



Electrochemical determination of ascorbic acid with thermally reduced graphene oxide

Merve Okutan

Department of Chemical Engineering, Hitit University, Çorum, 19030, Turkey

Highlights:

- Graphene was thermally reduced by flash heat treatment
- Functional groups were effectively eliminated when graphene was synthesized
- With the T-rGO modified GCE, AA was determined with $0.3 \mu\text{A mM}^{-1}$ sensitivity

Keywords:

- Flash heat treatment
- Reduced graphene oxide
- Modified Hummers method
- Ascorbic acid
- Glassy carbon electrode

Article Info:

Research Article
Geliş: 11.11.2019
Kabul: 29.02.2020

DOI:

10.17341/gazimmfd.645284

Correspondence:

Author: Merve Okutan
e-mail: mervedeniz@hitit.edu.tr
phone: +90 364 227 4533 / 1381

Graphical/Tabular Abstract

The present work, describe the synthesis of thermally reduced graphene oxide (T-rGO) with high temperature flash heat treatment and its characterization by SEM, XRD, Raman, FTIR, EDX and electrochemistry. The T-rGO and Nafion solution (N117) modified glassy carbon electrode (GCE) was directly used for electrochemical sensing of ascorbic acid (AA) in the phosphate buffer solution (PBS). Electrochemical behavior of the modified GCE was identified by cyclic voltammetry (CV), differential pulse voltammetry (DPV) and amperometric techniques. For this purpose, graphene oxide (GO) was synthesized from the synthetic graphite as starting material using by the modified Hummers method. Then, T-rGO was obtained by reducing GO by applying flash and high temperature thermal treatment in an inert gas environment.

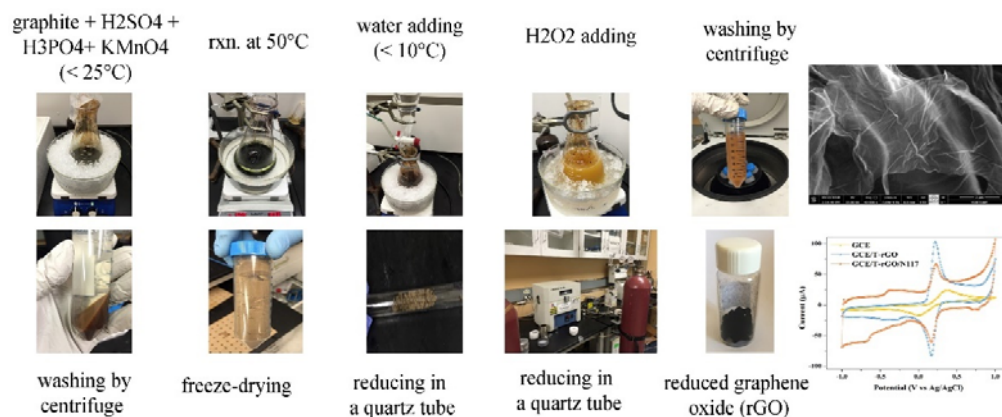


Figure A. Preparation steps of T-rGO from graphite and electrochemical behavior of T-rGO in $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ electrolyte

Purpose: To minimize the presence of oxygen-containing functional groups between the layers after reduction in graphene synthesis. Investigation of the electrochemical performance of synthesized T-rGO and sensitivity against to AA.

Theory and Methods:

Graphene was characterized by scanning electron microscopy (SEM), energy dispersive X-ray spectroscopy (EDAX), fourier transformation infrared (FT-IR) spectroscopy, Raman spectroscopy and X-ray diffraction (XRD) methods to investigate morphology and determine the functional groups in structure. The electrochemical behavior of the glassy carbon electrodes prepared by using T-rGO, in PBS containing AA was investigated by cyclic voltammetry (CV), differential pulse voltammetry (DPV) and amperometric analyzes.

Results:

While GO was thermally reduced, it was found that the C/O ratio decreased as a result of degradation of oxygenated functional groups in the structure and the distance between planes decreased to 0.37 nm. It was determined that the number of layer is about 3.32 for T-rGO according to XRD analysis. According to the results, the prepared GCE/T-rGO electrode exhibited good sensitivity ($0.3 \mu\text{A mM}^{-1}$) and low detection limit ($0.61 \mu\text{M}$) of AA with good reproducibility ($\text{RSD}=6.25\%$, $n=3$) and repeatability ($\text{RSD}=2.14\%$, $n=3$). In addition, the GCE/T-rGO electrode showed good selectivity against the uric acid, dopamine, KCl, NaCl and CaCl_2 .

Conclusion:

T-rGO modified electrode was a sensitive and selective sensor against to AA without requiring no further modification with auxiliary chemicals such as Nafion in consequence of reduction method.



Termal indirgenmiş grafen oksit ile elektrokimyasal olarak askorbik asit tayini

Merve Okutan*

Hitit Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, 19030, Çorum, Türkiye

Ö N E Ç İ K A N L A R

- Grafen, ani termal işlem ile indirgenmiştir
- Grafen sentezlenirken fonksiyonel gruplar etkin şekilde elimine edilmiştir
- T-rGO modifiye GCE ile $0,3 \mu\text{A mM}^{-1}$ hassasiyetle AA tayin edilmiştir

Makale Bilgileri

Araştırma Makalesi

Geliş: 11.11.2019

Kabul: 29.02.2020

DOI:

10.17341/gazimmfd.645284

Anahtar Kelimeler:

Ani termal işlem,
indirgenmiş grafen oksit,
modifiye hummers yöntemi,
askorbik asit,
camı karbon elektrot

ÖZET

Bu çalışma, yüksek sıcaklıkta ani termal işlem ile indirgenmiş grafen oksit (T-rGO) sentezi, SEM, XRD, Raman, FTIR, EDX teknikleriyle karakterizasyon analizi ve elektrokimyasal karakterizasyonu hakkındadır. T-rGO ve Nafion çözeltisi (N117) ile kaplanmış camı karbon elektrot (GCE) doğrudan fosfat tampon çözeltisi (PBS) içerisindeki askorbik asit (AA) varlığının algılanması için kullanılmıştır. Modifiye GCE'nin elektrokimyasal davranışının değerlendirilmesi için dönüşümlü voltametri (CV), diferansiyel puls voltametri (DPV) ve amperometrik tekniklerden yararlanılmıştır. Bu amaçla başlangıç malzemesi olan sentetik grafitten modifiye Hummers yöntemi ile grafen oksit (GO) sentezlenmiştir. Ardından T-rGO, GO'nun inert gaz ortamında ve yüksek sıcaklıkta ani termal işlem uygulanarak indirgenmesi ile elde edilmiştir. XRD analiz verileri kullanılarak yaklaşık 3,32 tabaka sayısına sahip T-rGO sentezlendiği tespit edilmiştir. 5,0 mM AA içeren farklı pH değerlerine sahip (6, 7 ve 8) fosfat tampon çözeltileri (PBS) arasından pH değeri 8 olan çözeltide GCE/T-rGO elektrotu için en belirgin ve yüksek akıma sahip anodik yükseltgenme piki gözlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre hazırlanan GCE/T-rGO elektrotu, AA için yeniden üretilebilirlik (RSD=%6,25, n=3) ve tekrarlanabilirlikle (RSD=%2,14, n=3), yüksek hassasiyete ($0,3 \mu\text{A mM}^{-1}$) ve tayin limitine ($0,61 \mu\text{M}$) sahiptir. Ayrıca, GCE/T-rGO elektrot ürik asit, dopamin, KCl, NaCl ve CaCl_2 'e karşı yüksek seçicilik sergilemiştir. Bu nedenlerle, hazırlanan GCE/T-rGO elektrotların AA molekülünün elektrokimyasal tayininde kullanılabileceği düşünülmektedir.

Electrochemical determination of ascorbic acid with thermally reduced graphene oxide

H I G H L I G H T S

- Graphene was thermally reduced by flash heat treatment
- Functional groups were effectively eliminated when graphene was synthesized
- With the T-rGO modified GCE, AA was determined with $0.3 \mu\text{A mM}^{-1}$ sensitivity

Article Info

Research Article

Received: 11.11.2019

Accepted: 29.02.2020

DOI:

10.17341/gazimmfd.645284

Keywords:

Flash heat treatment,
reduced graphene oxide,
modified hummers method,
ascorbic acid,
glassy carbon electrode

ABSTRACT

The present work, describe the synthesis of thermally reduced graphene oxide (T-rGO) with high temperature flash heat treatment and its characterization by SEM, XRD, Raman, FTIR, EDX and electrochemistry. The T-rGO and Nafion solution (N117) modified glassy carbon electrode (GCE) was directly used for electrochemical sensing of ascorbic acid (AA) in the phosphate buffer solution (PBS). Electrochemical behavior of the modified GCE was identified by cyclic voltammetry (CV), differential pulse voltammetry (DPV) and amperometric techniques. For this purpose, graphene oxide (GO) was synthesized from the synthetic graphite as starting material using by the modified Hummers method. Then, T-rGO was obtained by reducing GO by applying flash and high temperature thermal treatment in an inert gas environment. It was determined that the number of layer is about 3.32 for T-rGO according to XRD analysis. In the PBS with different pH values (6, 7 and 8) containing 5.0 mM AA, the most prominent anodic oxidation peak with high current density was observed for the GCE/T-rGO electrode when the electrolyte pH value was 8. According to the results, the prepared GCE/T-rGO electrode exhibited good sensitivity ($0.3 \mu\text{A mM}^{-1}$) and low detection limit ($0.61 \mu\text{M}$) of AA with good reproducibility (RSD=6.25%, n=3) and repeatability (RSD=2.14%, n=3). In addition, the GCE/T-rGO electrode showed good selectivity against the uric acid, dopamine, KCl, NaCl and CaCl_2 . For these reasons, it is thought that the GCE/T-rGO electrodes can be used for electrochemical determination of AA molecule.

