

T.C.
ORDU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**POLİ(TİYONİN) DESTEKLİ PALADYUM
NANOPARTİKÜLLERİ İLE H₂O₂ TAYİNİ**

SONGÜL KIRLAK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ORDU 2018

TEZ ONAY

Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü öğrencisi Songül KIRLAK tarafından hazırlanan ve Dr. Öğr. Üyesi Mutlu SÖNMEZ ÇELEBİ danışmanlığında yürütülen “Poli(Tiyonin) Destekli Paladyum Nanopartikülleri İle H₂O₂ Tayini” adlı bu tez, jürimiz tarafından .../.../2018 tarihinde oy birliği / oy çokluğu ile Kimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Dr.Öğr.Üyesi Mutlu SÖNMEZ ÇELEBİ

Başkan: Doç. Dr. Saim TOPÇU

İmza :

Üye : Doç. Dr. Filiz KURALAY

İmza :

Üye : Dr.Öğr.Üyesi Mutlu SÖNMEZ ÇELEBİ

İmza :

ONAY:

Bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulu'nun tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Sami GÜLER

TEZ BİLDİRİMİ

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

İmza

Songül KIRLAK

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

POLİ(TİYONİN) DESTEKLİ PALADYUM NANOPARTİKÜLLERİ İLE H₂O₂ TAYİNİ

Songül KIRLAK

Ordu Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı, 2018

Yüksek Lisans Tezi, 77s.

Danışman: Dr. Öğretim Üyesi Mutlu SÖNMEZ ÇELEBİ

Önerilen tez çalışmasının amacı biyolojik sistemlerde oldukça önemli bir molekül olan hidrojen peroksit (H₂O₂) tayini için basit, düşük maliyetli ve hızlı bir amperometrik sensör geliştirilmesidir. Hazırlanan sensör için çalışma elektrodu olarak iletken bir redoks polimeri olan poli(tiyonin) (PTH) ve palladyum (Pd) nanopartikülleri ile modifiye edilmiş camcı karbon elektrot (GCE) elektrodu kullanılmıştır.

Sensörün hazırlanma süreci iki basit aşamada gerçekleştirilmiştir: (i) Elektrodun polimer filmiyle kaplanması, (ii) Pd nanopartiküllerinin polimer yapısına immobilize edilmesi. Modifiye elektrodun hazırlanma koşullarının optimize edilmesi için kronoamperometri yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla modifiye elektrot sistemi pH=7.0 fosfat tamponunda (PBS) kronoamperometrik (CA) koşullarda dengeye getirildikten sonra stok H₂O₂ çözeltisinden eklemeler yapılarak elde edilen akım artışları kaydedilmiş ve en yüksek akımın sağlandığı deneysel koşul optimum koşul olarak kabul edilmiştir.

Elde edilen sensörün hazırlanması kolay, ekonomik, seçiciliği yüksek ve hassas bir sensör olduğu ve hızlı bir cevap süresine sahip olduğu deneysel çalışmalarla ortaya konmuştur. Ürik asit, askorbik asit ve dopamin moleküllerinin H₂O₂ sinyaline girişim etkisi incelenmiş ve bu moleküllerin fizyolojik seviyelerde sensöre girişim yapmadığı gözlenmiştir. Ayrıca optimum koşullarda hazırlanan modifiye elektrot sistemi dönüşümlü voltametri, elektrokimyasal empedans spektroskopisi ve taramalı elektron mikroskobu ile görüntüleme yöntemleri kullanılarak elektrokimyasal ve fiziksel olarak karakterize edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Hidrojen Peroksit, Elektrokimyasal Sensör, Poli(tiyonin), Paladyum Nanopartikülleri, Modifiye Elektrot.

ABSTRACT

DETERMINATION OF H₂O₂ USING POLY(THIONINE) SUPPORTED PALLADIUM NANOPARTICLES

Songül KIRLAK

University of Ordu

Institute for Graduate Studies in Science and Technology

Department of Chemistry, 2018

MSc. Thesis, 77p.

Supervisor: Assist. Prof. Mutlu SÖNMEZ ÇELEBİ

The purpose of the current thesis is to develop a simple, cost-effective and fast amperometric sensor for detection of hydrogen peroxide (H₂O₂), which is an important molecule in biological systems. For the sensor, a glassy carbon electrode (GCE) which was modified with the conducting poly(thionine) (PTH) polymer and palladium (Pd) nanoparticles was used as the working electrode.

The preparation route of the sensor involved two facile steps: (i) Coating the electrode with the polymer film, (ii) Immobilization of Pd nanoparticles into the polymer matrix. Chronoamperometry method was used for optimization of the experimental parameters. For this purpose, aliquots of stock solution of H₂O₂ was added to phosphate buffer solution (PBS, pH=7.0) under chronoamperometric conditions and the current increase was used as the criteria for determining the optimum conditions.

It was revealed from the experimental results that the prepared sensor was easy-to-prepare, economical, selective and sensitive with a fast response time. Interference of uric acid, ascorbic acid and dopamine molecules have been studied and it was found that these molecules did not have significant interference at physiological levels. Moreover, the modified electrode system prepared under optimum conditions was characterized electrochemically and physically by cyclic voltammetry, electrochemical impedance spectroscopy and scanning electron microscopy methods.

Keywords: Hydrogen Peroxide, Electrochemical Sensor, Poly(thionine), Palladium Nanoparticles, Modified Electrode.

TEŞEKKÜR

Öğrenim hayatım boyunca bilgi ve tecrübelerinden faydalanarak yolumu aydınlatan, bilimsel ve ahlaki açıdan örnek aldığım, desteğini benden hiç esirgemeyen ve her zaman yanımda olan ve onun yanında çalışmaktan gurur duyduğum, her zaman minnetle anacağım çok değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Mutlu SÖNMEZ ÇELEBİ' ye sonsuz teşekkür ve minnetlerimi sunarım.

Öğrenim hayatım boyunca beni her zaman destekleyen, hem maddi hem manevi açıdan desteklerini benden hiç esirgemeyen, hayallerimin peşinden koşarken varlıklarıyla huzur ve güven duyduğum başta canım annem Elmas KIRLAK, sevgili babam Ali KIRLAK, canım kardeşlerim Zeynep KIRLAK BİLİR, Safiye KIRLAK, Mustafa KIRLAK ve ayrıca sevgili eniştem Aliihsan BİLİR olmak üzere tüm aileme yürekten teşekkür ederim.

Yüksek lisans çalışmalarım boyunca kararlılığımı ve azmimi sürdürmemde ayrıca desteğini gördüğüm, bu yolda benimle birlikte yol alan, başarılarımı, mutluluğumu yeri geldiğinde stresimi paylaştığım Onur KARA' ya teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarım boyunca birlikte gece gündüz çalıştığım sevgili grup arkadaşlarım Nesrin KURT ve Ayşe Nur YILMAZ' a teşekkürlerimi iletirim. Tez yazım aşamasında ayrıca desteğini gördüğüm sevgili arkadaşım Derya YAMAN' a da teşekkürlerimi iletirim.

Lisans öğrenimim boyunca bana destek veren ve ilminden faydalandığım Ordu Üniversitesi Kimya Bölümünün bütün öğretim elemanlarına ayrıca desteklerinden dolayı teşekkürü bir borç bilirim.

Bu çalışma, Ordu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (ODÜBAP) tarafından TF- 1614 numaralı proje ile desteklenmiştir. Projemize sağlanan imkânlardan dolayı teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ BİLDİRİMİ	I
ÖZET	II
ABSTRACT	III
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	V
ŞEKİLLER LİSTESİ	VIII
SİMGELER ve KISALTMALAR	XI
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	5
2.1. Elektrokimya	5
2.1.1. Elektrokimyasal Hücreler	5
2.1.2. Elektrokimyasal Bir Olayda Kütle Aktarım Yolları	6
2.2. Biyosensörler	6
2.2.2. Biyosensör Çeşitleri	9
2.2.3. Elektrokimyasal Biyosensörler	10
2.2.3.1. Potansiyometrik Biyosensörler	10
2.2.3.2. Amperometrik Biyosensörler	11
2.2.3.3. Kondüktometrik Biyosensörler	11
2.2.4. Biyosensör Tasarımında Dikkat Edilmesi Gereken Noktalar	11
2.2.5. Biyosensörde Bulunması Gereken Nitelikler	12
2.2.6. Biyosensörler ile Tayin Edilebilen Maddeler	13
2.3. Biyomoleküller ve Analizleri	13
2.3.1. Dopamin	13
2.3.2. Ürik Asit	15
2.3.3. Askorbik Asit	16

2.4. İletken Polimerler.....	16
2.4.1. Elektrokimyasal Polimerizasyon.....	18
2.4.1.1. Elektrokimyasal Polimerizasyonun Avantajları.....	19
2.4.2. Tiyonin.....	20
2.5. Biyosensörler İçin İletken Polimerlerin Önemi	21
2.6. Metal Nanopartiküller	21
2.6.1. Pd Nanopartikülleri.....	22
2.7. Modifiye Elektrotlar.....	23
2.8. Hidrojen Peroksit ve Metabolik Önemi	24
2.8.1. Hidrojen Peroksit Tayinine Yönelik Başlıca Yöntemler	26
2.8.1.1. Titrimetrik Yöntemler	26
2.8.1.2. Spektrofotometrik Yöntemler	26
2.8.1.3. Elektrokimyasal Temelli Yöntemler.....	27
2.8.1.4. Kromatografik Yöntemler.....	28
2.9. Önceki Çalışmalar.....	28
3. MATERYAL ve YÖNTEMLER	34
3.1. Voltametrik Yöntemler	34
3.1.2. Dönüşümlü Voltametri.....	34
3.2. Sabit Potansiyelde Elektroliz	36
3.3. Kronoamperometri.....	38
3.4. Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi (EIS) Yöntemi	39
3.5. Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM)	39
3.6. Standart Ekleme Yöntemi	40
3.7. Referans Elektrotlar	41
3.7.1. Kalomel Elektrotlar.....	42
3.7.2. Gümüş- Gümüş Klorür Elektrotlar	42
3.7.3. İndikatör Elektrotları.....	43

3.8. Deneysel Kısım.....	43
3.8.1. Kullanılan Kimyasallar	43
3.8.2. Hazırlanan Çözeltiler	43
3.8.3. Kullanılan Cihazlar	43
3.8.4. Çalışma Elektrotunun Temizliği ve Kullanıma Hazırlanması	44
3.8.5. Elektrokimyasal Hücre.....	44
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	45
4.1. Polimer Filminin Elektrot Yüzeyine Kaplanması	45
4.2. Pd Partiküllerinin Polimer Filmine İmmobilizasyonu	51
4.3. H ₂ O ₂ Çözelti pH'sının İndirgenme Pik Akımlarına Etkisi.....	54
4.4. Optimum Koşullarda Hazırlanan Pd/PTH/GCE Modifiye Elektrot Sisteminin Elektrokimyasal Karakterizasyonu	55
4.5. Optimum Koşullarda Hazırlanan Pd/PTH/GCE Modifiye Elektrot Sisteminin Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi (EIS) ile Karakterizasyonu.....	56
4.6. Optimum Koşullarda Hazırlanan Pd/PTH/GCE H ₂ O ₂ Biyosensör Sisteminin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Fiziksel Karakterizasyonu	58
4.7. Enerji Dağılımlı X-Işınları Spektroskopisi (EDS) Bulguları	64
4.8. Optimum Koşullarda Hazırlanan Modifiye Elektrot Sisteminin Yüzey Alanının Hesaplanması	65
4.9. Optimum Koşullarda Hazırlanan Modifiye Elektrot ile H ₂ O ₂ İçin Kalibrasyon Doğrusu Elde Edilmesi	65
4.10. Ürik Asit (UA), Askorbik Asit (AA) ve Dopamin (DA) Moleküllerinin Girişim Etkisinin İncelenmesi	67
4.11. Gerçek Örnek Analizi	68
4.12. Optimum Koşullarda Hazırlanan Modifiye Elektrot Sisteminin Kararlılığı	70
5. SONUÇLAR	71
6. KAYNAKLAR.....	72
ÖZGEÇMİŞ	76

ŞEKİLLER LİSTESİ

<u>Şekil No</u>		<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1.	Tuz köprülü galvanik bir elektrokimyasal hücre.....	6
Şekil 2.2.	Biyosensörlerin genel çalışma mekanizması.....	8
Şekil 2.3.	Dopaminin kimyasal yapısı.....	13
Şekil 2.4.	Ürik asit kimyasal yapısı.....	15
Şekil 2.5.	Askorbik asidin kimyasal yapısı.....	16
Şekil 2.6.	Bazı iletken polimerler.....	18
Şekil 2.7.	Tiyonin molekülünün kimyasal yapısı ve üç boyutlu modellemesi...	20
Şekil 2.8.	Tiyonin- Lökotiyonin dönüşümü.....	21
Şekil 2.9.	Hidrojen peroksidin temel ayrışma reaksiyonu ve konformasyonları.	25
Şekil 2.10.	DNA eşliğindeki poli(tiyonin) nanoşeritlerinin elektropolimerizasyonun şematik gösterimi (Kui ve ark.2010).....	30
Şekil 3.1.	Dönüşümlü voltametrik uyarma sinyali.....	35
Şekil 3.2.	Tipik bir dönüşümlü voltamogram.....	36
Şekil 3.3.	Kontrollü bir katot potansiyelli elektroliz sırasında akım değişimi...	37
Şekil 3.4.	Kronoamperometride a) çalışma elektrotuna uygulanan potansiyel programı, b) elde edilen akım-zaman eğrisi.....	38
Şekil 3.5.	Kullanılan elektrokimyasal hücre.....	44
Şekil 4.1.	PTH filminin GCE yüzeyine 0.5 M H ₂ SO ₄ içeren 0.1 mM tiyonin asetat çözeltisinden dönüşümlü voltametri yöntemiyle kaplanması (Tarama hızı: 100 mVs ⁻¹).....	45
Şekil 4.2.	Polimer filmin 0.5 M H ₂ SO ₄ çözeltisindeki dönüşümlü voltamogramı (Tarama hızı: 100 mVs ⁻¹).....	46
Şekil 4.3.	PTH filminin aktivasyonlu (siyah) ve aktivasyonsuz (kırmızı) koşullarda GCE yüzeyine 0.5 M H ₂ SO ₄ içeren 0.1 mM tiyonin asetat çözeltisinden dönüşümlü voltametri yöntemiyle kaplanması (Tarama hızı: 100 mVs ⁻¹).....	47
Şekil 4.4.	Pd/PTH/GCE modifiye elektrotu ile aktivasyonlu (kırmızı) ve aktivasyonsuz (siyah) koşullarda 100 mM, pH=7.0 PBS çözeltisine H ₂ O ₂ eklenmesiyle elde edilen akım-zaman eğrisi (V = 0.1 V vs. SCE).....	48
Şekil 4.5.	Oksijenli (kırmızı) ve oksijensiz (siyah) monomer çözeltisi ile hazırlanmış Pd/PTH/GCE modifiye elektrotu ile 100 mM, pH=7.0 PBS çözeltisine H ₂ O ₂ eklenmesiyle elde edilen akım-zaman eğrisi (V = 0.1 V vs. SCE).....	49

