

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

**HİSTAMİNİN KARE DALGA SIYIRMA VOLTAMETRİSİ  
İLE TAYİNİ VE UYGULANMASI**

**Tezi Hazırlayan  
Derya İNAN**

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

**Kimya Anabilim Dalı  
Yüksek Lisans Tezi**

**Ekim 2013  
NEVŞEHİR**



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

**HİSTAMİNİN KARE DALGA SIYIRMA VOLTAMETRİSİ  
İLE TAYİNİ VE UYGULANMASI**

**Tezi Hazırlayan  
Derya İNAN**

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


**Kimya Anabilim Dalı  
Yüksek Lisans Tezi**

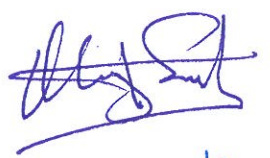
**Ekim 2013  
NEVŞEHİR**


Doç. Dr. Ümmihan T. YILMAZ danışmanlığında **Derya İNAN** tarafından hazırlanan “**Histaminin Kare Dalga Sıyırma Voltametrisi ile Tayini ve Uygulanması**” başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından Nevşehir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

28/10/2013

**JÜRİ**

Başkan : Prof. Dr. Güler Ekmekeci 

Üye : Doç. Dr. Olcay Sendil 

Üye : Doç. Dr. Ümmihan T. YILMAZ 

**ONAY:**

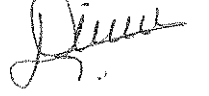
Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun. 30.10.2013...tarih ve 2013/28-08 sayılı kararı ile onaylanmıştır.



## TEZ BİLDİRİMİ

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada yer alan bütün bilgilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu ve bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Derya İNAN



## TEŞEKKÜR

Tez çalıŐmalarım sırasında, kendi bilgi, tecrube ve ilgisiyle beni destekleyen ve her konuda bana yardımcı olan danışman hocam Sayın Doç. Dr. Ümmihan T. YILMAZ'a teŐekkürü bir borç bilirim.

ÇalıŐmalarıma baŐlarken ve çalıŐmalarım sırasında bilgi ve tecrübeleriyle bana yardımcı olan Kimya Bölümü Anabilim Dalı baŐkanımız Sayın Prof. Dr. HaŐım YILMAZ'a , Sayın Yrd. Doç. Dr. Aysel KEKİLLİOĞLU' na ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Ramazan MERT' e teŐekkürlerimi sunarım.

Son olarak bana olan desteklerinden ve fedakarlıklarından dolayı sevgili anneme, babama ve ağabeyime; aynı zamanda çalıŐmalarıma devam edebilmem için gerekli izinleri veren Nevşehir Gıda Tahlil A.Ő. Genel Müdürü Sayın UĐur AYDOĐAN'a, Ticaret Borsası Yönetim Kurulu BaŐkanı Sayın Tuncer GÖK'e, sevgili iŐ arkadaşlarıma ve bana olan yardımlarından dolayı, sevgili arkadaşım Mevlüt TOSUN'a sonsuz teşekkür ederim.

# HİSTAMİNİN KARE DALGA SIYIRMA VOLTAMETRİSİ İLE TAYİNİ VE UYGULANMASI

(Yüksek Lisans Tezi)

Derya İNAN

NEVŞEHİR ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ekim 2013

## ÖZET

Histamin gibi bazı biyojen aminler çeşitli gıdalarda bulunurlar. Biyojen aminlerin yüksek derişimleri doğrudan veya dolaylı toksik etkiye sebep olabilmektedir. Bu nedenle eser miktardaki histamin tayini önemlidir. Bu çalışmada Kare Dalga Sıyırma Voltametrisi (KDSV) ve Dönüşümlü Voltametri (DV) yöntemleri kullanılarak histaminin elektrokimyasal davranışı çalışılmıştır. Cu(II) iyonları ve histamin varlığında Cu(II)-histamin kompleksine ait yeni bir pik gözlenmiştir. pH 10 da (BR tampon çözeltisinde) Cu(II)-histamin kompleksine ait indirgenme piki, optimum şartlar altında standart histamin eklemelerine karşılık kantitatif artışlar göstermiştir. KDSV yöntemi ile -388 mV'da gözlenen keskin pik kullanılarak eser miktardaki histaminin doğrusal çalışma aralığı 1,0 µM – 8,0 µM ve  $3,0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> –  $9,0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> olarak tespit edilmiştir. Gözlenebilme sınırı ve tayin sınırı sırasıyla 0,33 ve 1,0 µM olarak elde edilmiştir. Önerilen metot çeşitli balık numunelerindeki histamin tayini için başarıyla uygulanmıştır. Bazı inorganik ve organik tuzların histamin tayinine etkisi incelenmiştir. pH 10' da 0.00 mV ile -900 mV [Ag/AgCl (3 mol/ L<sup>-1</sup> NaCl)] aralığında asılı cıva elektrot üzerinde Cu(II)-histamin kompleksine ait dönüşümlü voltamogramı alınmıştır. Alınan voltamogramda -328 mV'da anodik bir pik ve -430 mV'da ise katodik bir pik elde edilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** *Histamin, Tayin, Balık, Kare Dalga Sıyırma Voltametrisi, Dönüşümlü Voltametri.*

**Tez Danışman:** Doç. Dr. Ümmihan T. YILMAZ

**Sayfa Adeti:** 66

# DETERMINATION OF HISTAMINE BY SQUARE WAVE STRIPPING VOLTAMMETRY AND APPLICATION

(M. Sc. Thesis)

Derya İNAN

NEVŞEHİR UNIVERSITY  
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

October 2013

## ABSTRACT

Biogenic amines such as histamine can be found in various foods. Biogenic amines can cause direct or indirect toxicity when their concentration levels are high. Therefore, determination of trace histamine is very important. In this work, the electrochemical behavior of histamine was studied using the Square Wave Stripping Voltammetry (SWSV) and Cyclic Voltammetry (CV). In the presence of Cu(II) and histamine a new voltammetric peak appears which corresponds to a Cu(II)-histamine complexes. The voltammetric reduction corresponding to the Cu(II)-histamine complex peak at pH 10 (BR buffer solution) showed quantitative increments with the additions of standard histamine solution under the optimal conditions. By SWSV a single, sharp peak at about -388 mV is obtained, allowing trace determination of histamine in the range  $1,0 \mu\text{M} - 8,0 \mu\text{M}$  and  $3,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1} - 9,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  with a linear calibration. The limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) were obtained as 0,33 and  $1,0 \mu\text{M}$ , respectively. The proposed method was successfully applied to the determination of histamine in various fish samples. The influences of some other commonly found inorganic and organic salts on the determination were also examined. A cyclic voltammogram of Cu(II)-histamine complex was obtained on a hanging mercury drop electrode at pH 10.0 during the potential scan from 0.00 mV to -900mV vs. Ag/AgCl ( $3 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaCl}$ ). From repetitive cyclic voltammograms, one anodic peak at -328 mV and one cathodic peak on the reverse scan at -430 mV were recorded.

**Keywords:** *Histamine, Determination, Fish, Square Wave Stripping Voltammetry, Cyclic Voltammetry.*



**Thesis Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Ümmihan T. YILMAZ**  
**Page Number: 66**

## İÇİNDEKİLER

KABÜL VE ONAY SAYFASI.....	i
TEZ BİLDİRİM SAYFASI.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vii
TABLOLAR LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xi
RESİMLER LİSTESİ.....	xiii
SİMGE VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	xiv
1.BÖLÜM	
GİRİŞ.....	1
2.BÖLÜM	
GENEL BİLGİLER.....	5
3.BÖLÜM	
ELEKTROKİMYASAL YÖNTEMLERİN TEORİSİ.....	9
3.1. Voltametri.....	9
3.2. Polarografi.....	10
3.3. Uyarma Sinyalleri.....	11
3.4. Doğrusal Taramalı Voltametri.....	13
3.5. Voltametrik Cihazlar.....	13
3.6. Voltametrik Elektrotlar.....	13
3.7. Voltamogramlar.....	16
3.8. Hidrodinamik Voltametri.....	16
3.9. Kare Dalga Voltametrisi.....	21
3.10. Dönüşümlü Voltametri.....	22
3.11. Sıyırma Yöntemleri.....	23
3.12. Mikroelektrotların Kullanıldığı Voltametri.....	24
3.13. Voltametrik Dalgalara Kompleks Oluşumunun Etkisi.....	25
3.14. Voltametride pH'nın Önemi.....	25
3.15. Destek Elektrolit Seçimi.....	26

## 4.BÖLÜM

DENEYSEL ÇALIŞMALAR.....	27
4.1. Materyal ve Metot.....	27
4.1.1. Voltametri cihazı.....	27
4.1.2. Çalışma elektrodu.....	28
4.1.3. Civanın temizlenmesi.....	28
4.1.4. Referans elektrot.....	29
4.1.5. Karşıt elektrot.....	29
4.1.6. pH metre.....	29
4.1.7. Azot gazı.....	30
4.2. Reaktifler, Çözeltiler ve Hazırlanmaları.....	30
4.2.1. Kullanılan reaktifler.....	30
4.2.2. Çözeltilerin hazırlanması.....	31

## 5.BÖLÜM

DENEYSEL BULGULAR VE TARTIŞMA.....	35
5.1. Histaminin Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi, Tayini ve Analitik Tayini ve Uygulamaları.....	35
5.1.1. Destek elektrolit seçimi ve pH etkisi.....	35
5.1.1.1. Fosfat destek elektrolitinde histaminin voltametrik davranışının incelenmesi.....	37
5.1.1.2. Sülfürik asit ve sülfat iyonları destek elektrolitinde histaminin voltametrik davranışının incelenmesi.....	37
5.1.1.3. HAc/NaAc destek elektrolitinde histaminin voltametrik davranışının incelenmesi.....	38
5.1.1.4. Britton - Robinson (B-R) tamponunda histaminin voltametrik davranışının incelenmesi.....	39
5.2. Girişim Etkisi.....	46
5.2.1. Elektroaktif iyonların girişim etkilerinin incelenmesi.....	46
5.2.2. Elektroaktif olmayan iyonların girişim etkilerinin incelenmesi.....	48
5.3. Histaminin Dönüşümlü Voltametri (DV) Çalışmaları.....	50
5.4. Biriktirme Süresinin Histamin Tayinine Etkisi.....	54
5.5. Histaminin Çeşitli Balık Numunelerindeki Tayini.....	55
5.5.1. Konserve hamsi balığında histamin tayini.....	55

5.5.2.	Dondurulmuş tinca tinca balığında histamin tayini.....	57
5.5.3.	Dondurulmuş cyprinus carpio (sazan) balığında histamin tayini.....	58
6. BÖLÜM		
SONUÇLAR.....		60
KAYNAKLAR.....		62
ÖZGEÇMİŞ.....		66

## TABLULAR LİSTESİ

Tablo 1.1.	Histaminin özellikleri.....	4
Tablo 5.1.	Histaminin çeşitli destek elektrolitlerdeki voltametrik davranışı.....	36
Tablo 5.2.	10,0 mL B-R tamponunda histamin ve Cu-histamin (Cu-hist.) kompleksinin voltametrik davranışının pH ile değişiminin incelenmesi.....	43
Tablo 5.3.	pH 10,0 B-R tamponu destek elektrolitinde Cu(II) iyonları varlığında farklı derişimlerdeki Cu-hist kompleksinin miktar tayini ( $1 \times 10^{-6}$ M histamin hücrede).....	45
Tablo 5.4.	10,0 mL pH 10,0 B-R tamponunda ve 0,2 mL $1 \times 10^{-3}$ M Cu(II) çözeltisinde $1 \times 10^{-4}$ M histamine bazı iyonların girişim etkilerinin incelenmesi.....	49
Tablo 5.5.	Dönüşümlü voltametri çalışmalarında tarama hızına karşı elde edilen pik akımları ve pik potansiyelleri.....	52
Tablo 5.6.	Çeşitli balık numunelerindeki histaminin tayini ( güven aralığı % 90) .....	59

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1.	Histaminin kimyasal formülü ve oluşumu.....	3
Şekil 3.1.	Voltametrik ölçümlerde kullanılan bir hücrenin şeması.....	10
Şekil 3.2.	(A) 1 M HCl ve (B) 1 M HCl' de $10^{-4}$ M $Cd^{+2}$ çözeltilerinin polarogramları.....	10
Şekil 3.3.	Voltametri de kullanılan zamana karşı potansiyel uyarım sinyalleri ve elde edilen voltamogramların şekilleri.....	12
Şekil 3.4.	Asılı civa damla elektrodu.....	14
Şekil 3.5.	Damlayan civa elektrot.....	15
Şekil 3.6.	Hava ile doyurulmuş 0,1 M KCl çözeltisindeki oksijen indirgenme voltamogramı.....	20
Şekil 3.7.	Tipik bir indirgenme reaksiyonunun simülasyon ve deneysel voltamogramları.....	23
Şekil 5.1.	10,0 mL pH 10,0' da $SO_4^{-2}$ iyonu destek elektrolitindeki histaminin voltamogramı.....	38
Şekil 5.2.	10,0 mL pH 8,0' de HAc/NaAc destek elektrolitinde Cu(II) çözeltisi ortamındaki histaminin voltamogramı.....	39
Şekil 5.3.	10,0 mL pH 10,0 B-R tamponu destek elektrolitindeki histaminin voltamogramı.....	40
Şekil 5.4.	10,0 mL pH 10,0 B-R tamponu destek elektrolitinde Cu(II) iyonları varlığında Cu-hist kompleksinin farklı derişimlerdeki voltamogramı.....	41
Şekil 5.5.	10,0 mL pH 10,0 B-R tamponu destek elektrolitinde Cu(II) iyonları varlığında Cu-hist kompleksinin farklı derişimlerdeki voltamogramı.....	44
Şekil 5.6.	Kalibrasyon grafiği ( $1 \times 10^{-6}$ M – $8 \times 10^{-6}$ M histamin).....	45
Şekil 5.7.	Kalibrasyon grafiği ( $3 \times 10^{-5}$ M – $9 \times 10^{-5}$ M histamin) .....	46
Şekil 5.8.	$Pb^{+2}$ iyonunun histamin tayinine girişim etkisinin incelenmesi.....	48
Şekil 5.9.	$Cl^-$ iyonunun histamin tayinine girişim etkisinin incelenmesi.....	49
Şekil 5.10.	10,0 mL pH 10,0 B-R tamponunda 0,2 mL $1 \times 10^{-3}$ M Cu(II) iyonları varlığında 0,6 mL $1 \times 10^{-4}$ M Cu-hist kompleks pikinin dönüşümlü voltamogramı.....	50

Şekil 5.11.	10,0 mL pH 10,0 B-R tamponunda 0,2 mL $1 \times 10^{-3}$ M Cu(II) iyonları varlığında 0,6 mL $1 \times 10^{-4}$ M Cu-hist kompleks pikinin tarama hızı ile değişiminin incelenmesi.....	51
Şekil 5.12.	10,0 mL pH 10,0 B-R tamponunda 0,2 mL $1 \times 10^{-3}$ M Cu(II) iyonları varlığında 0,6 mL $1 \times 10^{-4}$ M Cu-hist kompleks piki akımlarının tarama tarama hızı ile değişiminin incelenmesi.....	52
Şekil 5.13.	10,0 mL pH 10,0 B-R tamponunda 0,2 mL $1 \times 10^{-3}$ M Cu(II) iyonları varlığında 0,6 mL $1 \times 10^{-4}$ M Cu-hist kompleks piki akımlarının tarama hızının karekökü ile değişiminin incelenmesi....	53
Şekil 5.14.	10,0 mL pH 10,0 B-R tamponunda 0,2 mL $1 \times 10^{-3}$ M Cu(II) iyonları varlığında logv' ye karşı logIpk' nın değişiminin incelenmesi.....	53
Şekil 5.15.	Konserve hamsi balığı numunesindeki histaminin kare dalga sıyırma voltametri ile tayini.....	56
Şekil 5.16.	Dondurulmuş tinca tinca balığı numunesindeki histaminin kare dalga sıyırma voltametri ile tayini.....	57

## RESİMLER LİSTESİ

Resim 4.1.	Bas model elektrokimyasal analizör .....	27
Resim 4.2.	Azot gazı ile çalışan asılı damla civa elektrot sistemi .....	28



## SİMGE VE KISALTMALAR LİSTESİ

Çalışmalarda kullanılan bazı simge ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

<b>Simgeler</b>	<b>Açıklama</b>
$i_d$	Limit akımı, (A)
$E_{1/2}$	Yarı dalga potansiyeli, (V)
E	Uygulanan potansiyel, (V)
t	Damla ömrü, (s)
$i_p$	Pik akımı, (A)
$E_p$	Pik potansiyeli, (V)
Pt	Platin
k	Randles-Sevcik sabiti
$i_s$	Sınır akımı, (A)
x	Elektrottan olan uzaklık, (cm)
F	Faraday sabiti, (C/eg)
D	Difüzyon katsayısı, (cm <sup>2</sup> /s)
n	Transfer edilen elektron sayısı, (eg/mol)
A	Elektrodun yüzey alanı, (cm <sup>2</sup> )
$E^0$	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)
$\Delta E$	Puls genliği, (V)

<b>Kısaltmalar</b>	<b>Açıklama</b>
KDSV	Kare dalga sıyırma voltametri
DV	Dönüşümlü voltametri
FDA	Amerika Birleşik Devletleri Gıda Örgütü
CAS	Kimyasal kuramlar serisi
HPLC	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
FDL	Floresans algılama
MS	Kütle spektroskopisi
DCE	Damlayan civa elektrodu
DC	Normal polarografi
DPP	Diferansiyel puls polarografisi
TAST	Akım-örnekleme polarografisi
ACDE	Asılı civa damla elektrodu

## 1.BÖLÜM

### GİRİŞ

Histamin, vücudun birçok dokusunda, özellikle de akciğer, karaciğer ve sindirim sistemi dokularında bulunan azotlu bir bileşik olup, histidin aminoasitinin vücutta dekarboksilasyona uğraması neticesinde meydana gelir ve birçok etkisi vardır. Histamin vücudun çeşitli bölgelerinde yaygın olarak bulunan ve yapıldığı yerde etkisini gösteren lokal etkili bir peptittir.

Histamin, küçük atar damarlarda genişlemeye ve kılcal damarlarda geçirgenliğin artmasına, toplardamarların büzülmesine sebep olarak tansiyonu düşürür. Deride kızarıklık, şişme ve kaşıntıya sebep olur. Beyin damarlarını genişletirse yarım baş ağrısına sebep olabilir. Bronş düz kaslarını kasarak nefes darlığına yol açabilir. Midede, tükrük bezlerinde ve bronşların salgı hücrelerinde ifrazatı artırır. Vücuttaki dokuların çoğunda histamin bulunur. Fakat cilt, mide ve barsaklarda dokunun gramı başına histamin miktarı 10 mikrogramdır. Histamin bazı böceklerin zehirlerinde de bulunur. Yabani arının zehiri % 2 gibi yüksek bir nisbette histamin içerebilir. Tatarcık ve ısırğan otları histamin içerdiğinden, kaşıntı ve şişmeye sebep olurlar. Vücuttaki “mast hücreleri” yüksek miktarlarda histamin içerirler. Mast hücrelerini uyaracak etkiler neticesinde mast hücrelerinden histamin boşalır ve bunun ortaya çıkardığı durumlar görülür. Saman nezlesinde çiçek tozları alerjiye sebep olarak, histaminin boşalmasıyla burunda kızarıklık, şişme ve akıntı ortaya çıkar.

Histaminin vücuttaki etkilerinin önemi halen tam olarak bilinmemektedir. Tıpta tedavi amacıyla kullanıldığı yer hemen hemen yoktur. Teşhis amacıyla kullanıldığı yerler vardır. Mide asit yapma yeteneğinin ölçümünde histaminle yapılan bir test kullanılır ki bu mide ülserinde önemlidir.

Vücutta açığa çıkan histaminin zararlı tesirler meydana getirmesi halinde “antihistaminik” denilen ilaç grubu kullanılır. Bu ilaçlar kaşıntılarda, burun akıntısında, böcek sokmalarında ve vasita tutmalarında oldukça etkilidir [1].

Gerçekte histaminin yüksek oranda alınması sonucunda görülen histamin zehirlenmesine karşın, histamin intoleransında mikrogram düzeyinde alınan histaminin de hayati tehlikeye neden olduğu saptanmıştır [2].

Biyojen aminler, balık ve balık ürünleri, peynir, et ve et ürünleri, çikolata, şarap ve bira gibi gıdalarda işleme, olgunlaşma ve depolama sırasında proteinlerin biyokimyasal ve/veya mikrobiyolojik etkileşimlerine bağlı olarak genellikle serbest kalan aminoasitlerin dekarboksilasyonu sonucu oluşmaktadırlar [3].

Gıdalardaki biyojen aminler, gıdaların bozulmasına yol açabilir. Bu nedenle gıdaların güvenilirliğinin tespitinde önem taşımaktadır. Histamin, özellikle balık ve balık ürünlerinde kalite belirleyici ve mikrobiyal bozulma indeksi olarak tanımlanırken, taze bir balığın histamin içeriğinin çok düşük düzeylerde olduğu bildirilmektedir [4].

Normal olarak ağızdan alınan histamin, çeşitli vücut dokularındaki histamin düzeyini etkilememesine karşın, histaminin kandaki konsantrasyonu metabolizma tarafından sıkı bir şekilde kontrol edilmektedir. Burada histamini düzenleyen mekanizma, alınan histaminin tamamını regüle etmede yetersiz ise, örneğin aşırı derecede (>1000 mg/kg) histamin alınmış veya diğer toksik maddeler ile histamin metabolizması bozulmuş ise, histamin zehirlenmesi ortaya çıkmaktadır [5].