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: mervedeniz@hitit.edu.tr / Tel: +90 364 227 4533 / 1381

1. GİRİŞ (INTRODUCTION)

Grafen eldesi uzun bir tarihe sahip olmakla beraber 2004 yılında Andre Geim ve Konstantin Novoselov'un [1] çalışmaları ile dünya çapında ilgi görür hale gelmiştir. Grafen ve GO, mükemmel elektriksel ve mekanik özellikleri sebebi ile farklı uygulamalarda sıklıkla kullanılmaktadır. Altıgen olarak dizilen karbon atomlarının bal peteği görünümündeki allotropu olarak, karbonun en basit formu şeklinde nitelendirilebilecek olan grafenin sahip olduğu tüm önemli özellikler, iki boyutlu kristalografik doğasından kaynaklanmaktadır [2, 3]. Mekanik ve elektriksel özelliklerinin dışında sahip olduğu yüksek teorik yüzey alanı ($2630 \text{ m}^2/\text{g}$), düşük sıcaklıkta elektronların grafen içerisinde yüksek hızda hareket edebilmesi ($200.000 \text{ cm}^2/\text{V.s}$), yüksek young modülü ($\sim 1 \text{ TPa}$), yüksek termal iletkenliği ($\sim 5000 \text{ W/m.K}$) ve yüksek optik geçirgenliği ($\sim 97,7\%$) gibi özellikler de grafeni farklı uygulamalar için ilgi çekici yapmaktadır [4, 5]. Mikromekanik ayırma, SiC üzerinde epitaksiyel büyüme ve metal yüzeyinde kimyasal buhar biriktirmesi gibi farklı yöntemlerle mükemmel yapı ve özelliklerde grafen elde edilebilmektedir [4]. Bununla birlikte kimyasal yöntem ile elde edilen GO'nun indirgenmesiyle grafen üretimi, yüksek miktarda ve uygun maliyette malzeme hazırlanmasına olanak sağlaması ve kararlı sulu kolloidler oluşturabilme avantajları sebebi ile önem arz etmektedir [6]. GO genellikle Brodie [7], Staudenmaier [8], Hofmann [9], Hummers [10] ve bazı modifiye Hummers yöntemleri ile hazırlanmaktadır. Bu yöntemlerin her biri grafitin yükseltgenme reaksiyonunu ve katmanların ayrılmasını içermektedir. Grafit oksit kimyasal yapısı tam olarak belirlenmemiş olsa da yapının hidrofilik karakterinden sorumlu olan ve birkaç tabaka grafit oksitten oluşan GO'nun, pek çok polar çözücü içerisinde katmanlarına ayrılmasına imkân sağlayan oksijen içeren fonksiyonel gruplara sahip olduğu yaygın bir şekilde kabul edilmektedir. Grafen tabakalarının oluşabilmesi için ise GO'nun indirgenmesi gerekmektedir. Literatürde indirgeyici ajan olarak kimyasal indirgenme [11], termal indirgenme [12], mikrodalga ve foto indirgenme [13], fotokatalitik indirgenme [14], solvo/hidrotermal indirgenme [15] ve elektrokimyasal indirgenme [16, 17] gibi farklı yöntemler rapor edilmiştir. İndirgeme işlemi sonrasında grafen tabakaları arasında kalan oksijen içeren fonksiyonel grupların varlığı, grafenin özelliklerini doğrudan etkilemektedir. Bu nedenle grafen tabakalarını oluşturma süreci yaygın olarak araştırılmaya devam edilmektedir [2, 6]. Bahsi geçen yöntemler kullanılarak elde edilen grafen ise biyosensör/sensörler, fotovoltajik hücreler, kapasitörler, Li-iyon pilleri, şeffaf elektrotlar ve kompozit takviye malzemeleri vb. gibi endüstrinin farklı uygulama alanlarında kullanım imkânı bulmaktadır.

Grafen [18], rGO [19, 20] ve bu iki malzemenin farklı polimer ve inorganik takviyeler [21-23] ile modifiye edilmesiyle hazırlanan karbon temelli elektrotlar, doğrudan biyosensör ve sensör olarak kullanılabilir. Bu sensörler ile askorbik asit, dopamin, ürik asit [21, 24, 25], hidrojen peroksit [23], fenol [26], pestisitler [27], kadmiyum

[28], krom [19] ve platin [29] gibi malzemelerin miktarı belirlenebilmektedir. Camsı karbon gibi farklı yüzeyler üzerine elektrot hazırlamak amacıyla kullanılan toz malzemelerin modifikasyonunda ise elektrot yüzeyinde kararlı tutunma sağlanması, girişimin engellenmesi ve redoks potansiyellerinin çakışmaması gibi sebeplerle kitosan [30], altın [31, 32], platin [21], Nafion [18, 33] gibi çeşitli takviyeler kullanılabilir. Bu çalışmada modifiye Hummers yöntemi aracılığıyla başlangıç malzemesi olan grafitten T-rGO elde edilmesi amaçlanmıştır. Elde edilecek olan malzeme ile elektrot ara yüzey özelliklerinin önemli ölçüde artması beklendiğinden grafen oksitin indirgenmesi için ani termal işlem yöntemi seçilmiştir. Benzer çalışmalardan 1000°C gibi yüksek bir sıcaklıkta çok hızlı şekilde gerçekleşecek olması ile ayrılan yöntem sayesinde daha iyi indirgenme sağlanacağı öngörülmüştür. Grafen, morfolojisi ve yapısındaki fonksiyonel grupların belirlenmesi amacı ile taramalı elektron mikroskobu (SEM), enerji dispersive X-ray spektroskopisi (EDX), fourier dönüşüm kızılötesi (FT-IR) spektroskopisi, Raman spektroskopisi ve X-ışını kırınım (XRD) analizleri ile karakterize edilmiştir. Ayrıca, sentezlenen T-rGO kullanılarak modifiye edilen camsı karbon elektrotların elektrokimyasal davranışının değerlendirilebilmesi için AA içeren PBS elektrolitinde dönüşümlü voltametri (CV), diferansiyel puls voltametri (DPV) ve amperometrik analiz yöntemleri ile elektrokimyasal karakterizasyon gerçekleştirilmiştir.

2. MATERYAL VE METOT (MATERIALS AND METHODS)

2.1. Kimyasallar (Chemicals)

Grafit ($< 20\mu\text{m}$, sentetik), H_2SO_4 (%98), H_3PO_4 (%85), N117 çözeltisi (%5, IPA), $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ($\geq 99,95$), ürik asit ($\geq 99,0$), dopamin hidroklorür (%98) ve L-askorbik asit (%99,7-100,5) Sigma Aldrich; KMnO_4 ($\geq 99,0$), KCl ($\geq 99,0$), NaOH (> 98), CaCl_2 (> 90), NaCl ($> 99,5$) ve H_2O_2 (%30) Merck; KH_2PO_4 (%100) ise Honeywell firmalarından temin edilmiştir. Tüm kimyasal malzemeler ileri bir saflaştırma yapılmadan kullanılmıştır. Elektrokimyasal karakterizasyonda kullanılmak üzere pH değeri 6, 7 ve 8 olan PBS, 0,2 M NaOH ve 0,2 M KH_2PO_4 çözeltilerinin ultra saf su ile belirli oranlarda karıştırılmasıyla elde edilmiştir. AA varlığının elektrokimyasal davranış üzerindeki etkisinin incelenmesi amacıyla, 5,0 mM L-askorbik asit içeren tampon çözeltiler hazırlanmıştır. Bir diğer elektrolit çözeltisi olan $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ ise 5,0 mM $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ tuzunun 0,1 M KCl içerisinde çözülmesi ile elde edilmiştir. Yapılan deneysel çalışmaların tümünde Milli Q Direct Ultra Saf Su sisteminden alınan ve $18,2 \text{ M}\Omega$ direnç değerine sahip su kullanılmıştır.

2.2. İndirgenmiş Grafen Oksit (GO) Sentezi (Reduced Graphene Oxide (GO) Synthesis)

GO, Marcano vd. [34]'nin rapor ettiği çalışma esas alınarak sentezlendikten sonra elde edilen sarı-kahve renkteki

GO'nun termal olarak [35] kısmen indirgenmesi sonucunda T-rGO elde edilmiştir. Sentez adımları Şekil 1'de verildiği gibidir.

2.3. Karakterizasyon (Characterization)

T-rGO'nun morfolojisi FEI/Quanta 450 FEG SEM cihazı ile incelenmiştir. Elementel analiz ise SEM cihazına tümleşik EDX cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Bu analizler Hitit Üniversitesi Bilimsel Teknik Uygulama ve Araştırma Merkezi (HÜBTUAM)'nde yapılmıştır. Raman spektrumları Thermo/DXR Raman cihazı ile (lazer kaynağı 532 nm), FTIR spektrumları ise Thermo Scientific/Nicolet IS50 cihazı ile alınmıştır. Grafit, GO ve T-rGO'nun XRD analizleri Bruker AXS Advance D8 cihazı ile yapılmıştır. Elektrokimyasal davranışın incelenmesi amacı ile farklı pH ortamlarında (pH 6, 7 ve 8 PBS) yapılan CV, DPV ve amperometrik analizler için Ivium CompactStat model potansiyostat kullanılmıştır. Çalışma elektrotu grafiten ve Nafion ile modifiye edilen 3 mm çaplı GCE (CH instrument, CHI104) olup, referans elektrot olarak doygun kalomel elektrot (CH instrument, CHI150) ve karşı elektrot olarak platin tel kullanılmıştır (CH instrument, CHI115). Camsı karbon elektrotun modifikasyonu için 1 mg/mL derişimindeki T-rGO'nun ultra saf su içerisindeki çözeltisi 20 min. boyunca ultrasonik banyoda tutulduktan sonra 10 µL'si GCE üzerine damlatılmış, ortam şartlarında kurumaya bırakılmış ve GCE/T-rGO olarak isimlendirilmiştir. Nafion modifikasyonu için ise aynı elektrot üzerine 5 µL N117 (%0,5 (w/v)) damlatılıp yine ortam şartlarında kurumaya bırakılmış ve GCE/T-rGO/N117 olarak isimlendirilmiştir [18].

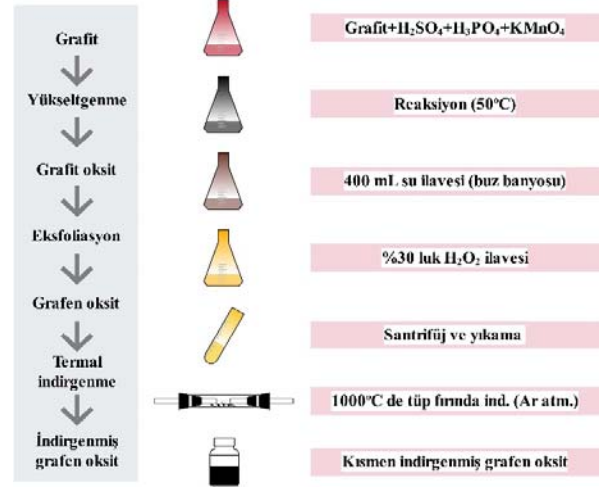
3. SONUÇLAR VE TARTIŞMALAR (RESULTS AND DISCUSSIONS)

3.1. Yapısal Karakterizasyon Bulguları (Findings of Structural Characterization)

Yapılan çalışmada, modifiye Hummers metodu ile grafit, grafit oksite yükseltgenmiş, grafit oksit su içerisinde H₂O₂ ilavesiyle ve manyetik karıştırma altında katmanlarına ayrılarak GO elde edilmiş [36] ve elde edilen GO bir tüp fırın içerisinde Ar gazı atmosferinde 1000°C'lik sıcaklığa maruz bırakılıp indirgenmesi sağlanarak T-rGO elde edilmiştir. Çalışmada kullanılan Hummers metodunun modifikasyonu sülfürik asit (H₂SO₄) içerisine fosforik asit (H₃PO₄) ilavesi ile gerçekleştirilmiştir. Yöntemi geliştiren Marcano vd. [34] geleneksel olanın aksine ortama 1:9 oranında H₃PO₄ ilavesinin bazal düzlemlerde daha az yapısal kusura sahip GO elde edilmesine olanak sağladığını rapor etmişlerdir. Ayrıca zehirli gaz oluşmaması gibi bir avantaja sahip bu yöntem ile tekrarlanabilen büyük miktarlarda malzeme hazırlanabileceği ifade edilmiştir.