Şekil 4.6.	Polimerizasyon sırasında kullanılan monomer çözeltisinin pH'sının CA pik akımlarına etkisi.....	50
Şekil 4.7.	Polimer film kalınlığının (polimerizasyon sırasında uygulanan çevrim sayısının) H ₂ O ₂ pik akımına etkisi.....	51
Şekil 4.8.	Destek elektrolit içeren (kırmızı) ve içermeyen (siyah) K ₂ PdCl ₄ çözeltisi ile hazırlanmış Pd/PTH/GCE modifiye elektrotu ile 100 mM, pH=7.0 PBS çözeltisine H ₂ O ₂ eklenmesiyle elde edilen akım-zaman eğrisi (V = 0.1 V vs. SCE).....	52
Şekil 4.9.	K ₂ PdCl ₄ çözeltisinde uygulanan elektroliz süresinin H ₂ O ₂ pik akımına etkisi.....	53
Şekil 4.10.	K ₂ PdCl ₄ çözeltisinde uygulanan elektroliz potansiyelinin H ₂ O ₂ pik akımına etkisi.....	53
Şekil 4.11.	H ₂ O ₂ çözelti pH'sının kronoamperometri akımlarına etkisi.....	54
Şekil 4.12.	Kaplanmamış GCE (mavi), PTH kaplı GCE (kırmızı) ve Pd/PTH/GCE (siyah) modifiye elektrot sisteminin 0.5 M H ₂ SO ₄ çözeltisinde kaydedilen dönüşümlü voltamogramları (Tarama hızı: 100 mVs ⁻¹).....	55
Şekil 4.13.	Kaplanmamış GCE (yeşil), PTH ile kaplanmış GCE (mavi), Pd nanopartikülleri ile modifiye edilmiş GCE (kırmızı) ve Pd/PTH/GCE modifiye elektrotu (siyah) ile 100 mM, pH=7.0 PBS çözeltisine H ₂ O ₂ eklenmesiyle elde edilen akım-zaman eğrileri (V = 0.1 V vs. SCE).....	56
Şekil 4.14.	Kaplanmamış GCE(–) , PTH kaplı GCE (Δ) ve Pd/PTHGCE ile modifiye elektrotu (□) için 5.0 mM Fe(CN) ₆ ^{3-/4-} çözeltisinde kaydedilmiş Nyquist diyagramları.....	57
Şekil 4.15.	Pd ile modifiye edilmiş GCE ve Pd/PTH ile modifiye edilmiş GCE için 5.0 mM Fe(CN) ₆ ^{3-/4-} çözeltisinde kaydedilmiş Nyquist diyagramları.....	58
Şekil 4.16.	Kaplanmamış PGE ile farklı magnifikasyonlarda kaydedilen SEM görüntüleri.....	60
Şekil 4.17.	Pd/PTH ile modifiye edilmiş PGE ile farklı magnifikasyonlarda kaydedilen SEM görüntüleri.....	63
Şekil 4.18.	Optimum koşullarda hazırlanan Pd/PTH/GCE biyosensör sisteminin elementel haritalaması.....	64
Şekil 4.19.	Optimum koşullarda hazırlanan Pd/PTH/GCE elektrotu ile 1.0 mM K ₃ FeCN ₆ çözeltisinde kaydedilen CVler için tarama hızının kareköküne karşı anodik pik akımları.....	65
Şekil 4.20.	Pd/PTH/ GCE modifiye elektrotu ile 100 mM, pH=7.4 PBS çözeltisine H ₂ O ₂ eklenmesiyle elde edilen akım-zaman eğrisi (V = 0.1 V vs. SCE).....	66

Şekil 4.21.	Optimum koşullarda hazırlanmış Pd/PTH/GCE modifiye elektrot sistemi ile elde edilen kalibrasyon doğrusu.....	67
Şekil 4.22.	Pd/PTH/GCE modifiye elektrotu ile 100 mM, pH=7.4 PBS çözeltisine H ₂ O ₂ , ÜA, DA ve AA eklenmesiyle elde edilen akım-zaman eğrisi (V = 0.1 V vs. SCE).....	68
Şekil 4.23.	Hazırlanan Pd/PTH/GCE modifiye elektrot sistemi ile çeşme suyunda standart ekleme yöntemi kullanılarak kaydedilen akım-zaman eğrisi.....	69
Şekil 4.24.	Hazırlanan Pd/PTH/GCE modifiye elektrot sistemi ile oksidan saç kreminde standart ekleme yöntemi kullanılarak kaydedilen akım-zaman eğrisi.....	70
Şekil 4.25.	Optimum koşullarda hazırlanan Pd/PTH/GCE elektrotu ile 30 gün boyunca 1.0 mM H ₂ O ₂ çözeltisi için kronoamperometri ile kaydedilen akımları.....	70

SİMGELER ve KISALTMALAR

AA: Askorbik asit

CA: Kronoamperometri

CV: Dönüşümlü voltametri

DA: Dopamin

EDS: Enerji Dağılımlı X-Işınları Spektroskopisi

EIS: Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi

GCE: Camsı karbon elektrot

H₂O₂: Hidrojen peroksit

Pd: Paladyum

PTH: Poli(tiyonin)

SCE: Doymun kalomel elektrot

SEM: Taramalı Elektron Mikroskopu

TH: Tiyonin

UA: Ürik asit

1.GİRİŞ

Elektroanalitik kimya, maddelerin elektriksel özelliklerinin ölçülerek kalitatif ve kantitatif analizlerinin yapılması amacıyla kullanılan teknikleri içeren bilim dalı olarak tanımlanır. Elektroanalitik teknikler çok düşük tayin sınırlarına ulaşabilmektedir.

Biyosensörler, genel olarak analiz edilecek madde ile seçimli bir şekilde etkileşime giren biyoaktif bir bileşenin etkileşimi sonucu ortaya çıkan sinyali ileten bir iletici sistemle birleştirilmesi ve bunların bir ölçüm sistemi ile kombinasyonu ile oluşturulurlar. Biyosensörlerin en temel görevi biyolojik veriyi elektriksel sinyale dönüştürmektir. Biyosensörler genel olarak üç temel kısımdan oluşmaktadır. Bunlar seçme ve tanıma mekanizmasına sahip olan “biyomolekül veya biyoajan”, bu biyomolekülün incelenecek olan madde ile etkileşimi sonucu meydana gelen fizikokimyasal sinyalleri elektriksel sinyale dönüştürebilen “çevirici” ve “elektronik” kısımlarıdır.

Nanopartiküller 1-100 nm boyutlarında olan kolloidal yapılardır. Sentetik veya doğal kaynaklı bir makromolekülden meydana gelirler. Nanopartiküller sahip oldukları değişik özelliklerden dolayı yaygın kullanım alanına sahiptir ve beraber kullanıldıkları malzemelere çeşitli fonksiyonlar kazandırabilmeleri de bir başka özelliği olarak kabul edilmektedir. Nanopartiküllerin bir diğer özelliği ise yüzey alanı/hacim oranının mikropartiküllere göre çok yüksek olması olup bu sayede bu malzemeler hem in vitro hem de in vivo çalışmalarda daha çok tercih edilmektedir.

Nanopartikül temelli malzemelerin üretiminde genellikle polimerik yapılar kullanılmaktadır. Esas istenilen çok hafif, akıllı, ucuz ve temiz malzemeler elde etmektir. Her polimerin kendine has özelliği ile nanopartiküller çeşitli özellikler kazanmaktadırlar. Örneğin; biyobozunur, biyoyumlu, termal vs. Nanopartiküller kanser teşhis ve tedavisinde, kontrollü ilaç salımında, biyosensörler gibi tıp ve biyoteknoloji alanlarında kullanılmaktadır. Nano boyuttaki metal tanecikler çeşitli reaksiyonlar için katalizör gibi hareket ederler. Bazı nano boyuttaki metal tanecikler (örneğin altın) bazı moleküllerin redoks özelliklerini katalizler ve bu etki elektroanalitik teknikler kullanılarak izlenir. Diğer taraftan nano boyuttaki metal tanecikler elektronik geçişi kolaylaştırır. Sonuçta elektroanalitik teknikler, nano

boyuttaki metal taneciklerin elektrokimyasal özelliklerinin tanımlanmasında faydalı bir araç olmuşlardır.

H₂O₂ doğada basit bir molekül olmasına rağmen günümüzde besin işleme, tekstil endüstrisi, ağartma, ilaç araştırmaları, klinik laboratuvar, medikal teşhis, çevre analizleri, antiseptik ve dezenfeksiyon ajanları, meşrubat paketleme, temizlik ürünleri, mineral işleme ve biyokimya gibi pek çok alanda kullanılan ve analizi çok önemli olan bir bileşiktir. Dahası bu bileşik birçok biyolojik olaylarda ve hücre içi mekanizmalarda rol oynar ve glikoz oksidaz, kolesterol oksidaz, laktat oksidaz gibi birçok enzimin yer aldığı enzimatik reaksiyonların yan ürünü, horseradish peroksidaz enziminin ise doğrudan substratıdır. Bu nedenle H₂O₂ tayini için güvenilir, kesinliği ve seçiciliği yüksek, hızlı ve düşük maliyetli yöntemler geliştirilmesi oldukça önemlidir ve son yıllarda bu alanda pek çok çalışmalar yapılmaktadır. Florimetri, kemilüminesans, floresans veya spektrofotometri gibi H₂O₂ tayini için kullanılan geleneksel yöntemler genellikle karmaşık, maliyetli ve zaman alıcı yöntemlerdir. Elektrokimya ise basit, hızlı, duyarlılığı yüksek ve uygun maliyetli oluşuyla bu yöntemlere iyi bir alternatif olarak ortaya çıkmaktadır, çünkü H₂O₂ elektroaktif bir moleküldür. Ancak bu molekül için elektrot kinetiğinin yavaş olması ve yüksek aşırı potansiyele sahip olması ve ayrıca biyolojik örneklerde bulunan diğer elektroaktif bileşiklerin girişim yapması gibi bazı dezavantajlar nedeniyle elektrokimyasal H₂O₂ analiz yöntemleri kısıtlıdır. Dolayısıyla H₂O₂ tayini için geliştirilen yöntemler genellikle aşırı potansiyeli azaltacak ve elektron transfer kinetiğini arttıracak modifiye elektrotlar üzerinde yoğunlaşmaktadır. Elektrot modifikasyonları içinse yaygın olarak redoks proteinleri, boyalar, geçiş metalleri, metal oksitleri, redoks polimerleri ve karbon nanotüpler gibi malzemeler kullanılmaktadır. Bu malzemeler içerisinde son yıllarda nanomalzemelere, özellikle de nanopartiküllere olan ilgi olağan üstü boyuta ulaşmıştır. Zira bu malzemelerin kimyasal, fiziksel ve elektronik özellikleri yığın malzemelere göre oldukça önemli avantajlar sağlamaktadır. (Chen ve ark., 2012).

Nanobilim ve nanoteknolojide yaşanan gelişmelere paralel olarak metal nanopartiküllerin kullanımı da kataliz, nanosensörler, biyotıp ve mikroelektronik gibi birçok alanda günden güne artmaktadır. Elektrokimyasal H₂O₂ sensörlerinde elektrot modifikasyonu için en sık kullanılan malzemeler nispeten düşük maliyetli olmaları

ve hazırlanma kolaylığı nedeniyle metal nanopartiküllerdir. (Chen ve ark., 2013). Dahası metal nanopartiküllerinin kullanıldığı birçok elektrokimyasal sensörde enzim kullanılmasına gerek olmadan oldukça duyarlı ve seçici H_2O_2 analizleri gerçekleştirilmektedir. Bu alanda en çok kullanılan sensörler Ag (Chen ve ark., 2013 ; Wong ve ark., 2013), Au (Chen ve ark., 1999 ; Stanciu ve ark., 2011), Pt (Liu ve ark., 2014 ; Li ve ark., 2011) veya Pd (Chen ve ark., 2013 ; Bagheri ve ark., 2014) nanopartiküllerinin kullanıldığı sistemlerdir.

Paladyum (Pd) platine benzer, atom numarası 46 ve atom ağırlığı 106.42 olan elementtir. Pd nanopartikülleri içeren elektrotlar, özellikle H_2O_2 gibi çeşitli önemli substratlar için yapılan araştırmalarda dikkate değer yüksek elektrokatalitik etkinliğe ve seçiciliğe sahip olduğu bilinen nanomalzemelerdir. Son zamanlarda Pd nanopartiküllerine bu nedenle H_2O_2 tayininde ilgi artmıştır.

İletken polimerler; metaller ile yarı iletkenler arasında iletkenliğe sahip olan, metallerin mekanik ve elektriksel iletkenlik özellikleriyle birlikte bilinen organik polimerlerin özelliklerini de taşıyan yeni tür polimerlerdir. İletken polimerler hem metallerin iletkenlik özelliğini gösterirler hem de bu metallerden farklı olarak esneklik, optik, elektrik, elektronik, manyetik gibi birçok özelliğe daha sahiptirler. Ayrıca iletken polimerlerin sahip olduğu iletkenlik özelliği doping (katkılama) işlemi ile artırılabilir (Balint, 2014). Bu polimerlerin redoks özellikleri dolayısıyla son yıllarda kullanımını oldukça yaygınlaştırmıştır.

Tiyonin (TH), fenotiyazin ailesinden olan metakromatik bir boyar madde olarak tanımlanabilir. Kimyasal yapısı her iki yanında simetrik $-NH_2$ gruplarına sahip olan düzlemsel bir moleküldür. Suda ve etanolde kolayca çözünebilmektedir. Tiyonin, elektrokatalitik aktivasyona ve mükemmel bir elektronik arabuluculuğa sahiptir. Fotoaktif ve elektroaktif olan tiyonin molekülünün ince polimer filmleri, NADH ve H_2O_2 biyosensörü ve antijen için elektrokimyasal sensör olarak da kullanılmaktadır. Tiyonin, biyolojik işaretlemelerde sıkça kullanılır. DNA için kantitatif Feulgen işaretlemesinde, Schiff ayırıcının yerini alabildiği gibi, mikrobiyal yakıt hücrelerinde de elektron transfer arabulucusu olarak da kullanılmaktadır.

Bu çalışmada camsı karbon elektrot (GCE) üzerine paladyum (Pd) ve politiyonin immobilize edilerek yeni ve özgün bir modifiye elektrot sistemi geliştirilmiştir.

Geliştirilen Pd/PTH/GCE sisteminin kullanım amacı immobilize edilen metal nanopartikülleri aracılığıyla enzim kullanılmasına gerek olmadan oldukça duyarlı ve seçici H₂O₂ analizleri gerçekleştirmektir. Çalışma kapsamında modifiye elektrotun hazırlanması için uygulanan deneysel parametreler optimize edilmiş ve optimum koşullarda hazırlanan Pd/PTH/GCE modifiye elektrot sistemi ile gerek sentetik, gerekse gerçek örneklerde H₂O₂ tayini gerçekleştirilmiş ve kalibrasyon grafiği hazırlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Elektrokimya

Elektrokimya, bir kimyasal maddenin çözeltilisi ile bir metalik iletken (metal, grafit veya yarı iletken gibi) ara yüzeyinde meydana gelen kimyasal değişimleri inceleyen kimyanın bir alt bilim dalıdır (Chang, 2006). Elektroanalitik kimya ise analit çözeltisi bir elektrokimyasal hücrenin parçası olduğunda çözeltinin elektrokimyasal özelliklerine dayanan bir grup kantitatif analitik yöntemi kapsamaktadır.