Bugüne kadar balık tüketiminden sonra ortaya çıkan birçok histamine bağlı zehirlenme vakaları bildirilmiş ve histamin zehirlenmesinde belirtilerin bir kaç dakika veya üç saat içinde ortaya çıktığı, kişide ilk önce yüzde ve boyunda kızarıklık meydana geldiği, daha sonra da genellikle bunu şiddetli baş ağrısının izlediği rapor edilmiştir [6].

Gıdalarda bulunan >100 mg/kg histaminin, toksikasyona yol açabileceği bildirilmektedir [5]. Histaminin intoleransında yaşanabilecek rahatsızlıkların başlıcaları; sindirim sisteminde anormallikler, ishaller, kramplar veya şişkinlik, migren, astım, alerjikrinit'tir. Bu rahatsızlıkların %15'inin histamin intoleransına bağlı olduğu bilinmektedir. Uzmanlar, konu ile ilgili olarak deride görülen kaşıntı, kızarıklık, kalp çarpıntısı ve psikolojik rahatsızlıkların da bu hastalıklarla birlikte görülebileceğinde birleşmektedirler.

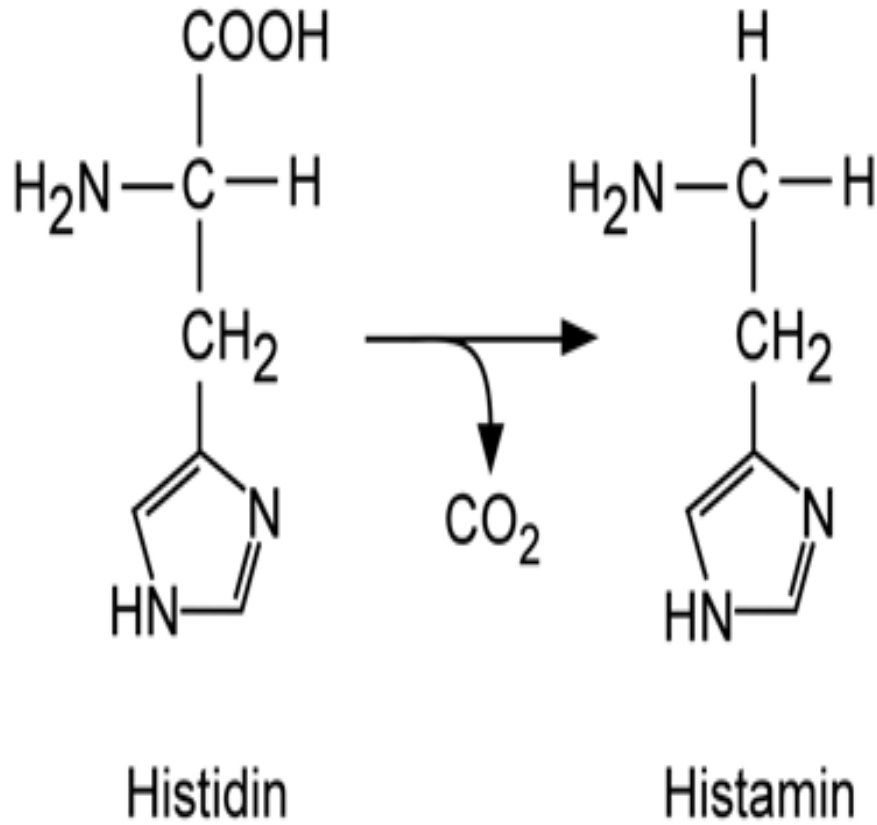
Histamin, kolayca su ve etanolde çözünür. Ancak, eterle higroskopik renksiz kristaller oluşturur. Histamin etkisini, hücre membranında bulunan reseptörlerine bağlanarak gösterir. 3 tip histamin reseptörü tanımlanmıştır.

H1→ Düz kas, endotel

H2→ Gastrik mukoza, mast hücreleri, kalp kası

H3→ Presinaptik, beyin [7].

Histamin kimyaca  $\beta$ -imidazoletilamindir. Biyosentezi, histidin dekarboksilaz tarafından dekarboksillenmesiyle yapılır [8] (Şekil1.1).



Şekil 1.1. Histaminin kimyasal formülü ve oluşumu [9]

Histamin ve histamin metabolitleri böbrekten idrarla atılır. Histaminin kimyasal adı 2-(3H-imidazol-4-yl) ethananamine'dir. CAS numarası (51-45-6), molekül kütlesi 111.145 g/mol, kimyasal formülü  $C_5H_9N_3$ ' tür [9].

Tablo 1.1. Histaminin özellikleri

Özellik	Histamin
Fiziksel durum	Toz
Renk	Beyaz
Erime noktası(°C)	83,5
Kaynama noktası(°C)	209,5

Ayrıca histamin ısıya çok dayanıklıdır. Bir kez oluştuğundan sonra onu yok etmek çok zordur. Gerekli önlemler balıklar pişirilmeden önce alınmalıdır. Balığın taze tutulmasını gerektiren her önlem, histamin oluşmasını ve dolayısıyla histamin zehirlenmesini engelleyecektir. En önemli etken sıcaklıktır. Balıklar teknelerde tutulduğu andan itibaren soğutulmalı, fabrikalara veya tüketiciye ulaşana kadar soğuk zincir kırılmamalıdır. Özellikle balıkların iç organları alınıp yıkandıktan sonra dondurulmalıdır [8].

Toplum sağlığı için en uygun beslenme, oldukça önem taşımaktadır. Optimal beslenme normları içinde; Amerikan Kalp Cemiyeti ve Türkiye'nin ilgili kurum ve kuruluşlarının da önerdiği üzere haftada en az 300 – 450 g balık tüketmenin birçok kronik hastalığın önlenmesinde ve dolayısıyla sağlığın korunması ve geliştirilmesinde önemli bir adım olarak görülmektedir. Çünkü; temel besin maddelerimizden protein grubunda yer alan balık, sağlıklı ve dengeli beslenmede kilit rol oynamaktadır. Fosfor, kalsiyum ve iyot bakımından zengin besin değeri ve içerdiği A, B1, B2 ve D vitaminleri ile balık kalp hastalıklarından depresyona kadar pek çok hastalığın önlenmesinde önemli rol oynamaktadır.

Bu çalışmada, histaminin tayini için kare dalga sıyırma voltametri ile duyarlılığı ve seçiciliği yüksek bir yöntem geliştirilmiştir. Histaminin çeşitli elektrolit ortamlarında elektrokimyasal davranışları araştırılmıştır. Ayrıca histamin tayininde dönüşümlü voltametri çalışmaları yapılmıştır. Bazı iyonların histamin tayinine girişim etkileri araştırılmıştır. Geliştirilen yöntem çeşitli balık numunelerine histamin tayinini belirlemek üzere başarılı bir şekilde uygulanmıştır.

## 2.BÖLÜM

### GENEL BİLGİLER

Histamin için yapılan literatür araştırması aşağıda verilmiştir.

Histamin, dokudaki varlığının bilinmesinden çok önce 1907 yılında Windous ve Vogt tarafından kimyasal olarak sentezlenmiştir. Ö. Söğüt yapmış olduğu çalışmada, Barger ve Dale'in 1910 yılında histamini bitkisel ürünlerden izole ettiklerini belirtmiş ve 1910'da Ackermann'ın histidinin bakteriyel dekarboksilasyonu ile hazırladığı (2-aminoetil) – imidazol örneği ile aynı olduğunu ispatladıklarını ifade etmiştir. 20 yıl boyunca Dale ve arkadaşları histaminin birçok fizyolojik etkisini belirleyen bir seri araştırma gerçekleştirmişlerdir. Bu bileşiğin doğada çok yaygın olduğu gösterilmiştir. Örneğin, çavdar ürünleri ve diğer bitkilerde, insan vücudunun bütün doku ve organlarında küçük miktarlarda bu bileşiğe rastlanmıştır. Ö. Söğüt, barsak mukozasındaki histamin varlığının, Barger ve Dale tarafından ispatlandığını söylemiş; Best ve arkadaşlarının, histamini karaciğer ve pulmener dokularda teşhis ettiğini, Ackermann ve Mohr'un, karaciğerden hareket ederek histaminin izolasyonunu betimlediklerini vurgulamıştır [9].

Kütle spektrometresi ile deniz ürünlerinde histamin tayini yapılmıştır. Kantitatif tayin aralığı 5 g gıda örnekleri için; 0,4 – 200 mg/kg'dır [10].

Tuna balığında HPLC – FLD ile histamin analizi yapılmıştır. Gözlenebilme sınırı 1,5 mg/kg, tayin edilebilme sınırı 4,5 mg/kg olarak bulunmuştur [11].

Camsı karbon elektrot, nikel-film ile kaplanıp elektrokatalitik olarak (sabit bir aşırı gerilim değerinde bir reaksiyonun, bir elektrot üzerinde diğer bir elektroda göre daha hızlı cereyan etmesi olayı) histamin tayini yapılmıştır ve katılmış histamin çözeltilerinde geri kazanım değeri hesaplanmıştır. Geliştirilen yöntemle histaminin gözlenebilme sınırı 0,11 mg/L ve tayin edilebilme sınırı, 0,20 mg/L olarak bulunmuştur [12].

Balık etlerinde histamin, kolorimetrik yöntemle tayin edilmiştir. Gözlenebilme sınırı 1 mg/100 g, tayin edilebilme sınırı 3 mg/100 g olarak bulunmuştur [13].

Balık ve balık ürünlerinde histamin tayini için gaz kromatografisi yöntemi kullanılmıştır. Histaminin gözlenebilme sınırı 5 µg/g bulunmuştur [14].

Elektroforez yöntemi ile domateste histamin tayini yapılmış, gözlenebilme sınırı 1 g/mL olarak hesaplanmıştır[15].

Nükleer manyetik rezonans ile peynirde histaminin belirlenmesinde, gözlenebilme sınırı 0,6 – 1 mg/kg arasında elde edilmiştir [16].

Histamin tayini için geliştirilen HPLC (yüksek basınçlı sıvı kromatografisi) ile kırmızı şarapta ortalama 2,48 mg/L histamin, beyaz şarapta 0,41 mg/L histamin tespit edilmiştir [17].

Spektroflorometrik yöntem kullanılarak yapılan histamin tayininde, Van'daki marketlerden toplanan balık konservelerinin, histamin içeriği minimum 19,34 ve maksimum 78,33 mg/ 100 g olarak tespit edilmiştir [18].

Spektroflorometrik yöntem kullanılarak uskumru, palamut ve hamsi balıklarında histamin miktarları sırasıyla 6,28 - 3,70 - 3,25 µg/g olarak belirlenmiştir [19].

Kromatografik yöntem kullanılarak histamin tayini için yöntem geliştirilmiştir. Balık örnekleri için histamin tayininde gözlenebilme sınırı 0,16 ppm olarak kaydedilmiştir [20].

Ultraduyarlı akış enjeksiyon ile elektrokimyasal yöntemde orkinos balık örnekleri için histamin tayininde gözlenebilme sınırı 0,35 pg/mL, tayin edilebilme sınırı 1,16 pg/mL olarak bulunmuştur [21].

Temel PVC- thiopirilyum türevleri ile yapılmış, membran elektrot kullanılarak, histamin tayini gerçekleştirilmiştir. Gözlenebilme sınırı 3,0 µmol/L (~ 0,3 ppm) olarak tespit edilmiştir [22].

HPLC ve floresans teknikleri kullanılarak şaraplar için histamin tayininde, gözlenebilme sınırı 0,25 mg/L, tayin edilebilme sınırı 0,50 mg/L olarak bulunmuştur [23].

HPLC metodu kullanılarak orkinos balıkları için histamin tayininde, gözlenebilme sınırı 1 mg/kg, tayin edilebilme sınırı 2 mg/kg olarak tespit edilmiştir [24].

Yüksek pH'da anyon-değişim kromatografisi ve elektrokimyasal yöntem kullanılarak histamin tayininde, gözlenebilme sınırı 0,1 µM olarak hesaplanmıştır [25].

HPLC ve florometrik yöntem kullanılarak, dokularda histamin tayininde, gözlenebilme sınırı 0,1 µM'dan küçük olarak tespit edilmiştir [26].

HPLC yöntemi ile histamin tayini için geliştirilen yöntemle, gözlenebilme sınırı 55,0 µg/L olarak bulunmuştur [27].

Gıdalarda, kapiler elektroforez ve HPLC yöntemleri karşılaştırılarak yapılan histamin tayininde kapiler elektroforez yönteminde gözlenebilme sınırı 0,04 µg/L, HPLC yönteminde gözlenebilme sınırı 0,02 µg/L olarak tespit edilmiştir [28].

Kuru sucukta florometrik olarak geliştirilen yöntemle histamin tayininde, gözlenebilme sınırı 0,1 µg histamin/g olarak tespit edilmiştir [29].

Kırmızı şarapta seçili biyojenik aminler, kapiler elektroforez yöntemi ile histamin tayininde gözlenebilme sınırı 0,35 mg/L olarak bulunmuştur [30].

İnsan idrarı ve serumda yeni bir spektrofotometrik yöntemle histamin tayininde gözlenebilme sınırı  $4,35 \times 10^{-8}$  mol/L olarak tespit edilmiştir [31].



Online ön kolon akış türevlendirme sistemi ile HPLC birleştirilerek şarapta histamin tayininde gözlenebilme sınırı 0,22 mg/L olarak bulunmuştur [32].

Elisa ve HPLC yöntemleri ile peynirde histamin tayininde gözlenebilme sınırı 2 mg/kg elisada, 1 mg/kg HPLC'de belirlenmiştir [33].

Kapiler elektroforez ile domateste histamin tayininde gözlenebilme sınırı 0,2 mikrogram/mL olarak tespit edilmiştir [34].

Florometrik geliştirme yöntemi ile orkinos balığındaki histamin tayininde tayin edilebilme sınırı 10 mg histamin/100 g örnek olarak tespit edilmiştir [35].

Bu çalışmanın amacı, histaminin elektrokimyasal özelliklerini incelemek ve eser miktardaki histamin tayini için kare dalga sıyırma voltametri (KDSV) yöntemi ile metot geliştirmek ve çeşitli balık numunelerinde voltametrik tayinlerini gerçekleştirmektir.

Elektroanalitik yöntemlerden en çok kullanılanlar; potansiyometri, voltametri, polarografi, elektrogravimetri ve kulometri yöntemleridir. 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. Voltametrde kullanılan cihazlar HPLC, kütle spektroskopisi (MS), gibi yöntemlerde kullanılan cihazlardan çok daha ucuzdur ve voltametrde kullanılan cihazlarla çok daha hızlı ve daha güvenilir analizler yapılabilmektedir [36].

Literatürde, kare dalga sıyırma voltametri yöntemi kullanılarak histaminin tayin edildiği herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

## 3.BÖLÜM

### ELEKTROKİMYASAL YÖNTEMLERİN TEORİSİ

Elektrokimyasal yöntemler, diğer analitik yöntemlere göre bazı üstünlüklere sahiptir. İlk olarak, elektrokimyasal ölçümler çoğu kez bir elementin özel bir yükseltgenme basamağına özgüdür. Örneğin; elektrokimyasal yöntemler bir seryum (III) ve seryum (IV) karışımında her türün derişiminin tayinini mümkün kılar, buna karşılık diğer analitik yöntemlerin çoğu sadece toplam seryum derişimini saptayabilir. İkinci olarak, kullanılan cihazlar nispeten ucuzdur.

#### 3.1.Voltametri

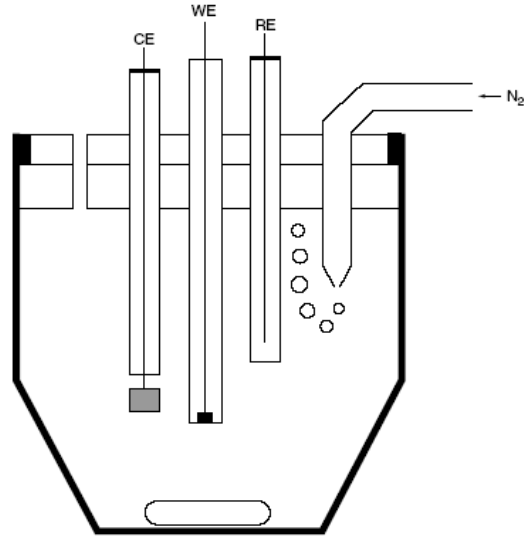
Voltametri, çalışma elektrodunun polarize olduğu şartlar altında akımın, uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak ölçülmesine dayanan elektroanalitik yöntemlere verilen isimdir. Genellikle polarizasyonu sağlamak için voltametriye kullanılan çalışma elektrotları, yüzey alanı birkaç milimetrekare ve bazılarında ise birkaç mikrometre olan mikroelektrotlardır.

Voltametriye mikro elektrot olarak civa elektrotları çok kullanılır. Bu elektrotlara örnek olarak asılı civa elektrodu, damlayan civa elektrodu ve civa filmi elektrodu verilebilir. Bu elektrotlarda civanın kullanılma nedenleri aşağıda verilmiştir.

- Daha negatif potansiyelerde çalışma imkanı sağlar.
- Her zaman, metalik temiz bir yüzeyle çalışılır.
- Birçok metalle kolaylıkla amalgam verir.
- Her şekilde civa elektrot imal edilebilir.
- Civanın temizlenmesi kolaydır.
- Civanın hidrojen iyonunun indirgenmesine gösterdiği olağanüstü yüksek aşırı gerilim sonucunda, termodinamik potansiyeller hidrojen gazı oluşmadan kurşun ve bakır gibi metallerin elektrot üzerinde birikmesinin mümkün olmadığını

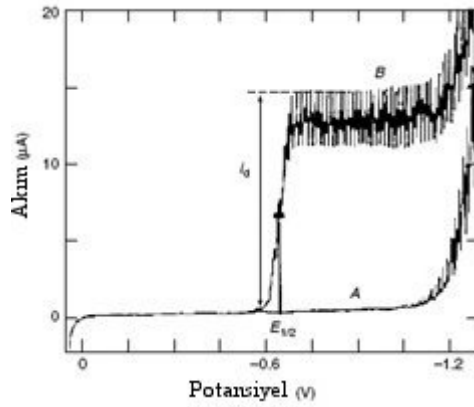
göstermesine rağmen, bu metal iyonları, asidik çözeltiden kolaylıkla civanın üzerinde birikir.

Mikro elektrotların kullanılabileceği potansiyel aralığı sadece elektrot malzemesine değil, aynı zamanda bu elektrodun daldırıldığı çözeltinin bileşimine (pH'sına) da bağlıdır. Şekil 3.1'de voltametrik ölçümlerde kullanılan bir hücrenin şeması gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Voltametrik ölçümlerde kullanılan bir hücrenin şeması  
WE: çalışma elektrodu; RE: referans elektrodu; CE: yardımcı elektrot

### 3.2. Polarografi



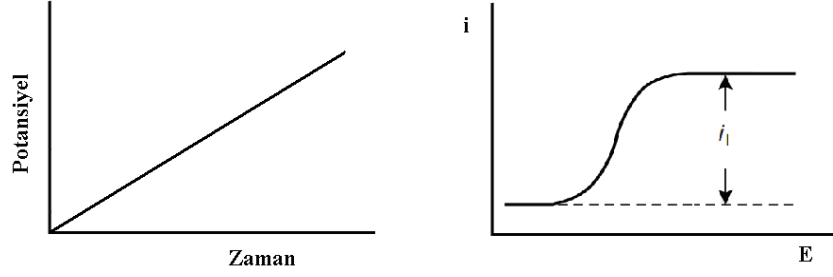
Şekil 3.2. (A) 1M HCl ve (B) 1M HCl de  $10^{-4}$  M  $Cd^{2+}$  çözeltilerinin polarogramları  
Buradaki  $i_d$ : limit akımı,  $E_{1/2}$ : yarı dalga potansiyelini gösterir [38].

Polarografi, çalışma elektrodu, damlayan civa elektrodu (DCE) olan ve voltametrimin bir alt dalıdır. DCE'nin yenilenebilir yüzeyi ve geniş katodik potansiyel aralığından dolayı, polarografide birçok indirgenebilir ya da yükseltgenebilir türün tayini yapılabilir. Polarografi tekniği ile kalitatif, kantitatif analizler ve kinetik çalışmalar yapılabilmektedir. Bu teknikle, birçok elementin yanı sıra yükseltgenebilir veya indirgenebilir fonksiyonel grubu bulunan organik bileşiklerin analizi de yapılabilmektedir. Polarografi tekniklerinin çeşitleri arasında; normal polarografi (DC polarografisi), diferansiyel puls polarografisi (DPP), akım-örnekleme polarografisi (TAST), kare dalga puls polarografisi, alternatif akım polarografisi yer almaktadır. Şekil 3.2'de bir polarogram örneği gösterilmiştir [37].

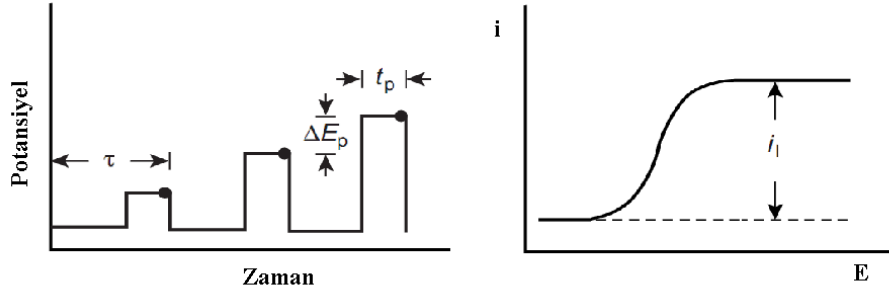
### 3.3. Uyarma Sinyalleri

Voltametrde, çalışma elektrodunun voltajı, sistematik olarak değiştirilirken, akım ölçülür. Elektroda, zamana göre değişimi çok farklı voltajlar uygulanabilir ve voltaj - zaman fonksiyonlarına uyarma sinyali denir. Bu sinyallerin en basiti, çalışma elektrodunun potansiyelinin zamanla doğrusal değiştirildiği doğrusal taramadır. Tipik olarak, çalışma elektrodunun potansiyeli 1-2 volt değiştirilir. Yaygın kullanılan diğer dalga formları pulslu dalga formları ve üçgen dalga formlarıdır. Polarografi ve hidrodinamik voltametrde uyarma sinyali doğrusal taramadır. Burada hücreye uygulanan potansiyel zamanın fonksiyonu olarak doğrusal bir şekilde artırılır. Bu sırada hücrede oluşan akım uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak kaydedilir. Diferansiyel puls polarografisi ve kare dalga voltametrinde puls tipi uyarma sinyallerinde akımlar, pulsların ömrü süresince çeşitli anlarda ölçülür. Dönüşümlü voltametrde ise üçgen sinyallerde biri maksimum diğeri de minimum iki değer arasında potansiyel değişir. Bu artma- eksilme süreci ardı ardına tekrarlanırken potansiyelin bir fonksiyonu olarak akım ölçülür.