GO eldesini takiben yapılan termal indirgenme esnasında, hızlı ısıtma sayesinde GO tabakalarının katmanlarına ayrılması ile grafen elde edildiği literatürde belirtilmektedir. Katmanlara ayrılma mekanizması, esas olarak GO'nun

ısıtılması sırasında grafen tabakalarının arasındaki boşluklarda CO ve CO₂ gazlarının ani genişlemesi şeklinde ilerlemektedir. Hızlı sıcaklık artışı, karbon düzlemi üzerindeki oksijen içeren fonksiyonel grupların, yığılmış tabakalar arasında basınç oluşturan gazlara bozunmasına yol açmaktadır [37, 38].



Şekil 1. Grafitten T-rGO eldesini gösteren akış diyagramı
(Flow chart representing the production of T-rGO from graphite)

XRD analizi kristalin malzemelerin karakterizasyonu amacıyla sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Bu analiz ile tabakalı malzemeler olan grafit, GO ve T-rGO malzemelerinin tabakalar arası uzaklığı ve yapılarında meydana gelen değişim incelenmek istenmiş olup XRD difraktogramları Şekil 2'de verilmiştir. Ayrıca yapının değişimi hakkında bilgi vermesi amacıyla Bragg eşitliğinden (Eş. 1) hesaplanan düzlemler arası mesafe (d) ve Scherrer eşitliği (Eş. 2) kullanılarak hesaplanan kristal büyüklüğü (Dp) yardımı ile bulunan tabaka sayısı (Eş. 3) da Tablo 1'de verilmiştir [39].

$$n \lambda = 2d \sin \theta \quad (1)$$

$$D_p = \frac{K \lambda}{B \cos \theta} \quad (2)$$

$$\text{tabaka sayısı} = \frac{D_p}{d} \quad (3)$$

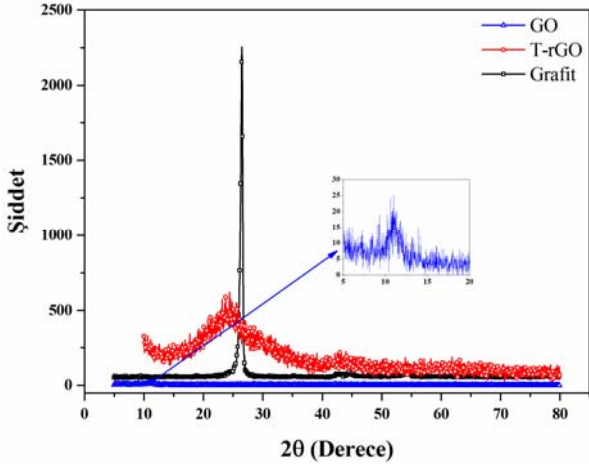
Tablo 1. Grafit, GO ve T-rGO'nun tabakalı yapılarına ait olan ve XRD piklerinden yararlanılarak elde edilen sayısal veriler (Numerical data obtained from XRD peaks belonging to the layered structures of graphite, GO and T-rGO)

Örnekler	2θ (°)	d (nm)	Dp (nm)	Tabaka sayısı
Grafit	26,6	0,34	18,63	54,79
GO	11,3	0,78	10,32	13,23
T-rGO	24,3	0,37	1,23	3,32

Tablo 1'den görüldüğü üzere, grafitin yükseltgenmesi neticesinde yapısına oksijen içeren fonksiyonel grupların eklenmesi ile düzlemler arası mesafe 0,34 nm'den 0,78

nm'ye artmıştır. Benzer şekilde GO'nun indirgenmesi ile yapıdaki bu fonksiyonel grupların kısmen uzaklaşması sonucunda oluşan T-rGO yapısında düzlemler arası mesafenin 0,78 nm'den 0,37 nm'ye düştüğü tespit edilmiştir [40, 41]. Sonuçlar hem indirgenme hem de yükseltgenme işlemlerinin başarı ile gerçekleştiğini göstermektedir. Tablo 1'den, başlangıç malzemesi olarak kullanılan grafitin tabaka sayısının GO ve T-rGO dönüşümleri esnasında yaklaşık 55 değerinden 13 ve 3 değerlerine azaldığı görülmektedir. Bu sonuçlar, grafit yapısının yükseltgenerek GO, GO yapısının da indirgenerek T-rGO elde edildiğini doğrulamaktadır.

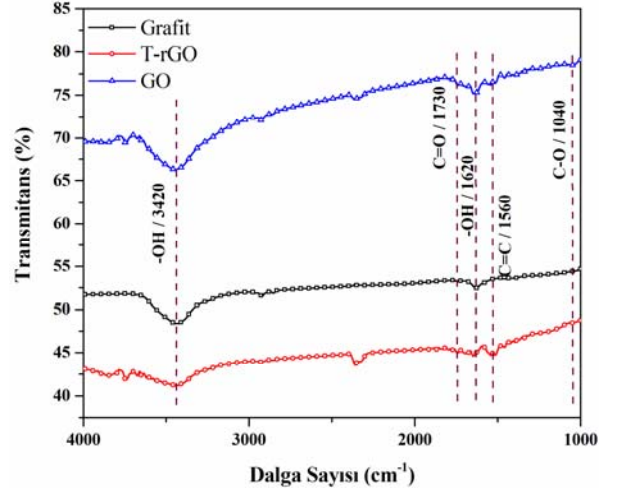
Grafit, GO ve T-rGO'ların XRD paternleri, Şekil 2'de sunulmaktadır. Grafitin XRD difraktogramında (002) yansıma düzlemine karşılık gelen belirgin ve keskin karakteristik piki $2\theta=26,6^\circ$ 'de gözlenmiştir [41, 42]. GO'nun difraktogramı incelendiğinde, grafitin spektrumunda gözlenen bu pikin yerinin GO sentezlendikten sonra $2\theta=11,3^\circ$ 'ye kayarak pikin şiddetinin azaldığı görülmektedir. Ayrıca, GO'ya ait $2\theta=11,3^\circ$ 'deki bu pik daha geniş bölgeler arası boşlukların oluştuğunu göstermektedir [41, 43]. T-rGO'nun XRD difraktogramı incelendiğinde GO'ya ait $2\theta=11,3^\circ$ 'deki pikin kaybolarak yerine $2\theta=24,3^\circ$ 'deki geniş pikin belirdiği görülmektedir. Bu sonuç GO'nun grafene termal işlem boyunca indirgenildiğini göstermektedir [41, 44].



Şekil 2. Grafit, GO ve T-rGO'nun XRD difraktogramları (XRD diffractograms of graphite, GO and T-rGO)

Şekil 3 sırası ile grafit, GO ve T-rGO'ya ait FTIR spektrumlarını göstermektedir. Spektrumlarında her üç malzeme için farklı şiddetlerde ve 3420 cm^{-1} civarında adsorplanmış su moleküllerinin ve yapısal -OH gruplarının varlığını gösteren gerilme titreşimi piki bulunmaktadır. İndirgeme işlemi sonrasında deoksijenasyon nedeniyle T-rGO'ya ait -OH pikinin şiddetinde bir azalma görülmekte, bununla birlikte kısmen indirgenme sebebi ile tamamen kaybolmamaktadır. Ayrıca T-rGO'nun FTIR spektrumunda görülen 1620 cm^{-1} civarındaki pik C=C bağlarına karşılık gelirken, GO'nun FTIR spektrumunda ise aynı pik -OH eğilme titreşimlerine aittir [45]. GO'nun FTIR spektrumunda yer alan 1730 cm^{-1} civarındaki karboksilik asit gruplarına ait

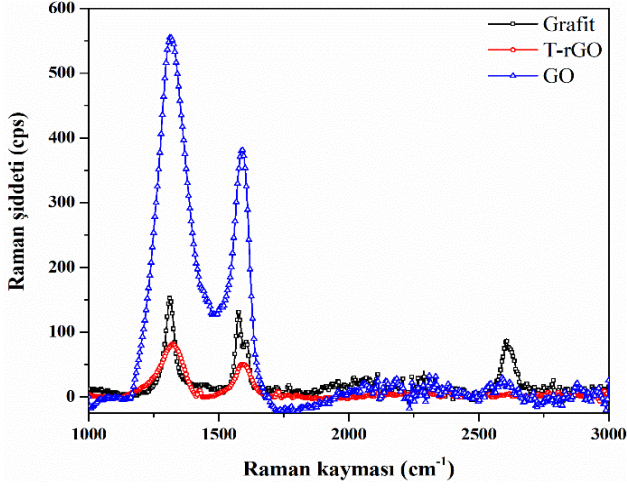
C=O gerilme titreşimi ve 1040 cm^{-1} civarındaki alkoksil gruplarına ait C-O titreşimi [16] yükseltgenme işleminin gerçekleştirilebildiğini göstermektedir. T-rGO için 1560 cm^{-1} civarında görülen benzen halkasına ait pik (C=C) ise indirgenme işleminin gerçekleştiğini doğrulamaktadır [34, 45, 46]. Ayrıca GO'nun T-rGO'ya indirgenmesinden sonra 1730 cm^{-1} civarındaki pik oksijen içeren fonksiyonel grupların yapıdan uzaklaştırılmasından dolayı T-rGO'nun FTIR spektrumunda görülmemektedir [41, 47].