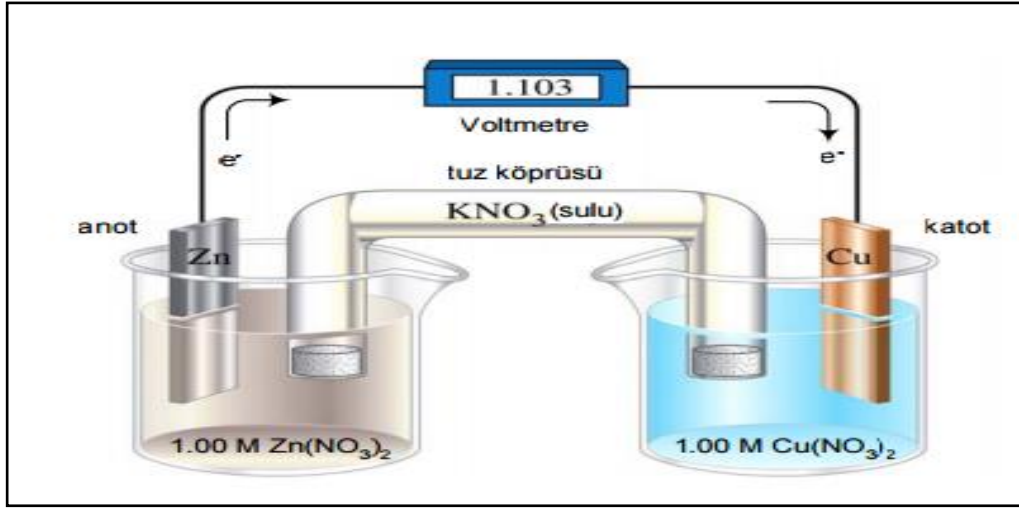
Elektrokimyanın avantajları olarak elektrokimyasal ölçümlerin çoğu kez bir elementin özel bir yükseltgenme basamağı için spesifik olması, diğer bir önemli üstünlüğü olarak da kullanılan cihazların nispeten ucuz olması sayılabilir. Bir avantaj ya da bir dezavantaj olarak görülebilecek üçüncü bir özellik ise elektrokimyasal yöntemlerin, kimyasal türlerin derişiminden çok aktiviteleri hakkında bilgi vermesidir (Skoog ve ark., 1996).

2.1.1. Elektrokimyasal Hücreler

Jaroslav Heyrovsky'in 1922 yılında günümüzdeki elektroanalitik kimyanın temeli olan polarografiyi keşfetmesiyle elektrokimyasal çalışmalar başlamıştır. Elektrokimyasal işlemler, elektrokimyasal hücre adını alan bir düzenekte yürütülmektedir. Bir elektrokimyasal hücrede, katot indirgenme reaksiyonunun olduğu anot ise yükseltgenme reaksiyonlarının olduğu elektrottur.

Bir hücrede akım oluşması için; elektrotların bir metal iletkenle dış bağlantılarının sağlanması, çözeltiler arasında birinden diğerine iyon geçişine imkan verecek bir temas olması ve elektrotların her birinde bir elektron aktarım reaksiyonunun gerçekleşmesi gereklidir (Skoog ve ark., 1996).

Elektrokimyasal hücreler, elektrik enerjisi üretiminde kullanılıyorsa "galvanik", bir dış kaynaktan elektrik alıp harcıyorlarsa "elektrolitik" olarak sınıflandırılırlar. Analitik kimyada iki tür hücre de kullanılır. Hücrelerin çoğu, deney koşulları değiştirilerek galvanik veya elektrolitik amaçlarla çalıştırılabilir.



Şekil 2.1. Tuz köprülü galvanik bir elektrokimyasal hücre (Skoog, 1981).

2.1.2. Elektrokimyasal Bir Olayda Kütle Aktarım Yolları

Bir maddenin elektrokimyasal analizi gerçekleştirilirken, tampon çözeltideki analit elektrot yüzeyine göç, difüzyon ve konveksiyon ile aktarılır. Deneysel koşullara bağlı olarak bu yollardan biri veya birkaçı kütle aktarımında kullanılır. Göç, parçacıkların elektrik alan kuvvetiyle hareket ettirilmesiyle gerçekleşir. Difüzyon, maddelerin çok yoğun ortamdan az yoğun ortama doğru hareket ederek yoğunluk farkını ortadan kaldırma çalışmaları sonucu yoğunluk farkına dayanan kütle aktarım yollarından biridir. Konveksiyon ise çözelti içindeki indirgenen veya yükseltgenen maddelerin, çözeltide oluşan fiziksel hareketlerle elektrot yüzeyine taşınması olayıdır (Yıldız ve Genç, 1993).

2.2. Biyosensörler

Biyosensörler, biyolojik kaynaklı bir algılama yüzeyi ile fizikokimyasal çevirici ve okuyucu denilen üç kısımdan oluşan analitik cihazlar olarak tanımlanır (Plata ve ark., 2010). Daha geniş bir tanım olarak anlatılacak olursa biyosensör; biyolojik, kimyasal veya biyokimyasal sinyali ölçülebilir ve işlenebilir elektriksel sinyale dönüştürebilen, kimyasal veya fiziksel transdüser ile birleştirilmiş biyolojik algılama materyali içeren bir cihaz şeklinde tanımlanabilir (Li, 2006). Biyosensörlerde temel amaç ise bir veya bir grup analitin miktarıyla orantılı olarak sayısal elektrik sinyali üretmektir (Hierlemann ve Baltes, 2003).

İdeal bir biyosensörün; yüksek seçicilik, uzun kullanım ömrü, en az kalibrasyon gereksinimi, iyi tekrarlanabilirlik, yüksek duyarlılık, düşük tayin sınırı, yüksek kararlılık, geniş ölçüm aralığı, hızlı cevap zamanı, basit ve ucuz olması, hızlı geriye

dönme zamanı, ve ayrıca küçültülebilirlik ve sterilize edilebilirlik özelliklerine sahip olması gerekmektedir (Hall, 1990).

Biyosensörlerin kullanım alanlarını aşağıdaki başlıklar halinde sıralamak mümkündür;

- Gıda üretim ve analizi
- Tıp
- Çevre koruma ve kirlilik kontrolü
- Tarım ve veterinerlik
- Endüstri
- Askeri ve sivil savunma.

Bu sayılan kullanım alanları içerisinde tıp yani biyomedikal alanda son derece geniş kullanım alanına sahip olan biyosensörler, özellikle diyabetik uygulamalarda kandaki glikoz miktarının ölçülmesinde, alerjik reaksiyonlar sonucu ortaya çıkan antikorların analiz edilmesinde (Sağbaş ve Durakbaşa, 2009), kronik kalp hastaları için kalp ritimlerinin düzenlenmesinde (Bhushan, 2007), hasar görmüş bir doku veya kemiğin onarılmasında, metabolik ürünlerin izlenmesinde ve diyaliz tedavisi gören hastaların takip edilmesinde kullanılmaktadırlar (Sağbaş ve Durakbaşa, 2007).

Spesifik kimyasalların tespiti, miktar tayini ve izlenmesi için analitik cihazların geliştirilmesi ve bunlardan faydalanılmasına yönelik olarak artan ilgi biyosensörlere olan ilgiyi de beraberinde getirmiştir. Analitik kimya alanında düşük analit konsantrasyonlarında gerekli olan seçicilik ve girişim yapan maddelerin varlığı başlıca sorunları oluşturmaktadır. Buna karşılık kullanımı basit ve seçiciliği yüksek sensörlerin geliştirilmesi yaşanan sorunların aşılmasına olanak sağlamış, iletken polimerler de bu tip sensörlerin oluşturulmasında önemli rol oynamıştır. Kimyasal veya biyokimyasal bir biyosensörde iletken polimerlerin kullanılması bu malzemelerin optik ve elektriksel özelliklerinin gelişmesine önemli katkılar sağlamaktadır (Gerard ve ark., 2001).



Şekil 2.2. Biosensörlerin genel çalışma mekanizması.

Biyolojik kısım analitin tanınmasında biosensörün biyolojik hassasiyete sahip kısmı olarak tanımlanır. Bu kısım biosensörün hassasiyeti ve seçiciliğinde etkilidir. Bu reseptörlerin belirli bir substratı bağlayacak ve diğer substratlara bağlanmayacak şekilde seçici özellikleri olmalıdır. Temel olarak biyolojik kısımlar üç grup (biyokatalitik, biyoaffinite ve hibrit reseptörleri) altında toplanırlar. Genel olarak biyolojik komponent uygun bir şekilde immobilizasyonla çevirici kısma bağlanmaktadır.

İmmobilizasyon metodu, immobilize edilecek biyokomponentin yapısına göre belirlenmektedir. Kullanılan analitin fiziksel durumu ve transdüksiyon elementi de seçilecek metod için önemli faktörlerdendir.

Çevirici kısım ise reseptörlerin biyolojik reaksiyonunu ölçülebilir fiziksel bir sinyale dönüştürmektedir. Çevirici kısım biyokimyasal reaksiyonun özellikleri göz önüne alınarak kullanılır ve elektrokimyasal, optik, elektriksel, kütle duyarlı, manyetik ve termal sisteme dayalı olabilir (Shin ve ark., 1998).

Çevirici kısımlar temelde dört grup altında toplanırlar (Junhui ve ark., 1997).

- Elektrokimyasal transdüserler (Amperometrik, Potansiyometrik, Kondüktometrik)
- Optik transdüserler
- Akustik transdüserler
- Termal transdüserler

2.2.1. Biyosensörlerin Avantajları

Biyosensörler; hızlı analiz yapabilmesi, maliyetlerinin düşük olması, portatif olması, gerçek zamanlı ölçümler alabilmesi, oldukça az cihaz kullanılması gibi avantajlara sahiptir (Farre ve ark., 2009). Temel olarak iki kısımdan oluşan biyosensörlerin biyoaktif kısımlarının kararlı ve seçici olması gerekmektedir. Kararlılık, biyosensörler ile çok sayıda analize olanak vereceğinden ekonomik açıdan avantaj sağlamaktadır. Seçicilik ise biyosensörlere girişim yapabilecek türlerin yer aldığı karmaşık ortamlarda ayrıntılı ön işlemler yapılmadan analiz yapabilme olanağı sağlamaktadır. Biyosensörlerden istenilen bir diğer özellik ise fiziksel değişimlerden en az şekilde etkilenmesidir. Bu da geliştirilen biyosensör sisteminin laboratuvar dışı ortamlarda analizlerinin güvenilir olarak yapılabilmesini sağlamaktadır.

2.2.2. Biyosensör Çeşitleri

Biyosensörlerin farklı şekillerde sınıflandırılması mümkündür. Genel olarak biyosensörler biyolojik tanıma kısımlarına veya çevirici kısma göre gruplandırılmaktadır.

Biyolojik tanıma kısımlarına göre biyosensörler;

- Enzim Sensörleri
- İmmuno Sensörler
- Hücre Esaslı Sensörler
- Nükleik Asit Sensörleri
- Doku Esaslı ve Organel Esaslı Sensörler
- Biyomimetik Sensörler

Dönüştürücü türüne göre biyosensörler;

- Optik Sensörler
- Kütle Duyarlı Sensörler
- Termal Sensörler
- İyon-Duyarlı Biyosensörler
- Rezonans Biyosensörleri

Bir başka sınıflandırma türü ise biyosensörün çalışma prensibine göre biyoafinite ve biyokatalitik sensörler şeklindedir. Biyoafinite sensörlerinde moleküler algılama antikör, reseptör veya immobilize edilmiş proteinler tarafından gerçekleştirilmektedir. Biyokatalitik sensörlerde ise reseptör olarak kullanılan enzim, mikroorganizma veya doku elemanları analiz edilecek moleküle spesifik biyolojik bir reaksiyon ile katalitik olarak etkileşime girmektedir (Sağbaşı ve Durakbaşı, 2009).

2.2.3. Elektrokimyasal Biyosensörler

Elektrokimyasal biyosensörler, diğer tip biyosensörlerle kıyaslandığında en eski ve en gelişmiş biyosensörlerdendir. Bir tamponun elektriksel özelliklerinin etkisi çeşitli elektrokimyasal metotlarla ölçülebilmektedir. Elektrokimyasal biyosensörler üzerine yapılan son araştırmalar elektrot tasarımlarının geliştirilmesi üzerine odaklanmıştır (örneğin küçültme, etkin elektron transferi, nanomateryaller ve daha iyi sabitleme prosedürleri).

Elektrokimyasal biyosensörler; potansiyometrik biyosensörler, amperometrik / voltametrik biyosensörler ve iletkenlik / kapasitans / empedans biyosensörleri olarak ayrılabilir (Li, 2006).

2.2.3.1. Potansiyometrik Biyosensörler

Potansiyometrik ölçümler analit çözeltisine daldırılan çalışma elektrotu ile referans elektrot arasındaki potansiyel farkının ölçülmesine dayanır (Sağbaşı ve Durakbaşı, 2009). Potansiyometrik biyosensörler, uygun olan biyoreseptörler ve uyumlu transdüserler kullanılarak, bir iyonun iyonofora bağlanmasından kaynaklanan elektriksel gerilimdeki değişiklikleri takip eder. Potansiyometrik tayin, biyolojik algılama elementi içeren bir elektrokimyasal hücre içinde genellikle ya bir ürünün aktivitesinin ya da elektrokimyasal reaksiyondaki bir tepkenin aktivitesinin gerilimini ölçer (Li, 2006).

Potansiyometrik ölçümlerde kullanılan referans elektrot bulunduğu ortamdan bağımsız sabit bir gerilim değerine sahip iken kullanılan çalışma elektrotu ise yükseltgenme veya indirgenme reaksiyonlarına bağlı olarak ortaya çıkan gerilim değerine sahiptir.

2.2.3.2. Amperometrik Biyosensörler

Amperometrik biyosensörler, indirgenme veya yükseltgenme olaylarının oluştuğu elektrokimyasal reaksiyonlarda gerçekleşen akım değişikliğini ölçen biyosensörlerdir. Bu tip biyosensörlerde ölçüm sırasında kullanılan referans elektroda göre çalışma elektrotuna sabit bir potansiyel uygulanmaktadır. Sabit potansiyelde oluşan akım örnekteki elektroaktif türlerin derişimleri ile doğru orantılıdır. Amperometrik biyosensörlerde potansiyel istenilen değerde ayarlanarak akım ölçümü gerçekleştirilir ve potansiyel istenilen değerde sabit olarak kalabilir. Diğer yöntemlere göre indirgenme veya yükseltgenme reaksiyonu sırasında uygulanan potansiyel analit türüne özgü olduğundan daha seçici özelliğe sahip olmaktadır (Chaubey ve Malhotra, 2002). Kısaca özetlemek gerekirse amperometrik biyosensörler ile sabit potansiyelde eklenen analit miktarına bağlı olarak değişen akım değerleri ölçülmektedir.

2.2.3.3. Kondüktometrik Biyosensörler

Kondüktometrik biyosensörler çözelti veya ortamda oluşan elektriksel iletkenlikteki değişimleri tespit etmektedir. Buna göre gerçekleşen bu değişimler çözeltinin ya da kullanılan maddenin sahip olduğu genel elektriksel iletkenliğe ve elektrot yüzeyinde sabitlemiş tabakaya bağlı olup öte yandan da impedimetrik reaksiyon gösterebilme yeteneği ile yansıtılabilen kapasite değişimi olabilir. İletkenlik ölçümlerinde karşılaşılan sorunlardan biri de çözeltinin direncinin çözeltide var olan tüm iyonların göçü ile belli olmasından kaynaklanan ölçüm belirsizliğinin oluşmasıdır. Oluşan bu sorun mikroelektronik iletken hücreler içinde veya üzerinde sabitlenen enzimlerin katalitik reaksiyonları ile meydana gelen iletkenlikteki değişimlerin izlenmesi ile çözülebilmektedir. İletkenlik ve kapasitans biyosensörleri, empedans biyosensörlerinin gerçekten basit versiyonları olarak görülebilir.

