Aydınlatılması, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana, 2006.
3. Puschner, B., et al., Assessment of Melamine and Cyanuric Acid Toxicity in Cats, J. Vet. Diagn. Invest., 19, 616-624, 2007.
4. Brown, S.A., Outbreaks of Renal Failure Associated with Melamine and Cyanuric Acid in Dogs and Cats in 2004 and 2007, J. Vet. Diagn. In Vest., 19, 525–531, 2007.
5. Burns, K., Recall Shines Spotlight on Pet Foods, J. Am. Vet. Med. Assoc., 230 (9), 1285-86, 2007.
6. U.S. Food and Drug Administration, [www.fda.gov/oc/initiatives/advance/food/progressreport1108.html](http://www.fda.gov/oc/initiatives/advance/food/progressreport1108.html), November, 2008.
7. National Toxicology Program, Technical Report Series, U.S. Department of Health and Human Services, TR-245 Carcinogenesis Bioassay of Melamine (CAS No.108-78-1) in F344/N Rats and B6C3F<sub>1</sub> Mice (feed study), North Carolina 27709 and Bethesda, Maryland 20205, <http://ntp.niehs.nih.gov/go/12025>, March 1983.
8. Kirk, O., Encyclopedia of Chemical Technology (Vol. 7), 4th ed. John Wiley & Sons, New York, 834–851, 1993
9. Canelli, E., Chemical, Bacteriological and Toxicological Properties of Cyanuric Acid and Chlorinated Isocyanurates as Applied to Swimming Pool Disinfection, American Journal of Public Health, 64(2), 155-162, 1974.
10. Karns, J. S., Gene Sequence and Properties of an S-triazine Ring-cleavage Enzyme from Pseudomonas sp Strain NRRLB-12227, Appl. Environ. Microbiol, 65(8), 3512, 1999.
11. Hammond, B.G., et al., A Review of Toxicology Studies on Cyanurate and Its Chlorinated Derivates, Environ. Health Persp., 69, 287, 1986.
12. EPA (USA), Drinking Water Contaminant List Document, No. 815-F-98-002, 1998.
13. Kowalsky L., Certified Pool-SPA Operator, National Swimming Pool Foundation, Texas, 46, 1992.
14. Cao Q., et al., Electrochemical Determination of Melamine Using Oligonucleotides Modified Gold Electrodes, Talanta, 15, 80(2), 484-8, 2009.

15. Struys, J., P.M. Wolfs., Determination of Cyanuric Acid in Swimming Pool Water by Differential Pulse Polarography, *Anal Chim Acta*, 199, 173, 1987.
16. Filigenzi, M.S., et al., Diagnostic Determination of Melamine and Related Compounds in Kidney Tissue by Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry, *J. Agric. Food Chem.*, 56, 7593–7599, 2008.
17. Beilstein, P., Cook A.M., Huetter, R., Determination of Seventeen S-triazine Herbicides and Derivatives by High-pressure Liquid Chromatography. *J. Agric. Food Chem*, 29, 1132-1135, 1981.
18. Ishiwata, H., et al., Liquid Chromatographic Determination of Melamine in Beverages, *Journal of The Association of Official Analytical Chemists*, 70(3), 457-460, 1987.
19. Sugita T., et al., Determination of Melamine and Three Hydrolytic Products by Liquid Chromatography, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 44, 567-571, 1990.
20. Ehling, S., Tefera, S., Ho, I.P., High-performance Liquid Chromatographic Method for the Simultaneous Detection of the Adulteration of Cereal Flours with Melamine and Related Triazine by-products Ammeline, Ammelide and Cyanuric acid, *Food Addit. Contam.*, 24, 1319-1325, 2007.
21. Ono, S., et al., Determination of Melamine Derivatives, Melame, Meleme, Ammeline ve Ammelide by High-performance Cation-exchange Chromatography, *Journal of Chromatography A*, 815, 197-204, 1998.
22. Varelis, P., Jeskelis, R., Preparation of [C-13(3)]-Melamine and [C-13(3)]-Cyanuric Acid and Their Application to the Analysis of Melamine and Cyanuric Acid in Meat and Pet Food Using Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry, *Food Additives and Contaminants Part A-Chemistry Analysis Control Exposure & Risk Assessment*, 25(10), 1208-1215, 2008.
23. Wang, H., Varian, Inc., Application Note 01864, Determination of Melamine, Ammeline, Ammelide and Cyanuric Acid in Infant Milk-Based Formula and Other Food and Feed Products Using the Varian 220-MS Ion Trap GC/MS/MS, <http://www.varianinc.com/cgi-bin/nav?/>, 2008.
24. Andersen, W.C., et al., Determination of Melamine Residues in Catfish Tissue by Triple Quadrupole LC-MS-MS with HILIC Chromatography, *Laboratory Information Bulletin No. 4396*, U.S. Food and Drug Administration, Animal Drugs Research Center, Denver, CO, Volume 23, May, 2007.
25. Dobson, R.L.M., et al., Identification and Characterization of Toxicity of Contaminants in Pet Food Leading to an Outbreak of Renal Toxicity in Cats and Dogs, *Toxicological Sciences*, 106 (1), 251–262, 2008.
26. Miao, H., et al., Simultaneous Determination of Melamine, Ammelide, Ammeline, and Cyanuric Acid in Milk and Milk Products by Gas Chromatography-tandem Mass Spectrometry, *Biomedical and Environmental Sciences*, 22, 87-94, 2009.