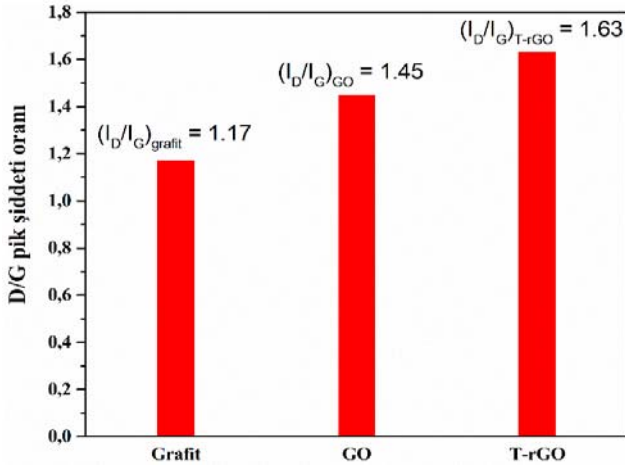
Şekil 3. Grafit, GO ve T-rGO'nun FTIR spektrumları (FTIR spectra of graphite, GO and T-rGO)

Raman spektroskopisi karbon temelli grafit, GO ve T-rGO örnekleri için tabaka yapısı ve kusuru hakkında bilgi sağlayabilmek amacıyla kullanılmıştır. Şekil 4'de örneklerin Raman spektrumları görülmektedir. Raman spektroskopisinde D bandı sp^3 hibritleşmesini ve yapısal kusurun miktarını gösterirken, G bandı sp^2 hibritleşmesini ve daha düzenli/grafitik yapıyı işaret etmektedir. Yani D pikinin yüksek şiddete sahip olması, malzemenin grafit ağına daha fazla kusura sahip olduğunu göstermektedir. G bandının daha belirgin olması ise malzemenin daha kristalin yapıda olduğu anlamını taşımaktadır. Tüm örnekler için D bandının yaklaşık 1350 cm^{-1} ve G bandının yaklaşık 1570 cm^{-1} dalga boylarında olduğu tespit edilmiştir. Şekil 5'de görüldüğü üzere her örnek için I_D/I_G oranları D ve G bandı için belirtilen dalga boylarındaki pik şiddetlerinin grafik üzerinden okunup oranlanmasıyla hesaplanmış, sırasıyla yükseltgenme ve indirgenme işlemleri sonrasında grafite göre daha düzensiz yapıların elde edildiği doğrulanmıştır. Grafen yapısının GO ya göre daha düzenli olması beklenmekle birlikte, T-rGO yapısındaki oksijenli fonksiyonel grupların çıkarılması nedeni ile ortalama sp^2 alanlarının boyutunda bir düşüş olduğu öngörülmektedir [31, 48]. Genel olarak literatürle karşılaştırılabilir sonuçlar elde edilmiştir. Aynı zamanda, literatürde farklı yöntem ve başlangıç malzemeleri kullanılarak sentezlenen grafene ait I_D/I_G pik şiddet oranlarının 0,07 ve 1,64 arasında değiştiği rapor edilmiştir [41, 49-51]. Tablo 2'de verilen ve EDX analizi ile belirlenmiş olan elementel analiz sonuçlarından hesaplanan C/O oranına göre, GO indirgenirken yapısında bulunan

oksijenli fonksiyonel gruplar bozunup ortamdan uzaklaşmıştır. Bunun sonucunda oksijenin yapıdaki oranı azalmış ve grafitik yapının yeniden düzenlenmesi ile C/O oranı artış göstermiştir [52]. Bu sonuç XRD, FTIR ve Raman analizlerini destekler nitelikte olup grafenin elde edilebildiğinin bir diğer kanıtıdır.



Şekil 4. Grafit, GO ve T-rGO'nun Raman spektrumları
(Raman spectra of graphite, GO and T-rGO)



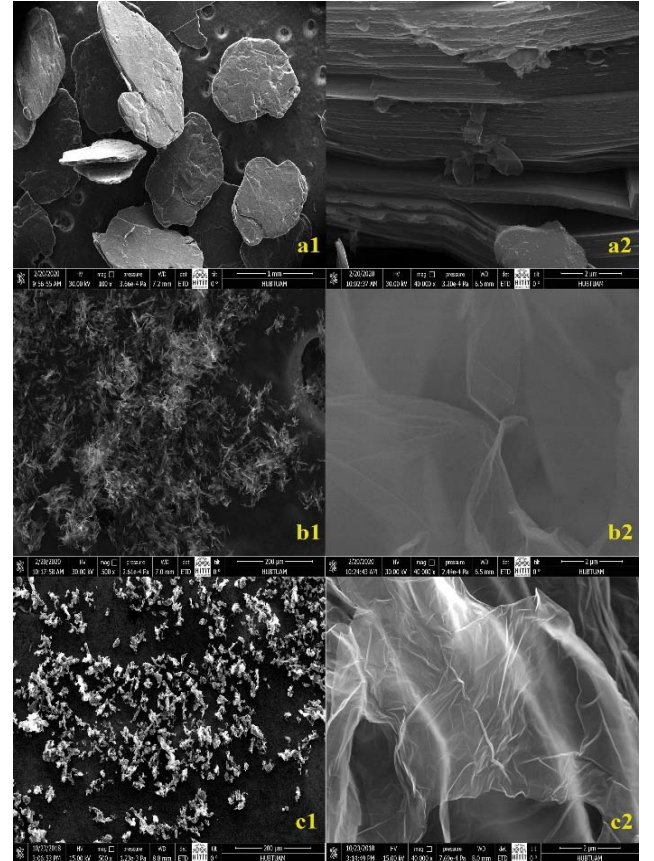
Şekil 5. Grafit, GO ve T-rGO'nun I_D/I_G pik şiddetlerinin oranı
(Ratio of peak intensity of I_D/I_G of graphite, GO and T-rGO)

Tablo 2. GO ve T-rGO'nun elemental analiz sonucuna göre C/O oranları
(C/O ratios according to elemental analysis results of GO and T-rGO)

Örnekler	C%	O%	C/O
GO	51,24	47,44	1,08
T-rGO	86,94	13,06	6,66

Şekil 6'da grafit, GO ve T-rGO'nun farklı büyütmelelerdeki SEM fotoğrafları verilmiştir. SEM mikrografikleri grafit, GO ve T-rGO arasındaki morfoloji farklılıklarını net bir şekilde ortaya koymaktadır. Grafitin Şekil 6a1 ve Şekil 6a2'den görülen SEM fotoğrafları incelendiğinde yapının

pul şeklinde ve çok tabakalı olduğu görülmektedir. Grafitin XRD analiziyle belirlenen tabaka sayısına (54,79) göre sahip olduğu çok tabakalı yapı SEM fotoğrafıyla da desteklenmiştir. Şekil 6a ve Şekil 6b'den görüldüğü üzere grafitin morfolojisi oksidasyon sonrasında değişmiştir. Yapıya oksijenli fonksiyonel grupların girmesiyle grafitin tabakalar arası mesafesi ($d_{\text{grafit}}=0,34$ nm, XRD) artmıştır ($d_{\text{GO}}=0,78$ nm, XRD). Tabakalar arası mesafesi artan ve grafitte göre daha az tabaka sayısına (13,23, XRD) sahip olan GO'nun morfolojisi Şekil 6b'de görülebildiği gibi daha az sıkı görünümdeki kırışık ve tabakalı bir yapıyı işaret etmektedir. Tablo 2'de verilen elemental analiz sonuçları ve SEM sonuçları birlikte değerlendirildiğinde GO tabakaları arasındaki fonksiyonel grupların indirgenme işlemiyle yapıdan uzaklaştığı doğrulanmıştır. GO tabakaları indirgenme etkisiyle eksfoliyeye olmuş ve Şekil 6c'de görülen birkaç tabaka sayısına sahip (3,32, XRD) yine kırışık görümlü ancak daha şeffaf olan T-rGO tabakaları oluşmuştur. Literatürde hem GO hem de T-rGO'da görülen ve kırışık bir çarşafa benzeyen morfoloji, sp^2 ve sp^3 yapıları arasındaki değişimler neticesinde karbon bağları arasında oluşan açılmal gerilmelerin azaltılması ve atomik düzenlemenin kırışık görünüm olarak daha kararlı hale gelmesi şeklinde yorumlanmaktadır [53].

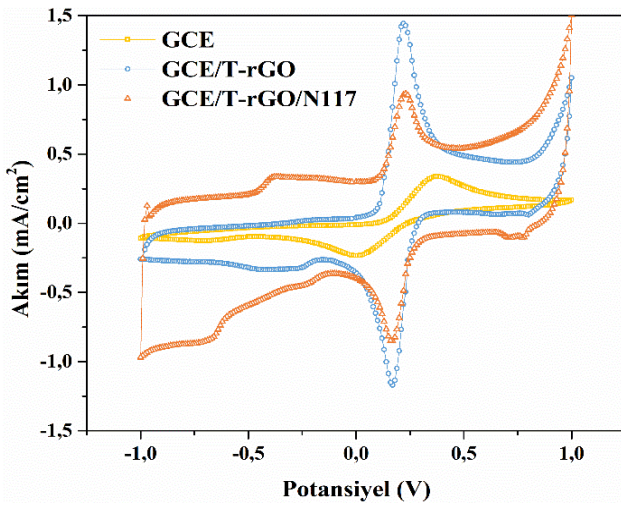


Şekil 6. Grafit (a1) 100 ve (a2) 40.000x, GO (b1) 500 ve (b2) 40.000x, T-rGO'nun (c1) 500 ve (c2) 40.000x büyütmedeki SEM fotoğrafları

(SEM photos of graphite at (a1) 100 and (a2) 40,000x, GO at (b1) 500 and (b2) 40,000x, T-rGO at (c1) 500 and (c2) 40,000x magnification)

3.2. Elektrokimyasal Karakterizasyon Bulguları (Findings of Electrochemical Characterization)

GCE, GCE/T-rGO ve GCE/T-rGO/N117 elektrotlarının elektrokimyasal davranışının incelenmesi amacıyla ilk olarak $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ içeren elektrolit çözeltisinde ve 50 mV/s tarama hızında CV analizi gerçekleştirilmiştir (Şekil 7). Görüldüğü üzere farklı modifiye elektrotların redoks piklerine ait pik potansiyel farkı ($\sim 0,05$ V) boş GCE'nin pik potansiyel farkından ($\sim 0,36$ V) daha düşüktür. Benzer şekilde modifiye elektrotların boş GCE elektrotla karşılaştırıldığında indirgenme ve yükseltgenme pikleri sırası ile $\sim 0,18$ V ve $\sim 0,15$ V daha düşük potansiyelerde ortaya çıkmıştır. Ayrıca $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ pik akımları elektrot modifikasyonu sonrasında anlamlı olarak artmıştır. Sadece grafen ile modifiye edilen GCE/T-rGO elektrotu üzerinden geçen akımın daha fazla olduğu görülmektedir. Elektrokimyasal performansta meydana gelen bu artış T-rGO'nun elektriksel iletkenliği, artan yüzey alanı ve katalitik aktivitesine bağlıdır [30]. Yapısındaki oksijen içeren fonksiyonel gruplar sayesinde sp^3 karbon atomlarına sahip olan GO, elektrolit çözeltisi içerisinde indirgenerek bu oksijenli grupların yapıdan uzaklaşması ile sp^2 karbonlarına sahip yapı oluşmaktadır. Bu durum, karbon-grafen tabakası olarak adlandırılan belirgin elektronik özelliklere sahip yapının oluşmasıyla karbon elektrot/elektrolit ara yüzeyindeki elektron transferini hızlandırmaktadır [18].