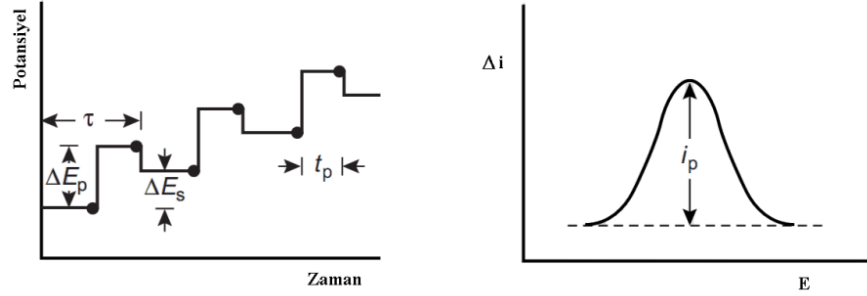
Çeşitli uyarma sinyallerinin kullanıldığı voltametri tipleri aşağıda gösterilmiştir. (Şekil 3.3).



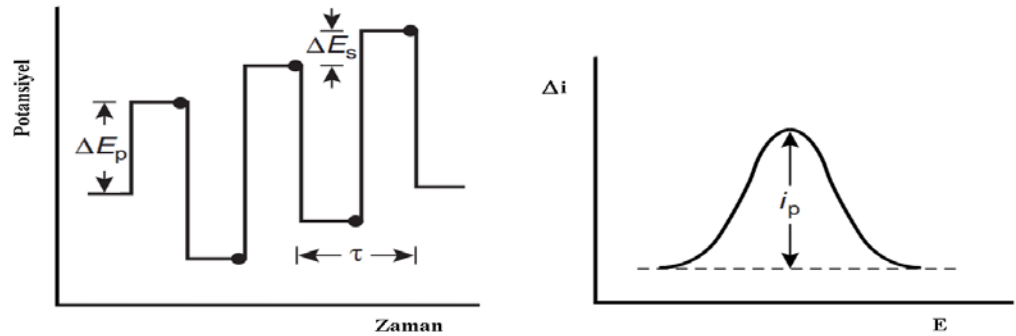
Doğrusal taramalı voltametri uyarma sinyali - Doğrusal taramalı voltametri



Normal puls voltametrisi uyarma sinyali - Normal puls voltametrisi



Diferansiyel puls voltametrisi uyarma sinyali - Diferansiyel puls voltametrisi



Kare dalga voltametrisi uyarma sinyali - Kare dalga voltametrisi

Şekil 3.3. Voltametri de kullanılan zamana karşı potansiyel uyarım sinyalleri ve elde edilen voltamogramların şekilleri[38]

### **3.4. Doğrusal Taramalı Voltametri**

İlk ve en basit voltametrik yöntemler, çalışma elektrodunun potansiyelinin 2-5 mV/s'lik tipik bir hızla artırıldığı ya da azaltıldığı, doğrusal taramalı yöntemlerdir. Genellikle, mikroamper mertebesinde olan akım, çalışma elektroduna uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak grafiğe geçirilir, buna voltamogram denir.

### **3.5. Voltametrik Cihazlar**

Doğrusal taramalı voltametrik ölçümlerdeki parçalar, hücre, analit ve destek elektrolit adı verilen, elektrolitin aşırısını içeren bir çözeltiye daldırılmış üç elektrottan yapılmıştır.

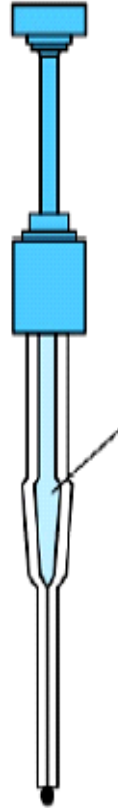
Üç elektrottan biri zamanla potansiyeli doğrusal olarak değişen mikroelektrot veya çalışma elektrodudur. Bu elektrodun polarize olma meylini artırmak için boyutları ufak tutulur. İkinci elektrot, potansiyeli deney süresince sabit kalan bir referans elektrottur. Üçüncü elektrot ise, ya helezon şeklinde sarılmış bir Pt tel ya da bir civa havuzu şeklinde olan ve elektriğin kaynaktan çözelti içinden mikroelektroda aktarılmasını sağlayan karşıt elektrottur.

### **3.6. Voltametrik Elektrotlar**

Voltametri de kullanılan elektrotlar, çeşitli şekil ve büyüklüktedir. Bunlar genellikle teflon ya da kel- F gibi, içine bir bağlantı teli yerleştirilmiş olan inert bir malzemedendir yapılmış çubuğa preslenerek, tutturulmuş olan küçük, düz iletken disklerdir. Bu iletken malzeme, platin ya da altın gibi inert bir metal, pirolitik grafit ya da camsı karbon, kalay oksit ya da indiyum oksit gibi bir yarı iletken veya bir civa filmi ile kaplanmış bir metal olabilir. Sulu çözeltilerdeki bu elektrotların kullanıldığı potansiyel aralığı, sadece elektrot malzemesine değil, aynı zamanda bu elektrotların daldırıldığı çözeltinin bileşimine bağlı olarak da değişir. Pozitif potansiyel sınırları, genellikle suyun moleküler oksijen vermek üzere, yükseltgenmesi sonunda oluşan büyük akımlarla belirlenir. Negatif potansiyel sınırları, yine suyun, hidrojen oluşturarak indirgenmesi olayına bağlıdır. Civanın büyük yük hidrojen aşırı geriliminden dolayı, nispeten civa

elektrotlar, büyük negatif potansiyelerde kullanılabilir. Civa elektrotlar birkaç farklı şekildedir. Bunlar içinde en basit olanı, bir disk elektrot üzerinde civayı elektrokimyasal olarak biriktirmek suretiyle yapılan bir civa film elektrodu olan asılı civa damla elektrot (ACDE)' tur. Ticari olarak temin edilebilen bu elektrot, civa içeren bir hazne ve buna bağlı bir kılcal borudan ibarettir. Haznedeki civa, mikrometreli bir vida ile yönetilen bir piston tarafından kılcal dışına itilir. Bu mikrometreler, yüzey alanları % 5'lik hata sınırı içinde sabit damlalar oluşturabilir (Şekil 3.4).

Polarografik deneylerde kullanılan damlayan civa elektrot (DCE), yaklaşık 10 cm boyunda iç çapı ~ 0,05 mm olan ince bir kılcal borudan ibarettir ve bu kılcal içinden civa 50 cm yüksekliğinde bir civa sütunu tarafından itilir. Kılcalın çapı, oluşan damlanın 2-6 arasında kopmasını sağlayacak büyüklüktedir. Oluşan damlanın çapı 0,5–1 mm arasında olup bu değer, oldukça tekrarlanabilir. Bazı uygulamalarda, damla ömrü mekanik bir çekiç sistemiyle kontrol edilir. Bu sistem, damla oluştuktan belli bir süre sonra damlayı düşürür (Şekil 3.5).

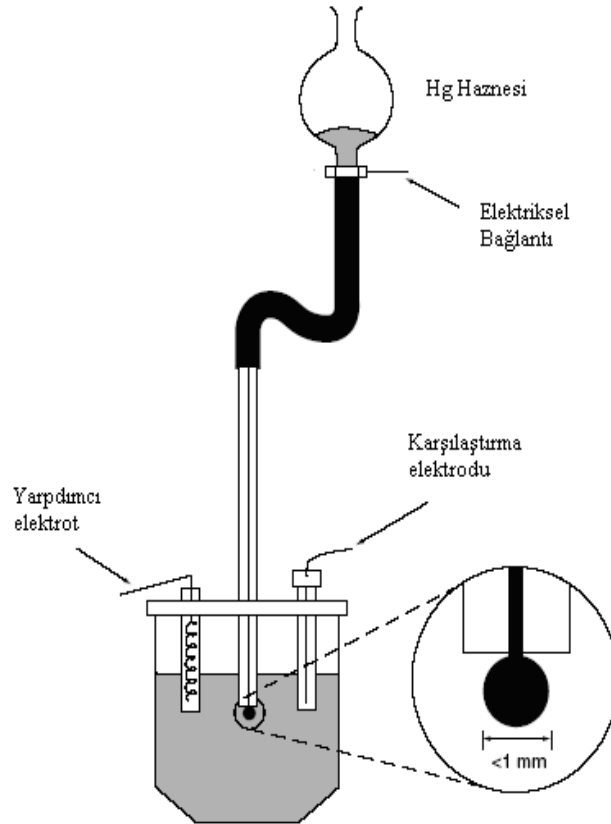


Şekil 3.4. Asılı civa damla elektrodu

Ayrıca hem asılı civa hem de damlayan civa elektrodu olarak kullanılabilen ve ticari olarak satılan bir civa elektrodu da bulunmaktadır. Civa, kılcalın üst ucunun yaklaşık 25 cm yukarısında, plastik astarlı bir haznenin içinde bulunur.

Sıkışmış bir yay, poliüretan uçlu bir tıkaç kılcal başlığına doğru iterek civanın sürekli akışını önler. Bu tıkaç, kontrol sisteminden gelen bir sinyalle sarmal bobinin uyarılması sonucu kaldırılır. Kılcalların çapı 0,15 mm, tipik bir kılcaldan çok daha geniştir. Bunun sonucunda, damla oluşumu son derece hızlı olur. Musluk, elektrot destek gövdesine yerleştirilmiş mekanik bir çekiçle düşürülünceye kadar, tam bir damla oluşacak şekilde 50,100 ya da 200 ms sonra kapatılır.

Bu sistemin üstünlüğü, boyutu belli bir damlanın çabucak oluşması ve yüzey alanı sabit hale gelinceye kadar akım ölçümlerinin yapılmayıdır. Bu işlem sayesinde, klasik damlayan elektrotta karşılaşılan büyük akım dalgalanmaları önemli ölçüde giderilir.



Şekil 3.5. Damlayan civa elektrot



### 3.7.Voltamogramlar

Bir civa film mikroelektrot üzerinde bir A türünün bir P ürününe indirgendiği bir elektroliz için tipik bir doğrusal taramalı voltamogramda, uygulanan potansiyellerin negatif bir işaret alması için, elektrodun doğrusal tarama jeneratörünün negatif ucuna bağlandığı varsayılır. Geleneksel olarak, katodik akımlar daima pozitif, anodik akımlar ise negatif işaretle gösterilir. Doğrusal taramalı voltamogramlar, genellikle, sigmoidal eğriler verir. Bunlar voltametrik dalga olarak bilinir. Keskin artıştan sonraki sabit akıma sınır akımı ( $i_s$ ) denir.

Bu akım, analitin kütle aktarım olayı ile elektrot yüzeyine taşınma hızı tarafından belirlenir. Sınır akımları, genellikle analit derişimiyle doğru orantılıdır ve bu yüzden  $i_s = kC_A$  şeklinde yazılır. Burada  $C_A$  analit derişimi ve  $k$  bir sabittir. Nicel doğrusal taramalı voltametri bu ilişkiye dayanır.

Akımın sınır akımının yarısına eşit olduğu potansiyele, yarı dalga potansiyeli denir ve  $E_{1/2}$  ile gösterilir. Yarı-dalga potansiyeli, yarı-reaksiyonun standart potansiyeli ile yakından ilgidir; fakat genellikle bu değere tam eşit değildir. Yarı-dalga potansiyelleri bazen bir çözeltideki bileşenlerin tanınması için kullanılır.

Hızlı bir şekilde tekrarlanabilir sınır akımları elde etmek için çözelti veya elektrot sürekli ve tekrarlanabilir bir hareket yapmalıdır veya bir damlayan civa elektrot kullanılmalıdır. Çözelti veya elektrodun sürekli hareket içinde olduğu doğrusal taramalı voltametriye hidrodinamik voltametri adı verilir. Bir damlayan civa elektrodunun kullanıldığı voltametriye de polarografi denir.

### 3.8. Hidrodinamik Voltametri

Hidrodinamik voltametri birkaç şekilde yapılabilir. Bunlardan birinde çözelti, sabit bir elektrotla temas halindeyken şiddetli bir şekilde karıştırılır. Diğerinde ise, karıştırma işlemi elektrot, sabit, yüksek bir hızda döndürerek yapılır. Bir başka yol ise, elektrodun yerleştirildiği bir boru içinden analit çözeltisini akıtmaktır. Bu son teknik, bir sıvı

kromatografi kolonundan çıkan çözeltideki indirgenebilen veya yükseltgenebilen analitleri tayin etmek için son zamanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır.

Bir elektroliz sırasında analit bir elektrot yüzeyine üç mekanizma ile taşınır. (1) elektrik alanı etkisi altında göç, (2) karıştırma veya titreştirme sonucunda oluşan konveksiyon ve (3) elektrot yüzeyindeki sıvı filmi ile çözelti arasındaki derişim farklarından kaynaklanan difüzyon. Voltametrde, ortama aşırı miktarda bir destek elektroliti ilave edilerek göç etkisini en aza indirmek için gayret sarfedilir. Destek elektrolit derişimi analit derişiminin 50 - 100 katı olduğunda, toplam akımın analit tarafından taşınan kesri sifıra yaklaşır. Bunun sonucunda analitin zıt yüklü elektroda göç etme hızı, uygulanan potansiyelden önemli ölçüde bağımsız hale gelir.

Voltametrik akımlarda; bir elektrolizin herhangi bir noktasındaki akım, (1) A'nın konveksiyonla Nernst difüzyon tabakasının dış yüzeyine kütle taşınma hızı ve (2) A'nın difüzyon tabakasının dış yüzeyinden elektrot yüzeyine taşınma hızı tarafından kontrol edilir.

Elektroliz ürünü olan P, yüzeyden difüzyonla uzaklaştığından ve sonunda konveksiyonla sürüklenip götürüldüğünde, Nernst eşitliğinden beklenen yüzey derişimlerini sağlamak için sürekli bir akım gerekir. Diğer taraftan, konveksiyon difüzyon tabakasının dış yüzeyinde sabit bir A birikimi sağlar. Böylece, potansiyel tarafından belirlenen bir kararlı hal akımı oluşur. Akım A'nın elektrot yüzeyine ne kadar hızlı taşındığının nicel bir ölçüsüdür ve bu hız  $\partial C_A / \partial X$  ile verilir. Burada X, cm cinsinden elektrottan olan uzaklığı göstermektedir. Düzlemsel bir elektrot için, akımın

$$i = nFAD_A (\partial C_A / \partial X) \quad (3.8.1)$$

şeklinde bir ifade ile verileceği gösterilebilir. Burada i amper cinsinden akımı, n analitin molü başına elektronların mol sayısını, F faradayı, A cm<sup>2</sup> cinsinden elektrot yüzey alanını, D<sub>A</sub> A'nın cm<sup>2</sup>s<sup>-1</sup> cinsinden difüzyon katsayısını, C<sub>A</sub> da mol/cm<sup>3</sup> cinsinden A'nın derişimini göstermektedir.  $\partial C_A / \partial X = (C_A - C_A^0) / \delta$  olduğuna göre; 3.8.1'deki eşitlik,

$$i = nFAD_A (C_A - C_A^0) / \delta = k_A (C_A - C_A^0) \quad (3.8.2)$$

şeklinde yazılabilir.

Daha yüksek negatif potansiyel uygulaması sonucunda  $C_A^0$ 'nın küçüldüğünü ve akımın yüzey derişimi sıfıra yaklaşıncaya kadar arttığını gösterir. Bu noktada, akım sabit hale gelir ve uygulanan potansiyelden bağımsız olur.

$$i_s = nFAD_A C_A / \delta = k_A C_A \quad (3.8.3)$$

Bu eşitlik difüzyon tabakasını aşırı basitleştiren varsayımlara dayanarak türetilmiştir. Buna göre, hareketli ve durgun tabakalar arasındaki ara yüzeyin konveksiyonla taşınmanın son bulduğu, difüzyonla taşınmanın başladığı keskin bir yüzey olduğu varsayılır. Bu basit model bile, akım ve akıma etki eden değişkenler arasında yaklaşık ama makul bir eşitlik verir.

Tersinir reaksiyonlar için akım/potansiyel ilişkilerinde;

$$C_A^0 = i_s - i / k_A \quad (3.8.4)$$

$$i = - nFAD_p (C_p - C_p^0) / \delta \quad (3.8.5)$$

$C_p \approx 0,0$  olduğunda;

$$i = - nFAD_p C_p^0 / \delta = k_p C_p^0 \text{ ve } C_p^0 = i / k_p \quad (3.8.6)$$

eşitlikleri elde edilir.

Tüm bu eşitlikler Nernst eşitliğinde yerlerine konulursa;

$$E_{uyg} = E_A^0 - 0,0592/n \log(k_A/k_p) - 0,0592 \log(i / i_s - i) - E_{ref} \quad (3.8.7)$$

eşitliği bulunur.

Yarı-dalga potansiyeli  $E_{1/2}$ ,  $i$  akımının sınır akımının yarısına eşit olduğu anda uygulanan potansiyeldir.  $i = i_s/2$  olunca,  $E_{uyg} = E_{1/2}$  olur ve eşitlik;

$$E_{1/2} = E_A^0 - 0,0592/n \log k_A/k_p - E_{ref} \quad (3.8.8)$$

olur ve aşağıdaki bağlantı elde edilir.

$$E_{uyg} = E_{1/2} - 0,0592 \log( i/ i_s - i ) / n \quad (3.8.9)$$

$k_A/k_p$  oranı çoğu zaman bire yakındır. Bu yüzden, A türü için eşitlik;

$$E_{1/2} = E_A^0 - E_{ref} \quad (3.8.10)$$

şeklinde ifade edilir.

$A^+ + e \leftrightarrow P$  gibi bir elektrokimyasal olay deney şartları altında Nernst denkleminde uyuyorsa tersinirdir. Bir tam tersinmez sistem, ileri veya geri reaksiyonun ihmal edilebilecek kadar yavaş olduğu sistemdir. Kısmen tersinir sistemde ise bir yöndeki reaksiyon diğer yönden çok yavaş fakat ihmal edilemeyecek kadar önemlidir. Çok küçük bir zaman ölçeğinde, tersinir görünen bir reaksiyon, deneyin zaman sıklası uzadıkça tersinmezlik gösterebilir.

Tersinmez reaksiyonlarda akım/potansiyel ilişkisinde ise pek çok voltametrik elektrot olayları, özellikle organik sistemlerle ilgili olanlar, yayvan ve daha az belirgin dalgaların elde edilmesine sebep olacak şekilde tersinmez sistemlerdir. Tersinmez reaksiyonların yarı dalga potansiyelleri, çoğu zaman derişime kısmen bağlı, fakat difüzyon akımları derişime doğrusal olarak bağlıdır. Bu yüzden böyle tersinmez olaylar da nicel analize kolayca uyarlanabilir.

Tersinir elektrot reaksiyonları için kriterler;

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

$E_{pk}$  veya  $E_{pa}$   $v$ 'den bağımsızdır.

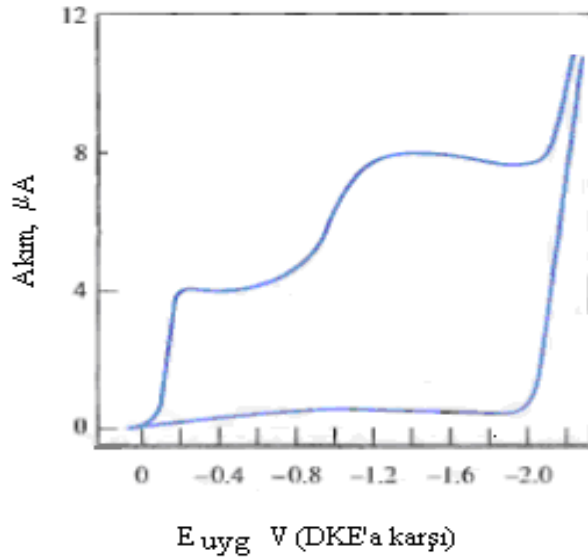
Tersinmez elektrot reaksiyonları için kriterler;

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

Karışımlar için voltamogramlarda; bir karışımdaki elektroaktif türler, voltametik elektrotta normal olarak birbirinden bağımsız davranırlar, böylece bir karışımın voltamogramı her bileşenin ayrı ayrı verdiği dalgaların toplamıdır. Anodik ve karışık anodik/katodik voltamogramlar da mevcuttur.

Oksijen dalgaları; çözülmüş oksijen, çeşitli elektrotlarda kolaylıkla indirgenir, hava ile doyurulmuş sulu bir çözeltide, bu elemente ait olan iki ayrı dalga gözlenir. Bunlardan birincisi, oksijenin peroksit indirgenmesinden oluşur. Reaksiyonun stokiyometrisinden de bekleneceği gibi, iki dalganın yüksekliği eşittir.

Altındaki eğri oksijeni giderilmiş destek elektrolitinkidir ( Şekil 3.6).