27. Blythe, C., et al., Porous Graphitic Carbon for Solid Phase Extraction of Polar Micro Pollutants from Environmental Waters, Thermo Electron Corporation, Runcorn, UK, [http://www.interscience.be/promotiesites/hypersil/topics/promotiesites/hypersil/nieuws/hypercarbapplicatiefile\\_29768.pdf](http://www.interscience.be/promotiesites/hypersil/topics/promotiesites/hypersil/nieuws/hypercarbapplicatiefile_29768.pdf)
28. Farajzadeh, M.A., Rahmani, N.A., A New Turbidimetric Method for Determination of Melamine Based on Its Reaction with Mercury (II), *Journal of the Chinese Chemical Society*, 51(2), 261-64, 2004.
29. Filigenzi, M.S., Tor, E.R., Poppenga, R.H., Aston, L.A., Puschner, B., The Determination of Melamine in Muscle Tissue by Liquid Chromatography/tandem Mass Spectrometry, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 21, 4027–4032, 2007.
30. Ono, S., et al., pH-Dependent Elution Behaviour of Melamine in High-Performance Cation-Exchange Chromatography, *Journal of Chromatography A*, 752(1-2), 287-290, 1998.
31. Sancho, J.V., et al., Residue Determination of Cyromazine and Its Metabolite Melamine in Chard Samples by Ion-pair Liquid Chromatography Coupled to Electrospray Tandem Mass Spectrometry, *Analytica Chimica Acta*, 530, 237–243, 2005.
32. Yokley, R.A., et al., Analytical Method for the Determination of Cyromazine and Melamine Residues in Soil Using LC-UV and GC-MSD, *J. Agric. Food Chem.*, 48(8), 3352-3358, 2000.
33. Yan, N., et al., Determination of Melamine in Dairy Products, Fish Feed, and Fish by Capillary Zone Electrophoresis with Diode Array Detection, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57 (3), 807-811, 2009.
34. Steele, J.R., Glover, J.H., Hodgson, H.W., The Volumetric Determination of Melamine as Oxalate *Journal of Applied Chemistry*, 2(6), 296-298, 1952.
35. Baynes, R. E., et al., Pharmacokinetics of Melamine in Pigs Following Intravenous Administration, *Food and Chemical Toxicology*, 46, 1196–1200, 2008.
36. Magnuson, M.L., Kelty, C.A., Cantu, R., Stable Association Complex Electrospray Mass Spectrometry for the Determination of Cyanuric Acid, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, 12, 1085-91, 2001.
37. Yu, C., et al., Ultrasonic Extraction and Determination of Cyanuric Acid in Pet Food, *Food Control*, 20, 205, 2009.
38. Cantu, R., et al., HPLC Determination of Cyanuric Acid in Swimming Pool Waters Using Phenyl and Confirmatory Porous Graphitic Carbon Columns, *Anal. Chem.*, 73, 3358, 2001.
39. Patel, K., Jones, K., Analytical Method for the Quantitative Determination of Cyanuric Acid as the Degradation Product of Sodium Dichloroisocyanurate in Urine by Liquid Chromatography Mass Spectrometry, *Journal of Chromatography B*, 853, 360, 2007.