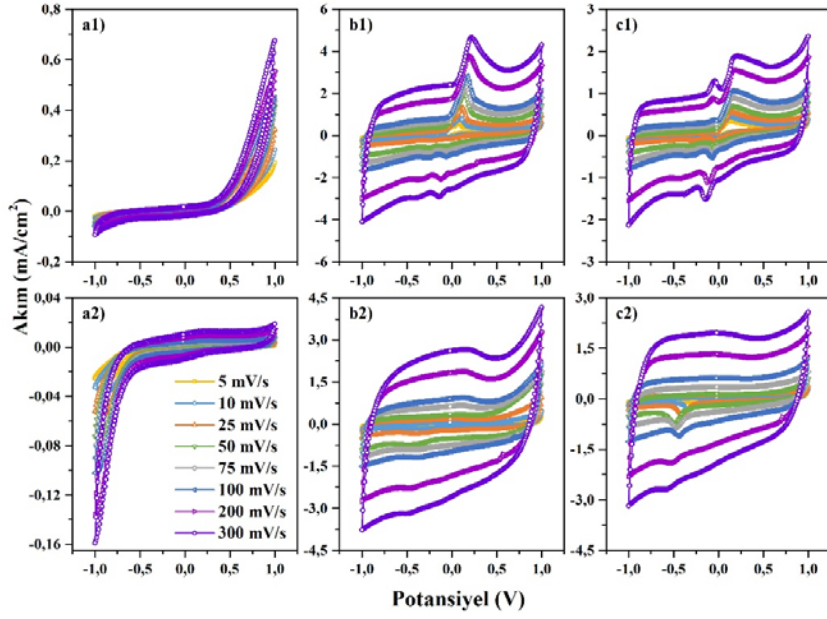
Şekil 7. Boş ve modifiye GCE'ların $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ elektroliti içerisinde, ± 1 V potansiyel aralığında ve 50 mV/s tarama hızındaki CV voltamogramları

(CV voltamograms of bare and modified GCEs in $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ electrolyte, ± 1 V potential range and 50 mV/s scan rate)

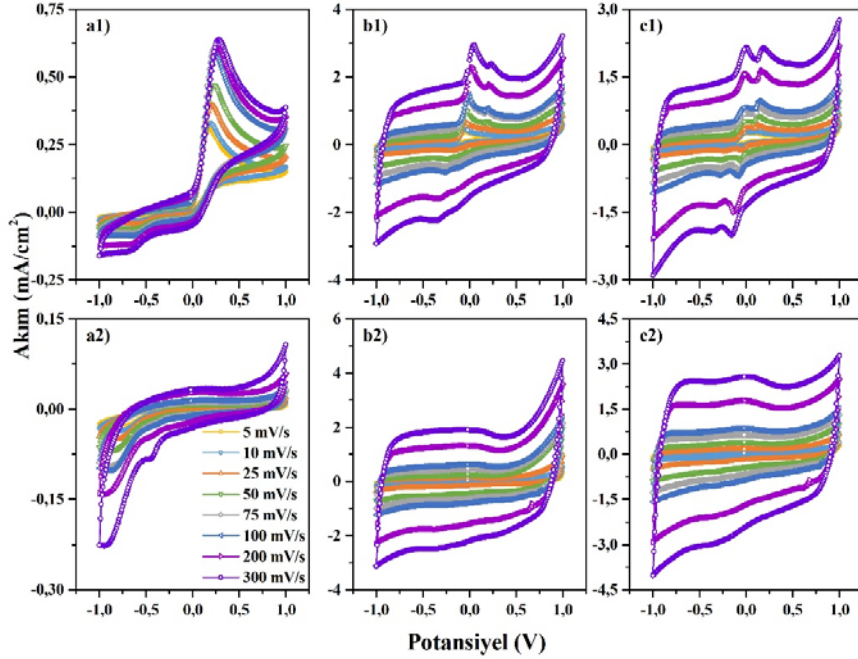
Şekil 8-10'da sırasıyla 6, 7 ve 8 pH değerindeki tampon çözeltileri (AA içeren ve içermeyen) içerisindeki GCE, GCE/T-rGO ve GCE/T-rGO/N117 elektrotlarının farklı tarama hızlarında alınan CV voltamogramları verilmiştir. Görüldüğü üzere tüm voltamogramlarda artan tarama hızına bağlı olarak elektrot üzerinden geçen akım artmıştır. GCE için, AA içermeyen elektrolitte elde edilen voltamogramlarda ve düşük tarama hızlarında belirgin bir

redoks piki gözlenmemiştir. GCE'nin AA içeren elektrolit için elde edilen voltamogramlarında ise AA'dan kaynaklandığı düşünülen yaklaşık olarak 0,3-0,6 V aralığında bir yükseltgenme pikinin varlığı söz konusudur [18, 54, 55]. AA içermeyen elektrolit ortamında, GCE/T-rGO ve GCE/T-rGO/N117 için elde edilen yükseltgenme piklerinin potansiyelleri pH değerine bağlı olarak 0-0,6 V aralığında olup gözlenen pik nispeten geniştir. Modifiye edilmiş elektrotların CV voltamogramlarında görülen geniş redoks piklerinin AA varlığında belirginleştiği, farklı potansiyel ve şiddete sahip redoks piklerinin ortaya çıktığı Şekil 8-10'dan görülmektedir. Yükseltgenme piklerinde, elektrolit ve elektrot türüne göre yaklaşık 0,25 V ve (-0,5) V arasında gerçekleşen potansiyel değişimlerinin elektrot malzemesinin katalitik aktivitesinden kaynaklandığı düşünülmektedir [30]. Ayrıca, GCE/T-rGO elektrotuna ait farklı tarama hızlarında elde edilen piklerin akım şiddetleri Nafion modifikasyonlu olana göre daha yüksektir. Modifiye edilen elektrotlara nazaran, GCE için alınan ölçümlerde elde edilen düşük yükseltgenme piklerinin, GCE'nin düşük elektroaktif yüzey alanına ve düşük elektriksel iletkenliğine bağlı olabileceği değerlendirilmektedir. Genel olarak modifikasyon işleminde ilave Nafion kullanımıyla, AA biyomolekülüne ait anodik pik potansiyelinin düştüğü, elektrot üzerinden geçen akımın da bir miktar azaldığı görülmüştür. Bu durum doğrudan T-rGO üzerine kaplanan ekstra bir tabakanın yük aktarımına karşı bir miktar direnç oluşturduğunu göstermektedir. Literatürde genellikle elektrokimyasal etkinliği artırması sebebiyle (yüksek katyon geçirgenliği, kimyasal inertlik vb.) elektrot modifikasyonunda kullanılan Nafion çözeltisinin bu davranışı çok yaygın olmasa da karşılaşılan bir durumdur. Sun vd. yaptıkları çalışmada Nafion modifiyeli elektrotla daha düşük akım şiddetine sahip geniş pikler elde edildiğini ve bu durumun özellikle seçicilik anlamında ayırım yapmayı zorlaştırdığını rapor etmişlerdir [21].

pH değişimi etkisinin daha iyi görülebilmesi için Şekil 11'de karşılaştırmalı bir voltamogram verilmiştir. Literatürde AA belirleme çalışmalarında genellikle pH değeri 7-7,5 olan PBS kullanılmaktadır [25, 56, 57]. İnsan vücudundaki pH seviyesi serumda 7,35-7,45 arasında ve kanda ise 7,2-7,4 aralığında olduğundan [58], hazırlanan grafen esaslı elektrotun sensör olarak kullanılması durumunda bu alana hizmet vermesi düşünülmüş, genel eğilimi görmek amacı ile pH 6-8 çalışma aralığı seçilmiştir. Elektrolit çözeltisinin pH değerinin 8 olması durumunda, AA molekülüne ait anodik pikin şiddetinin de artarak en yüksek değere ulaştığı görülmektedir. Tüm CV voltamogramlarında görüldüğü üzere sadece AA için değil aynı zamanda $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ elektroliti için de (Şekil 7) N117 destekli elektrot daha düşük akım değerlerinin elde edilmesine neden olmuştur. GCE ve GCE/T-rGO/N117 ile karşılaştırıldığında, GCE/T-rGO elektrotunun elektrokimyasal aktifliğinin daha iyi olduğu (piklerin daha belirgin ve şiddetli olması sebepleriyle) Şekil 11'den görülmektedir. Bu nedenle çalışmanın devamında GCE/T-rGO elektrotunun kullanılmasına karar verilmiştir. Çalışmada pH 8 PBS'nin tercih edilme sebebi, söz konusu elektrolit kullanıldığında meydana gelen akım şiddetindeki



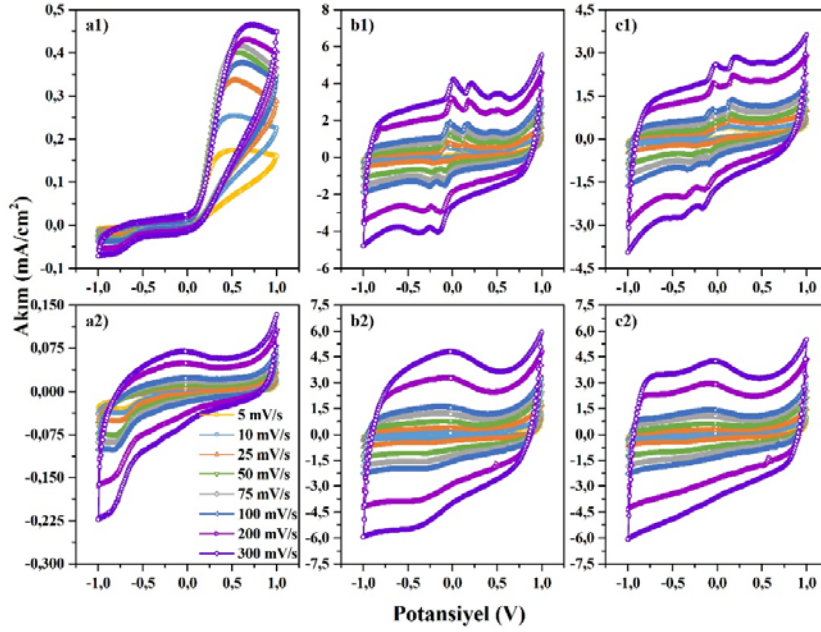
Şekil 8. a1-a2) GCE, b1-b2) GCE/T-rGO, c1-c2) GCE/T-rGO/N117 elektrotlarının sırasıyla 5,0 mM AA içeren (1) ve içermeyen (2) pH 6 PBS'de ± 1 V potansiyel aralığında ve farklı tarama hızlarındaki CV voltamogramları (CV voltamograms at ± 1 V potential range and at different scanning rates of a1-a2) GCE, b1-b2) GCE/T-rGO, c1-c2) GCE/T-rGO/N117 electrodes contain (1) and not contain (2) 5.0 mM AA in pH 6 PBS, respectively)