2.2.4. Biyosensör Tasarımında Dikkat Edilmesi Gereken Noktalar

Bir biyosensör oluşturulmadan önce hangi analit ile çalışılacağı belirlenir ve biyosensörün bu analiti nasıl tanıyacağı tespit edilir. Tasarlanan biyosensör için analite uygun çalışma elektrotu ve yöntem belirlenir. Ardından sırasıyla aşağıdaki işlemler gerçekleştirilir;

- Analit ile uygun olan biyobileşenin belirlenmesi,
- Seçilen biyobileşenin dönüştürücüye sabitlenmesinde kullanılan uygun ve verimli immobilizasyon metodunun seçilmesi,
- Seçilen biyobileşenin analiti tanınması sonucu oluşan fiziksel veya kimyasal sinyali okunabilir sinyale dönüştürebilecek olan çeviricinin seçimi,
- Ölçüm aralığının ve duyarlılığının dikkate alınması (Gooding, 2006).

2.2.5. Biyosensörde Bulunması Gereken Nitelikler

- **Duyarlılık:** Cihazın analiz edilecek maddedeki miktar değişimine bire bir cevap vermesi olarak tanımlanabilir (Bulut, 2011). Biyosensörler için istenen en önemli özelliklerden biri de kullanılan çalışma elektrotunun düşük derişimlerde dahi yanıt vermesidir. Bu özelliği en gelişmiş olan biyosensör çeşidi olarak elektrokimyasal biyosensörler gösterilebilir.
- **Seçicilik:** Cihaz sadece analizi gerçekleştirilecek madde için özgünlük gösterir ve cihaz başka reaktiflere ilgi göstermemekte aynı zamanda hatalı sonuç vermemektedir (Bulut, 2011). Genellikle elektrokimyasal çalışmalarda karşılaşılan en büyük sorunlardan birisi de analit çözeltisine ortamda bulunan başka maddelerin girişim yapmasıdır. Seçiciliğin öneminden dolayı ana hedef diğer maddelere yanıt vermeyen ve sadece ilgili biyokatalitik reaksiyonu izleyebilen bir sensör geliştirmektir (Dinçkaya, 1999).
- **Ölçüm aralığı:** Cihazın ölçebildiği analit konsantrasyonu aralığına denir (Bulut, 2011).
- **Ölçüm süresi:** Bir tür cihazın ölçme hızını göstermektedir (Bulut, 2011).
- **Tayin sınırı:** Cihazın tespit edebileceği en düşük analit konsantrasyonunu gösteren ifadedir (Bulut, 2011).
- **Tutarlılık:** Cihazın sonuçlarındaki tutarlılığın belirtilmesidir (Bulut, 2011).
- **Ömür:** Cihazın, performansında gözle görülür bir azalma olmadan verdiği hizmet süresi olarak adlandırılır (Bulut, 2011).
- **Doğrusallık:** Biyosensörlerle yapılan çalışmalar sonunda ilgili analit için bir kalibrasyon grafiği oluşturulur. Bu kalibrasyon grafiğinde çalışılan maddenin konsantrasyonu ile sensörün verdiği yanıt aralığının doğrusal olduğu bölgeye

“doğrusal aralık” denilir ve kalibrasyon grafiğinde bu doğrusal aralığın en alt sınırı tayin sınırı olarak belirlenmektedir.

- Kararlılık: Belirli bir süre içerisinde cihazın duyarlılığındaki veya baz çizgisindeki değişimleri dikkate alan kalite ölçüm değeri olarak adlandırılır (Bulut, 2011). Aynı zamanda biyosensörler ile yapılan çalışmaların kullanım ömrü hakkında bilgi vermektedir. Bir biyosensör tasarımında kullanılan biyolojik olarak aktif maddenin bozunma süresi ile biyosensörün kullanım ömrü doğru orantılıdır.
- Ekonomiklik: Geliştirilen sensörü avantajlı kılan diğer bir özellik ise biyosensörün maddi açıdan uygun olmasıdır. Bir biyosensör ile ne kadar fazla analiz yapılabilirse o biyosensör diğer yöntemlere göre ekonomik açıdan o kadar uygundur.

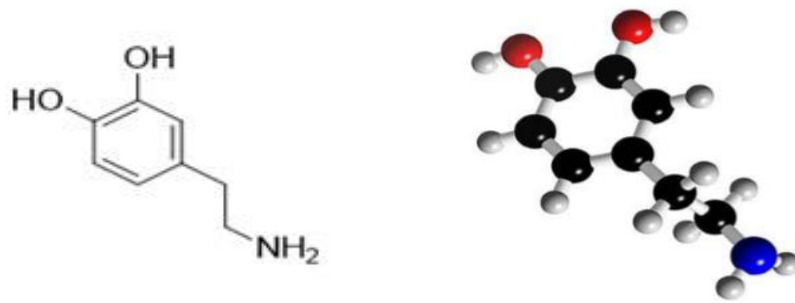
2.2.6. Biyosensörler ile Tayin Edilebilen Maddeler

Biyosensörlerden faydalanarak aminoasitler, gazlar (hidrojen, amonyak, metan, azot monoksit vb.), karbonhidratlar, kofaktörler, aminler, amitler, heterosiklik bileşikler, organik asitler ve tuzları, alkol ve fenoller, enzim ve proteinler, inorganik iyonlar, virüsler, hormonlar, kan grupları, peptitler, vitaminler ve bunlara benzer pek çok madde tayin edilebilir (Scheller ve ark., 1989).

2.3. Biyomoleküller ve Analizleri

2.3.1. Dopamin

Kimyasal formülü ($C_6H_3(OH)_2-CH_2-CH_2-NH_2$) şeklinde olup, kimyasal olarak adlandırması "4-(2-aminoetil)benzen-1,2-diol"dür. Ayrıca "DA" şeklinde kısaltılmaktadır.



Şekil 2.3. Dopaminin kimyasal yapısı.

Dopamin vücutta doğal üretilen bir kimyasal olup, beyinde nörotransmitter olarak görev yapmaktadır. Aynı zamanda insan metabolizmasının, merkezi sinir sistemi, böbrek ve hormon sistemlerinin fonksiyonlarında önemli bir rol oynamaktadır. Dopamin, beynin ön üst lobunda substantial nigra denilen bölgesinde üretilmektedir ve özellikle substantial nigra ile corpus striatum arasında, önemli bir santral iletilici olarak rol oynamaktadır. Parkinson hastalığının ise bu hücrelerdeki dejenerasyondan ileri gelen bir lezyon olduğu düşünülmektedir (Yeh, 2008). Ayrıca dopamin konsantrasyonundaki değişiklik insan sağlığı üzerinde doğrudan etkilidir. Bu nedenle dopaminin hızlı, basit ve hassas olarak tayin edilmesi oldukça önemlidir. Dopamin elektrokimyasal aktivitesi dolayısıyla doğrudan tespit edilebilmektedir (Yang ve ark., 2013).

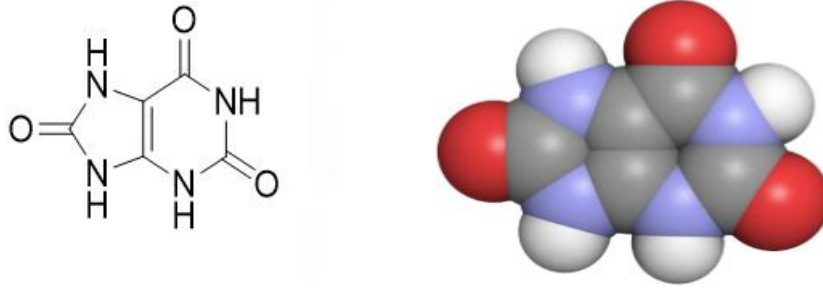
Dopamin eksikliğinde şizofreni, huntington hastalığı, parkinson, anemi hastalığı, bağımlılık, obezite, epilepsi gibi birçok nörolojik bozukluklara rastlanabilmektedir. Ayrıca doping, alkol, tütün, eroin, kokain, morfin vb. bağımlılık yapan maddelere olan ilgi dopamine bağlı olarak da değişim göstermektedir. Dopaminin bu tür maddelere olan ilgi reseptörlerini harekete geçirdiği bilinmektedir. Bundan dolayı da hızlı bir şekilde insan vücut sıvısında dopamin seviyesini belirlemek gerekmektedir. Memelilerde dopamin merkezi sinir sisteminde, serum ve hücre dışı sıvılarda ürik asit ve askorbik asit ile birlikte bulunmaktadır. Ürik asit ile askorbik asit konsantrasyonları vücut sıvılarında dopamin miktarından 100-1000 kat daha fazla bulunmaktadır ve birbirleri üzerine girişim yaptıklarından dolayı bu moleküllerin varlığında dopamin tayini oldukça zordur (Malleha ve ark., 2011). Dopamin tayini için doğrudan elektrokimyasal tayin, floresans, yüksek performanslı sıvı kromatografisi vb. yöntemler kullanılmaktadır. Fakat bu yöntemlerin karmaşık olmasının yanı sıra duyarlılığı düşük ve zaman alıcı olması dezavantajdır. Bu sebeple eser miktarda dopamin tayini için ucuz, basit, hızlı ve güvenilir bir yöntem geliştirmek gerekmektedir (Leng ve ark., 2015).

Dopamin ile yapılan çalışmalar göstermiştir ki dopamin beynin komutasında meydana gelen hareketlerin kontrol mekanizmasında, zevk duyma, acı çekme gibi duygusal tepkilerde etkilidir. Dopamin seviyesinde oluşan gereğinden fazla artış veya azalış da insan vücudunda yemek yeme ve uyku bozuklukları gibi sosyal

davranışlara etki etmektedir. Tüm bunların yanına ek olarak dopamin kalp atışlarını hızlandırmak, kan basıncını yükseltmek gibi sempatik sinir sistemindeki etkilerinden dolayı ilaç olarak da kullanılır (Champe ve Harvey, 1994).

2.3.2. Ürik Asit

Ürik asidin molekül kütlesi 168 gmol^{-1} 'dür ve IUPAC adlandırması 7,9-dihidro-1Hpurin-2,6,8(3H)-trione şeklinde olup "UA" şeklinde kısaltılmaktadır.



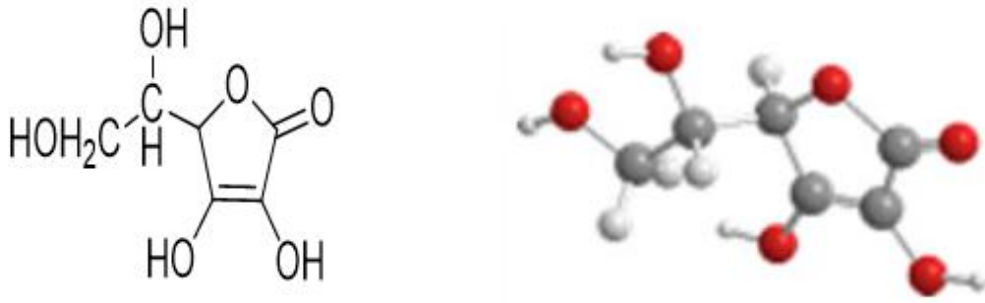
Şekil 2.4. Ürik asit kimyasal yapısı.

Ürik asit pürin metabolizmasının son yükseltgenme ürünü olup, kan ve idrar gibi biyolojik sıvılarda mevcuttur (Ouyang ve ark., 2015). Pek çok klinik rahatsızlık ile alakalı olan ürik asidin bir bölümü böbrekler ile dışarı atılırken çok az bir kısmı ise bağırsaklardan süzülerek dışarı atılmaktadır. İnsan metabolizmasında ürikaz enzimi bulunmadığından, adenozin ve guanozin bazlı pürinlerin son ürünü ürik asittir. Memelilerde ürik asit; üreye, allantoin hatta amonyağa kadar parçalanabilmektedir. Ürik asit gıdalar ile insan vücuduna alınabileceği gibi kas hücrelerindeki nükleik asitlerin dönüşümünden de elde edilebilmektedir (Champe ve ark., 1994).

Vücutta bulunan ürik asit miktarı hastalıklar açısından oldukça önem taşımaktadır. Günümüzde de oldukça önemli olan lösemi ve pnömoni hastalıklarının tedavisi için ürik asit plazmasındaki üre düzeyi önemli bir belirteçtir. Ürik asit düzeyinin anormal miktarı ile gut ve hiperürsemi hastalıkları ortaya çıkmaktadır. Çeşitli epidemiyolojik çalışmalar ile insan serumu içerisindeki aşırı ürik asit miktarının kalp ve damar hastalıkları için önemli bir risk faktörü oluşturduğunu ileri sürmüşlerdir. Genellikle serumda bulunan ürik asit seviyesi $0.13-0.46 \text{ mM}$ aralığındadır ve bu nedenle ürik asidin saptanması önemli olup bu amaçla elektrokimyasal teknikler, yüksek performanslı sıvı kromatografisi, floresans gibi yöntemlerin kullanılması mümkündür (Azmi ve ark., 2015).

2.3.3 Askorbik Asit

Askorbik asit, C vitamini olarak da bilinen bir monosakkarit türevidir ve yapısı bakımından glikoza ve diğer altı karbonlu monosakkaritlere benzeyen bir moleküldür. Görünüşü beyaz kristal şeklindedir ve kapalı formülü $C_6H_8O_6$ olup molekül ağırlığı ise $176.13 \text{ g mol}^{-1}$ 'dir.



Şekil 2.5. Askorbik asidin kimyasal yapısı.

Askorbik asit biyokimyasal olayların birçoğunda vitamin olarak rol alır. Farnosötik analizler için askorbik asit miktarının bilinmesi önemli olmakla beraber askorbik asit miktarı tayini için elektrokimyasal yöntemler dahil olmak üzere kromatografik ve kalorimetrik yöntemler yaygın olarak kullanılmaktadır (Peng ve ark., 2015).

İnsanlar için oldukça önemli olan C vitamini portakal, limon, ananas greyfurt, gibi meyvelerde ve yeşil yapraklı sebzelerde bol miktarda bulunur. Eksikliğinde de halsizlik, diş eti kanaması, eklem ağrıları, saç kırılmaları gibi etkiler görülmektedir.

2.4. İletken Polimerler

Çok sayıda monomerin kovalent bağlarla birbirine bağlanması sonucu oluşan büyük moleküllere polimer adı verilmektedir. Monomerdan başlanarak polimerin elde edildiği tepkimeye ise polimerizasyon tepkimesi adı verilmektedir.

Polikonjuge, poliheterosiklik ve poliaromatik moleküllerden oluşan ve doping edilmiş hallerinde yüksek elektriksel iletkenliğe sahip olan polimerler iletken polimerler olarak adlandırılmaktadır. Yük taşınımının farklı olması nedeniyle iletken polimerleri redoks polimerlerinden ayırmak mümkündür.

İletken polimerlerin keşfedilmesi yaklaşık olarak 1970'lere dayanmaktadır. Bu tarihten önce polimerler yalıtkan maddeler olarak düşünülmüş ve bilim insanlarına göre bir polimerin iletken özellik göstermesi istenmeyen durum olarak kabul görmüştür. Alan Mac Diarmid, Alan Heeger ve Hideki Shirakawa 1977 yılında ilk doğal polimer olan poliasetileni tanımlamışlardır (Guimard ve ark., 2007). Günümüzde polianilin polipirol, politiyofen, politiyofen-vinilen gibi bilinen 25 iletken polimer sistemi bulunmaktadır. İletken polimerler hem metallerin iletkenlik özelliğini gösterirler hem de bu metallere farklı olarak esneklik, optik, elektrik, elektronik, manyetik gibi birçok özelliğe daha sahiptirler. Ayrıca polimerlerin sahip olduğu iletken özellik doping (katkılama) işlemi ile artırılabilir (Balint, 2014).

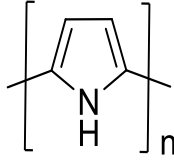
İletken polimerler denilince akla gelen ilk hususlardan biri de şüphesiz doping yani katkılama olayıdır. Sentezlenen polimer, doping yardımıyla daha büyük bir iletkenliğe ulaşır ve bu iletkenlik, metallerin gösterdiği iletkenliğe yakındır.