40. Karbiwnyk, C. M., et al., Determination of Cyanuric Acid Residues in Catfish, Trout, Tilapia, Salmon and Shrimp by Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry, *Anal Chim Acta*, 637, 101, 2009.
41. Fiamegos, Y. C., Konidari, C. N., Stalikas, C. D., Cyanuric Acid Trace Analysis by Extractive Methylation via Phase-transfer Catalysis and Capillary Gas Chromatography Coupled with Flame Thermoionic and Mass-selective Detection Process Parameter Studies and Kinetics, *Anal. Chem.*, 75, 4034, 2003.
42. Tang, H. P. O., et al., Improved Method for the Determination of Cyanuric Acid in Animal Feed by GC-MS, *Chromatographia*, 70, 1405, 2009.
43. Baycan, F., Zopiklon'un Voltametik Metotlar ile Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi ve İlaçlarda Kantitatif Tayini, Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale, 2006.
44. Bard, A.J., Faulkner L. R., *Electrochemical Methods*, John Wiley and Sens. Inc., New York, 2001
45. Yılmaz, T. Ü., Bazı İyonların Çeşitli Ortamlarda Diferansiyel Puls Polarografisi ile Tayini İçin Yöntem Geliştirilmesi, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi, Ankara, 2008.
46. Gökmeşe, F., Bazı Naftaldimin ve Salisildiminlerin Çeşitli Voltametik Tekniklerle Elektrokimyasal Davranışlarının İncelenmesi, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara, 2004.
47. Wang, J., *Analytical Electrochemistry*, Second Eddition, A division of John Wiley & Sons, New York, 67, 2001.
48. Barker, G. C., Gardner, A. W., Pulse Polarography, *Fresenius'Zeitschrift fuer Analytische Chemie*, 173, 79-83, 1960.
49. Sarıgül, T., Triflumizol Pestisitinin Diferansiyel Puls Polarografisi ile Tayini, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Ankara, 2006.
50. Erik, E.Z., Tifensülfüron-Metil Herbisitinin Diferansiyel Puls Polarografisi ile Tayini, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Ankara, 2007.
51. Mercan, H., Moksifloksasinin Polarografik Tayini ve Moksifloksasin Kullanılarak Co(II) Tayini, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Ankara, 2005.
52. Gündüz, T., *Enstrümental Analiz*, Bilge Yayıncılık, Ankara, 1990.
53. Meites, L., *Polarographic Techniques*, John Willey&Sons, London, 1965.
54. Almas, Z., Katalitik Hidrojen Dalgası Kullanarak Eser Arsenik Tayini, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2003.
55. Genç, V., Bazı Kumarin Türevlerinin Elektrokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi, Doktora Tezi, Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2003.

56. Riley, T., Watson, A., Polarography and Other Voltammetric Methods, John Willey& Sons, London, 1987.
57. Yıldız, A., Genç, Ö., Enstrümental Analiz, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, 1993.
58. Sawyer, D.T., Robert J.L.JR., Experimental Electrochemistry for Chemist, John Wiley&Sons, New York, 1974.
59. Headridge, J.B., Electrochemical Techniques of Electrochemistry Wiley-Interscience, New York, 1972.
60. Greef, R., et al., Instrumental Methods in Electrochemistry, Ellis Harwood Limited, New York, 179-228, 1990.
61. Wopschall, R. H., Shain, I., Adsorption Effect in Stationary Electrode Polarography with a Chemical Reaction Following Charge Transfer, Anal. Chem., 39, 1535, 1967.
62. Yılmaz, S. B., Adsorptif Katodik Sıyırma Voltametrisi ile Antimon Tayini, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir, 2006.
63. Skoog D.A., Holler F.J., Niemand A.T., Priciples of Instrumental Analysis, Fifth Edition, Kılıç E., Köseoğlu F., Yılmaz H., Bilim Yayıncılık , Ankara, 1998.
64. Canbaz, D., Zolmitriptan'ın Elektroanalitik İncelenmesi ve Tayini, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara, 2008.
65. Wang. J., Analytical Electrochemistry, John Wiley & Sons, Inc. 2<sup>nd</sup> ed, ISBN 0-471-28272-3, 2000.

## ÖZGEÇMİŞ

Zehra Yazar 1979 yılında Ankara'da doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Ankara'da tamamladı. 1996 yılında Gazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nü kazandı ve 2000 yılında bu bölümden mezun oldu. 2000 yılında Gazi Üniversitesi Eğitim Fakültesi'nden Sınıf Öğretmenliği sertifikası aldı. 2002 yılında İstanbul'da bir ilköğretim okulunda sınıf öğretmeni olarak göreve başladı. 2006 yılında Ankara'da bir ilköğretim okuluna sınıf öğretmeni olarak atandı. 2008 yılında Nevşehir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Bölümü'nde Yüksek lisansa başladı. Ankara'da sınıf öğretmenliği yapmaya devam etmektedir.

Adres : Nevşehir Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü

Telefon : 0 312 331 01 85

e-posta : zehrayazar79 @mynet.com