Şekil 9. a1-a2) GCE, b1-b2) GCE/T-rGO, c1-c2) GCE/T-rGO/N117 elektrotlarının sırasıyla 5,0 mM AA içeren (1) ve içermeyen (2) pH 7 PBS'de ± 1 V potansiyel aralığında ve farklı tarama hızlarındaki CV voltamogramları (CV voltamograms at ± 1 V potential range and at different scanning rates of a1-a2) GCE, b1-b2) GCE/T-rGO, c1-c2) GCE/T-rGO/N117 electrodes contain (1) and not contain (2) 5.0 mM AA in pH 7 PBS, respectively)

artışın AA varlığını daha net göstereceği düşüncesidir. Sonuç olarak GCE/T-rGO elektrotunun pH 8 PBS elektroliti içerisinde yüksek iletkenlik ve düşük yük transfer direnci ile en iyi performansa sahip olduğuna karar verilmiştir. Bilindiği gibi karbon türevi malzemelerin elektrokimyasal

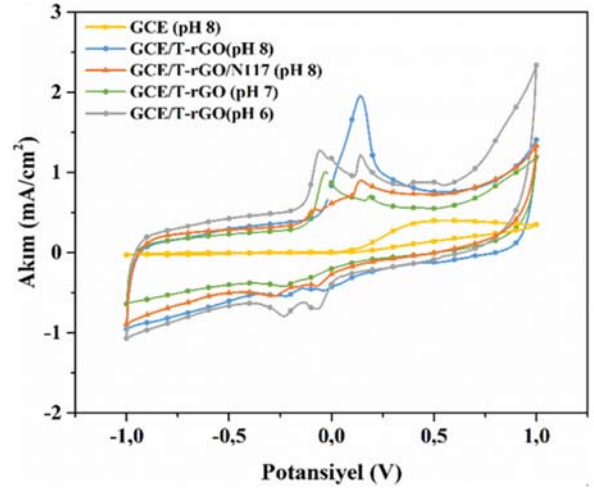
özellikleri, yapı ve morfoloji ile yakından ilişkilidir. T-rGO, sp^2 hibritleşmesine sahip karbon atomlarından oluşan yapısı içerisinde daha az delokalize olan ve yapı boyunca kolayca hareket eden elektronlar sayesinde Şekil 7-11'de görülen yüksek akım yoğunluklu pikleri oluşturmaktadır. Yapılan



Şekil 10. a1-a2) GCE, b1-b2) GCE/T-rGO, c1-c2) GCE/T-rGO/N117 elektrotlarının sırasıyla 5,0 mM AA içeren (1) ve içermeyen (2) pH 8 PBS’de ± 1 V potansiyel aralığında ve farklı tarama hızlarındaki CV voltamogramları (CV voltamograms at ± 1 V potential range and at different scanning rates of a1-a2) GCE, b1-b2) GCE/T-rGO, c1-c2) GCE/T-rGO/N117 electrodes contain (1) and not contain (2) 5.0 mM AA in pH 8 PBS, respectively)

çalışmada AA varlığında, nötral ve nötrale yakın pH değerlerinde T-rGO’nun elektrokimyasal davranışının değişimi başarıyla ortaya konulmuştur. Aslında, literatürde kimyasal sentezle hazırlanan grafenin yapısında çeşitli indirgenme-yükseltgenme ajanları ve asitler gibi katkılardan dolayı saflaştırma ile uzaklaştırılmayan kirlilikler bulunduğu ve bu kirliliklerin de sensör uygulamalarında dezavantaj teşkil edeceği belirtilmiştir [59]. Daha spesifik olarak kimyasal yöntemle sentezlenen grafenin yüzeyindeki oksijen içeren bazı fonksiyonel gruplar nedeniyle negatif yüklendiği, PBS içerisindeki negatif yüklü AA ($pK_a=4,1$) ile elektrostatik itme kuvveti söz konusu olduğu ve dolayısıyla da AA tayini için hassasiyetin azaldığı ifade edilmektedir [55, 60]. Bu çalışmada, kimyasal yolla sentezlenen GO’dan elde edilmesine rağmen, GO’nun yüksek sıcaklıkta ve kısa sürede termal yöntemle indirgenmesi sayesinde hazırlanan grafen ile modifiye edilen elektrotlar farklı pH değerlerindeki PBS içerisinde belirli bir yükseltgenme davranışı sergilemişlerdir (Şekil 11). Elektrokimyasal sonuçlar, çalışma boyunca yapılan karakterizasyon analizlerine ve literatür desteğine [3, 21, 61-63] ek olarak oksijenli fonksiyonel grupların ortamdan başarıyla uzaklaştırılabildiğini göstermiştir.

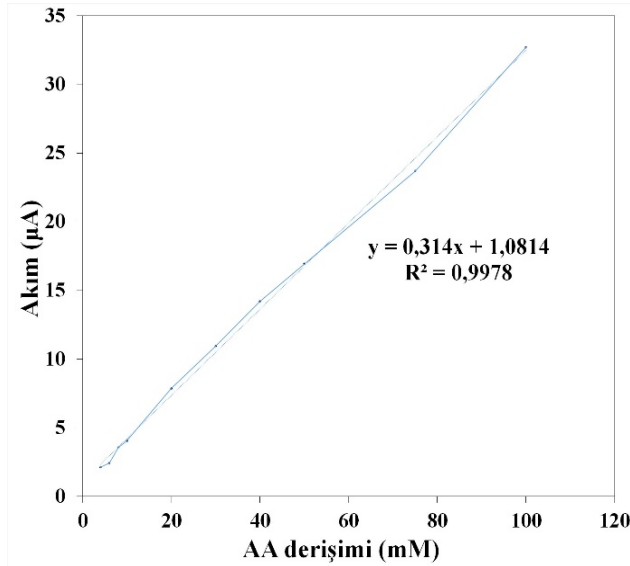
Çalışma kapsamında elektrokimyasal davranışın incelenmesine ek olarak GCE/T-rGO elektrotunun tekrarlanabilirliği ve yeniden üretilebilirliği DPV ile incelenmiştir. 4 mM AA varlığında yapılan tekrarlanabilirlik ve yeniden üretilebilirlik çalışmalarında aynı elektrot ile yapılan çalışmalarda tekrarlanabilirlik (%RSD) %2,14 ($n=3$), farklı elektrotlarla yapılan çalışmalarda ise yeniden üretilebilirlik (%RSD) %6,25 ($n=3$) olarak belirlenmiştir.



Şekil 11. Boş ve modifiye GCE’lerin farklı pH değerlerindeki 5,0 mM AA içeren PBS içerisinde, ± 1 V potansiyel aralığında ve 50 mV/s tarama hızındaki CV voltamogramları (CV voltamograms of bare and modified GCEs in PBS containing 5.0 mM AA at different pH values, ± 1 V potential range and 50 mV/s scanning rate)

GCE/T-rGO elektrotunun farklı derişimlerde AA içeren pH 8 PBS’de yapılan DPV analizi sonucunda elde edilen anodik pik akımlarının AA derişimi ile derişimi Şekil 12’de verilmiştir. Görüldüğü üzere kalibrasyon doğrusunun çizildiği 4,0-100,0 mM AA derişimi aralığında pik akımları doğrusal olarak artmaktadır ve hassaslık değeri [64] $0,3 \mu\text{A mM}^{-1}$ ’dir. Yine bu aralıkta tayin limiti (LOD, $S/N=3$) $0,61 \mu\text{M}$, tayin miktarı (LOQ, $S/N=10$) ise $2,02 \mu\text{M}$ olarak

belirlenmiştir. Literatürle karşılaştırıldığında Liao vd. [18] sentezledikleri grafen ve ticari Nafion ile modifiye ettikleri GCE'yi kullanarak AA tayini yapmışlar ve Nafion katkısının elektrotun davranışına pozitif yönde etkisinin olduğunu raporlamışlardır. Ancak elde ettikleri LOD (0,01 mM) ve tekrarlanabilirlik (RSD=%3,5) değerleri bu çalışmadan daha zayıftır. Bu durumun farklı pH ortamında çalışılıyor olmasından ve grafenin yapısından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

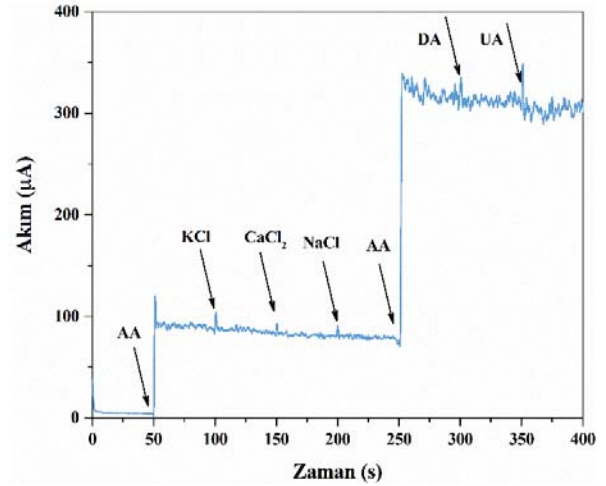


Şekil 12. T-rGO modifiye GCE'nin AA için kalibrasyon doğrusu (pH 8 PBS)

(Calibration curve of T-rGO modified GCE to AA (pH 8 PBS))

Askorbik asitin, kendisi ile aynı ortamda bulunma olasılığı olan yaygın organik ve inorganik bileşenlerden bir kaçına (ürik asit (UA), dopamin (DA), KCl, CaCl₂ ve NaCl) karşı seçicilik davranışı amperometrik yöntemle incelenmiştir. Bir biyolojik örnek içerisinde bu gibi bileşenlerin bulunması AA sinyalinin engelleyebilir. Şekil 13'de, pH 8 PBS içerisine

sırasıyla 20 mM AA, 25 mM UA, 0,25 mM DA, 100 mM KCl, 100 mM CaCl₂, 100 mM NaCl ve 75 mM AA eklenmesi durumunda GCE/T-rGO'nun amperometrik cevabı verilmiştir. AA dışındaki bileşenlerde herhangi bir akım değişimi görülmemiştir. Bu durum hazırlanan GCE/T-rGO elektrotunun AA'ya karşı seçici olduğunu göstermektedir.