Şekil 3.6. Hava ile doyurulmuş 0,1M KCl çözeltisindeki oksijenin indirgenme Voltamogramı [37]

Tepkimeler iki aşamada gerçekleşir. Birinci basamak tepkimeleri,



İkinci basamak tepkimeleri ise,



Voltametik ölçümlerden çözeltilerde çözünmüş oksijen tayini için, yaygın olarak kullanılan uygun bir yöntem geliştirilmiştir. Ancak, oksijenin varlığı diğer türlerin doğru tayinine çoğunlukla bozucu etki yapar. Bu yüzden, voltametik işlemlerde oksijenin uzaklaştırılması genellikle ilk basamaktır. Bunun için, çözeltiden birkaç dakika inert bir gaz geçirilmesi yeterli olmaktadır. Çoğu zaman azot olan bu inert gaz oksijenin yeniden absorpsiyonunu önlemek için, analit süresince de çözelti yüzeyinden geçirilir.

1960'larda, doğrusal taramalı voltametri, birçok laboratuvarında analitik bir araç olarak önemini kaybetmiştir. Bunun en önemli sebebi, çok daha kullanışlı spektroskopik tekniklerin ortaya çıkmasının yanı sıra bu yöntemin yavaş, kullanımı zor ve en önemlisi tayin sınırının oldukça düşük olmasıdır. Bu sınırlamalar puls yöntemleri ve elektrotların gelişmesiyle büyük ölçüde aşılmıştır. Bunlardan kare dalga voltametri incelenecektir.

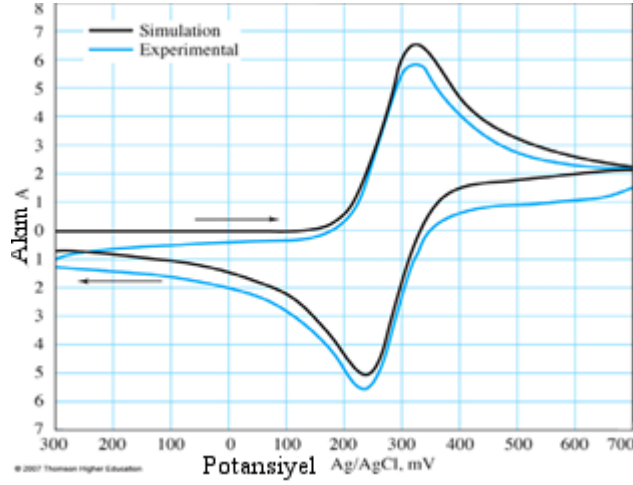
### 3.9. Kare Dalga Voltametri

Kare dalga voltametri asılı civa damla elektrodu ve kromatografik dedektörler ile kullanılır. Kare dalga voltametrisinde puls'un basamak sinyali üzerine bindirilmesiyle uyarma sinyalleri oluşur. Basamaklı sinyalde her basamağın uzunluğu ve puls periyodu eşittir ve yaklaşık 5 ms civarındadır. Basamaklı sinyalin potansiyel basamağı genellikle 10 mV'dur. Pulsun büyüklüğü ise genelde 50 mV'dur. Sistemin bu şartlar altında çalıştırılması 200 Hz'lik puls frekansına karşılık gelir ve bu durumda 1 V'luk bir tarama

0,5 s'de yapılır. Tersinir bir indirgenme reaksiyonunda bir pulsun boyutu, ileri tarama sırasında oluşan ürünün geri tarama sırasında yükseltgenmesini sağlamaya yetecek kadar büyüktür. Böylece ileri puls bir katodik akımı, geri puls da bir anodik akımı oluşturur. Genellikle voltamogramları elde etmek için bu akımların farkı grafiğe geçirilir. Bu fark derişimle doğru orantılıdır. Ölçüm, son derece hızlı yapıldığından birkaç voltametrik taramanın sinyal ortalaması alınarak analizin kesinliğini artırmak mümkündür. Kare dalga voltametrisinin gözlenebilme sınırları  $10^{-7} - 10^{-8}$  M arasındadır. Günümüzde birkaç firma kare dalga voltametri cihazlarını ticari olarak piyasaya sunmuştur. Bu tekniğin, ilerde organik ve anorganik analizde büyük önem kazanacağı kesin gibidir. Ayrıca, kare dalga voltametrisinin sıvı kromatografi için dedektör olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

### **3.10. Dönüşümlü Voltametri**

Dönüşümlü voltametri (DV), önemli ve yaygın kullanılan bir elektroanalitik tekniktir. Nicel amaçla kullanımı seyrek olmakla beraber, yükseltgenme/indirgenme reaksiyonlarının incelenmesinde, reaksiyon ara ürünlerinin gözlenmesinde ve elektrotlarda oluşan ürünlerin, oluşum sonrası reaksiyonlarını yakalamada, yaygın olarak uygulanabilmektedir. DV yönteminde, uygulanan potansiyel önce bir yönde sonra ters yönde taranırken akım ölçülür (Şekil 3.7). Bir DV deneyinde tek bir tam döngü, bir yarım döngü veya birçok döngüler kullanılabilir. Taramanın ters döndüğü potansiyellere dönüş potansiyeli denir. Belli bir deneyde, dönüş potansiyelleri, bir veya daha çok sayıda türün difüzyon kontrollü yükseltgenmesini veya indirgenmesini gözlemeyi mümkün kılacak şekilde seçilir. İlk taramanın yönü, numunenin bileşimine bağlı olarak negatif yönde olabileceği gibi, bunun tersi de olabilir. Daha negatif potansiyellere doğru gidilerek tarama yapılıyorsa, buna ileri tarama, diğer yöndekine de geri tarama denir. Tarama süreleri 1 ms veya daha kısa değerlerden başlar; 100 s veya daha uzun değerlere çıkabilir.



Şekil 3.7. Tipik bir indirgenme reaksiyonunun simülasyon ve deneysel voltamogramları[39]

Dönüşümlü voltametri, organik ve anorganik kimyada yaygın olarak kullanılmaktadır. Elektroaktif türler içeren sistemleri incelemek için akla gelen ilk teknik budur. Çoğu zaman indirgenme/yükseltgenme reaksiyonlarındaki ara ürünlerin dönüşümlü voltamogramlarla yakalanması mümkün olmaktadır. Bu yöntemde çoğu zaman platin elektrotlar kullanılır. Negatif potansiyeller bölgesinde civa film elektrotlar tercih edilebilir. Diğer yaygın çalışma elektrotları arasında; camı karbon, altın, grafit ve karbon pasta elektrotlar sayılabilir.

### 3.11. Sıyırma Yöntemleri

Sıyırma yöntemleri, elektrolizle bir ön deriştirme basamağı ve ardından voltametrik adım gerektiren birçok elektrokimyasal yöntemi kapsar. Bütün bu işlemlerde analit genellikle karıştırılan bir çözeltide önce bir elektrot üzerine biriktirilir. Çoğu zaman asılı bir civa damla veya ince bir civa filmi kullanılır. Yüksek duyarlılıkla ölçülen biriktirme süresinden sonra elektroliz kesilir ve birikmiş analit önceden anlatılan voltametrik yöntemlerden biri ile tayin edilir. Analizin bu ikinci basamağında analit elektrot yüzeyinden geri çözülür veya sıyırılır, bu yüzden bunlara sıyırma yöntemleri adı verilir. Anodik sıyırma yöntemlerinde çalışma elektrodu biriktirme basamağı sırasında bir katot olarak, analitin ilk haline tekrar yükseltgendiği sıyırma basamağında ise, anot olarak davranır. Katodik sıyırma yönteminde elektrot biriktirme sırasında bir anot, sıyırma



sırasında da bir katot gibi davranır. Maddenin biriktiği hacim, ana çözelti hacmine göre çok küçük olduğu için, biriktirme basamağında 100-1000 kat deriştirilebilir.

Sıyırma yöntemleri, eser element tayininde önemli yer tutar, çünkü elektrolizdeki önderiştirme basamağı sayesinde eser miktardaki bir analit makul bir doğrulukla tayin edilebilir. Böylece bu basit ve hızlı yöntemlerle  $10^{-6} - 10^{-9}$  M aralığında çözeltilerin analizi yapılabilir.

Normal olarak elektrobiriktirme basamağı sırasında analitin yalnızca ufak bir kesri elektrot yüzeyine birikir. Bu yüzden nicel sonuçlar, elektrot potansiyelinin kontrol edilmesinin yanı sıra, elektrot boyutu, biriktirme süresi, hem numunenin hem de kalibrasyonda kullanılan standart çözeltilerin karıştırma hızı gibi faktörlere de bağlıdır.

Sıyırma yöntemlerindeki elektrotlar, civa, altın, gümüş, platin ve çeşitli formlardaki karbon gibi değişik maddelerden yapılır. En popüler elektrot asılı civa damla (ACDE) elektrotudur.

Adsorpsiyon Sıyırma Yöntemleri ise; anodik ve katodik sıyırma yöntemlerine oldukça benzemektedir. Burada, en yaygın elektrot olarak kullanılan asılı civa damla elektrodu, analitin karıştırılan bir çözeltilisine birkaç dakika süre ile daldırılır. Sonra elektrot yüzeyinde analitin birikmesi elektrolitik olarak değil, fiziksel adsorpsiyonla oluşur.

Yeterince analit biriktikten sonra, karıştırma kesilir ve birikmiş madde doğrusal taramalı veya pulslu voltametik ölçümlerle tayin edilir. Nicel analiz, numunelerle aynı şekilde işlemlere tabi tutulan standart çözeltilerle yapılan kalibrasyona dayanır. Adsorpsiyon sıyırma voltametrisi çok düşük derişimlerdeki çeşitli anorganik katyonların tayininde de kullanılmaktadır. Bu uygulamalarda genellikle dimetil – glioksim kateşol ve bipridin gibi yüzey aktif kompleksleştiricilerle, katyonlar kompleksleri haline dönüştürülür. Yöntemin gözlenebilme sınırı  $10^{-10} - 10^{-11}$  M aralığındadır.

### **3.12. Mikroelektrotların Kullanıldığı Voltametri**

Son 10 yıl içinde boyutları daha önce anlattığımız elektrotların boyutlarının onda biri veya daha küçük olan mikroelektrotlarla birçok voltametik çalışma yapılmıştır. Bu çok

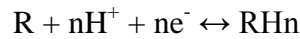
küçük elektrotların elektrokimyasal davranışları, klasik elektrotlardan önemli ölçüde farklıdır ve bazı analitik uygulamalarda üstünlükleri olduğu görülmüştür. Bu tip elektrotlar, klasik elektrotlardan ayırt etmek için mikroskopik elektrotlar veya ultramikro elektrotlar olarak adlandırılır. Bu elektrotların boyutları, genellikle yaklaşık 20 µm'den daha küçüktür ve bazen mikrometrenin onda birkaçı kadar olabilir. Bu minyatür mikroelektrotların şekli birkaç çeşittir. En yaygın tipi, ince bir kapiler boru içeren 5 µm çapında bir karbon fiberin veya 0,3-20 µm boyutlarına sahip altın veya platin telin yerleştirilip kapatılması ile oluşturulan bir düzlemsel elektrottur; elektrot yapılırken fiber veya teller daha sonra borunun uçları ile birlikte düz bir şekilde kesilir. Telin küçük bir kısmının kapiler borunun ucundan çıktığı silindirik elektrotlar da kullanılır.

### **3.13.Voltametrik Dalgalara Kompleks Oluşumunun Etkisi**

Metalik bir iyonun yükseltgenme veya indirgenme potansiyeli, bu iyon ile kompleks oluşturabilecek türlerin varlığından büyük ölçüde etkilenir. Bir metal kompleksinin indirgenmesi için yarı-dalga potansiyelinin, metal iyonunun tek başına indirgenmesi için olan potansiyelden genellikle daha negatif olduğu bilinmektedir. Öyle ki, potansiyeldeki bu negatif kayma elektrot reaksiyonunun tersinir olması şartıyla kompleks iyonun bileşiminin ve onun oluşum sabitinin tayinini mümkün kılar [38].

### **3.14. Voltametrde pH'nın Önemi**

Voltametrde pH oldukça önemlidir. Birçok organik maddenin ve bileşiklerinin tayininde ve incelenmesinde voltametriden yararlanır. Organik maddelerin elektrotlarda indirgenmesi hidrojen iyonu ile olur. Örneğin; bir organik tür olan R'nin indirgenmesine ait reaksiyon incelendiğinde,



R ve RH<sub>n</sub> organik maddenin sırasıyla yükseltgenmiş ve indirgenmiş halidir. Görüldüğü gibi, organik bileşiklerin yarı dalga potansiyelleri pH'ya oldukça bağlıdır. Bunun

dışında ortamın hidrojen iyonu derişimine bağlı olarak farklı türlerin oluşması da mümkündür.

Hidrojen iyonları harcayan veya oluşturan bir olayda elektrot yüzeyindeki çözeltinin pH'sı önemli ölçüde değişir ve bu değişmeler reaksiyonun indirgenme potansiyeline etki ederek yayvan ve zayıf piklerin görülmesine neden olur. Bu yüzden tampon çözeltiler kullanılır [38].

### **3.15. 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 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 voltamogramı alınmak istenen elektroaktif maddenin elektrot yüzeyine sadece difüzyon yolu ile taşınması sağlanır.

Voltametricde kullanılan destek elektrolit yeterince saf olmalıdır. Ayrıca destek elektrolit çalışma elektrodunun çalışma potansiyel aralığını daraltır nitelikte olmamalıdır [39].

## 4.BÖLÜM

### DENEYSEL ÇALIŞMALAR

#### 4.1. Materyal ve Metot

##### 4.1.1.Voltametri cihazı

Kare dalga sıyırma voltametrisi (KDSV) ve dönüşümlü voltametri (DV) ölçümleri yapılmıştır. BAS model elektrokimyasal analizör (Bioanalytical Systems, epsilon potentiostat/galvanostat, USA) kullanılmıştır. Cihaz, Resim 4.1 ve Resim 4.2'de gösterilmektedir.



Resim 4.1. Bas model elektrokimyasal analizör



Resim 4.2. Azot gazı ile çalışan asılı damla civa elektrot sistemi

Kare dalga sıyrma voltametri (KDSV); hücre çalışma elektrodu olarak asılı civa damla elektrodu, referans elektrot, karşı elektrot ve zaman ayarlı damla düşürücüden oluşmaktadır.

#### 4.1.2. Çalışma elektrodu

Kare dalga sıyrma voltametri ve dönüşümlü voltametri çalışmalarında çalışma elektrodu olarak kullanılan asılı civa damla elektrodunda kullanılan civa, Merck'ten sağlanmıştır. Kare dalga sıyrma voltametrisinde eser düzeyde madde tayini yapıldığı için kullanılan civanın oldukça temiz olması gerekmektedir.

#### 4.1.3. Civanın temizlenmesi

Kirlenen civa behere alındıktan sonra yaklaşık 10 dakika boyunca bagetle karıştırılarak üzerinden çeşme suyu geçirilmiştir. Civanın üzerindeki çeşme suyu uzaklaştırıldıktan hemen sonra bir litrelik cam mezüre doldurulmuş ve birkaç defa saf su ile çalkalanmıştır.

Platin elek mezürün üstünde tutularak civa platin elekten geçirilerek ince zerrecikler halinde mezürde bulunan saf sudan geçirilmiştir. Bu işlem beş defa tekrarlanmıştır. Daha sonra 15 M'lık  $\text{HNO}_3$  çözeltisi 1:4 oranında ( $\text{HNO}_3$ :  $\text{H}_2\text{O}$ ) seyreltilerek 3 M'lık  $\text{HNO}_3$  çözeltisi (civa yıkama suyu) hazırlanmıştır. Civa yıkama suyu bir litrelik mezüre alınmış ve daha sonra tekrar platin elek mezürün üstünde tutularak, civa platin elekten yıkama suyu içerisine zerrecikler halinde süzümüştür. Bu işlem beş kez tekrarlandıktan sonra mezüre saf su konularak aynı işlem tekrarlanmıştır. Saf sudan geçirme işlemi asitlik giderilinceye kadar tekrarlanmıştır. Civanın asitliğinin giderilip giderilmediği turnosol kâğıdıyla kontrol edilmiştir. Asitliği giderilen civa süzgeç kâğıdıyla iyice kurutulduktan sonra civanın temizlenip temizlenmediği voltamogramlar alınarak kontrol edilmiştir.

#### **4.1.4. Referans elektrot**

Kare dalga sıyırma voltametrisi ve dönüşümlü voltametri çalışmalarında referans elektrot olarak doygun Ag/AgCl kullanılmıştır. Klausek hücrelerinde bulunan analit çözeltisine temas edecek şekilde hücreye bağlanmıştır.

#### **4.1.5. Karşıt elektrot**

Platin tel karşıt elektrot olarak kullanılmış ve klausek hücrelerinde bulunan analit çözeltisine temas edecek şekilde hücreye bağlanmıştır.

#### **4.1.6. pH metre**

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

#### 4.1.7. Azot gazı

Voltamogramlarda oksijenin indirgenmesine ait dalgalar gözlenebilir. Bundan dolayı bir maddenin voltamogramı alınmadan önce, ortamda çözünmüş olan oksijenin uzaklaştırılması gerekir. Bunun için hücreye madde konulmadan önce çözeltisinden inert bir gaz olan azot gazı geçirilmiştir.

#### 4.2. Reaktifler, Çözeltiler ve Hazırlanmaları

Deneylerde kullanılan bütün kimyasallar analitik saflıktadır (Merck). Çözelti hazırlanmasında ve temizleme suyu olarak çalışma boyunca deiyonize su kullanılmıştır. Asılı civa damla elektrodunda kullanılan civa yüksek saflıktadır ve Merck'ten sağlanmıştır.

##### 4.2.1. Kullanılan reaktifler

- 1.Histaminbihidroklorür: ( $C_5H_9N_3-HCl$ ) , 184,07 g/mol, Aldrich
- 2.Hidroklorik asit: ( HCl) , d=1,19 kg/L; % 37; 36,46 g/mol, Sigma-Aldrich
- 3.Asetik asit: ( $CH_3COOH$ ) , d=1,05 kg/L; % 100' lük; 60,05 g/mol, Sigma-Aldrich
- 4.Fosforik asit: ( $H_3PO_4$ ) , d= 1,71 kg/L; 98 g/mol, % 85, Riedel
- 5.Borik asit: ( $H_3BO_3$ ), 61,83 g/mol, Sigma
- 6.Sodyum hidroksit: (NaOH), 40 g/mol, Sigma-Aldrich
- 7.Demir(III) klorür heksahidrat: ( $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ ) , 270,30 g/mol, Merck
- 8.Krom(III) klorür heksahidrat: ( $CrCl_3 \cdot 6 H_2O$ ) , 266,45 g/mol, Merck
- 9.Kurşun(II) nitrat: ( $Pb(NO_3)_2$ ), 331,20 g/mol, Merck
- 10.Çinko nitrat heksahidrat: ( $Zn(NO_3)_2 \cdot 6 H_2O$ ), 297,4 g/mol, Merck
- 11.Kadmiyum nitrat tetrahidrat: ( $CdN_2O_6 \cdot 4 H_2O$ ) , 308,47 g/mol, Sigma-Aldrich
- 12.Kobalt(II) nitrat heksahidrat: ( $CoN_2O_6 \cdot 6 H_2O$ ) , 291,03 g/mol, Sigma-Aldrich
- 13.Nikel sülfat heksahidrat: ( $NiSO_4 \cdot 6 H_2O$ ), 262,85 g/mol, Sigma-Aldrich
- 14.Magnezyum nitrat heksahidrat: ( $Mg(NO_3)_2 \cdot 6 H_2O$ ), 256,41 g/mol, Sigma
- 15.Mangan(II) sülfat monohidrat: ( $MnSO_4 \cdot H_2O$ ), 169,02 g/mol, Sigma
- 16.Kalsiyum nitrat tetrahidrat: ( $CaNO_3)_2 \cdot 4 H_2O$ ), 236,15 g/mol, Sigma
- 17.Bakır(II) nitrat monohidrat: ( $Cu(NO_3)_2 \cdot H_2O$ ), 232,5 g/mol, Merck

- 18.Civa(II) nitrat hegzahidrat: ( $\text{HgN}_2\text{O}_6 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ ), 342,62 g/mol, Sigma-Aldrich
- 19.Baryum klorür dihidrat: ( $\text{BaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ ), 244,263 g/mol, Merck
- 20.Alüminyum klorür hegzahidrat: ( $\text{AlCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ ), 241,431 g/mol, Merck
- 21.Selenyum dioksit: ( $\text{SeO}_2$ ), 110,959 g/mol, Sigma
- 22.Sodyum sülfid: ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ), 126,04 g/mol, Sigma-Aldrich
- 23.Sodyum klorür: ( $\text{NaCl}$ ), 58,44 g/mol, Sigma
- 24.Sodyum nitrit: ( $\text{NaNO}_2$ ), 68,99 g/mol, Merck

#### 4.2.2. Çözeltilerin hazırlanması

0,01 M histamin stok çözeltisinin hazırlanması:

0,046 g histamin tartılıp 25 mL deiyonize suda çözülüp, ölçülü balon jodede, 25 mL' ye tamamlanmıştır.

0,1 M HCl (% 37'lik  $d=1,19 \text{ g/mL}$ ) :

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

0,1 M NaOH çözeltisi:

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

0,1 M  $\text{H}_2\text{PO}_4^- - \text{HPO}_4^{2-}$  tamponu:

9,08 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ve 11,87 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  ayrı ayrı tartılıp, deiyonize su ile çözüldükten sonra 1,0 L' ye tamamlanmış ve uygun miktarlarda karıştırılarak istenilen pH'ya ayarlanmıştır.

1,0 M HAc/NaAc tampon çözeltisi:



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

Britton-Robinson (B-R) 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 deiyonize 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.

0,02 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözeltilisi:

0,279 mL % 95-97' lik H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözeltilisinden alınarak deiyonize su ile 250 mL' ye tamamlanmıştır. pH'sı istenilen değerlere ayarlanmıştır.