İletken polimerlerin iletkenlik özelliği gösterebilmeleri için yapısal olarak bazı özelliklere sahip olmaları gerekir. Polimerlerin iletkenlik özelliği yapısında bulunan konjuge çift bağlardan kaynaklanır. Polimer zincirleri arasındaki çift bağlar aracılığıyla elektronların yer değiştirmesi ile polimerlerin iletkenlikleri sağlanır. Çift bağlarda daha zayıf olarak bulunan lokalize π bağları ile daha kuvvetli olarak bulunan σ -bağı vasıtasıyla elektronlar delokalize olarak bir yerden diğer yere hareket etmektedir. Bir polimer zincirinden katkılama işlemi ile elektron alındığında polimer zincirinde artı yüklü bir boşluk meydana gelir ve bu boşluğa başka yerden gelen bir elektron yerleştiğinde geldiği yerde tekrar artı yüklü boşluk oluşturur. Bu işlemlerin art arda zincir boyunca veya zincirler aracılığı ile tekrarlanmasıyla polimerlerde iletkenlik sağlanır (Balint ve ark., 2014).

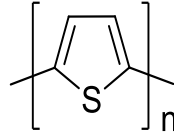
İletken polimerlerin yaygın olarak kullanıldığı uygulama alanları aşağıda sıralanmıştır:

- Elektrokromik cihazlar
- Biyosensörler
- Nanoyapılar
- DNA sentezi

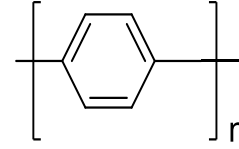
- İlaç salınım sistemleri
- Bilgisayar yazıcıları
- Elektrobiriktirme
- Şarj edilebilir piller
- Işık yayan diyotlar



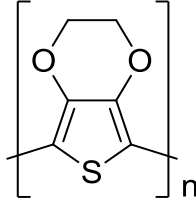
POLİPİROL



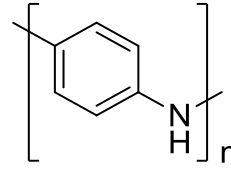
POLİTİYOFEN



POLİPARAFENİLEN



POLİ (3,4-ETİLENDİOKSİTİYOFEN)



POLİANİLİN

Şekil 2.6. Bazı iletken polimerler.

2.4.1. Elektrokimyasal Polimerizasyon

Elektrokimyasal polimerizasyon yöntemi elektrokimyasal olarak elektrot yüzeyinde monomerin polimerleştirilmesi işlemi olarak adlandırılabilir. Elektrokimyasal polimerizasyon işleminin gerçekleştirileceği çözelti içerisinde monomer ile destek elektrolit ilave edilir ve çözeltiye genellikle çalışma elektrodu, referans elektrot ve karşıt elektrot yerleştirilip elektrik akımı uygulanarak elektrokimyasal polimerizasyon işlemi başlatılır. Çalışma elektrotu üzerinde polimerleşme işlemi meydana gelir. Çalışma elektrotu olarak genellikle platin, altın, camsı karbon elektrot veya kalem grafit elektrotlardan uygun olan biri kullanılır. Referans elektrot olarak ise kalomel elektrot veya gümüş/gümüş klorür kullanılabilir. Bu yöntem ile çalışma elektrotu yüzeyinde akımla beraber kalınlığı kontrol edilebilen, basit, düzgün ve kullanışlı ince bir polimer filminin biriktirilmesi sağlanır. Bu metotta elektrik akımı sayesinde çözünmeyen polimer zincirleri oluşmaktadır ve çalışma elektrotu yüzeyinde sentezlenmiş filmin özellikleri, polimerizasyon süresi, polimerin yükü, çözücü, sıcaklık, katkı maddesi, kullanılan elektrot sistemi ve yöntem ile belirlenir. Elektropolimerizasyon ile sadece elektrot yüzeyinde monomerin polimerleşmesi

sağlanır. Uygun bir akım–gerilim kaynağı kullanılarak elektrokimyasal polimerizasyon işlemi potansiyostatik, galvanostatik, potansiyodinamik olmak üzere üç farklı şekilde gerçekleştirilebilir.

Potansiyostatik metotta elektrotun yüzeyinde sabit potansiyelde polimerleşme işlemi gerçekleştirilirken, galvanostatik metotta sabit akımda elektroliz işlemi gerçekleştirilmektedir. Potansiyodinamik polimerizasyonda ise akım ve potansiyel istenilen değerde tutulabilir ve genellikle korozyon ölçümlerinde kullanılmaktadır. Genellikle ince filmler için potansiyostatik yöntemler kullanılırken, kalın filmler için ise galvanostatik yöntemler kullanılır.

2.4.1.1. Elektrokimyasal Polimerizasyonun Avantajları

Polimerizasyon işleminin oda sıcaklığında gerçekleştirilebilmesi, elektrot yüzeyinde homojen filmlerin elde edilebilmesi, film oluşumunun ve dopant katılımının eş zamanlı olarak gerçekleştirilebilmesi, katkılama işleminde istenilen iyonların kullanılabilmesi elektrokimyasal polimerizasyonun avantajlarındanıdır. Endüstride ise yüksek verim ve düşük maliyet nedeniyle kimyasal yöntem tercih edilmektedir. Ancak burada oluşan ürün, bazı safsızlıklar içermektedir. Nitekim elektrokimyasal polimerizasyonda oluşan ürün safsızlık içermemektedir. Elektrokimyasal polimerizasyonda oluşan polimer, katalizör, monomer ve çözücüden ayrılma gibi işlemler gerektirmez. Potansiyelin veya akımın değeri ile film kalınlığının kontrol edilebilirliği, polimerizasyonun başlama ve bitiş basamaklarının kontrol edilebilirliği ve buna bağlı olarak da istenilen stokiyometride polimer elde edilebilir oluşu bu sentezin tercih edilme sebebi olarak gösterilebilir. Elektrokimyasal polimerizasyonda uygulanan potansiyel kontrol altında tutularak istenilen karakterde kopolimer veya aşırı kopolimerleri elde edilebilir. Kimyasal başlatıcılara göre elektrot potansiyelinin monomeri çok daha fazla etkilemesi sebebiyle, kimyasal sentezde aktivasyonu mümkün olmayan keton, aldehit gibi monomerlerin potansiyel uygulanarak kolayca aktive edilebilmesi, çözünmeyen iletken polimerlerin, IR, UV, ESR, Raman gibi yöntemlerle karakterizasyonuna olanak sağlaması nedeniyle de tercih edilen polimerizasyon yöntemi elektrokimyasal polimerizasyon olarak gösterilebilir. Elektrokimyasal polimerizasyon hem dönüşümlü voltametri (CV) hem de sabit potansiyelde elektroliz yöntemleri ile kolaylıkla gerçekleştirilebilmektedir.

2.4.2. Tiyonin

Tiyonin (TH), fenotiyazin ailesine ait olan metakromatik bir boyar maddedir. Kimyasal yapısı Şekil 2.7’de gösterilen tiyonin, her iki yanında simetrik $-NH_2$ gruplarına sahip olan düzlemsel bir moleküldür.



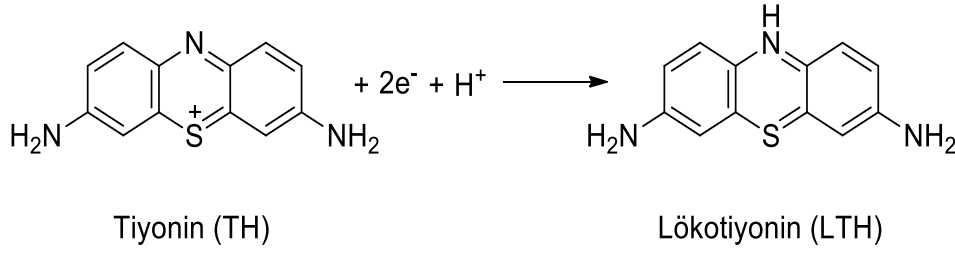
Şekil 2.7. Tiyonin molekülünün kimyasal yapısı ve üç boyutlu modellemesi.

Tiyonin; lüminesans, lazerler, fotoğraf, analitik kimya materyallerinin boyanması gibi uygulamalarla ilgili olduğu için, tiyonin ile yüzey aktif maddelerin etkileşimi çok kuvvetlidir. Bu maddelerle etkileşen tiyoninin fiziksel ve kimyasal yapısında değişiklikler olmaktadır.

Tiyonin molekülünün elektrokimyasal aktivitesinden dolayı bu molekül ile ilgili birçok elektrokimyasal çalışma gerçekleştirilmiştir. Tiyonin ile ilgili yapılan literatür araştırmasında, bu maddenin elektrokimyasal olarak polimerleştirilmesiyle elektrot üzerinde farklı kalınlıklarda polimerik filmlerin oluşturulduğu çalışmalara çokça rastlanmaktadır. Yapılan çalışmaların birçoğunda tiyoninin elektronik arabulucu olarak kullanıldığı belirtilmektedir.

Bir elektrot malzemesinin poli(tiyonin) (PTH) ile modifiye edilmesi sırasında en önemli faktörün potansiyel tarama genişliği, özellikle de üst potansiyel sınırı olduğu belirtilmiştir. Eğer üst potansiyel sınırı 0,8 V’tan daha düşük bir potansiyel alınarak tarama yapılırsa, tiyoninin iki elektron transferiyle indirgenmesi sonucu oluşan lökotiyonine karşılık gelen bir dönüşümlü voltamogram gözleneceği ve tiyoninin polimerizasyonunun gerçekleşmeyeceği rapor edilmektedir. Tiyoninin lökotiyonine dönüştüğünü gösteren tepkime Şekil 2.8’de gösterilmektedir. Düzenli tiyonin polimer filmini elde etmek için elektrot potansiyelinin, tiyonin molekülünün $-NH_2$ gruplarının oksidasyon potansiyelinden büyük olmasının şart ve bunun da $-NH_2$

içeren aromatik bileşikler için olağan olduğu belirtilmiştir (Oshaka ve ark., 1984, 1991; Kunimura ve ark., 1988).



Şekil 2.8. Tiyonin- Lökotiyonin dönüşümü.

2.5. Biyosensörler İçin İletken Polimerlerin Önemi

İletken polimerler aracılığıyla enzimler için spesifik analitleri ölçebilen çok yönlü, hızlı, hassasiyeti yüksek biyosensörler elde etmek mümkün olmaktadır. Bu sebeple iletken polimerlerin tıbbi alanda kullanımının oldukça arttığı gözlenmiştir. Enzimlerin immobilize edilmesi için uygun matris olarak kullanılan iletken polimerler elektrotlardaki biyolojik olarak aktif maddelere izin vererek onların amperometrik biyosensörlerde kullanımını sağlarlar. Elektriksel olarak elektrot yüzeyine modifiye edilebilen iletken polimerler, elverişli kimyasal yapıları sayesinde oldukça esnek karakterlere sahiptirler. Biyosensörlere kimyasal modelleme ve sentez ile gerekli elektronik ve mekanik özellikleri uygulamak mümkündür. İletken polimerlerin bir başka avantajı da nötral sulu çözeltiler içerisinde biyolojik moleküller ile uyumlu olmalarıdır (Gerard, 2002).

2.6. Metal Nanopartiküller

Geçiş metali nanopartikülleri parçacık boyutu 1-100 nm arasında olan koloidal halde bulunan tanecikler olarak tanımlanabilir. Nanopartiküllerin taşınması gereken bazı özellikler aşağıda sıralanmıştır:

- Parçacık boyutu 100 nm'den küçük olmalı ve parçacık boyutunun ortalama standart sapması %15'den küçük olmalı.
- Parçacıkların sentezlenmesi tekrarlanabilir olmalı.
- Parçacıkların bileşimi kolayca tanımlanabilir olmalıdır (Aiken ve ark., 1996).

Metal nanopartikülleri metalden nano boyuta küçültülmelerine rağmen yığın haldeki metallere farklı özellikler gösterdikleri için tercih edilirler. Özellikle boyutları küçüldükçe katalitik ömrü ve katalitik aktivitesi arttığı için daha kullanışlıdır.

Metal nanopartikülleri farklı özelliklerinden dolayı birçok alanda kullanılırlar. Sahip oldukları yüksek yüzey alanlarından; seçici, aktif ve kararlı olmalarından dolayı geçiş metal nanopartikülleri katalizör olarak kullanım için de uygundur.

Metal nanopartiküller kolaylıkla sentezlenebilmeleri ve kimyasal açıdan kolaylıkla modifiye edilebilmeleri nedeniyle endüstriyel ürünlerde, makine sanayinde, tüketim ürünlerinde, askeri uygulamalarda ve özellikle tıpta geniş ölçüde kullanılmaktadır. Kristal yapıları ve çok güçlü metalik bağlara sahip olmaları nedeniyle üstün mekanik özellikler taşıyan metal nanopartiküller ve alaşımları, iskelet-kas sistemimizin mekanik koşullarına en iyi uyum gösteren malzemelerin başında gelirler.

2.6.1. Pd Nanopartikülleri

Paladyum (Pd) platine benzer, atom numarası 46 ve atom ağırlığı 106.42 olan elementtir. 1803'te William Hyde Wollaston tarafından bulunmuş olan Paladyum metali platinden sonra bu gruptaki metallere en önemlisidir. Önemli metallere sayılmaktadır. Gayet ince dağılmış bir hâlde iken periyodik cetvel sisteminde kendisinin üstünde bulunan nikelde daha fazla hidrojen gazını çözer. Paladyumda çözülmüş halde bulunan hidrojen nikelde olduğu gibi çok aktif bir hâdedir ve doymamış organik bileşikler hidrojenasyonu kullanılabilmektedir. Hiçbir gaz geçirmeyen levha hâlindeki paladyum da hidrojen gazını geçirir. Paladyum, tuzlarında genellikle +2 değerlikte olup rengi kahverengidir.

Periyodik cetvelde VIII B grubunda yer alan platin grubu elementler (PGE), rutenyum (44Ru), rodyum (45Rh), paladyum (46Pd), osmiyum (76Os), iridyum (77Ir) ve platin (78Pt) şeklinde bulunmaktadır. Paladyum en düşük erime noktasına sahiptir ve grubunun en yoğunudur. Paladyum serbest metal olarak bulunabilir veya diğer platin grubu metallere birlikte alaşım halinde olabilir. Platin grubu elementler iki alt gruba ayrılmaktadır: Pd-grubu (Paladyum grubu; PGE-Rh, Pt ve Pd) ve Ir grubu (İridyum grubu; PGE-Os, Ir ve Ru).

Pd nanopartikülleri içeren elektrotlar, özellikle H₂O₂ gibi çeşitli önemli substratlar için yapılan araştırmalarda dikkate değer yüksek elektrokatalitik etkinliğe ve seçiciliğe sahip olduğu bilinen nanomalzemelerdir. Son zamanlarda Pd nanopartiküllerine bu nedenden dolayı H₂O₂ tayininde ilgi artmıştır. Ayrıca paladyum nanopartikülleri ultra yüksek yüzey alanı da sağlamaktadır.

Paladyum platine çok benzer şekilde oksidasyona ve korozyona karşı dayanıklıdır ve mükemmel katalitik özelliklere sahiptir. Bunun nedeni de paladyumun, kendi hacminin 900 katı oranında hidrojen gazı emme kabiliyetine sahip olması gerçeğidir. Paladyum ayrıca kimyasal olarak kararlıdır ve iletken olup, elektronik endüstrisindeki uygulamalar için de yararlıdır.