Şekil 13. GCE/T-rGO elektrotun 20 mM AA, 100 mM KCl, 100 mM CaCl₂, 100 mM NaCl, 75 mM AA, 0,25 mM DA ve 25 mM UA'ya karşı amperometrik cevabı (pH 8 PBS)

(Amperometric response of GCE/T-rGO electrode against to 20 mM AA, 100 mM KCl, 100 mM CaCl₂, 100 mM NaCl, 75 mM AA, 0,25 mM DA and 25 mM UA (pH 8 PBS))

4. SONUÇLAR (CONCLUSIONS)

Bu çalışmada, modifiye Hummers metodu kullanılarak GO ve GO'nun termal indirgenmesiyle T-rGO başarılı bir şekilde sentezlenmiş olup yapılan karakterizasyonlarla bu sonuç doğrulanmıştır. Bu sonuçlara göre, grafitin Raman spektrumunda yaklaşık 1560 cm⁻¹ dalga boyunda yer alan

Tablo 3. AA sensörlerinin karşılaştırılması (Comparison of AA sensors)

Elektrot	Doğ. Aralık (mM)	LOD (mM)	Hassasiyet (µA mM ⁻¹)	Kaynak
GCE/T-rGO	4-100	0,00061	0,3	Bu çalışma
Nafion/rGO/GCE	0,1-100	0,01	-	[18]
MCPE ¹	0,0025-0,0625	0,00029	35,3	[24]
GO-PANI/GOD ²	0,59-9,15	0,24	36,11	[65]
G/Pt/GC ³	0,00015-0,0344	0,00015	345,7	[21]
PdNPs-GO ⁴	0,02-2,28	-	6,148	[66]
GEF/GCE ⁵	0,073-2,31	24,7	-	[67]
RGO/AuNPs ⁶	-	0,0057	3,1	[31]
PG/GCE ⁷	0,009-2,314	0,00645	66,74	[55]

¹Modifiye karbon pasta elektrot,

²Grafen oksit-polianilin/glukoz oksidaz modifiye elektrot,

³Grafen/Platin/camsı karbon elektrot,

⁴Palladyum destekli grafen oksit modifiye elektrot,

⁵Grafen modifiyeli karbon fiber elektrot,

⁶İndirgenmiş grafen oksit/altın nanoparçacık modifiye elektrot,

⁷saf grafen modifiye camsı karbon elektrot

G bandına ait piki ile XRD difraktogramındaki 26,6°'deki piki birlikte değerlendirildiğinde yapının sp² hibritleşmesine sahip olduğu ve kristalin yapının varlığı kanıtlanmaktadır. FTIR analizi ise bu sonuçları grafit yapısı üzerindeki fonksiyonel grupları tanımlayarak desteklemektedir. Benzer şekilde, grafit tabakaları arasına giren oksijenli fonksiyonel grupların düzlemler arası d mesafesini (XRD), I_D/I_G oranını (Raman) ve FTIR spektrumundan gözlenen oksijenli fonksiyonel grupların pik şiddetlerini artırması, grafitin GO'ya yükseltgenmesini doğrulamaktadır. SEM fotoğraflarından ise grafit morfolojisinin GO sentezi sonrası tamamen değiştiği görülmüştür. GO, T-rGO'ya indirgenirken FTIR spektrumunda gözlenen pik şiddetlerindeki azalma ve oksijenli grupların yapıdan uzaklaştırılması ile yapının daha geniş bir XRD paterni sergilemesi de T-rGO oluşumunun bir göstergesidir. SEM görüntüleri de termal indirgenme sonrası GO'ya nazaran daha küçük ve ince tabakalı bir yapının elde edildiğini göstermektedir. T-rGO'nun nötrale yakın pH değerlerindeki elektrokimyasal hücrelerde elektrot olarak kullanılması durumunda, suda çözünebilir bir vitamin ve canlı yaşamı için önemli bir yapı maddesi olan AA'nın yükseltgenme davranışı CV, DPV ve amperometrik tekniklerle incelenmiştir. Elde edilen sonuçlardan görüldüğü üzere 4-100 mM derişim aralığında grafen esaslı modifiye GCE ile 0,3 µA mM⁻¹ hassasiyet ve 0,61 µM tayin limitinde AA belirlenmesi mümkündür. Çalışma kapsamında hazırlanan GCE/T-rGO modifiye elektrotunun, yüksek tekrarlanabilirlik (RSD=%2,14), yeniden üretilebilirlik (RSD=%6,25) ve seçicilik gibi üstün özelliklere sahip olduğu görülmektedir. Ayrıca, elde edilen sonuçlar Tablo 3'de literatürle karşılaştırmalı olarak verilmiştir.

Tablo 3'de verilen örneklerde olduğu gibi, literatürde yapılan sensör/biyosensör çalışmaları, genellikle çok sayıda aktif bileşen içeren ortamlardan, bir veya daha fazla maddenin seçici tayinine yöneliktir. Yapılan bu çalışmada, genellikle pil ve kapasitör gibi uygulamalarda kullanımı tercih edilen, termal indirgenme yöntemiyle elde edilmiş grafenin, AA sensörü olarak elektrokimyasal yanıtının incelenmesi amaçlandığından, GCE sadece grafen ve bağlayıcı olarak Nafion ile modifiye edilmiştir. Literatürden farklı olarak kısa sürede termal indirgenme yöntemiyle grafen sentezlenmiş olmasının yanı sıra bu çalışmada zararlı indirgenme ajanları kullanılmamış ve uzun modifikasyonlar yapılmamıştır. Ayrıca bu çalışmada elde edilen sonuçlara ulaşmak için yapıya Tablo 3'de görülen Pt, PANi, Pd vb. ek bileşenler ilave edilmeden literatürle karşılaştırılabilir tayin limitine, hassasiyete ve tekrarlanabilirliğe sahip AA sensörü hazırlanmıştır. Bu nedenlerle sonuçların, olası sentez ve biyosensör uygulamalarına katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR (REFERENCES)

- Novoselov K.S., Geim A.K., Morozov S. V., Jiang D., Zhang Y., Dubonos S. V., Grigorieva I. V., Firsov A.A., Electric field effect in atomically thin carbon films, *Science*, 306, 666-669, 2004.
- Chee W.K., Lim H.N., Huang N.M., Harrison I., Nanocomposites of graphene/polymers: a review, *RSC Adv.*, 5, 68014-68051, 2015.
- Shams S.S., Zhang R., Zhu J., Graphene synthesis: a review, *Mater. Sci. Pol.*, 33 (3), 566-578, 2015.
- Zhu Y., Murali S., Cai W., Li X., Suk J.W., Potts J.R., Ruoff R.S., Graphene and graphene oxide: synthesis, properties, and applications, *Adv. Mater.*, 22 (35), 3906-3924, 2010.
- Johra F.T., Lee J.W., Jung W.G., Facile and safe graphene preparation on solution based platform, *J. Ind. Eng. Chem.* 20, 2883-2887, 2014.
- Singh R.K., Kumar R., Singh D.P., Graphene oxide: strategies for synthesis, reduction and frontier applications, *RSC Adv.*, 6, 64993-65011, 2016.
- Brodie B.C., Sur le poids atomique du graphite, *Ann. Chim. Phys.*, 59, 466-472, 1860.
- Staudenmaier L., Verfahren zur darstellung der graphitsäure, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, 31 (2), 1481-1487, 1898.
- Hofmann U., König E., Untersuchungen über graphitoxyd, *Z. Anorg. Allg. Chem.*, 234, 311-336, 1937.
- Hummers W.S., Offeman R.E., Preparation of graphitic oxide, *J. Am. Chem. Soc.*, 80, 1339-1339, 1958.
- Ha H.W., Choudhury A., Kamal T., Kim D.H., Park S.Y., Effect of chemical modification of graphene on mechanical, electrical, and thermal properties of polyimide/graphene nanocomposites, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 4 (9), 4623-4630, 2012.
- Chang K.C., Lu H.I., Lai M.C., Hsu C.H., Hsiao Y.R., Huang K.Y., Chuang T.L., Yeh J.M., Liu W.R., Enhancement of physical properties of electroactive polyimide nanocomposites by addition of graphene nanosheets, *Polym. Int.*, 63, 1011-1017, 2014.
- Voiry D., Yang J., Kupferberg J., Fullon R., Lee C., Jeong H.Y., Shin H.S., Chhowalla M., High-quality graphene via microwave reduction of solution-exfoliated graphene oxide, *Science*, 353 (6306), 1413-1416, 2016.
- Duy L.T., Kalanur S.S., Cho I.S., Seo H., Rapid photocatalytic reduction of graphene oxide indirectly activated by the domino effect of ethanol oxidation on a titanium dioxide film, *Mater. Chem. Phys.*, 218, 289-295, 2018.
- Kim S., Choi K., Park S., Solvothermal reduction of graphene oxide in dimethylformamide, *Solid State Sci.*, 61, 40-43, 2016.
- Zhu C., Zhai J., Wen D., Dong S., Graphene oxide/polypyrrole nanocomposites: one-step electrochemical doping, coating and synergistic effect for energy storage, *J. Mater. Chem.*, 22, 6300-6306, 2012.
- Phong N.H., Toan T.T.T., Tinh M.X., Tuyen T.N., Mau T.X., Khieu D.Q., Simultaneous voltammetric determination of ascorbic acid, paracetamol, and caffeine using electrochemically reduced graphene oxide modified electrode, *J. Nanomater.*, 5348016, 1-15, 2018.