Çeşitli iyonların stok çözeltilerinin hazırlanması:

Deneylerde kullanılan iyonların 0,01 M' lik stok çözeltileri hazırlanmıştır. Seyreltik çözeltilerin derişimleri zamanla değişebileceğinden, stok çözeltiler 1x10<sup>-3</sup> M' lik çözeltilere seyreltilmesiyle günlük olarak hazırlanmıştır.

0,01 M Fe(III) çözeltilisi: 0,135 g FeCl<sub>3</sub>. 6 H<sub>2</sub>O tartılıp deiyonize su ile çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 50 mL'ye tamamlanmıştır.

0,01 M Cr(III) çözeltilisi: 0,1332 g CrCl<sub>3</sub>. 6 H<sub>2</sub>O tartılıp deiyonize su ile çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 50 mL'ye tamamlanmıştır.

0,01 M Pb(II) çözeltilisi: 0,331 g Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> tartılıp deiyonize su ile çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 100 mL'ye tamamlanmıştır.

0,01 M Zn<sup>+2</sup> çözeltilisi: 0,1487 g Zn(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. 6 H<sub>2</sub>O tartılıp deiyonize su ile çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 50 mL'ye tamamlanmıştır.

0,01 M  $\text{Cd}^{+2}$  çözeltisi: 0,308 g  $\text{CdN}_2\text{O}_6 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$  tartılıp deiyonize su ile çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 100 mL'ye tamamlanmıştır.

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

0,01 M  $\text{Ni}^{+2}$  çözeltisi: 0,066 g  $\text{NiSO}_4 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$  tartılıp deiyonize su ile çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 25 mL'ye tamamlanmıştır.

0,01 M  $\text{Mg}^{+2}$  çözeltisi: 0,128 g  $\text{Mg(NO}_3)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$  tartılıp deiyonize su ile çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 50 mL'ye tamamlanmıştır.

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

0,01 M  $\text{Ca}^{+2}$  çözeltisi: 0,236 g  $\text{Ca(NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$  tartılıp deiyonize su ile çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 100 mL'ye tamamlanmıştır.

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

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

0,01 M  $\text{Ba}^{+2}$  çözeltisi: 0,122 g  $\text{BaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  tartılıp deiyonize su ile çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 50 mL'ye tamamlanmıştır.

0,01 M  $\text{Al}^{+3}$  çözeltisi: 0,121 g  $\text{AlCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$  tartılıp deiyonize su ile çözülmüş ve ölçülü balona alınarak 25 mL'ye tamamlanmıştır.

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

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

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

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

## 5.BÖLÜM

### DENEYSEL BULGULAR VE TARTIŞMA

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

Yapılan çalışmalarda eser miktardaki histaminin tayini için yeni bir yöntem geliştirmek amaçlanmıştır. Bu amaçla, destek elektrolit ortamı olarak B-R (Britton-Robinson) tamponunun, en uygun destek elektroliti olduğu tespit edilmiştir. Histamin tayinine pH'nın etkisi incelenmiş, ardından Cu (II) çözeltisi ilavesiyle histaminin Cu(II) iyonları ile kompleks oluşturduğu belirlenmiştir.  $10^{-6}$  M seviyesinde histaminin tayinine olanak sağlayacak pik, B-R tamponu ortamında ve Cu(II) iyonu ile kompleks oluşturduğunda en iyi şekilde gözlemlenmiştir. Çeşitli gıda maddelerindeki histaminin tayini için geliştirilen yöntemin seçiciliğini belirlemek amacıyla, çeşitli iyonların girişim etkileri incelenmiştir. Ayrıca histaminin voltametrik davranışlarını incelemek için, dönüşümlü voltametri (DV) çalışmaları da yapılmıştır.

##### 5.1.1. Destek elektrolit seçimi ve pH etkisi

Histaminin pik akımından yararlanarak doğrudan tayini için, histaminin pik akımının maksimum olduğu elektrolit ortamı araştırılmıştır. Bu amaçla 0,1 M  $\text{H}_2\text{PO}_4^- - \text{HPO}_4^{2-}$  (pH 6,0 - 7), 1,0 M HAc/NaAc (pH 6,0 - 8,0), 0,02 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (pH 2,0 - 7,0), 0,02 M  $\text{SO}_4^{2-}$  iyonu ( pH 8,0 – 10,0 ) destek elektrolitleri ve pH 2,0 - 10,0 aralığında Britton-Robinson (B-R) tamponu kullanılmıştır. Çalışılmış olan farklı elektrolit çözeltilerindeki histamin piklerinin çeşitli özellikleri Tablo 5.1'de özet halinde verilmiştir.

Kullanılan destek elektrolitlerden hücreye 10,0'ar mL alınmış ve çözelti içinde çözünmüş halde bulunan oksijeni uzaklaştırmak için içerisinden 5 dakika % 99,999 saflıkta azot gazı geçirilerek destek elektrolitlere ait voltamogramlar kaydedilmiştir.

Histaminin standart çözeltisinden hücreye ard arda yapılan her ilaveden sonra da hücreden azot gazı geçirilerek, voltamogramlar kaydedilmiştir.

Tablo 5.1. Histaminin çeşitli destek elektrolitlerdeki voltametik davranışı

C (M) Madde	Elektrolit	E <sub>pik</sub> (mV)	I(μA)	Pik şekli
1x10 <sup>-5</sup> M Histamin (hücrede)	pH= 7,0 0,1 M fosfat tamponu	Pik yok	Pik yok	Pik yok
	pH=10,0 0,02 M sülfat iyonu elektroliti	-389	1,39	Keskin
	pH=6,5 0,02 M sülfürik asit elektroliti	Pik yok	Pik yok	Pik yok
	pH= 6,0 1,0 M HAc/NaAc tamponu	Pik yok	Pik yok	Pik yok
	pH=8,0 1,0 M HAc/NaAc tamponu + 0,1mL 1x10 <sup>-3</sup> M Cu(II)	-311	0,33	Keskin

Deneysel çalışmalarımızda kullanılan destek elektrolitlerinden fosfat tamponunda pH 6,0-7,0 aralığında, sülfürik asit destek elektrolitinde pH 6,5’da ve HAc/NaAc tamponunda pH 6,0-8,0 aralığında histamin pikine rastlanmamıştır.

Yapılan çalışmalarda 0,02 M (pH=10) SO<sub>4</sub><sup>-2</sup> iyonu destek elektroliti ve 1,0 M HAc/NaAc (pH=8) destek elektroliti ile birlikte Cu(II) iyonları varlığında histamin piki gözlenmiş olsa da, histaminin standart çözeltisinden hücreye ard arda yapılan ilavelerde, histamin pikindeki artışların orantılı olmadığı görülmüştür.

Eser miktardaki histaminin doğrudan tayini için yapılan çalışmalar sonucunda histamine ait kantitatif tayinini sağlayacak herhangi bir pike rastlanmamıştır. Bunun üzerine

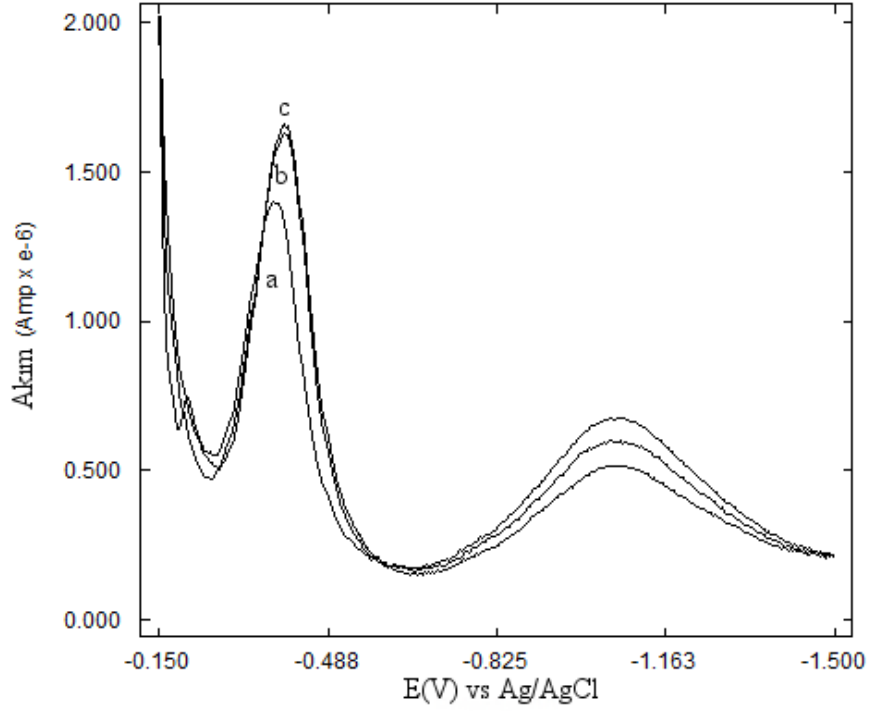
histaminin dolaylı tayini amaçlanmıştır. Yapılan literatür taramasında histaminin bakır iyonları ile kompleks oluşturduğu tespit edilmiştir [40]. İleriki çalışmalarda bu bilgiden yararlanılarak Cu(II) iyonları ve histaminin bir arada bulunduğu çeşitli elektrolit ortamlarında aralarındaki etkileşme sonucunda ortaya çıkan ve histaminin kantitatif tayinine olanak sağlayacak yeni bir pik olup olmadığı araştırılmıştır.

#### **5.1.1.1. Fosfat destek elektrolitinde histaminin voltametrik davranışının İncelenmesi**

pH (6,0- 7,0)  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  -  $\text{HPO}_4^{2-}$  destek elektrolitinde çalışılmıştır. pH 6,0 fosfat destek elektrolitinde kaydedilen histaminin voltamogramında belirgin bir pik gözlenmemiştir. Hücreye ard arda standart histamin ilaveleri yapılmış buna karşılık herhangi bir pik gözlenmemiştir. 0,1 M  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  -  $\text{HPO}_4^{2-}$  destek elektrolitinde (pH 6,5 -7,0) de belirgin bir pik gözlenmemiştir.

#### **5.1.1.2. Sülfürik asit ve sülfat iyonları destek elektrolitlerinde histaminin voltametrik davranışının incelenmesi**

pH 2,0 - 7,0 aralığında 0,02 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  destek elektrolitinde ve pH 8,0 - 10,0 aralığında 0,02 M  $\text{SO}_4^{2-}$  iyonu destek elektrolitinde histaminin doğrudan tayinine olanak sağlayacak herhangi bir pikin olup olmadığı alınan voltamogramlarla araştırılmıştır. pH 10,0 sülfat iyonu destek elektrolitinde kaydedilen 0,2 mL  $1 \times 10^{-3}$  M histaminin voltamogramında -389 mV'da keskin bir pik görülmüştür. Bu pikin pik akımlarındaki artışları takip etmek için hücreye ard arda standart histamin ilaveleri yapılmıştır. Standart histamin ilavelerine karşı pik akımlarındaki artışların orantılı olmadığı belirlenmiştir (Şekil 5.1). pH 2,0 - 8,0 aralığında yapılan çalışmaların bir kısmında ise pik gözlenmiş, fakat standart histamin ilavelerine karşı pik akımlarının orantılı olarak artmadığı tespit edilmiştir.

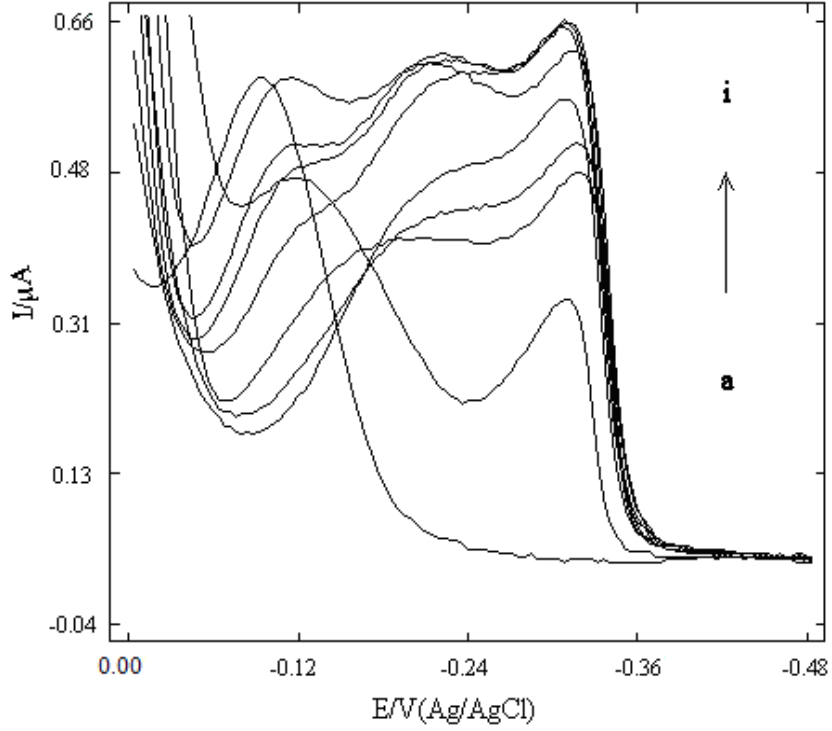


Şekil 5.1. 10,0 mL pH 10,0' da  $\text{SO}_4^{2-}$  iyonu destek elektrolitindeki histaminin voltamogramı  
a) 10,0 mL pH 10,0' da  $\text{SO}_4^{2-}$  iyonu + 0,2 mL  $1 \times 10^{-3}$  M histamin  
b) a + 0,2 mL  $1 \times 10^{-3}$  M histamin  
c) b + 0,2 mL  $1 \times 10^{-3}$  M histamin

### 5.1.1.3. HAC/NaAc destek elektrolitinde histaminin voltametik davranışının incelenmesi

pH (6,0 - 8,0) 1,0 M HAC/NaAc destek elektrolitinde çalışılmıştır. Bu pH' larda asetat destek elektrolitinde kaydedilen voltamogramda histamine ait herhangi bir indirgenme ya da yükseltgenme pikine rastlanmamıştır.

pH 8,0 HAC/NaAc destek elektrolitinde hücreye 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M Cu(II) iyonları ilave edilip voltamogramı alınmış ve -93,1 mV'da Cu(II) iyonlarına ait indirgenme piki gözlenmiştir. Ardından hücreye standart 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M histamin eklenerek -311 mV'da Cu(II) iyonlarının indirgenme pikinden (-93,1 mV) daha negatif potansiyelde keskin yeni bir pik gözlenmiştir (Şekil 5.2). -311 mV' taki pikin pik akımlarındaki artışları takip etmek için hücreye ard arda standart histamin ilaveleri yapılmıştır. Standart histamin ilavelerine karşılık pik akımlarında artış olduğu ancak, bu artışların standart olarak eklenen histamin miktarı ile orantılı olmadığı görülmüştür (Şekil 5.2).



Şekil 5.2. 10,0 mL pH 8,0' de HAc/NaAc destek elektrolitinde Cu(II) çözeltisi ortamındaki histaminin voltamogramı

- a) 10,0 mL pH 8,0' de HAc/NaAc + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M Cu(II)
- b) a + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M histamin
- c) b + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M histamin
- d) c + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M histamin
- e) d + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M Cu(II) + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M histamin
- f) e + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M histamin
- g) f + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M histamin
- h) g + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M histamin
- i) h + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M histamin

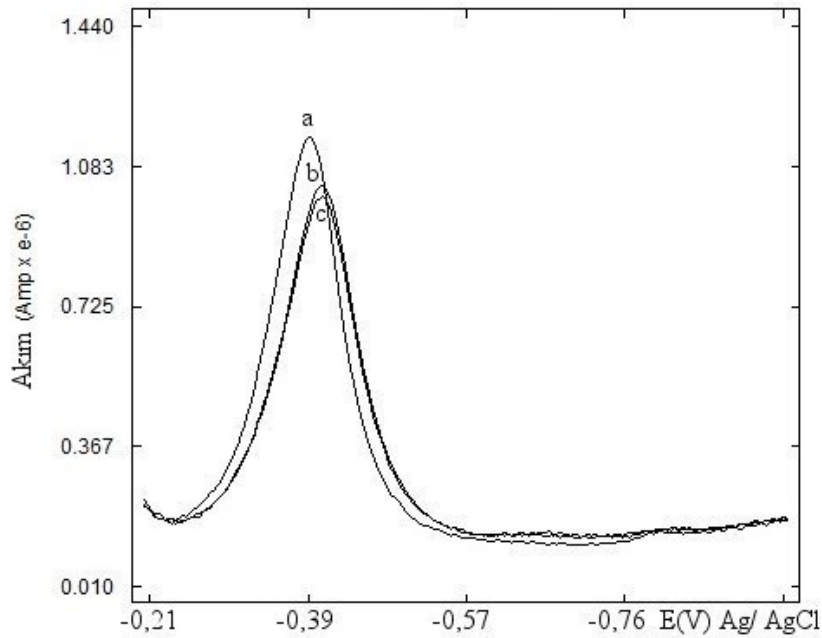
#### 5.1.1.4. Britton - Robinson (B-R) tamponunda histaminin voltametric davranışının incelenmesi

0,01 M  $\text{H}_2\text{PO}_4^- - \text{HPO}_4^{2-}$ , 1,0 M HAc/NaAc ve 0,02 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ve 0,02 M  $\text{SO}_4^{2-}$  iyonu destek elektrolitleri denenmiş, histaminin doğrudan tayini için uygun ortamlar olmadığı tespit edilmiştir. Sonraki çalışmalarda geniş bir aralıkta çalışma olanağı veren B-R tamponu denenmeye karar verilmiştir. Hazırlanan B-R tamponunun stok çözeltisinden, HCl ve NaOH çözeltileri kullanılarak pH( 2-10) aralığında çözeltiler hazırlanmıştır.



pH10,0'da B-R tamponu destek elektrolitinde çalışılmıştır. pH10,0 B-R tamponu destek elektrolitinde kaydedilen 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M histaminin voltamogramında -394 mV (keskin) bir pik kaydedilmiştir (Şekil 5.3). -394 mV'taki pikin pik akımlarındaki artışları takip etmek için hücreye ard arda 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M standart histamin ilaveleri yapılmıştır. Standart histamin ilavelerine karşı pik akımındaki artışların orantılı olmadığı görülmüştür (Şekil 5.3).

Çalışılan ortamlarda histaminin kantitatif tayinine olanak sağlayan herhangi bir pike rastlanmadığı için histaminin çeşitli iyonlarla kompleks oluşturup tayinini sağlayacak bir yöntem bulunması amaçlanmıştır. Bunun için pH' sı 10,0 olan 10,0 mL B-R tamponuna 0,2 mL  $1 \times 10^{-3}$  M Cu (II) iyonları ilave edilip voltamogramı alınmış -242 mV'da Cu(II)'ye ait indirgenme piki gözlenmiştir. Ardından hücreye standart 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M histamin ilaveleri yapıldığında bakır iyonları ile histaminin (bakır iyonlarının indirgenme potansiyelinden daha negatif potansiyelde yani (-420 mV'da) oluşturduğu kompleksin (Cu-Hist) piki gözlenmiştir (Şekil 5.4).

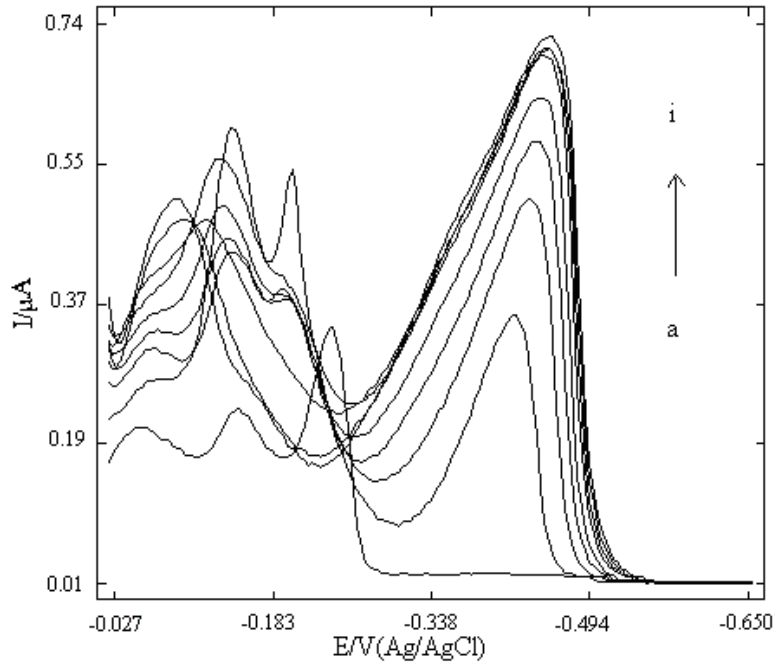


Şekil 5.3. 10,0 mL pH 10,0 B-R tamponu destek elektrolitindeki histaminin voltamogramı

- 10,0 mL pH10' da B-R tamponu + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M histamin
- a + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M histamin
- b + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M histamin

Standart histamin ilavelerine karşılık pik akımlarında artış olduğu ancak, bu artışların standart olarak eklenen histamin miktarı ile orantılı olmadığı görülmüştür (Şekil 5.4).

Bu nedenle pH'sı 10,0 olan 10,0 mL B-R tamponu içeren başka bir hücreye 0,2 mL  $1 \times 10^{-3}$  M Cu (II) iyonları ilave edilip voltamogramı alınmış -156 mV'da Cu(II)'ye ait indirgenme piki gözlenmiştir. Ardından hücreye standart 0,1 mL  $1 \times 10^{-4}$  M histamin ilaveleri yapıldığında bakır iyonları ile histaminin (bakır iyonlarının indirgenme potansiyelinden daha negatif potansiyelde yani -388 mV'da) oluşturduğu kompleksin (Cu-Hist) piki gözlenmiştir. Standart histamin ilavelerine karşılık pik akımlarında artış olduğu ve bu artışların standart olarak eklenen histamin miktarı ile orantılı olduğu görülmüştür.