Paladyum metalinin diğer kullanım alanları aşağıda sıralanmıştır:

- Yakıt Pilleri (hidrojen absorpsiyonu)
- Etanol yakıtı üretimi (Wacker Prosesi)
- Madeni para
- Petrol Arıtma (katalitik reformasyon ve hidrolik işleme)
- Polyester (saflaştırılmış tereftalik asit)
- Fotoğrafçılık (Platinotip Süreci)
- Su arıtma
- Tıp (paladyum -103)

2.7. Modifiye Elektrotlar

Elektrot yüzeyine, kimyasal maddelerin kendiliğinden veya dışarıdan bir etkiyle tutturulmasıyla elde edilen elektrotlara modifiye elektrot adı verilir. Modifiye edilmiş elektrotlar, elektrosentez, elektrokataliz, biyosensör uygulamaları, ilaç salınım sistemleri, korozyon ve enerji uygulamaları gibi birçok farklı alanda kullanım alanına sahiptirler. Özellikle elektroaktif bir polimer ile kaplı modifiye elektrotlar yüzey özellikleri kolaylıkla kontrol edilebildiğinden çok tercih edilmektedir. Modifiye elektrotlar, elektrokimyasal tepkime hızının denetlenmesi gibi istenilen özelliklerin elde edilmesinde de kullanılır ve elektron aktarım tepkimelerinin hızlandırılması, seçici ve hassas tayin yapılması gibi çeşitli avantajlar sağlarlar. Elektrot yüzeyine modifiye edilen maddelerden genel olarak elektrotun iletkenliğini azaltmaması

beklenmektedir. Modifiye edici olarak kullanılan malzemeler hem organik hem de inorganik olabilirler. Organik maddelerde genellikle polimerler kullanılırken inorganik maddelerde ise ligandlar, kompleksler veya metal oksitleri kullanılabilir (Çelikkan, 2001).

Modifiye edilmiş olan elektrotların, modifiye edilmemiş elektrotlardan farkı yüzeylerinde iletken bir substratın bulunması ve bu substrattan kaynaklanan özelliklere sahip olmasıdır. Modifiye edilen elektrotlar genellikle iletken olan substrata organik veya inorganik bileşiklerin tutturulması ile elde edilebilmektedir. Böylece yapılan çalışmaya uygun olacak şekilde farklı özelliklerde elektrotlar hazırlanabilmektedir. Geliştirilen elektrot sisteminin modifiye edilmemiş olan elektrottan daha üstün özelliklere sahip olması en temel kuraldır (Brown ve ark., 1977).

Elektrotlara uygulanan modifikasyon işleminin avantajı olarak voltametrik, amperometrik ölçümlerin yanı sıra tek kullanımlık elektrokimyasal cihazlar da ortaya çıkmıştır. Modifiye elektrotların üstünlükleri kullanım kolaylığı, düşük maliyetli ve ticarileştirilebilir olmaları, taşınabilir olmaları ve (biyo)kimyasal modifikasyon olanakları sağlamalarıdır (Dago ve ark., 2015).

Analitik kimyada kullanılan modifiye elektrotların birçok avantajı bulunmaktadır. Örneğin elektrot modifiye edilirken kullanılan kimyasal madde sınırsızdır. Modifikasyon için kullanılan malzeme ve yöntem değiştirilerek elektron aktarım hızı artırılabilir veya azaltılabilir. Belirli türler için seçici, duyarlılığı yüksek, spesifik yüzeyler oluşturulabilir ve dış etkilere karşı dayanıklı yüzeylerin elde edilmesi mümkündür (Zurawski ve ark., 1987 ; Üstündağ ve ark., 2009).

2.8. Hidrojen Peroksit ve Metabolik Önemi

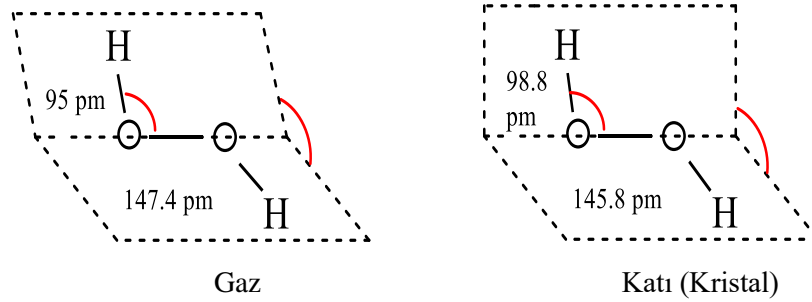
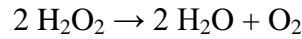
1818 yılında Thenard tarafından keşfedilmiş olan hidrojen peroksit sudan daha akıcı, seyreltilmiş çözeltisi berrak olan bir sıvı olarak tanımlanabilir. Zayıf bir asittir, güçlü oksitleyici özelliğe sahip olup bundan dolayı aynı zaman da güçlü de bir ağartıcıdır (J. Drabowicz ve ark., 1994).

Hidrojen peroksit oksidazların katalizlediği birçok reaksiyonun ürünü olarak ortaya çıkmaktadır. Hidrojen peroksit tekstil, çevre, kağıt beyazlatması ve gıda

sterilizasyonu gibi birçok alanda esansiyel bir bileşiktir (Hallivel, B. ve ark., 2000). Hidrojen peroksitin yüksek konsantrasyonları bitki, hayvan ve bakteri hücreleri için sitotoksiktir (genellikle $>50 \mu\text{M}$). Bundan dolayı hidrojen peroksidin doğru, hızlı ve güvenilir analizi gıda güvenliği, çevre kirliliğinin kontrolü ve klinik açıdan büyük önem taşımaktadır.

Metabolizmada hidrojen peroksit, oksijenin enzimatik olarak 2 elektronla indirgenmesi ya da süperoksitlerin enzimatik veya non-enzimatik dismutasyonu tepkimeleri sonucu oluşmaktadır. Ancak hidrojen peroksidin oksitleyici bir tür olarak bilinmesinin nedeni Fe, Cu gibi metal iyonlarının varlığında hidroksil radikalinin öncülü olarak davranması şeklinde açıklanabilir (Wood ve ark., 2005).

Hidrojen peroksit ısı ile kendiliğinden ya da başta bakır, demir, nikel, mangan, krom tuzları olmak üzere çok sayıda maddenin eşliğinde bozunarak su ve oksijene ayrılmaktadır. Canlılarda ise oksijen metabolizmasının bir ürünü olarak oluşmaktadır. Oldukça toksik olan hidrojen peroksit; peroksidazlar (özellikle glutasyon peroksidazlar), katalaz ve tiyoredoksin bağlı sistemlerle hızlı bir şekilde metabolize edilerek uzaklaştırılır.



Şekil 2.9. Hidrojen peroksidin temel ayrışma reaksiyonu ve konformasyonları.

Yukarıda bahsedildiği gibi, hidrojen peroksidin metabolizmada reaktif olarak bilinmesinin nedeni demir, bakır gibi metal iyonlarının varlığında hidroksil radikalinin öncülü olarak davranması olarak açıklanabilir. Hidrojen peroksidin eksik indirgenmesi sonucu hidroksil anyonu yapımı, vücutta bu radikalın en önemli kaynağıdır. Hidrojen peroksidin iki elektronla indirgenmesi su ve oksijen oluşumuna, bir elektronla indirgenmesi hidroksil oluşumuna neden olmaktadır. Bu tür indirgenme Fe, Cu gibi metal iyonları tarafından katalizlenmektedir. Hidroksil

radikali DNA'ya da zarar vererek hücre büyümesini engeller ve hücrenin ölümüne neden olabilir (Spencer ve ark., 1996).

Hidrojen peroksit özellikle proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye girerek yüksek oksidasyon düzeyindeki reaktif demir formlarını oluşturmaktadır. Bu formdaki demir çok güçlü oksitleyici özelliğe sahiptir ve hücre zarlarında lipit peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilir.

Hidrojen peroksit tayininde klasik yöntemlere göre daha pratik çözümler üretilmesi için potansiyometri, amperometri, impedimetri temelli biyosensörler geliştirilmektedir. Son zamanlarda enzim temelli hidrojen peroksit biyosensörlerinin yerine, hem grubu içeren proteinlerin kullanılmasıyla geliştirilen biyosensörlerle birlikte daha kararlı ve düşük maliyetli hidrojen peroksit tayini mümkün hale gelmiştir. Elektrokimyasal olarak hidrojen peroksit tayininde kronoamperometri yöntemi kolay uygulanabilirliği, kısa cevap süreleri ve yüksek duyarlılığı sebebiyle birçok çalışmada tercih edilmektedir.

2.8.1. Hidrojen Peroksit Tayinine Yönelik Başlıca Yöntemler

2.8.1.1. Titrimetrik Yöntemler

Titrimetrik yolla hidrojen peroksit tayininin temel prensibi hidrojen peroksit içeren örneğin triiyodür iyonları oluşturabilecek amonyum molibdat gibi bir katalizör varlığında standart bir tiyosülfat çözeltisi ile titre edilmesi temeline dayanmaktadır. Ticari H₂O₂ çözeltilerine ilave edilen gliserol, borik asit ve salisilik asit gibi koruyuculardan daha az etkilenmesi nedeniyle permanganat yöntemi ile kıyaslandığında iyodometrik yöntem daha avantajlıdır. Bu tayin metodu ile % 0,1-% 5,0 duyarlılıkla tayin yapan kitler geliştirilmiş olmasına karşılık, seçicilik sınırlaması mevcuttur (Bassett ve ark., 1978).

2.8.1.2. Spektrofotometrik Yöntemler

Titanyum tuzlarının hidrojen peroksitle verdiği reaksiyon sonucunda oluşan sarı rengin absorbans değerlerinden faydalanılarak nicel ve nitel olarak hidrojen peroksit tayini yapılabilir. Bu yöntem özellikle süt örneklerinde sıkça kullanılmaktadır.

Spektrofotometrik yöntemin enzim veya proteinlerle birlikte kullanıldığı yöntemler de mevcuttur. Bu yöntemlerde katalaz, peroksidaz enzimleri veya hemoglobin gibi hidrojen peroksitle reaksiyona giren proteinlerin kullanılmasıyla hidrojen peroksit su ve oksijene indirgenirken UV bölgede absorbans değeri okunacak bir bileşiğin yükseltgenmesi esas alınır ve bu sayede dolaylı olarak hidrojen peroksit tayini gerçekleştirilir (Zhang, K. ve ark., 1999).

2.8.1.3. Elektrokimyasal Temelli Yöntemler

Günümüzde hidrojen peroksit tayininde hızlı, güvenilir ve seçici ölçüm imkânı sağlayan elektrokimyasal temelli yöntemlerin kullanımına yaygın olarak rastlanmaktadır.

- Doğrudan Elektrokimyasal Yöntemler:

Hidrojen peroksit, belirli potansiyellerin uygulanmasıyla, su ve oksijene ayrıştırılarak elektrokimyasal olarak tayin edilebilir. Bu amaca uygun olarak hidrojen peroksidin indirgenebileceği gümüş, altın ve camsı karbon gibi maddelerden yapılmış bir çalışma elektrodu, doygun kalomel elektrot, gümüş-gümüş klorür elektrodu gibi bir referans elektrot sistemleri kullanılarak ölçümler yapılabilir. Ancak bu yöntemde girişimlerin oluşması nedeniyle seçicilik daha düşüktür. Çalışılan elektrotların yüzey aşındırma gibi işlemlere maruz bırakılmasıyla duyarlılık arttırılmaya çalışılmıştır.

- Biyokomponent Temelli Elektrokimyasal Yöntemler:

Bu amaçla çalışılan yöntemde; hidrojen peroksit ile reaksiyona girecek demir, bakır gibi elementler içeren protein ve enzimlerin, çeşitli yöntemlerle immobilize edilmesiyle ortamdaki hidrojen peroksit konsantrasyonuna bağlı olarak, meydana gelen elektrokimyasal değişimlerin izlenmesi esastır.

Hidrojen peroksidin su ve oksijene indirgenmesini sağlayan katalaz, horseradish peroksidaz gibi enzimlerle sitokrom c ve hemoglobin gibi proteinler hidrojen peroksit tayininde kullanılan başlıca biyokomponentlerdir. Bu materyallerin immobilizasyonu için karbon nanotüplerin kullanımı, çapraz bağlı polimerlerle tutuklama, zeolitlerle tutuklama, DNA ile modifikasyon, kendiliğinden oluşan tek tabakalarla immobilizasyon gibi çok çeşitli immobilizasyon prosedürleri uygulanabilmektedir. Hidrojen peroksidi dönüştürme uğratan enzim veya

proteinler yaygın olarak altın, gümüş veya camı karbon elektrotlar üzerine immobilize edilir.

Hidrojen peroksidin dönüşümünün, sabit bir çalışma potansiyelinde oluşturduğu akım değişimlerinin izlenmesi ve bu değişimlerin hidrojen peroksit konsantrasyonu ile ilişkilendirilmesi temeli ile gerçekleştirilen amperometrik yöntemler oldukça geniş uygulama alanına sahiptir (Zheng ve ark., 2008; Yuan ve ark., 2008). Amperometrik yöntemlerde genellikle reaksiyon sonucu oluşan oksijenin veya hidrojen peroksidin indirgenmesinden dolayı oluşan akım değişimleri bir referans elektroda karşı belirlenir. Son zamanlardaki çalışmalar reaksiyon bileşenlerinin indirgenme ve yükseltgenme değişimlerinden ziyade, hidrojen peroksidin ilgili proteinin elektrokimyası üzerindeki doğrudan etkisinin amperometrik olarak gözlemlenmesi üzerine yoğunlaşmıştır.

Zamana karşı akım değişimlerinin tespit edildiği kronoamperometri yöntemi uygulama kolaylığı, gerçek zamanlı ve hızlı cevap süresine sahip olması nedeni ile oldukça tercih edilen bir yöntemdir. Bu yöntemde uygulanan sabit bir potansiyel sonucu oluşan akımın, hidrojen peroksit ilavesi sonucunda değişimi esas alınır.

Dönüşümlü voltametri yöntemi de hidrojen peroksit tayini için yaygın olarak kullanılmaktadır. Amperometri yöntemindeki ilkeye benzer olmakla birlikte potansiyel değişimlerine karşı akım değişimleri grafiğe geçirilerek de tayin yapılabilmektedir.

2.8.1.4. Kromatografik Yöntemler

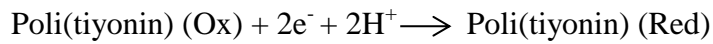
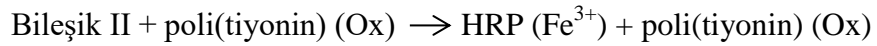
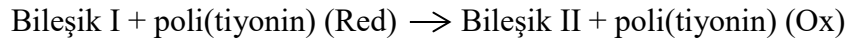
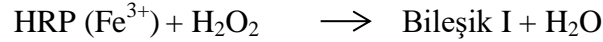
Kromatografik olarak organik peroksitlerin varlığında hidrojen peroksit analizi için en yaygın kullanılan yöntemler iyon değişim kromatografisi ve ters faz sıvı kromatografisi olarak gösterilebilir. Değişik dedektörler kullanılabilirle beraber, genellikle UV dedektörleri kullanılmaktadır. Temel tayin prensibi ise hidrojen peroksidin titanyum ve vanadyum ile oluşturduğu komplekslerin kromatografik olarak ayrılmasının bir UV dedektörle belirlenmesidir (Scheuer, C. ve ark., 1995).