18. Liao W., Guo C., Sun L., Li Z., Tian L., He J., Li J., Zheng J., Ma Z., Luo Z., Chen C., The electrochemical behavior of nafion/reduced graphene oxide modified carbon electrode surface and its application to ascorbic acid determination, *Int. J. Electrochem. Sci.*, 10, 5747-5755, 2015.
19. Malathi M., Violet Dhayabaran V., Highly sensitive determination of chromium (VI) based on reduced graphene oxide / polyaniline - nafion composite modified electrode, *Der Pharma Chem.*, 8 (19), 49-56, 2016.
20. Yang L., Liu D., Huang J., You T., Simultaneous determination of dopamine, ascorbic acid and uric acid at electrochemically reduced graphene oxide modified electrode, *Sensors Actuators, B Chem.*, 193, 166-172, 2014.
21. Sun C.L., Lee H.H., Yang J.M., Wu C.C., The simultaneous electrochemical detection of ascorbic acid, dopamine, and uric acid using graphene/size-selected Pt nanocomposites, *Biosens. Bioelectron.*, 26, 3450-3455, 2011.
22. Das G., Yoon H.H., Amperometric urea biosensors based on sulfonated graphene/polyaniline nanocomposite, *Int. J. Nanomedicine.*, 10, 55-66, 2015.
23. Lv Y., Wang F., Zhu H., Zou X., Tao C.A., Wang J., Electrochemically reduced graphene oxide-nafion/Au nanoparticle modified electrode for hydrogen peroxide sensing, *Nanomater. Nanotechnol.*, 6 (30), 1-7, 2016.
24. Heli H., Sattarahmady N., Amperometric determination of ascorbic acid in pharmaceutical formulations by a reduced graphene oxide-cobalt hexacyanoferrate nanocomposite, *Iran. J. Pharm. Res.*, 14 (2), 453-463, 2015.
25. Zhu Q., Bao J., Huo D., Yang M., Hou C., Guo J., Chen M., Fa H., Luo X., Ma Y., 3D Graphene hydrogel - gold nanoparticles nanocomposite modified glassy carbon electrode for the simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid, *Sensors Actuators, B Chem.*, 238, 1316-1323, 2017.
26. Chen K., Zhang Z.L., Liang Y.M., Liu W., A graphene-based electrochemical sensor for rapid determination of phenols in water, *Sensors*, 13, 6204-6216, 2013.
27. Xue R., Kang T.F., Lu L.P., Cheng S.Y., Electrochemical sensor based on the graphene-nafion matrix for sensitive determination of organophosphorus pesticides, *Anal. Lett.*, 46, 131-141, 2013.
28. Sun F., Fan G., Development of a nafion-graphene nanocomposite for sensitive electrochemical determination of cadmium(II) ions, *Int. J. Electrochem. Sci.*, 12, 8167-8176, 2017.
29. Pakrieva E., Oskina Y., Ustinova E., Determination of platinum in mineral raw materials by switching chronoamperometry, *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, 21, 1-5, 2014.
30. Han D., Han T., Shan C., Ivaska A., Niu L., Simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid with chitosan-graphene modified electrode, *Electroanalysis.*, 22 (17-18), 2001-2008, 2010.
31. Lee C.S., Yu S., Kim T., One-step electrochemical fabrication of reduced graphene oxide/gold nanoparticles nanocomposite-modified electrode for simultaneous detection of dopamine, ascorbic acid, and uric acid, *Nanomaterials.*, 8 (17), 1-13, 2018.
32. Çiftçi H., Alver E., Çelik F., Metin A.Ü., Tamer U., Non-enzymatic sensing of glucose using a glassy carbon electrode modified with gold nanoparticles coated with polyethyleneimine and 3-aminophenylboronic acid, *Microchim. Acta.*, 183, 1479-1486, 2016.
33. Asan G., Çelikkhan H., Electrochemical analysis of ascorbic acid with MoS₂ based electrode, *Journal of the Faculty of Engineering and Architecture of Gazi University*, 32, 617-625, 2017.
34. Marciano D.C., Kosynkin D. V., Berlin J.M., Sinitskii A., Sun Z., Slesarev A., Alemany L.B., Lu W., Tour J.M., Improved synthesis of graphene oxide, *ACS Nano.*, 4 (8), 4806-4814, 2010.
35. Hassan F.M., Batmaz R., Li J., Wang X., Xiao X., Yu A., Chen Z., Evidence of covalent synergy in silicon-sulfur-graphene yielding highly efficient and long-life lithium-ion batteries, *Nat. Commun.*, 6 (8597), 1-11, 2015.
36. Dimiev A.M., Tour J.M., Mechanism of graphene oxide formation, *ACS Nano.*, 8 (3), 3060-3068, 2014.
37. Pei S., Cheng H.M., The reduction of graphene oxide, *Carbon*, 50, 3210-3228, 2012.
38. Mokhtar M., Enein S.A.A.E., Hassaan M.Y., Morsy M.S., Khalil M.H., Thermally reduced graphene oxide: synthesis, structural and electrical properties, *Int J Nanoparticles Nanotech.*, 3 (8), 1-9, 2017.
39. Yazıcı M., Tiyek İ., Ersoy M.S., Alma M.H., Dönmez U., Yıldırım B., Salan T., Karataş Ş., Uruş S., Karteri İ., Yıldız K., Modifiye hummers yöntemiyle grafen oksit (GO) sentezi ve karakterizasyonu, *GU J Sci Part C*, 4 (2), 41-48, 2016.
40. Loryuenyong V., Totepvimarn K., Eimburanaprat P., Boonchompoo W., Buasri A., Preparation and characterization of reduced graphene oxide sheets via water-based exfoliation and reduction methods, *Adv. Mater. Sci. Eng.*, 2013, 1-5, 2013.
41. Boran F., Çetinkaya Gürer S., The effect of starting material types on the structure of graphene oxide and graphene, *Turkish J. Chem.* 43, 1322-1335, 2019.
42. Yang Y., Qi S., Wang J., Preparation and microwave absorbing properties of nickel-coated graphite nanosheet with pyrrole via in situ polymerization, *J. Alloys Compd.*, 520, 114-121, 2012.
43. Liu X., Wu Y., Yang Z., Pan F., Zhong X., Wang J., Gu L., Yu Y., Nitrogen-doped 3D macroporous graphene frameworks as anode for high performance lithium-ion batteries, *J. Power Sources*, 293, 799-805, 2015.
44. Pan S., Liu X., ZnS-Graphene nanocomposite: synthesis, characterization and optical properties, *J. Solid State Chem.*, 191, 51-56, 2012.
45. Zhao B., Zhang G., Song J., Jiang Y., Zhuang H., Liu P., Fang T., Bivalent tin ion assisted reduction for preparing graphene/SnO₂ composite with good cyclic

- performance and lithium storage capacity, *Electrochim. Acta*, 56, 7340-7346, 2011.
46. Chen G., Weng W., Wu D., Wu C., Lu J., Wang P., Chen X., Preparation and characterization of graphite nanosheets from ultrasonic powdering technique, *Carbon*, 42, 753-759, 2004.
 47. Ansón-Casaos A., Puértolas J.A., Pascual F.J., Hernández-Ferrer J., Castell P., Benito A.M., Maser W.K., Martínez M.T., The effect of gamma-irradiation on few-layered graphene materials, *Appl. Surf. Sci.*, 301, 264-272, 2014.
 48. Ferrari A.C., Raman spectroscopy of graphene and graphite: disorder, electron-phonon coupling, doping and nonadiabatic effects, *Solid State Commun.*, 143, 47-57, 2007.
 49. Çelik Y., Flahaut E., Suvacı E., A comparative study on few-layer graphene production by exfoliation of different starting materials in a low boiling point solvent, *Flat Chem.*, 1, 74-88, 2017.
 50. Jankovský O., Marvan P., Nováček M., Luxa J., Mazánek V., Klímová K., Sedmidubský D., Sofer Z., Synthesis procedure and type of graphite oxide strongly influence resulting graphene properties, *Appl. Mater. Today.*, 4, 45-53, 2016.
 51. Şimşek B., Dilmac Ö.F., Main effects analysis of graphene grown by chemical vapor deposition using orthogonal arrays, *Journal of the Faculty of Engineering and Architecture of Gazi University*, 33, 649-663, 2018.
 52. Huang S.Y., Zhao B., Zhang K., Yuen M.M.F., Xu J.B., Fu X.Z., Sun R., Wong C.P., Enhanced reduction of graphene oxide on recyclable Cu foils to fabricate graphene films with superior thermal conductivity, *Sci. Rep.*, 5 (14260), 1-11, 2015.
 53. Oliveira A.E.F., Braga G.B., Tarley C.R.T., Pereira A.C., Thermally reduced graphene oxide: synthesis, studies and characterization, *J. Mater. Sci.*, 53, 12005-12015, 2018.
 54. Zhao D., Yu G., Tian K., Xu C., A highly sensitive and stable electrochemical sensor for simultaneous detection towards ascorbic acid, dopamine, and uric acid based on the hierarchical nanoporous PtTi alloy, *Biosens. Bioelectron.*, 82, 119-126, 2016.
 55. Qi S., Zhao B., Tang H., Jiang X., Determination of ascorbic acid, dopamine, and uric acid by a novel electrochemical sensor based on pristine graphene, *Electrochim. Acta*, 161, 395-402, 2015.
 56. Kim Y.R., Bong S., Kang Y.J., Yang Y., Mahajan R.K., Kim J.S., Kim H., Electrochemical detection of dopamine in the presence of ascorbic acid using graphene modified electrodes, *Biosens. Bioelectron.*, 25, 2366-2369, 2010.
 57. Tsierkezos N.G., Othman S.H., Ritter U., Hafermann L., Knauer A., Köhler J.M., Downing C., McCarthy E.K., Electrochemical analysis of ascorbic acid, dopamine, and uric acid on nobel metal modified nitrogen-doped carbon nanotubes, *Sensors Actuators, B Chem.*, 231, 218-229, 2016.
 58. Raj M.A., John S.A., Simultaneous determination of uric acid, xanthine, hypoxanthine and caffeine in human blood serum and urine samples using electrochemically reduced graphene oxide modified electrode, *Anal. Chim. Acta.*, 771, 14-20, 2013.
 59. Guo H.L., Wang X.F., Qian Q.Y., Wang F.B., Xia X.H., A green approach to the synthesis of graphene nanosheets, *ACS Nano*, 3 (9), 2653-2659, 2009.
 60. Wang Y., Li Y., Tang L., Lu J., Li J., Application of graphene-modified electrode for selective detection of dopamine, *Electrochem. Commun.*, 11, 889-892, 2009.
 61. Becerril H.A., Mao J., Liu Z., Stoltenberg R.M., Bao Z., Chen Y., Evaluation of solution-processed reduced graphene oxide films as transparent conductors, *ACS Nano*, 2 (3), 463-470, 2008.
 62. Wang X., Zhi L., Müllen K., Transparent, conductive graphene electrodes for dye-sensitized solar cells, *Nano Lett.*, 8 (1), 323-327, 2008.
 63. Sengupta I., Chakraborty S., Talukdar M., Pal S.K., Chakraborty S., Thermal reduction of graphene oxide: how temperature influences purity, *J. Mater. Res.*, 33 (23), 4113-4122, 2018.
 64. Taverniers I., De Loose M., Van Bockstaele E., Trends in quality in the analytical laboratory. II. analytical method validation and quality assurance, *Trends Anal. Chem.*, 23 (8), 535-552, 2004.
 65. Çoğal S., Grafen oksit-polianilin nanokompozit temelli amperometrik glukoz biyosensörü geliştirilmesi, *Akad. Gıda*. 15 (2), 124-129, 2017.
 66. Wu G.H., Wu Y.F., Liu X.W., Rong M.C., Chen X.M., Chen X., An electrochemical ascorbic acid sensor based on palladium nanoparticles supported on graphene oxide, *Anal. Chim. Acta*, 745, 33-37, 2012.
 67. Du J., Yue R., Ren F., Yao Z., Jiang F., Yang P., Du Y., Novel graphene flowers modified carbon fibers for simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid, *Biosens. Bioelectron.*, 53, 220-224, 2014.