Şekil 5. 4. 10,0 mL pH 10,0 B-R tamponu destek elektrolitinde Cu(II) iyonları varlığında Cu-hist. kompleksinin farklı derişimlerdeki voltamogramı  
a) 10,0 mL pH 10,0' da B-R tamponu + 0,2 mL  $1 \times 10^{-3}$  M Cu(II) çözeltisi  
b) a + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M histamin  
c) b + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M histamin  
d) c + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M histamin  
e) d + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M histamin  
f) e + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M histamin  
g) f + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M histamin  
h) g + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M histamin  
i) h + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M histamin

Eser miktardaki histamin tayini için en iyi sonuç pH 10'da B-R tamponu destek elektroliti ve Cu(II) çözeltisi ortamında alınmıştır. pH 10'da Cu-Hist kompleksine ait pikin pik akımları histaminin derişimi ile doğrusal bir artış gösterdiği ve kompleksin pik şekli keskin olduğu için tayin amaçlı kullanılabilceğine karar verilmiştir (Şekil 5.5). pH (2,0 – 8,0) B-R tamponu destek elektrolitinde kaydedilen voltamogramda yalnız histamine ait pik gözlenmemiştir. pH 2,0 de Cu(II) ortamında B-R tamponu destek elektrolitinde kaydedilen voltamogramda ise Cu-Hist kompleksine ait pik gözlenmemiştir. pH 4,0 ve 6,0'da Cu(II) ortamında B-R tamponu destek elektrolitinde kaydedilen voltamogramında ise Cu-Hist kompleksine ait pikler yayvan olarak gözlenmiş fakat standart histamin ilavelerine karşı Cu-Hist kompleksine ait pikin pik akımındaki artışlar orantılı değildir. pH 8,0'de Cu(II) ortamında B-R tamponu destek elektrolitinde kaydedilen voltamogramında -244 mV'da Cu-Hist kompleksine ait pik yayvan olarak gözlenmiştir. Standart histamin ilavelerine karşı pik akımındaki artışlar orantılıdır. pH 10,0 B-R tamponunda aynı şartlarda alınan komplekse ait pikin akımı, pH 8,0'e göre daha yüksek olduğundan çalışmalarımız pH 10,0'da yapılmıştır. Bu çalışmaların özeti Tablo 5.2' de verilmiştir.

Cu iyonları ile histamin arasındaki reaksiyonun tam gerçekleştiği ortam şartlarını belirlemek için,  $1 \times 10^{-5}$  M'lık histamin çözeltisinden 10,0 mL B-R tamponu ve 0,2 mL  $1 \times 10^{-3}$  M Cu(II) çözeltisi bulunan elektrolit içine 0,2'şer mL'lik ilaveler yapılmıştır. Alınan voltamogramda  $1 \times 10^{-5}$  M derişimdeki histaminin ilaveleri ile Cu-Hist. pikinin gözlenemediği tespit edilmiştir. Ardından  $1 \times 10^{-3}$  M histamin çözeltisinden standart ilaveler 10,0 mL B-R tamponu ve 0,2 mL  $1 \times 10^{-3}$  M Cu(II) çözeltisi bulunan elektrolit içine yapıldığında Cu-Hist. kompleksine ait pik akımlarının orantılı olarak artmadığı tespit edilmiştir. Burada Cu (II) iyonlarının çözeltisi yeterli olmadığı için Cu-Hist. kompleks pikinde artış görülemediği ve bu yüzden Cu (II) iyonlarının çözeltisinin derişimi artırıldığında, düzenli artışların görülebileceği düşünülmüştür. Fakat başka bir hücreye pH 10'da 10 mL B-R tamponuna 0,1 mL  $1 \times 10^{-1}$  M Cu(II) çözeltisi ilave edildiğinde bu ortamda elektrolit içerisinde Cu (II) iyonlarının çöktüğü gözlenmiştir. Bu durumda aynı elektrolit ortamında, standart histamin çözeltisinden  $1 \times 10^{-4}$  M ve Cu (II) iyonlarının derişiminden 0,2 mL  $1 \times 10^{-3}$  M alınarak histamin tayini yapılabileceği denenerek gözlemlenmiştir. Diğer bir denemede ise; aynı elektrolit ortamında  $1 \times 10^{-3}$  M

standart histamin çözeltisi ve 0,2 mL  $1 \times 10^{-2}$  M Cu(II) iyonları varlığında da histamin tayininin yapılabildiği görülmüştür.

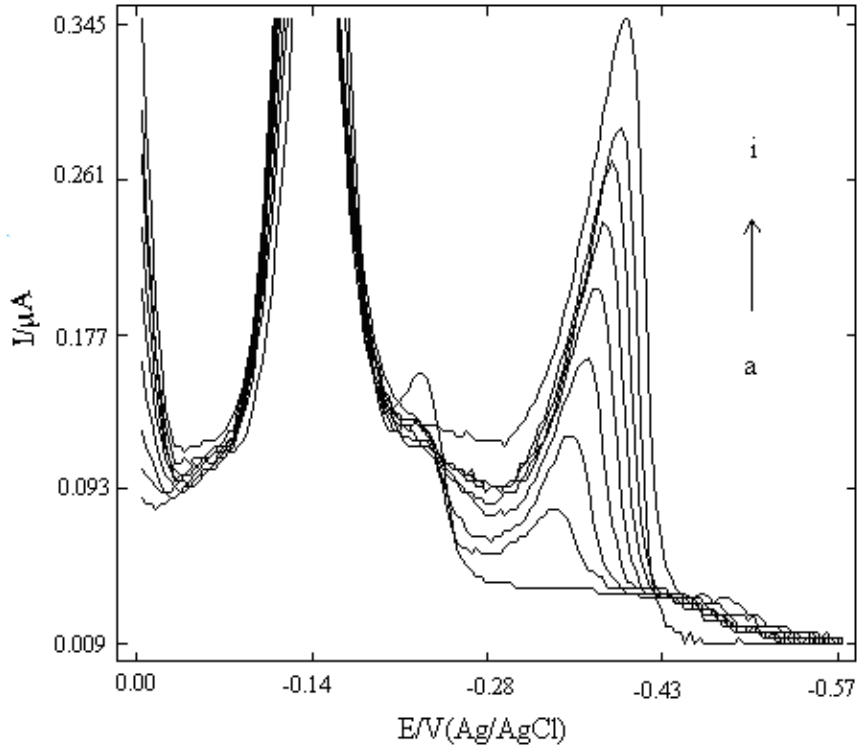
Tablo 5.2. 10,0 mL B-R tamponunda histamin ve Cu-histamin (Cu-hist) kompleksinin voltametik davranışının pH ile değişiminin incelenmesi

pH B-R Tamponu	$1 \times 10^{-5}$ M Histamin (hücrede)		Cu-Histamin $1 \times 10^{-5}$ M Cu(II) - $1 \times 10^{-5}$ M Histamin (hücrede)	
	Epik(mV)	Pik şekli	Epik(mV)	Pik şekli
2	Pik yok	Pik yok	Pik yok	Pik yok
4	-409	Yayvan	-361	Yayvan
6	Pik yok	Pik yok	-447	Yayvan
8	Pik yok	Pik yok	-244	Yayvan
10	-394	Keskin	-420	Keskin

pH B-R Tamponu	$1 \times 10^{-6}$ M Histamin (hücrede)		Cu-Histamin $1 \times 10^{-5}$ M Cu(II) - $1 \times 10^{-6}$ M Histamin (hücrede)	
	Epik(mV)	Pik şekli	Epik(mV)	Pik şekli
10	-282	Keskin	-388	Keskin

*Kantitatif reaksiyonun gerçekleştiği ortam şartları 1:* 10,0 mL pH 10,0'da B-R tamponu ve 0,2 mL  $1 \times 10^{-3}$  M Cu(II) çözeltisi bulunan elektrolit içine  $1 \times 10^{-4}$  M'lık histamin çözeltilerinden standart ilaveler yapılarak voltamogramlar kaydedilmiş ve Cu-Hist kompleksine ait pik akımlarının orantılı olarak arttığı belirlenmiştir. Geliştirilen bu

ortamda standart ekleme yöntemi ile histamin tayini gerçekleştirilmiş (Tablo 5.3), kalibrasyon grafiği çizilmiş ve tayin aralığı belirlenmiştir (Şekil 5.5 - 5.6).



Şekil 5. 5. 10,0 mL pH 10,0 B-R tamponu destek elektrolitinde Cu(II) iyonları varlığında Cu-hist. kompleksinin farklı derişimlerdeki voltamogramı  
a) 10,0 mL pH 10,0' da B-R tamponu + 0,2 mL  $1 \times 10^{-3}$  M Cu(II) çözeltilisi  
b) a + 0,1 mL  $1 \times 10^{-4}$  M histamin  
c) b + 0,1 mL  $1 \times 10^{-4}$  M histamin  
d) c + 0,1 mL  $1 \times 10^{-4}$  M histamin  
e) d + 0,1 mL  $1 \times 10^{-4}$  M histamin  
f) e + 0,1 mL  $1 \times 10^{-4}$  M histamin  
g) f + 0,1 mL  $1 \times 10^{-4}$  M histamin  
h) g + 0,1 mL  $1 \times 10^{-4}$  M histamin  
i) h + 0,1 mL  $1 \times 10^{-4}$  M histamin

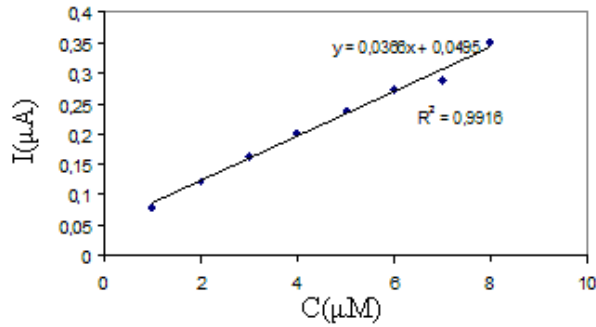
Tablo 5.3. pH 10,0 B-R tamponu destek elektrolitinde Cu(II) iyonları varlığında farklı derişimlerdeki Cu-hist. kompleksinin miktar tayini ( $1 \times 10^{-6}$  M histamin hücrede)

$\bar{X}_{\text{histamin}}$ (M)	s	$\bar{X}_{\text{histamin}} \pm ts/N^{1/2}$	% BSS
$0,92 \times 10^{-6}$	$0,017 \times 10^{-6}$	$(0,92 \pm 0,02) \times 10^{-6}$	1,9

(% 90 Güven Aralığında), N=4

pH 10,0 B-R tamponu ve Cu(II) çözeltisi ortamında hücreye, farklı derişimlerdeki histamin çözeltisinin standart eklemeleriyle  $1 \times 10^{-6}$  M –  $8 \times 10^{-6}$  M aralığında pik akımı ve derişim arasında doğrusal bir ilişki görülmüştür (Şekil 5.6). Bu grafiğe ait denklem Eşitlik 5.1.1 ile verilmiştir.

$$I_p (10^{-6} \text{ A}) = 0,0366 C (10^{-6} \text{ M}) - 0,0495 \quad (R^2 = 0,9916) \quad (n=8) \quad (5.1.1)$$

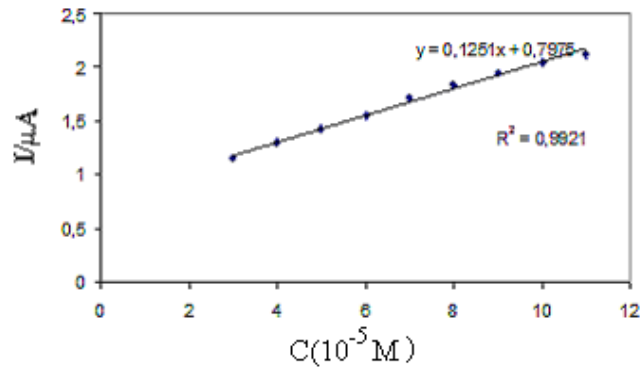


Şekil 5.6. Kalibrasyon grafiği ( $1 \times 10^{-6}$  M –  $8 \times 10^{-6}$  M)

*Kantitatif reaksiyonun gerçekleştiği ortam şartları 2:* 10,0 mL pH 10,0' da B-R tamponu ve 0,2 mL  $1 \times 10^{-2}$  M Cu(II) çözeltisi bulunan elektrolit içine  $1 \times 10^{-3}$  M'lık histamin çözeltilerinden standart ilaveler yapılarak voltamogramlar kaydedilmiş ve Cu-Hist kompleksine ait pik akımlarının orantılı olarak arttığı tespit edilerek kalibrasyon grafiği çizilmiştir. (Şekil 5.7).

pH 10,0 B-R tamponu ve Cu(II) çözeltisi ortamında hücreye, farklı derişimlerdeki histamin çözeltisinin standart eklemeleriyle  $3,0 \times 10^{-5} \text{ M} - 9,0 \times 10^{-5} \text{ M}$  aralığında pik akımı ve derişim arasında doğrusal bir ilişki görülmüştür (Şekil 5.7). Bu grafiğe ait denklem Eşitlik 5.1.2 ile verilmiştir.

$$I_p (10^{-6} \text{ A}) = 0,1251 C (1 \times 10^{-5} \text{ M}) - 0,7975 (R^2 = 0,9921) (n=9) \quad (5.1.2)$$



Şekil 5.7. Kalibrasyon grafiği ( $3 \times 10^{-5} \text{ M} - 9 \times 10^{-5} \text{ M}$ )

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 gözlenebilme sınırı  $0,33 \times 10^{-6} \text{ M}$  ve tayin alt sınırı  $1 \times 10^{-6} \text{ M}$  olarak belirlenmiştir.

## 5.2. Girişim Etkisi

### 5.2.1. Elektroaktif iyonların girişim etkilerinin incelenmesi

Çalışmamızda, histamin tayini için geliştirilen yöntemin seçiciliğini belirlemek amaçlanmıştır. Bu nedenle, balık numunelerinde bulunabilecek  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{Fe}^{+3}$ ,  $\text{Zn}^{+2}$ ,  $\text{Se}^{+4}$ ,  $\text{SO}_3^{-2}$ ,  $\text{Cl}^-$  iyonlarının ve  $\text{Co}^{+2}$ ,  $\text{Ni}^{+2}$ ,  $\text{Pb}^{+2}$ ,  $\text{Cr}^{+3}$ ,  $\text{Cd}^{+2}$ ,  $\text{Hg}^{+2}$ ,  $\text{Mn}^{+2}$ ,  $\text{Al}^{+3}$ ,  $\text{Ba}^{+2}$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$  iyonlarının, histamin tayinine girişim etkileri incelenmiştir.

Girişim etkileri incelenecek iyonların piklerini tespit etmek için, hücreye pH'sı 10,0 olan 10,0 mL B-R tamponu destek elektrolitine 0,2 mL  $1 \times 10^{-3} \text{ M}$  Cu(II) çözeltisi ilave

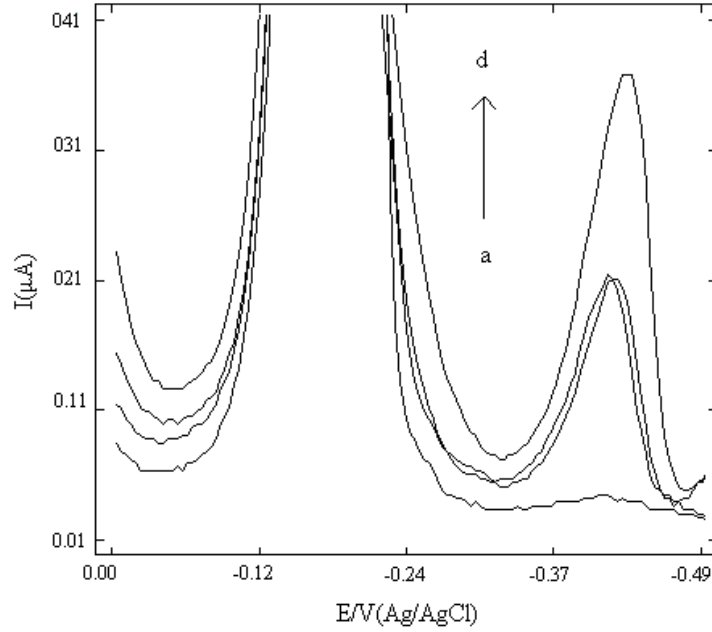
edilmiştir. Sonra 0,2 mL  $1 \times 10^{-4}$  M'lık standart histamin çözeltisinin ardından 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M girişim etkisi incelenecek iyon eklenmiştir. En son standart histamin çözeltisinden 0,2 mL  $1 \times 10^{-4}$  M ilave edilerek geri kazanım hesapları yapılmıştır. Potansiyel aralığı 0 ile (-1950) mV arasında olan ayrı ayrı iyonların voltamogramları kaydedilmiştir.

pH 10,0 B-R tamponu ve Cu(II) çözeltisi ortamında,  $\text{Co}^{+2}$ ,  $\text{Cr}^{+3}$ ,  $\text{Fe}^{+3}$ ,  $\text{Hg}^{+2}$ ,  $\text{Ni}^{+2}$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{Se}^{+4}$ ,  $\text{SO}_3^{-2}$  iyonlarına ait pikler gözlenmemiştir.  $\text{Zn}^{+2}$  (-1000 mV),  $\text{Cd}^{+2}$  (-660 mV),  $\text{Mn}^{+2}$  (-1560 mV) iyonlarına ait pikler belirtilen potansiyelerde kaydedilmiştir. Bu iyonların pik potansiyelleri Cu-Hist. kompleks pikinden daha negatif potansiyellerdedir. Histaminin geri kazanım çalışmaları neticesinde Tablo 5.4'ten de anlaşılacağı gibi Cu-Hist. kompleksinin bu iyonlarla herhangi bir etkileşmesinin olmadığı anlaşılmıştır. Elektroaktif iyonlardan  $\text{Pb}^{+2}$ 'nin histaminle girişimi örnek olarak aşağıda verilmiştir.

Hücreye 0,2 mL  $1 \times 10^{-4}$  M histamin ilavesinden sonra,  $\text{Pb}^{+2}$  ilavesiyle -388 mV' taki Cu-Hist. kompleks pikinin yüksekliğinde herhangi bir değişme olmamıştır (Şekil 5.8). Elde edilen voltamogramlardan  $\text{Pb}^{+2}$  varlığında histaminin geri kazanımı % 104 olarak hesaplanmıştır.

Diğer elektroaktif iyonlar ( $\text{Co}^{+2}$ ,  $\text{Cr}^{+3}$ ,  $\text{Fe}^{+3}$ ,  $\text{Hg}^{+2}$ ,  $\text{Ni}^{+2}$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{SO}_3^{-2}$ ,  $\text{Se}^{+4}$ ,  $\text{Zn}^{+2}$ ,  $\text{Cd}^{+2}$ ,  $\text{Mn}^{+2}$ ) için de aynı deneyler yapılmış ve histaminin geri kazanımları Tablo 5.4' de verilmiştir.



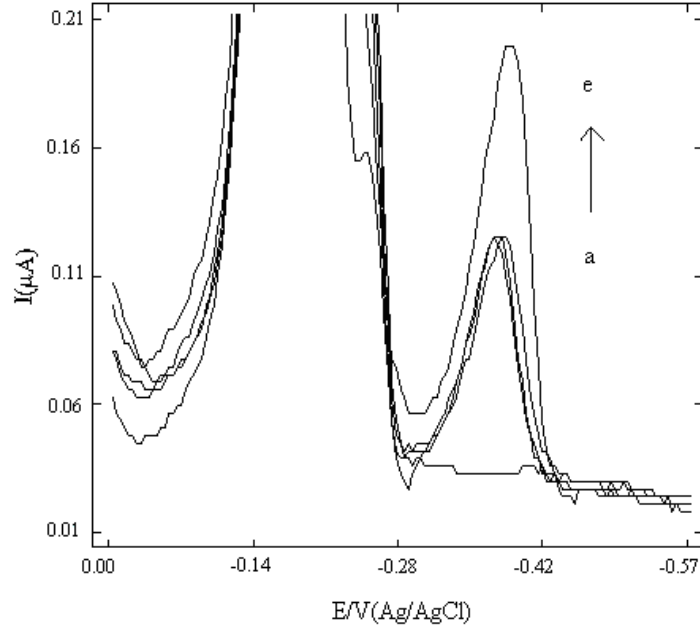


Şekil 5.8.  $Pb^{+2}$  iyonunun histamin tayinine girişim etkisinin incelenmesi  
a) 10,0 mL pH 10,0' da B-R tampon çözeltisi + 0,2 mL  $1 \times 10^{-3}$  M Cu(II) çözeltisi  
b) a + 0,2 mL  $1 \times 10^{-4}$  M histamin  
c) b + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M  $Pb^{+2}$  çözeltisi  
d) c + 0,2 mL  $1 \times 10^{-4}$  M histamin

### 5.2.2. Elektroaktif olmayan iyonların girişim etkilerinin incelenmesi

Bazı elektroaktif iyonların girişim etkileri incelendikten sonra elektroaktif olmayan  $Al^{+3}$ ,  $Ba^{+2}$ ,  $Ca^{+2}$ ,  $Mg^{+2}$ ,  $Cl^-$  ve  $NO_3^-$  iyonlarının da girişim etkileri incelenmiştir. Deneyler elektroaktif iyonların girişim etkilerinin incelenmesinde anlatıldığı gibi yapılmıştır. Şekil 5.9' da örnek olarak  $Cl^-$  iyonu için elde edilen voltamogram verilmiştir.  $Cl^-$  varlığında histaminin geri kazanımı % 100 olarak hesaplanmıştır.

Diğer elektroaktif olmayan iyonlar;  $Al^{+3}$ ,  $Ba^{+2}$ ,  $Ca^{+2}$ ,  $Mg^{+2}$  ve  $NO_3^-$  için de benzer deneyler yapılmış elde edilen voltamogramlardan yararlanılarak, girişim etkisi incelenen iyonun bulunduğu ortamda histaminin geri kazanımı hesaplanmıştır. Bu iyonların da diğer iyonlar da olduğu gibi histaminin indirgenme pikine önemli bir girişim etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Histaminin incelenen iyonlar varlığında geri kazanım sonuçları Tablo 5.4'de verilmiştir.