2.9. Önceki Çalışmalar

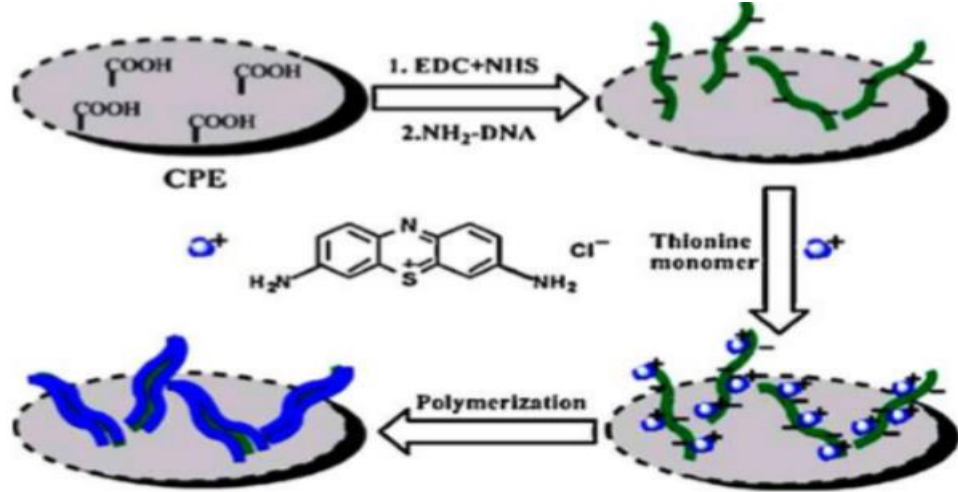
Tiyonin molekülünün yüksek elektrokimyasal aktivitesi dolayısıyla birçok çalışma gerçekleştirilmiştir. Bu molekülün özellikleri üzerine yapılan literatür taramalarında,

tiyoninin elektrokimyasal olarak polimerleştirilmesiyle elektrot üzerinde farklı kalınlıkta polimer filmleri oluşturulduğu gözlenmiştir. Yapılan çalışmaların pek çoğunda tiyoninin elektronik arabulucu olarak kullanıldığı belirtilmiştir.

Chen ve grubu tarafından yapılan bir çalışmada tek tabaka modifiye elektrot üzerinde poli(tiyonin) film içinde horseradish peroksidaz (HRP) üzerine kurulu hidrojen peroksit sensörü incelenmiştir. Kaplanmamış altın elektrot öncelikle sulu sistemin çözeltisi içinde 4 saat bekletilmiş, daha sonra da doymuş toluen çözeltisi içinde 2 saat tutularak elde edilen modifiye elektrodun, 0,1 mM tiyonin içeren ve 0,1 M pH'sı 8,0 olan fosfat tampon çözeltisi içinde dönüşümlü voltamogramı alınarak tiyonin tek tabaka modifiye elektrot hazırlanmıştır. Bu elektrot, HRP ve tiyonin içeren 0,1 M fosfat tampon çözeltisi içinde -500 mV'tan 1100 mV'a kadar taranarak HRP/poli(tiyonin) modifiye elektrot elde edilmesi sağlanmıştır. Fosfat tamponu çözeltisine H₂O₂ eklendikten sonra katodik pik akımında artma, anodik pik akımında ise azalma gözlemlendiği bildirilmiştir. Bunun da tiyonin filminin, elektronları HRP ile altın elektrot arasında etkili şekilde taşıdığını gösterdiği kaydedilmiştir. HRP katalizli H₂O₂'nin indirgenme reaksiyonu aşağıda gösterilmiştir (Chen ve ark., 1999).



Kui ve grubu tarafından, H₂O₂'i tayin etmek için tek zincirli DNA eşliğinde poli(tiyonin) (PTH) nanoşeridinin elektropolimerizasyonu üzerine çalışılmıştır.



Şekil 2.10. DNA eşliğindeki poli(tiyonin) nanoşeritlerinin elektropolimerizasyonun şematik gösterimi (Kui ve ark.2010).

Çalışmada karbon pasta elektrot (CPE) üzerine DNA eklenmiş ve tiyonin monomer çözeltisi ile yüzey kaplaması yapılmıştır (Şekil 2.10). Hazırlanan tiyonin/DNA/CPE, fosfat tampon çözeltisi (PBS, 0,30 M, pH 7,0) içine alınmış, -0,6 V ve 0,4 V arasında dönüşümlü voltametri tekniği ile taranarak elektropolimerizasyonu yapılmış ve PTH/DNA/CPE şeklinde gösterilmiştir. Ayrıca DNA olmadan PTH/CPE hazırlanmış ve diğer elektrot ile karşılaştırılmıştır. DNA olmadan hazırlanan PTH'in pik akımlarının daha düşük olduğu, DNA modifiye CPE'un ise herhangi bir redoks pikinin olmadığı dolayısıyla da DNA'nın -0,6 V ve 0,4 V arası potansiyellerde elektroaktif özellik göstermediği rapor edilmiştir. DNA varlığında hazırlanan PTH'in daha yüksek pik akımlarına sahip olmasının, DNA molekül kalıbı boyunca tiyonin monomerlerinin sıralanıp geliştiğini gösterdiği belirtilmiştir. Çalışma kapsamında PTH/DNA nanoşeritlerinin H₂O₂'i algılamadaki elektrokatalitik aktivitesi araştırılmıştır. PBS çözeltisine H₂O₂ ekledikten sonra indirgenme pik akımında artma ve yükseltgenme pik akımında da düşüş gözlemlendiği ve bunun da H₂O₂'in tipik elektrokatalitik indirgenme prosesine karşılık geldiği belirtilmiştir. PTH/CPE'a aynı miktarda H₂O₂ eklendiğinde de redoks pik akımının çok az değiştiği gözlemlenmiş dolayısıyla H₂O₂'in indirgenmesi için, PTH'in elektrokatalitik aktivitesinin, DNA molekül kalıbı varlığında çok iyi gelişme gösterdiği sonucuna varılmıştır (Kui ve ark., 2010).

Huang ve grubu tarafından, paladyum nanopartikül kaplı karbon nanofiber modifiye elektrot kullanılarak dopamin, ürik asit ve askorbik asidin eşzamanlı olarak

elektrokimyasal tayini gerçekleştirilmiştir. Çalışmada paladyum nanopartikülü kaplı karbon nanofiberleri (Pd/CNFs) ile modifiye edilmiş karbon pasta elektrodu (Pd/CNF/CPE) ile dopamin, ürik asit ve askorbik asitin tayini için bu sistemin mükemmel bir elektrokimyasal katalitik aktivite gösterdiği rapor edilmiştir. Ayrıca yüksek seçicilik ve duyarlılığa sahip olan yöntem, idrar örneğinde, enjekte edilebilir ilaç ve ürik asidin dopamin tayininde uygulanmıştır.

Dao-Jun Guo ve Hu-Lin Li tarafından fonksiyonel MWNT yüzeyleri üzerinde Pd nanoparçacıklarının elektrokimyasal sentezi çalışılmıştır. Paladyum nanopartikülleri potansiyel basamaklı bir yöntemle 4-aminobenzen monolayer aşılınmış çok duvarlı karbon nanotüpleri (MWNT'ler) üzerinde elektrokristalize edilmiştir. Elde edilen Pd / MWNT kompozitinin yapısı ve doğası, transmisyon elektron mikroskopisi (TEM) ve X-ışını kırınımı (XRD) ile karakterize edildiğinde sonuçlar, elektrokimyasal olarak sentezlenen Pd nanopartiküllerin homojen olarak dağılmış olduğunu göstermektedir. Ayrıca modifiye elektrot sisteminin hidrazin oksidasyonu için yüksek elektrokatalitik aktivite gösterdiği gözlenmiştir. Bu sonuçlar, Pd / MWNT kompozitlerinin yakıt hücreleri için potansiyel uygulama alanına sahip olduğunu göstermektedir.

Dhanuskodi ve grubu tarafından yapılan bir çalışmada ise tellür nanopartiküllerine dayanan yüksek performanslı superkapasitor ve enzimatik olmayan hidrojen peroksit sensörü incelenmiştir. Tellür nanopartikülleri (Te Nps) ıslak kimyasal yöntemle sentezlenmiş ve XRD, Raman, FESEM, TEM, XPS ve UV-Vis ile karakterize edilmiştir. Çalışmada tellür nanopartikülleri, grafit folyo ve camsı karbon elektrot (GCE) üzerine kaplanmış ve elektrotlar superkapasitör ve biyosensör uygulamaları için hazırlanmıştır. Süperkapasitör performansı hem dönüşümlü voltametri (CV) hem de galvanostatik şarj-deşarj metodu ile 2 M KOH elektrolit içinde değerlendirilmiştir. Şarj-deşarj metodunda Te nanopartikülleri, oldukça yüksek bir çevrim ömrü (1000 devirden sonra % 100) ile özel bir kapasitans göstermektedir. Ayrıca Te nanopartikülleri ile modifiye edilmiş camsı karbon elektrotun H₂O₂ sensörü olarak performansı dönüşümlü voltametri (CV) ve kronoamperometri (CA) yöntemi ile fosfat tampon çözeltisinde (PBS) kontrol edilmiştir. H₂O₂'nin doğrusal aralığında, Te nanopartiküllerinin yüksek duyarlılık gösterdiği saptanmış, tayin limitinin 0.3 µM olduğu ve yanıt süresinin 5 saniyeden az olduğu rapor edilmiştir.

Wu ve arkadaşları, karbon destekli Cu@Pt çekirdek-kabuk nanopartiküllerine dayanan elektrokimyasal hidrojen peroksit sensörü geliştirmişlerdir. Cu@Pt / C nanokompozitleri iki aşamalı indirgeme yöntemi ile sentezlenmiştir. Elektrokimyasal çalışmalar, geniş bir doğrusal aralıkta, yüksek bir duyarlılıkla, hidrojen peroksidin Pt / C'den daha düşük bir oranda indirgenmesi için daha iyi elektrokatalitik etkinliğe sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca biyosensörün düşük tayin limitine (sinyal / gürültü = 3) sahip olduğu görülmüştür (0.15 μM). Ayrıca, Cu@Pt / C'ye dayanan sensörün mükemmel uzun süreli kararlılığı, yüksek tekrarlanabilirliği ve kabul edilebilir seçiciliği nedeniyle potansiyel uygulamalara sahip olduğu da görülmüştür.

Narwal ve arkadaşları tarafından altın elektrot üzerine immobilize edilmiş hemoglobin nanopartiküllerine dayalı bir amperometrik H_2O_2 biyosensörü geliştirilmiştir. Hemoglobin nanopartikülleri (Hb Np), desolvasyon yöntemi ile hazırlanıp karakterizasyonu transmisyon elektron mikroskopisi (TEM), UV spektroskopisi ve Fourier dönüşümü IR (FTIR) spektroskopisi ile yapılmıştır. Amperometrik H_2O_2 biyosensörü, HbNp'leri bir polikristalin Au elektrotuna (AuE) kovalent olarak sabitlenerek hazırlanmış ve HbNps / AuE, HbNp'lerin immobilizasyonu öncesi ve sonrasında taramalı elektron mikroskobu (SEM), dönüşümlü voltametri (CV) ve elektrokimyasal impedans spektrumu (EIS) ile karakterizasyon gerçekleştirilmiştir. Biyosensörün, mevcut biyosensörlerle kıyaslaması yapıldığında H_2O_2 için düşük tayin limiti (1.0 μM), yüksek duyarlılık ($129 \pm 0.25 \mu\text{A cm}^{-2} \text{mM}^{-1}$) ve daha geniş doğrusal aralık (1.0-1200 μM) gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca bu biyosensör ile görünüşte sağlıklı kişiler ve tip II diyabet hastalarına ait serumlarda H_2O_2 seviyesi ölçülmüştür. HbNp / AuE sensörünün, 4 ° C'de kuru olarak depolandığında, 90 günlük düzenli kullanımdan sonra ilk etkinliklerinin % 10'unu kaybettiği de rapor edilmiştir.

Hosseini ve arkadaşları, paladyum nanopartikülleri ile poli (3,4-etilendioksitiyofen) nanofiberlerin katalitik özelliklerine dayalı enzimatik olmayan glikoz ve hidrojen peroksit sensörlerini çalışmışlardır. Poli (3,4-etilendioksitiyofen) nanofiberlerin (Pd-PEDOTn) içine dahil edilen Pd nanopartikülleri ile basit bir yöntem kullanılarak biyosensörün hazırlandığı bildirilmiş ve Pd-PEDOTn nanokompozitleri transmisyon elektron mikroskobu (TEM), taramalı elektron mikroskobu (SEM), X-ışını kırınımı (XRD) ve dönüşümlü voltametri (CV) ile karakterize edilmiştir. Pd-PEDOTn

katalizörünün glikoz ve hidrojen peroksit (H_2O_2) tayini için mükemmel performans sergilediğinin belirtildiği çalışmada kronoamperometrik ölçümler ile glikoz ve H_2O_2 'in doğrusal aralığı saptanmıştır. Pd-PEDOTn modifiye elektrot sisteminin, kan örneklerinde yaygın olarak bulunan askorbik asit (AA) ve ürik asit (UA) gibi girişim yapan türlerin varlığında glikoz tayini için yüksek elektrokimyasal aktivite gösterdiği bildirilmiştir ve yüksek hassasiyet, seçicilik ve tekrarlanabilirliği nedeniyle kompleks matrislere uygulanabilir düzeyde ucuz bir amperometrik glikoz biyosensörünün hazırlanması için ideal olabileceği sonucuna varılmıştır. Ayrıca Pd-PEDOTn modifiye elektrot sisteminin gerçek örneklerdeki performansı insan kan örneği ile değerlendirilmiştir.

Karuppuiah ve grubu tarafından, paladyum nanopartikülleri ve nafyon ile modifiye edilmiş elektrotlara dayalı ultra seçici ve hassas bir enzimsiz hidrojen peroksit sensörü geliştirilmiştir. Elektrotun yüzey morfolojisi, alan emisyon taramalı elektron mikroskopisi ve elektrokimyasal empedans spektroskopisi kullanılarak karakterize edilmiştir. Geliştirilen sensörün -0.2 V'de elektrokatalitik hidrojen peroksit indirgemesi (H_2O_2) için mükemmel aktivite gösterdiği belirtilmiştir. Sensör, geniş bir doğrusal aralığa sahiptir ve H_2O_2 için 0.018 μM 'lik bir tayin limiti ortaya koymuştur. Buna ek olarak, sensörün kabul edilebilir bir tekrarlanabilirlik, yeniden üretilebilirlik ve stabilite ile yüksek bir duyarlılık gösterdiği de kaydedilmiştir. Geliştirilen H_2O_2 sensörü, potansiyel olarak girişim yapabilecek türlerin daha yüksek konsantrasyonlarında bile oldukça yüksek seçicilik göstermiştir.

Han ve arkadaşları, paladyum nanopartikül-çift tabakalı grafen hibrid modifiye elektrotta hidrojen peroksit tayini çalışmışlardır. Çalışma elektrotu olarak camı karbon elektrotunun kullanıldığı biyosensör ile Pd nanopartikülleriyle kaplanmış çift katmanlı grafen filmlerle (BGFs) modifiye edilmiş sisteme dayanan nonenzimatik H_2O_2 tayininin gerçekleştirildiği bildirmektedirler. BGFs sisteminin, büyük ölçüde erişilebilir aktif yüzey alanı ve modifiye elektrotların elektrokatalitik performansını büyük ölçüde arttıran elektron transferi için mükemmel iletken arayüzler sağladığı görülmüştür. H_2O_2 'nin amperometrik tayini için 3 saniyeden kısa bir hızlı tepki süresi ve 4 μM 'den 13.5 mM'ye kadar geniş bir doğrusal aralık sergilendiği de bildirilmiştir.

3. MATERYAL ve YÖNTEMLER

3.1. Voltametik Yöntemler

Voltametri, bir indikatör veya çalışma elektrodunun polarize olduğu şartlar altında uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak akımın ölçülmesinden yararlanılarak analit hakkında bilgi edinilen bir grup elektroanalitik yöntemi kapsamaktadır. Analit derişimi ile orantılı olan akımın, sabit bir potansiyelde ölçülmesiyle uygulanan tekniğe de amperometri denir. Voltametride herhangi bir maddenin elektrokimyasal davranışını incelemek için elektroda uygulanabilecek potansiyel aralığının sınırları kullanılan çalışma elektrodunun, kullanılan çözücünün ve elektrolitin türlerine bağlıdır.