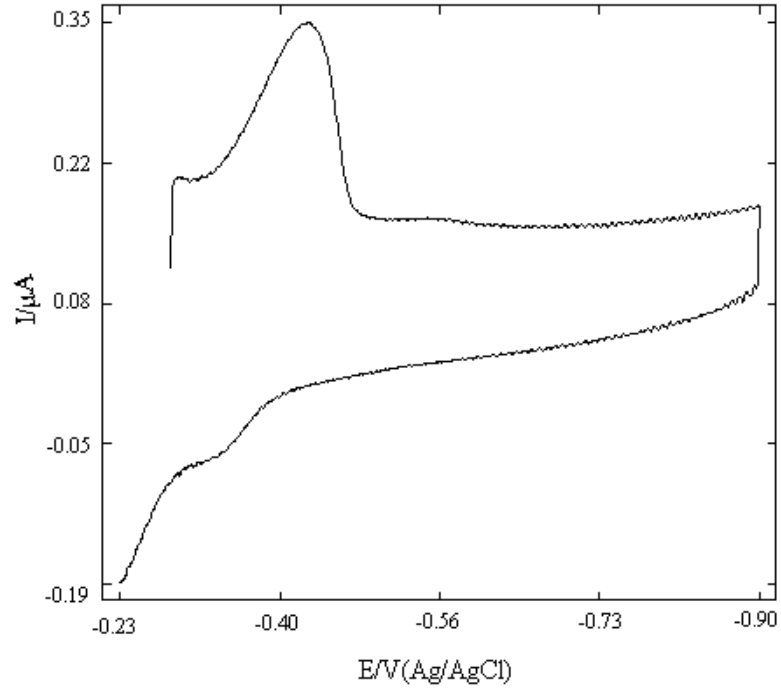
Şekil 5.9. Cl<sup>-</sup> iyonunun histamin tayinine girişim etkisinin incelenmesi  
 a) 10,0 mL pH10,0' da B-R tampon çözeltisi + 0,2 mL 1x10<sup>-3</sup> M Cu(II) çözeltisi  
 b) a + 0,1 mL 1x10<sup>-4</sup> M histamin  
 c) b + 0,05 mL 1x10<sup>-3</sup> M Cl<sup>-</sup> çözeltisi  
 d) c + 0,05 mL 1x10<sup>-3</sup> M Cl<sup>-</sup> çözeltisi  
 e) d + 0,1 mL 1x10<sup>-4</sup> M histamin

Tablo 5.4. 10,0 ml pH 10,0 B-R tamponunda ve 0,2 mL 1x10<sup>-3</sup> M Cu(II) çözeltisinde 1x10<sup>-4</sup> M histamine bazı iyonların girişim etkilerinin incelenmesi

Girişim Etkisi İncelenen İyonlar 0,1 mL 1x10 <sup>-3</sup> M	Histaminin % geri kazanımı	Girişim Etkisi İncelenen İyonlar 0,1 mL 1x10 <sup>-3</sup> M	Histaminin % geri kazanımı
Co <sup>+2</sup>	97	Zn <sup>+2</sup>	96
Cr <sup>+2</sup>	94	Cd <sup>+2</sup>	100
Fe <sup>+3</sup>	97	Mn <sup>+2</sup>	100
Hg <sup>+2</sup>	96	Al <sup>+3</sup>	103
Ni <sup>+2</sup>	100	Ba <sup>+2</sup>	105
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	94	Ca <sup>+2</sup>	93
Se <sup>+4</sup>	100	Mg <sup>+2</sup>	94
SO <sub>3</sub> <sup>-2</sup>	104	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	93
Pb <sup>+2</sup>	104	Cl <sup>-</sup>	100

### 5.3. Histaminin Dönüşümlü Voltametri (DV) Çalışmaları

Histaminin 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 0,2 mL  $1 \times 10^{-3}$  M Cu(II) çözeltisi ilave edilerek voltamogramı alınmıştır. Daha sonra hücreye 0,1 mL  $1 \times 10^{-4}$  M'lık standart histamin çözeltisinden ilaveler yapılarak, histaminin pik akımındaki artışlar takip edilmiştir. Dönüşümlü voltamogramda yapılan çalışmalar sonucunda pik şekillerinin daha belirgin olduğu -236 mV ile -900 mV aralığında potansiyel taraması yapılarak voltamogramlar kaydedilmiştir (Şekil 5.10 ve Şekil 5.11).

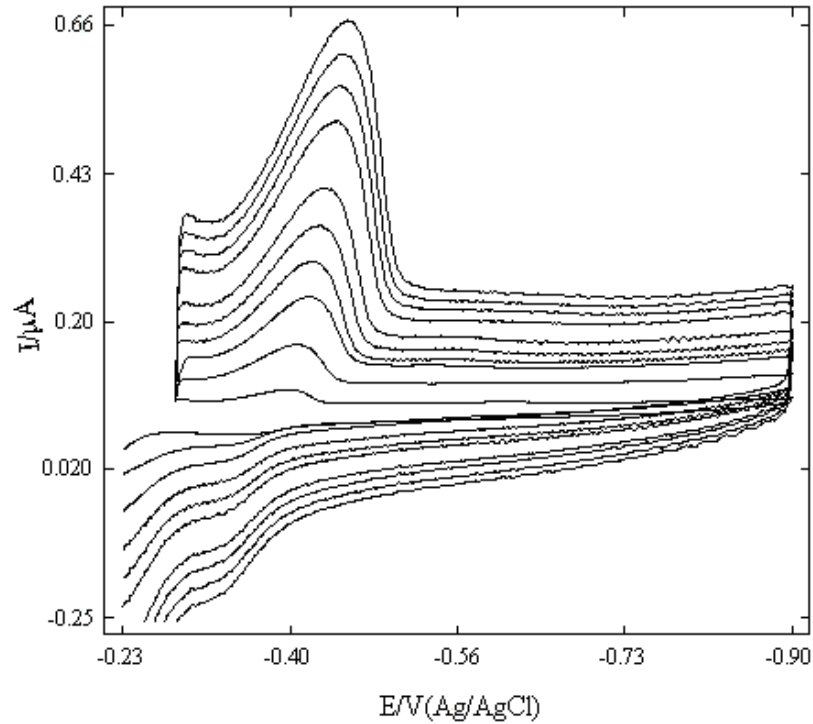


Şekil 5.10. 10,0 mL pH 10,0 B-R tamponunda 0,2 mL  $1 \times 10^{-3}$  M Cu(II) iyonları varlığında 0,6 mL  $1 \times 10^{-4}$  M Cu- hist kompleks pikinin dönüşümlü voltamogramı  
Tarama hızı  $400 \text{ mV s}^{-1}$

pH 10,0 B-R tamponu ve Cu(II) çözeltisindeki dönüşümlü voltamogramında -430,1 mV' ta bir katodik pik, yapılan geri tarama sonucunda da -328,5 mV'ta bir anodik pik kaydedilmiştir. ( Şekil 5.10). Bu pikler histaminin KDSV'sinde - 388 mV'ta kaydedilen pike karşılık gelir.

Tarama hızı ile pik yüksekliğinin değişimi incelendiğinde difüzyon, adsorpsiyon ve elektron aktarımına eşlik eden kimyasal reaksiyonlarla ilgili birçok bilgi edinilebilir. Bu nedenle histaminin pH 10,0 B-R tamponu ve Cu(II) çözeltisi ortamında farklı tarama hızlarında dönüşümlü voltamogramları kaydedilmiştir. Potansiyel taramaları (25 -1000)  $\text{mV s}^{-1}$ 'lik tarama hızı aralığında yapılmıştır (Şekil 5.11).

Histaminin indirgenme pikinin katodik pik akımları, tarama hızı arttıkça artmaktadır, pik potansiyelleri de negatife kaymaktadır (Şekil 5.11). Anodik pik akımları da tarama hızı arttıkça artmaktadır. DV çalışmalarından (Şekil 5.11) elde edilen sonuçlar Tablo 5.5'de verilmiştir.

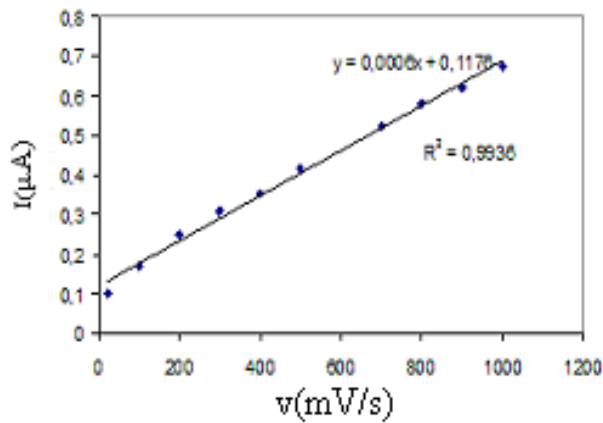


Şekil 5.11. 10,0 mL pH 10,0 B-R tamponunda 0,2 mL  $1 \times 10^{-3}$  M Cu(II) iyonları varlığında 0,6 mL  $1 \times 10^{-4}$  M Cu-hist kompleks pikinin tarama hızı ile değişiminin incelenmesi  
Tarama hızı; 25-1000  $\text{mV s}^{-1}$  aralığında

Tablo 5.5. Dönüşümlü voltametri çalışmalarında tarama hızına karşı elde edilen pik akımları ve pik potansiyelleri

Tarama Hızı (mV/s)	$I_{pk}(\mu A)$	-E <sub>pk</sub> (mV)	$I_{pa}(\mu A)$
25	0,099	397,4	0,034
100	0,168	408,3	0,017
200	0,249	422,8	0,008
300	0,306	424,6	-0,033
400	0,352	430,1	-0,054
500	0,418	437,3	-0,079
700	0,522	448,2	-0,125
800	0,579	453,7	-0,147
900	0,621	455,5	-0,175
1000	0,677	460,9	-0,201

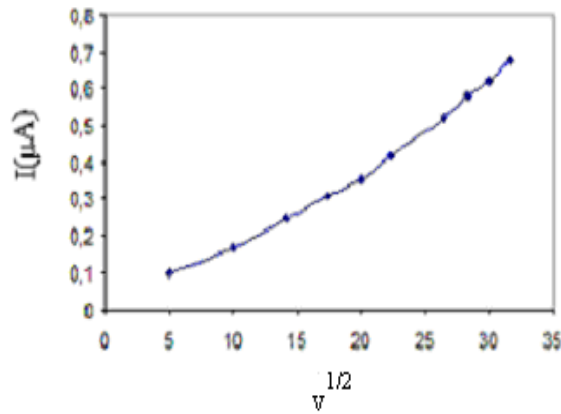
Histaminin indirgenme mekanizmasının difüzyon veya adsorpsiyon kontrollü olup olmadığı yapılan DV çalışmalarıyla anlaşılabilir. Bu nedenle histaminin indirgenme mekanizmasında adsorpsiyonun etkili olup olmadığı araştırılmalıdır. Histaminin dönüşümlü voltamogramında kuvvetli adsorpsiyonun varlığını gösteren 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 5.12. 10,0 mL pH 10,0 B-R tamponunda 0,2 mL  $1 \times 10^{-3}$  M Cu(II) iyonları varlığında 0,6 mL  $1 \times 10^{-4}$  M Cu-hist. kompleks piki akımlarının tarama hızı ile değişiminin incelenmesi

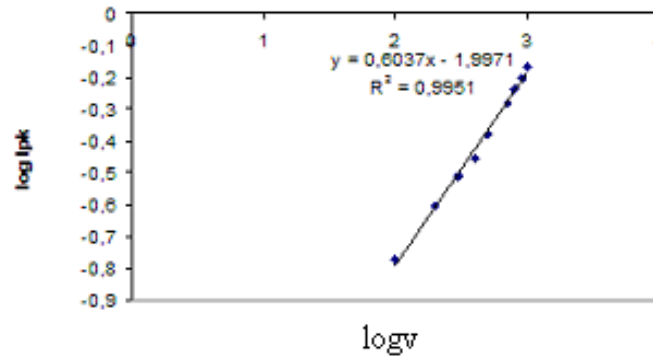
Histaminin pik akımıyla tarama hızı arasında doğrusal bir ilişki görülmektedir (Şekil 5.12). Eşitlik 5.2.1'deki  $R^2$  değeri, doğrusal ilişkinin oldukça yüksek olduğunu göstermektedir.

$$I_{pk} (10^{-6} A) = 0,0006 v (mV/s) + 0,1176 \quad (R^2 = 0,9936) \quad (5.2.1)$$



Şekil 5.13. 10,0 mL pH 10,0 B-R tamponunda 0,2 mL  $1 \times 10^{-3}$  M Cu(II) iyonları varlığında 0,6 mL  $1 \times 10^{-4}$  M Cu-hist. kompleks piki akımlarının tarama hızının karekökü ile değişiminin incelenmesi

25-1000 mV/s aralığında histaminin pikinin  $I_{pk}$  şiddeti ile tarama hızı arasında doğrusal ilişki gözlenirken  $I_{pk}-v^{1/2}$  arasında doğrusal olmayan bir ilişki gözlenmektedir (Şekil 5.13). Ayrıca tarama hızının logaritmasına karşı pik akımının logaritması grafiğe geçirilmiştir (Şekil 5.14) .



Şekil 5.14. 10,0 mL pH 10,0 B-R tamponunda 0,2 mL  $1 \times 10^{-3}$  M Cu(II) iyonları varlığında  $\log v$ 'ye karşı  $\log I_{pk}$ 'nin değişiminin incelenmesi

Histaminin  $\log v - \log I_{pk}$  grafiğinin eğimi 0,6037 olarak bulunmuştur (Şekil 5.14). Bu grafiğın eğiminin 1'e yakın olmaması, 0,5'e yakın olması elektrot reaksiyonunun difüzyon kontrollü olduğunu göstermektedir (Eşitlik 5.2.2).

$$\log I_{pk} (10^{-6} \text{ A}) = 0,6037 \log v(\text{mV/s}) - 1,9971 \quad (R^2 = 0,9951) \quad (5.2.2)$$

DV verilerinden yararlanarak histaminin indirgenme reaksiyonunun tersinirliğı 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. Burada  $n$  aktarılan elektron sayısıdır. Elektrot tepkimesinin tersinirliğı 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 dolayı geri pik tamamen kaybolur [38].

Histaminin KDSV'sinde -388 mV'ta kaydedilen indirgenme piki için, ileri taramada 400 mV/s için -430,1 mV'ta katodik bir pik, geri taramada ise -328,5 mV'ta anodik bir pik elde edilmesi nedeniyle sistem tam tersinmezdir (Tablo 5.5). Bu nedenle sistemin tam tersinmez olduğu düşünölmektedir. İndirgenme mekanizması da tam tersinmez olabilir. Tam tersinmez sistemlerde  $I_{pk}/I_{pa} \neq 1$ 'dir. Histamin için 400 mV tarama hızında  $I_{pa} = 0,35272 \mu\text{A}$  ve  $I_{pk} = -0,0541 \mu\text{A}$  olarak ölçölmüş,  $|I_{pk} / I_{pa}| = 0,15$  olarak bulunmuştur (Tablo 5.5).  $I_{pk}$  ve  $I_{pa}$  birbirine eşit değildir. Tam tersinmez tepkimelerde  $E_{pk}$ ' da,  $v$ 'nin artmasıyla negatif değerlere kayma çok az göröölür. Histaminin 25-1000 mV/s tarama hızı aralığındaki katodik pik potansiyeli -397,4 mV'tan -460, 9 mV' a kadar çok az kaydığı göröölümüştür (Tablo 5.5). Elde edilen bu sonuçlara göre histaminin indirgenme mekanizmasının tam tersinmez olabileceğı düşünölmektedir.

#### 5.4. Biriktirme Süresinin Histamin Tayinine Etkisi

Hücreye 10,0 mL pH 10,0'da B-R tamponu ve 0,2 mL  $1 \times 10^{-3}$  M Cu (II) çözeltisi eklenmiştir. Çözeltinin üzerine 0,2 mL  $1 \times 10^{-4}$  M standart histamin çözeltisinden ard arda ilaveler yapılmıştır. Deneylerde, 10 s olarak alınan biriktirme süresi parametresi

değiştirilerek ölçümler alınmıştır. Biriktirme süresinin etkisi incelenmiştir. Denenen biriktirme süreleri 10-70 s arasındadır. 10 saniyelik biriktirme süresinden sonra akımlarda değişiklik olmadığı tespit edilmiştir. Bunun sonucunda histamin tayini için en iyi biriktirme süresi 10 s olarak belirlenmiştir.

Frekans taramasında, 10,0 mL pH 10,0'da B-R tamponu ve 0,5 mL  $1 \times 10^{-2}$ M Cu(II) çözeltisi içeren hücreye, 0,1 mL balık numunesinin çözeltisinden eklenmiştir. Deneylede, 15 Hz olarak alınan frekans parametresi değiştirilerek ölçümler alınmıştır. Frekansın etkisi incelenmiştir. Denenen frekanslar 25-200 Hz arasındadır. Bunun sonucunda balık numunesindeki histaminin tayini için en iyi frekans 35 Hz olarak tespit edilmiştir.

Aynı şekilde genlik taraması yapılmıştır. Deneylede, 25 mV olarak alınan genlik parametresi değiştirilerek ölçümler alınmıştır. Genlik etkisi incelenmiştir. Denenen genlikler 10-50 mV arasındadır. Bunun sonucunda balık numunesindeki histaminin tayini için en iyi genlik 50 mV olarak tespit edilmiştir.

Kare dalga sıyrma voltametrisi yöntemiyle, balıkta histamin tayini için biriktirme süresi 10 s, frekans 35 Hz ve genlik 50 mV alınarak deneyler yapılmıştır.

## **5.5. Histaminin Çeşitli Balık Numunelerindeki Tayini**

Histamin biyojen bir amin olduğu için, balık ve balık ürünleri gibi gıda maddelerinin depolanması sırasında aminoasitlerin dekarboksilasyonu sonucu oluşmaktadır. Bu nedenle geliştirilen yöntem çeşitli balık numunelerindeki histamin analizine uygulanmıştır.

### **5.5.1. Konserve hamsi balığında histamin tayini**

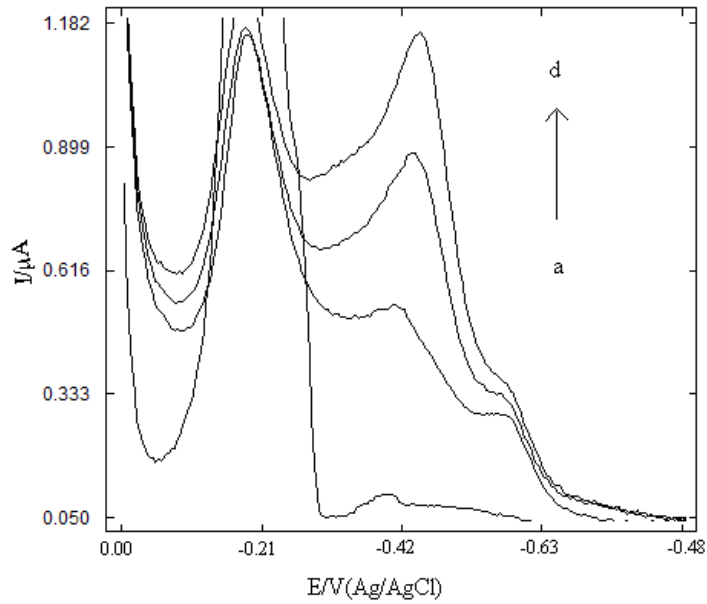
Histaminin tayini için KDSV ile geliştirilen yöntem basit, hızlı ve ucuz olduğu için balık numunelerindeki histaminin hızlı tayini için mükemmel alternatif bir yöntem olarak önerilebilir. Balık numuneleri bir marketten ve üniversitenin araştırma laboratuvarlarından temin edilmiştir. Konserve hamsi balığı, 10 g tartılmıştır. Balığın histamin tayinine hazır hale getirilmesi için, üzerine 40 mL saf su ilave edilmiş ve



oluşan bu karışım blender ile 5 dakika homojenize edilmiştir. Filtre kağıdı ile temiz bir cam behere süzölmüştür. Süzölen bu karışımından tüp içerisine 13 mL alınarak deneyler yapılmıştır.

Balık numuneleri olarak, konserve hamsi balığı, dondurulmuş tinca tinca ve cyprinus carpio balıkları kullanılmıştır. pH'sı 10,0 olan 10,0 mL B-R tamponu ve 0,5 mL  $1 \times 10^{-2}$  M Cu(II) çözeltisi hücreye sırasıyla ilave edilip voltamogramları kaydedilmiştir. Daha sonra hücreye 0,1 mL balık numunesinin çözeltisi ilave edilmiş ve son olarak da 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M standart histamin çözeltisinden iki kez üst üste eklenerek voltamogramları kaydedilmiştir. Şekil 5.15' te konserve hamsi balık numunesindeki histamin tayini için yapılan çalışmadan elde edilen voltamogramlar gösterilmiştir.

Bu çalışma 4 kez tekrarlanmıştır. Deneyler sonucunda konserve hamsi balığındaki histamin miktarları hesaplanmıştır. Denemeler 4 kez tekrarlandığı için balıkta bulunan histamin değerlerinin ortalamaları alınarak Q testi, güven aralığı 90 ve 95 olmak üzere uygulanmış ve balıkta bulunan histamin miktarları içerisinde çok farklı değerlerde olanların ortalamaya katılıp katılmayacağı tespit edilmiştir. Bu sonuca göre hesaplanan histamin miktarlarının hepsinin ortalamaya katılacağına karar verilmiştir. Sonuçlar Tablo 5.6' da verilmiştir.

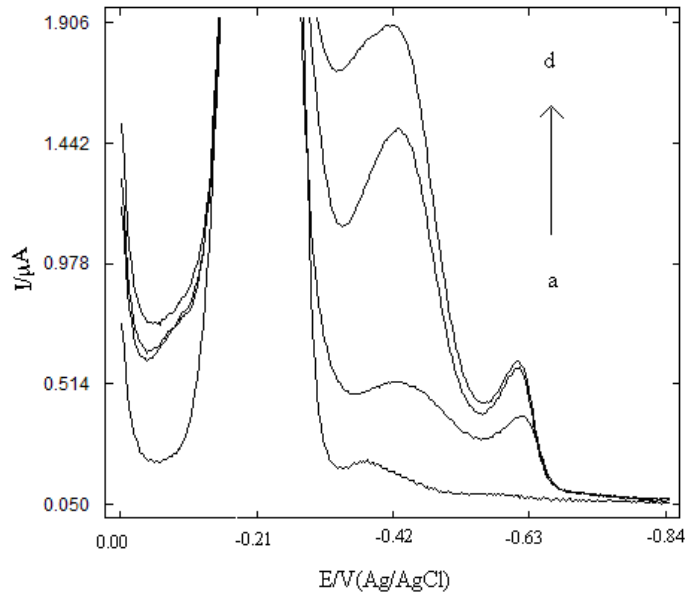


Şekil 5.15. Konserve hamsi balığı numunesindeki histaminin kare dalga sıyırma voltametri ile tayini

- a) 10,0 mL pH 10,0' da B-R tamponu + 0,5 mL  $1 \times 10^{-2}$  M Cu (II) çözeltisi
- b) a + 0,1 mL konserve hamsi balığı çözeltisi
- c) b + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M histamin
- d) c + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M histamin

### 5.5.2. Dondurulmuş tinca tinca balığında histamin tayini

Tinca tinca isimli dondurulmuş balık numunesindeki histamin tayini için önce donmuş balık gecedan ılık bir ortamda sabaha kadar bekletilerek çözülmüştür. Çözülmüş balık derisi ile birlikte 10 g tartılarak, numuneye 40 mL saf su ilave edilmiş ve oluşan bu karışım blender ile 5 dakika homojenize edilmiştir. Filtre kağıdı ile temiz bir cam behere süzölmüştür. Süzölen bu karışımından tüp içerisine 13 mL alınarak deneyler yapılmıştır. pH'sı 10,0 olan B-R tamponuna 0,1 mL  $1 \times 10^{-2}$  M Cu (II) çözeltisinden hücreye ilave edilerek 0,1 mL balık numunesinden eklenmiş ve son olarak 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M standart histamin çözeltisinden iki kere üst üste ilaveler yapılarak voltamogramlar kaydedilmiştir. Şekil 5.16' da dondurulmuş tinca tinca balık numunesindeki histamin tayini için yapılan çalışmalardan elde edilen voltamogramlar gösterilmiştir.



Şekil 5.16. Dondurulmuş tinca tinca balığı numunesindeki histaminin kare dalga sıyırma voltametri ile tayini

- a) 10,0 mL pH 10,0' da B-R tamponu + 0,1 mL  $1 \times 10^{-2}$  M Cu (II) çözeltisi
- b) a + 0,1 mL dondurulmuş tinca tinca balığı çözeltisi
- c) b + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M histamin
- d) c + 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M histamin

Bu çalışma 6 kez tekrarlanmıştır. Deneyler sonucunda dondurulmuş tinca tinca balığındaki histamin miktarı hesaplanmıştır. Denemeler 6 kez tekrarlandığı için balıkta bulunan histamin değerlerinin ortalamaları alınarak Q testi, güven aralığı 90 ve 95 olmak üzere uygulanmış ve balıkta bulunan histamin miktarları içerisinde çok farklı değerlerde olanların ortalamaya katılıp katılmayacağı tespit edilmiştir. Bu sonuca göre hesaplanan histamin miktarlarının hepsinin ortalamaya katılacağına karar verilmiştir. Sonuçlar Tablo 5.6' da verilmiştir.

### **5.5.3. Dondurulmuş cyprinus carpio (sazan) balığında histamin tayini**

Cyprinus carpio (sazan) isimli dondurulmuş balık numunesindeki histamin tayini için önce donmuş balık gecedan ılık bir ortamda sabaha kadar bekletilerek çözülmüştür. Çözülmüş balık derisi ile birlikte- 10 g tartılarak, numuneye 40 mL saf su ilave edilmiş ve oluşan bu karışım blender ile 5 dakika homojenize edilmiştir. Filtre kağıdı ile temiz bir cam behere süzölmüştür. Süzölen bu karışımından tüp içerisine 13 mL alınarak deneyler yapılmıştır. pH'sı 10,0 olan B-R tamponuna 0,1 mL  $1 \times 10^{-2}$  M Cu (II) çözültisinden hücreye ilave edilmiş ve sonra 0,1 mL balık numunesinden eklenerek, bunun üzerine de 0,1 mL  $1 \times 10^{-3}$  M standart histamin çözültisinden iki kere üst üste ilaveler yapılarak voltamogramlar kaydedilmiştir.

Bu çalışmalar 5 kez tekrarlanmıştır. Deneyler sonucunda dondurulmuş cyprinus carpio balığındaki histamin miktarı hesaplanmıştır. Denemeler 5 kez tekrarlandığı için balıkta bulunan histamin değerlerinin ortalamaları alınarak Q testi, güven aralığı 90 ve 95 olmak üzere uygulanmış ve balıkta bulunan histamin miktarları içerisinde çok farklı değerlerde olanların ortalamaya katılıp katılmayacağı tespit edilmiştir. Bu sonuca göre hesaplanan histamin miktarlarının hepsinin ortalamaya katılacağına karar verilmiştir. Sonuçlar Tablo 5.6' da verilmiştir.

Tablo 5.6. Çeşitli balık numunelerindeki histaminin tayini ( güven aralığı % 90)

Balık Çeşitleri	$\bar{X}_{\text{histamin}}$ (mg histamin/100 g balıkta)	s	$\bar{X}_{\text{histamin}} \pm ts/N^{1/2}$	N	% BSS
Konserve Hamsi Balığı	54,64	13,22	54,64 ± 15,53	4	24
Dondurulmuş Tinca Tinca Balığı	18,11	4,08	18,11 ± 3,36	6	23
Dondurulmuş Cyprinus Carpio (Sazan) Balığı	40,9	5,96	40,9 ± 5,68	5	15

## 6. BÖLÜM

### SONUÇLAR

Histamin ile ilgili yapılan çalışmalar özet halinde sırasıyla aşağıda verilmiştir.

Yapılan literatür araştırması sonucunda her hangi bir çalışmada voltametrik histamin tayinine rastlanmamıştır. Bu çalışmada kare dalga sıyırma voltametriyle (KDSV), Cu (II) ortamında histamin tayini için dolaylı bir yöntem geliştirilmiş ve bu yöntem çeşitli balık numunelerine uygulanmıştır. Histaminin elektrokimyasal davranışları KDSV ve DV teknikleri kullanılarak incelenmiştir. Histaminin tayini için farklı destek elektrolitlerde, 0,1 M  $\text{H}_2\text{PO}_4^- - \text{HPO}_4^{2-}$  (pH 6,0 - 7,0), 1,0 M HAc/Ac (pH 6,0 - 8,0), 0,02 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (pH 2,0 - 7,0), 0,02 M  $\text{SO}_4^{2-}$  iyonu (pH 8,0 - 10,0) ve pH 2,0 - 10,0 aralığında B-R tamponunda çalışılmış ve en uygun çalışma ortamı olarak pH 10,0 B-R tamponu ve Cu (II) çözeltisini içeren ortam belirlenmiştir. Histamin tayini için yapılan bu çalışmada Cu-Hist. pikinin pik akımları, histaminin farklı derişimlerinde doğrusal olarak artmış ve pik şekilleri keskin ve dik olarak kaydedilmiştir.

Histamin tayini için pH 10,0 B-R tamponu ve Cu (II) çözeltisi ortamında alınan KDSV'lerde -388 mV'da yeni bir pik kaydedilmiştir (Şekil 5.5). Bu pikin akımları histaminin derişimleriyle doğrusal bir artış gösterdiği ve pik şekilleri keskin olduğu için tayin amaçlı kullanılmıştır. Geliştirilen bu ortamda standart ekleme yöntemi ile histamin tayini gerçekleştirilmiştir. pH 10,0' da B-R tamponu destek elektrolitinde Cu(II) iyonları varlığında farklı derişimlerdeki Cu-hist. kompleksinin miktar tayini  $\bar{X}_{\text{histamin}} \pm t_s/N^{1/2} = (0,92 \pm 0,02) \times 10^{-6}$  (hücrede) ve % BSS 1,9 olarak hesaplanmıştır (Tablo 5.3).

Histaminin destek elektrolitteki tayini için kalibrasyon grafiği çizilmiş ve doğrusal bir grafik elde edilmiştir. Bu doğrusallık histaminin KDSV yöntemiyle tayin edilebileceğini göstermiştir. Gözlenebilme sınırı  $0,33 \times 10^{-6}$  M ve tayin sınırı da  $1,0 \times 10^{-6}$  M olarak hesaplanmıştır. Histamin tayini için geliştirilen yöntemin seçiciliğini belirlemek amacıyla  $\text{Co}^{+2}$ ,  $\text{Cr}^{+2}$ ,  $\text{Fe}^{+3}$ ,  $\text{Hg}^{+2}$ ,  $\text{Ni}^{+2}$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{Se}^{+4}$ ,  $\text{SO}_3^{2-}$ ,  $\text{Pb}^{+2}$ ,  $\text{Zn}^{+2}$ ,  $\text{Cd}^{+2}$ ,  $\text{Mn}^{+2}$ ,  $\text{Al}^{+3}$ ,  $\text{Ba}^{+2}$ ,  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{NO}_3^-$  ve  $\text{Cl}^-$  iyonlarının histamin tayinine girişim etkileri incelenmiştir (Tablo 5.1). İncelenen iyonların varlığında histaminin geri kazanımının %

93,0 - % 105,0 aralığında olduğu belirlenmiştir. Histamin için yüksek geri kazanım değerleri elde edilmiştir. Bu da histaminin tayini için geliştirilen yöntemin seçiciliğinin iyi olduğunu göstermektedir. KDSV ile geliştirilen yöntemin gerçek numunelere uygulamasını kontrol etmek amacıyla, önerilen metot çeşitli balık numunelerine başarılı bir şekilde uygulanmıştır. Bu uygulamalar sonucunda histamin miktarı konserve hamsi balığı için 54,64 mg/100 g balık; dondurulmuş tinca tinca balığı için 18,11 mg/100 g balık ve dondurulmuş cyprinus carpio balığı için 40,9 mg/100 g balık olarak bulunmuştur (Tablo 5.6). Amerika Birleşik Devletleri Gıda Örgütü (FDA), balıklarda 50 mg/100 g histaminden fazla histaminin bulunmasının insan sağlığı için zararlı olabileceğini ilan etmiştir.

Histaminin DV' sinde -388 mV'ta kaydedilen indirgenme piki için, ileri taramada 400 mV/s tarama hızı için -430, 1 mV' ta katodik bir pik, geri taramada ise - 328,5 mV'ta anodik bir pik görülmüştür (Şekil 5.10). Histaminin hızının kareköküne karşı pik akımları (Ip) grafiğe geçirilmiştir. Histaminin Ip ile v arasında doğrusal ilişki gözlenmiştir (Şekil 5.12.). Ayrıca log I – log v grafiği çizilmiş ve grafiğin eğimi 0,6037 olarak bulunmuştur (Şekil 5.14). Bu grafiğin eğiminin 1'e yakın olmaması elektrot reaksiyonunun difüzyon kontrollü olduğunu göstermektedir. DV verilerinden yararlanarak histaminin indirgenme reaksiyonunun tersinirliğini incelemek için tersinirlik testleri uygulanmıştır ve bu testlerin sonuçlarına göre histaminin indirgenme mekanizmasının tam tersinmez olabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak; histaminin tayini için hızlı, kolay, doğru, kesin, duyarlı, seçici ve herhangi bir ayırma işlemine gerek duyulmayan voltametrik bir teknik geliştirilmiş ve bu tekniğin histamin için çeşitli balık örneklerine uygulanabilirliği gösterilmiştir. Bu çalışmada balık numunelerinde bulunan histamin miktarları, toksik düzey olarak kabul edilen 50 mg/ 100 g balık değerinden az veya bu değere yakındır. Geliştirilen yöntemin basit ve hızlı olması nedeniyle kaynaklardaki histamin tayini için geliştirilmiş yöntemlere alternatif bir metot olarak sunulmuştur.

## KAYNAKLAR

1. İnternet: [www.tipedu.cumhuriyet.edu.tr/.../histamin ve antihistaminikler.ppt](http://www.tipedu.cumhuriyet.edu.tr/.../histamin%20ve%20antihistaminikler.ppt)
2. İnternet: N. Kavas, G. Kavas, Süt ve Süt Ürünleri Teknolojisi Ege Üniversitesi, Ege Meslek Yüksekokulu, Bornova, İzmir.  
<http://www.dunyagida.com.tr/yazar.php?id=118nid=2675>.
3. Taylor, S. L., “Histamine food poisoning toxicology and clinical aspect”, *CRC Crit. Rev. Toxicol.*, 17, 91-117, 1986.
4. Veciana-Nogues, M. T., Vidal Carou, M. C., Marina-Font, A., “Histamine and tyramine in preserved and semi-preserved fish products”, *J. Food Sci.*, 54 (6), 1653-1655, 1989.
5. Silla Santos, M. H., “Biogenic amines: their importance in foods” *Int. J. Food Microbiol.*; 29, 213- 31. *Lebensmittelhygiene*, 29, 206-210, 1996.
6. Aygün, O., “Biyojen aminler, süt ve süt ürünlerindeki varlığı ve önemi”, *J. Fac. Vet. Med.*, 22, (1,2,3), 91-95, 2003.
7. İnternet: [http://www.ctf.edu.tr/kbb/seminerler/.../Sistemik % 20 Antihistaminikler\\_tuna.pp..](http://www.ctf.edu.tr/kbb/seminerler/.../Sistemik%20Antihistaminikler_tuna.pp..)
8. Köse, S., Doğu Anadolu Bölgesi II. Su Ürünleri Sempozyumu KTÜ., “Su ürünlerinden kaynaklanan histamin zehirlenmesi ve önemi, Erzurum, 14-16 Haziran, 1995.
9. Söğüt, Ö., Bazı histamin-zn komplekslerinin analitik incelenmesi, *Yüksek Lisans Tezi*, Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, s. 4-5, İzmir, 1992.
10. Yoshida, T., et al., “Determination of histamine in sea food by hydrophilic interaction chromatography/ tandem mass spectrometry”, *Analytical Sciences*, 28 (2), 179-182, 2012.
11. Tahmouzi, S., Khaksar, R., Ghasemiou, M., “Development and validation of an hplc-fld method for rapid determination of histamine in skipjack tuna-fish (*Katsuwonus pelamis*)” *Food Chemistry*, 126 (2) , 756-761, 2011.
12. Jaroslava, S., C., Stojanovic, Z., “Electrocatalytic determination of histamine on a nickel-film glassy carbon electrode” *Elektroanalysis*, 22 (24), 2931-2939, 2010.
13. Patange, S., B., Mukundan, M., K., Ashok K.,K., “A simple and rapid method for colorimetric determination of histamine in fish flesh”, *Food Control*, 16 (5), 465-472, 2005.

14. Hwang, B., S., Hwang, Wang J., T., Choong, Y., M., “ A rapid gas chromatographic method for the determination of histamine in fish and fish products” *Food Chemistry*, 82 (2) , 329-334, 2003.
15. Bolygo E., et al., “Determination of histamine in tomatoes by capillary electrophoresis” *Journal of AOAC International*, 83 (1), 89-94, 2000.
16. Schievano, E., K. Guardini K., Mammis, S., “Fast determination of histamine in cheese by nuclear magnetic resonance (NMR)”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57 (7) , 2647-52, 2009.
17. Özdeştan, Ö., Üren, A., Yeğın, S., Ege Üniversitesi, Müh. Fakültesi, Türkiye 9. Gıda Kongresi, “Şaraplarda Biyojen Aminler”, Bolu, 24- 26 Mayıs 2006.
18. Hünkar, A., Ü., Ekici, K., 19 Mayıs Üniversitesi, Su Ürünleri Fak. Balık İşleme Tek. Bölümü, Türkiye 9. Gıda Kongresi, “Balık Konservelerinde Histamin ve pH Düzeylerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Çalışma”, Bolu, 24-26 Mayıs 2006.
19. Tekinşen, O., C., Yalçın, S., Nizamlıoğlu, M., “Balıkta Muhafaza Süresinin Histamin Miktarına Etkisi”, *S.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 9 (2), 36-37, 1993.
20. Liao B., S., et al., “ Aqueous sulfuric acid as the mobile phase in cation ion chromatography for determination of histamine, putrescine, and cadaverine in fish samples” *Journal of AOAC International*, 94 (2) , 565- 571, 2011.
21. , Behrouz A., A., et al., “Ultrasensitive flow-injection electrochemical method for determination of histamine in tuna fish samples”, *Food Research International*, 43 (4), 1116-1122, 2010.
22. Javanbakht, M., et al., “PVC-based on thiopyrilium derivatives membrane electrodes for determination of histamine”, *Journal of the Chinese Chemical Society*, 54 (6), 1495-1504, 2007.
23. Prestes, D., O., et al., “Development and validation of analytical method for the determination of histamine in wines using high-performance liquid chromatography with fluorescence detection”, *Quimica Nova*, 30 (1), 18-21, 2007.
24. Cinguina, A.,L., et al., “Validation and comparison of analytical method for the determination of histamine in tuna fish samples”, *Journal of Chromatography*, 1032 (1-2), 79-85, 2004.
25. Casella, I., G., Gatta, M., Desimoni, E., “Determination of histamine by high-ph anion- Exchange chromatography with electrochemical detection” *Food Chemistry*, 73 (3), 367-372, 2001.



26. May, S., Sturman, G., Perrett, D., "Determination of histamine in tissues using reversed phase-hplc with post column fluorimetric detection" *Inflammation Research*, 48 (suppl.1), 594-595, 1999.
27. Beil, D., et al., "Determination of histamine and leukotrienes from basophils in cell supernatants by high-performance liquid chromatography" *Journal of Chromatographic Science*, 36 (6), 284-286, 1998.
28. Mahendradatta, M., Schwedt, G., "Determination of histamine in foods by capillary electrophoresis and hplc in comparison" *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 92 (7), 218- 221, 1996.
29. Ramantanis, S., Fassbender, C., P., Wenzel, S., "Fluorometric determination of histamine in dry sausage" *Archiv Fuer Lebensmittelhygiene*, 35 (4), 82-3, 1984.
30. Ginterova, P., et al., "Determination of selected biogenic amines in red wines by automated on-line combination of capillary isotachopheresis-capillary zone electrophoresis" *Journal of Chromatography, B., Analytical Technologies in The Biomedical and Life Sciences*, 904, 135-9, 2012.
31. Peng Qian, He Jixiang, Hang Chongqiu, "A new spectrofluorimetric method for determination of trace amounts histamine in human urine and serum" *Luminescence the Journal of Biological and Chemical Luminescence*, 24 (3), 135-9, 2009.
32. Natividad, G-V., Javier, S., Santiago, H.,C., "Determination of histamine in wines with an on-line pre-column flow derivatization system coupled to high performance liquid chromatography" *The Analyst*, 130 (9), 1286-90, 2005.
33. Aygün, O., et al., "Comparison of elisa and hplc for the determination of histamine in cheese" *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47 (5), 1961-4, 1999.
34. Bolygo, E., et al., "Determination of histamine in tomatoes by capillary electrophoresis" *Journal of AOAC International*, 83 (1), 89-94, 2000.
35. Staruszkiewicz, W., F., Jr., Waldron, E., M., Bond, J., F., "Fluorometric determination of histamine in tuna: development of method" *Journal- Association of Official Analytical Chemists*, 60 (5), 1125-30, 1977.
36. Yazar, Z., "Melamin, siyanürük asit ve ammelinin diferansiyel puls polarografisi ile tayini için yöntem geliştirilmesi ve uygulanması", *Nevşehir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, Nevşehir, 2010.
37. T., Yılmaz, Ü., "Bazı iyonların çeşitli ortamlarda diferansiyel puls polarografisi ile tayini için yöntem geliştirilmesi", *Doktora Tezi*, s. 8-9, *Gazi Üniv.*, Ankara, 2008.

38. Skoog, D.,A., Holler, F., J., West, D., M., Crouch, R., S., “Analytical Chemistry first ed.”, Kılıç E., Yılmaz H., *Bilim Yayıncılık*, s. 665-704, Ankara, 2004.
39. Doğan, M., “K<sub>3</sub> vitamininin diferansiyel puls polarografisi ile tayini için yöntem geliştirilmesi ve uygulanması”, *Yüksek Lisans Tezi*, s. 39, *Gazi Üniv.*, Ankara, 2005.
40. Mikulski, D., et al., “ Experimental and quantum-chemical studies of histamine complexes with copper (II) ion” *Polyhedron*, 31, 285-293, 2012.

## ÖZGEÇMİŞ

Derya İNAN 1972 yılında Ankara'da doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Ankara'da tamamladı. 1996 yılında Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümünden mezun oldu. 1997 yılında Ankara'da özel bir şirkette Kimya Mühendisi olarak iş hayatına başladı. Farklı sektörlerde çalıştıktan sonra 2008 yılında başladığı ve halen çalışmakta olduğu Ticaret Borsası Nevşehir Gıda Tahlil A.Ş.'de Kimya Mühendisi olarak görevini sürdürmektedir. 2011 yılında ise Nevşehir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Bölümü'nde Yüksek lisansa başladı.

Adres: Nevşehir Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü

Tel: 0 384 213 14 11

e - posta: deryainan4@hotmail.com