Çözeltiye voltametik gerilim aralığında elektroaktif olmayan iyonlar fazla miktarda eklendiğinde bu iyonlar elektrik yükünün taşınımına daha çok katkıda bulunmaktadır. Bu durumda elektroaktif maddenin ya da bu maddeden oluşan iyonik bir türün göç akımına katkısı önemsizleşir. Bu nedenle sadece difüzyon akımı değerinden oluşan akım değeri azalır. Destek elektrolit adını alan bu iyonların bir başka görevi de çözeltinin elektriksel direncini azaltmaktır. Destek elektrolitin varlığında ve çözeltinin karıştırılmadığı durumlarda elektroaktif türün elektroda taşınımı sadece difüzyon yolu ile olmaktadır.

Voltametri, tam derişim polarizasyonu şartlarında bir elektrokimyasal hücrede oluşan akımın ölçülmesine dayanır. Bunun tersine, potansiyometrik ölçümler, akımın sıfıra yaklaştığı ve polarizasyonun olmadığı şartlarda yapılır. Voltametri, derişim polarizasyonunun etkilerini en aza indirmek veya gidermek için gerekli tedbirlerin alınması yönünden elektrogravimetri ve kulometriden farklılıklar göstermektedir. Ayrıca, voltametride analit minimum miktarda harcanırken, elektrogravimetri ve kulometride hemen hemen tüm madde başka bir hale dönüştürülür.

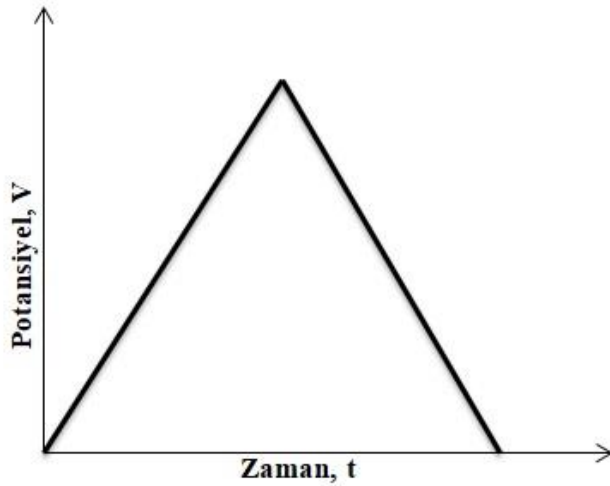
3.1.2. Dönüşümlü Voltametri

Elektroaktif bir maddeyi içeren durgun bir çözeltide bir mikroelektroda zamanla doğrusal olarak artan bir potansiyel uygulandığında akım-potansiyel eğrisi bir pik şeklinde karşımıza çıkar. Bu uygulamada potansiyel taraması ileri yönde belli bir

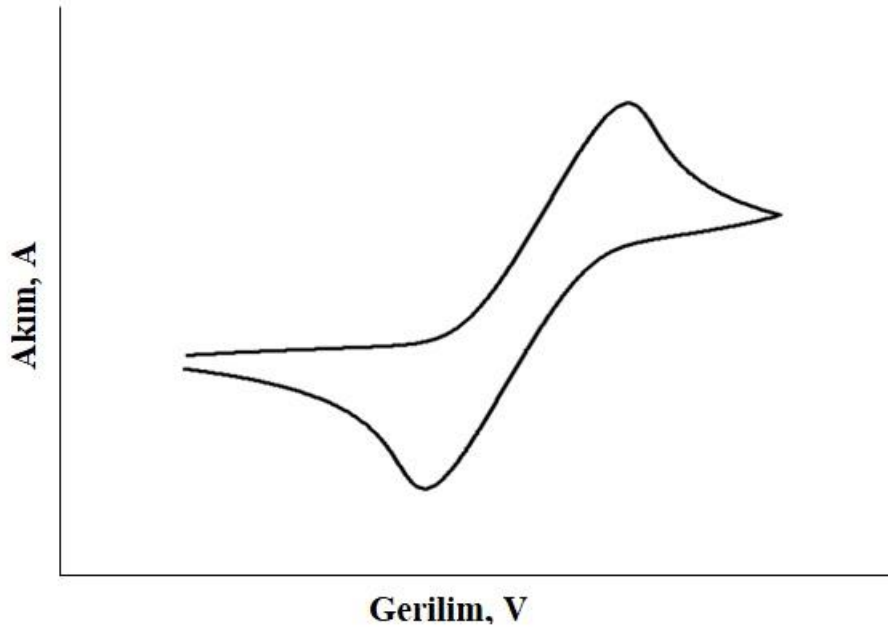
gerilim değerine ulaştıktan sonra tekrar doğrusal olarak azalacak şekilde terse çevrilirse yöntem dđnüşümlü voltametri adını alır.

Bir CV deneyinde, küçük boyutlu durgun bir elektrot, durgun bir çözeltide, Şekil 3.1’de görünen şekle benzer dalga formuna sahip bir potansiyel değişimi uygulanarak, bir akım sinyali vermesi sağlanır. Üçgen dalga formu, ileri ve bunun tersi yöndeki potansiyel taramasını temsil eder. İlk taramanın yönü, numunenin bileşimine bağlı olarak, negatif yönde olabileceği gibi, 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 sürelerden başlar; 100 s veya daha uzun değerlere çıkabilir.

Dönüşümlü voltametri (CV), elektrokimyasal yöntemler arasında en çok tercih edilen yöntemlerden birisidir. Dönüşümlü voltamogramların ayrıntılı incelenmesiyle, bir sistemin hangi potansiyelde indirgenip yükseltendiği veya elektrot tepkimesinin çözeltide bir kimyasal tepkime ile ilgili olup olmadığı, elektrokimyasal açıdan tersinir olup olmadığı ve tepkime ürünlerinin kararlılığı hakkında sonuç elde edilebilmektedir. Bir CV deneyinde tek bir tam döngü, bir yarım döngü veya birden çok döngü kullanılabilir. Şekil 3.2’de çözeltinin dönüşümlü uyarma sinyaline verdiği akım cevabı görülmektedir.



Şekil 3.1. Dönüşümlü voltametrik uyarma sinyali.



Şekil 3.2. Tipik bir dönüşümlü voltamogram.

3.2. Sabit Potansiyelde Elektroliz

Bu elektroliz yönteminde elektrot potansiyeli sabit tutularak reaksiyon yapılmaktadır. Bu sistemde çalışma ve karşıt elektrodun yanında referans elektrot da kullanılmaktadır. Nernst eşitliğine göre, zamanla elektroaktif maddelerin konsantrasyonları değişeceğinden, potansiyostat kullanımıyla çalışma elektrodunun potansiyeli daima sabit tutulmaktadır. Bu yöntem sayesinde akımın da kontrol edilmesiyle, elektroaktif türler yüzeyde istenilen kalınlıkta elektrokimyasal olarak biriktirilebilmektedir. Potansiyel kontrollü elektroliz ancak üçlü elektrot sistemlerinde uygulanabilmektedir.

Kontrollü potansiyel elektroliz yönteminde çalışma elektrodunun potansiyeli uygun bir referans elektrotuna göre ölçülmektedir. Çalışma elektrodunda ve karşıt elektrodunda etkilediği potansiyel, daha sonra referans elektroduna göre katoda veya anoda arzu edilen potansiyeli verecek seviyeye ayarlanabilmektedir.

Referans elektrot ve katot arasındaki potansiyel farkı bir elektronik voltmetre ile ölçülür. Çalışma elektrodu ve karşıt elektrodu arasına uygulanan potansiyel, bir

voltaj bölücüsü ile kontrol edilir ve böylece katot potansiyeli ayırma için uygun bir seviyede tutulmuş olur.

Kulometri, analitin nicel olarak farklı yükseltgenme durumuna dönüştürülmesi için gerekli olan elektrik miktarının ölçülmesini içeren bir grup analitik yöntemi kapsamaktadır. Elektrik veya şarj miktarı Coulomb (c) ve Faraday (f) birimleri cinsinden ölçülmektedir. Coulomb, bir saniyede bir amperin sabit bir akımı ile taşınan yük miktarı, Faraday ise bir mol elektron ile ilişkili olan Coulomb'taki yüküdür.

Elektroliz işlemi sırasında yüksek akım vermek için nispeten yüksek başlangıç potansiyeli uygulanabilir. Bununla beraber, elektroliz ilerledikçe ölçülen akım azalır. Elektrolizin tamamlanması, akımın sifıra yaklaşmasıyla gösterilir. Tipik bir sabit potansiyelli elektrolizde meydana gelen değişimler Şekil 3.4'te gösterilmiştir.



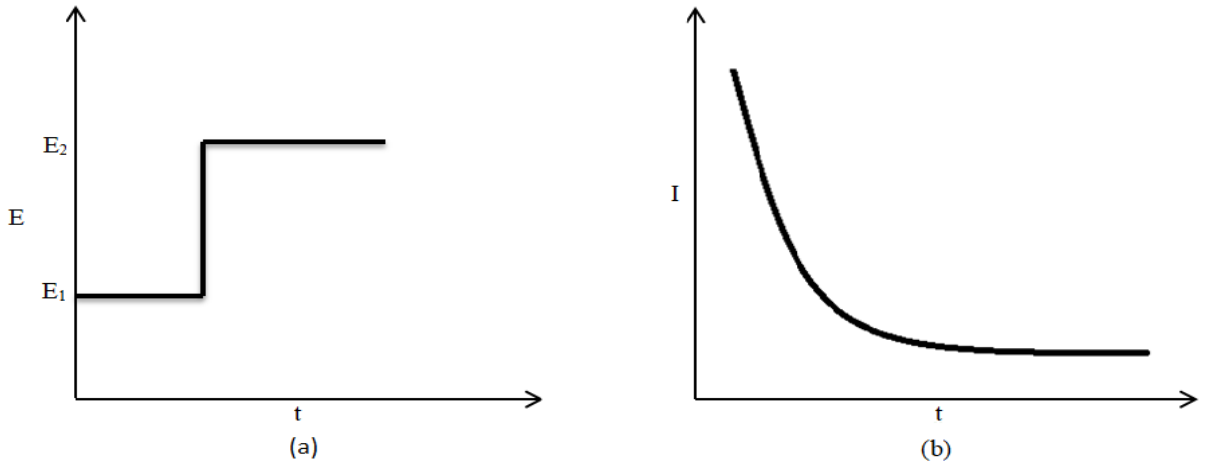
Şekil 3.3. Sabit potansiyelli elektroliz sırasında akım değişimi.

Kulometri (ya da potansiyostatik kulometri) ile kontrollü potansiyel elektroliz yönteminde, çalışma elektrodunun potansiyelini sabit bir seviyede tutmayı ve böylece analitin kantitatif oksidasyonunun veya indirgenmesinin numunede ya da çözücüde daha az reaktif türe sahip olmadan gerçekleşmesini gerektirir. Burada akım

başlangıçta yüksek ancak analit çözeltiden çıkarıldığında hızla azalır ve sifıra yaklaşır.(Şekil 3.3.)

3.3. Kronoamperometri

Bir potansiyel basamak tekniği olan kronoamperometride, çalışma elektrotunun potansiyeli ani olarak değiştirilir ve durgun ortamda akım-zaman ilişkisi incelenir. Uygulanan sabit gerilimde akımın zamanla değişiminin ölçüldüğü bu teknik kronoamperometri adını alır.



Şekil 3.4. Kronoamperometride a) çalışma elektrotuna uygulanan potansiyel programı, b) elde edilen akım-zaman eğrisi.

Önce çalışma elektroduna herhangi bir indirgenmenin olmadığı E_1 potansiyeli uygulanır, daha sonra potansiyel ani olarak E_2 'ye değiştirilir. E_2 potansiyeli, indirgenme difüzyon kontrollü olacak şekilde seçilmelidir. E_2 ; difüzyon sınır akımının plato bölgesinden, E_1 ; elektroaktif maddenin indirgenmediği ve artık akımın olduğu herhangi bir potansiyel seçilmelidir. Potansiyel E_2 değerinde belirli bir süre sabit tutulmalıdır. Bu potansiyelde oluşan akımın zamanla değişimi aşağıdaki Cottrell eşitliğinde verildiği gibidir.

$$i = (nFAD^{1/2}C_0) / (\pi^{1/2}t^{1/2})$$

Bu eşitlikte, i , akım (Amper); A , elektrot alanı (cm^2) n , aktarılan elektron sayısı; D , difüzyon katsayısı (cm^2/s); F , faraday sabiti (96.485 C/eq); C_0 , elektroaktif maddenin başlangıç konsantrasyonu (mol/cm^3); t , zaman (s) olarak verilmiştir.

E_1 potansiyelinde reaksiyon gerçekleşmez ancak E_2 potansiyelinde ise akım difüzyon kontrollüdür. Cottrell eşitliğine göre akım, $t^{1/2}$ 'ye göre grafiğe geçirildiği zaman orijinden geçen bir doğru elde edilir. Bu grafik yardımıyla bir elektrot reaksiyonunun difüzyon kontrollü olup olmadığı test edildiği gibi elektroaktif maddenin difüzyon katsayısı ve aktarılan elektron sayısı da bulunabilmektedir. Ancak yapılan deneyin güvenilirliğinin olması için zaman aralığının geniş tutulması gerekir.

3.4. Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi (EIS) Yöntemi

Elektrokimyasal karakterizasyon yöntemlerinden biri olan Elektrokimyasal Empedans spektroskopisi (EIS) temelde elektrokimyasal bir tekniktir ancak frekans değişimleri uygulanarak yapıldığı için spektroskopi ismini almaktadır. Modifiye yüzeylerin karakterize edilmesinin yanında korozyon, piller, yarı iletken elektrotlar, sensörler ve biyolojik sistemlerin incelenmesi için de kullanım alanına sahiptir. Bu tekniğin en önemli avantajlarından biri elektrokimyasal sistemleri denge durumunda incelemesidir. EIS modifiye yüzeylere zarar vermeyen hassas bir teknik olarak nitelendirilebilir. EIS tekniği genel olarak, elektrokimyasal sistemi bir elektrik devresine benzetir, sistemdeki tüm elektrotları ve çözeltiyi içeren bir elektrik devresi çizer ve simülasyon tekniği ile elektrik devresindeki tüm parçaların direnç gibi özelliklerinin bulunmasını sağlamaktadır. Elektrokimyasal empedans spektroskopisi yöntemi ile metal yüzeyine uygulanan küçük genlikli alternatif akım, yüzey yapısını fazla değiştirmedeğinden metalin direnci ve yüzey yapısı ile ilgili daha doğru sonuçlar elde edilebileceği düşünülmektedir. Bu yöntem ile belirlenen direnç polarizasyon direnci olup, buna ilave olarak da yük transfer direnci, yüzeydeki kaplama veya film direnci ve iyon difüzyonuna karşı gösterilen dirençler ile ilgili bilgi edinilebilmektedir (Erbil, 1987; Erbil ve Dehri, 2000, Erbil, 2004).

3.5. Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM)

Taramalı elektron mikroskopu (SEM) sayesinde, bir cisim yaklaşık bir milyon defa büyütüp, bunu bir ekranda göstermek aynı zamanda buradan fotoğrafını almak mümkündür. Bu şekilde yapılan bir büyütmeyle bir kristal şebekesindeki atomların dizilişi incelenebilmektedir. Bu mikroskopi yöntemi çok küçük bir alana odaklanan yüksek enerjili elektronlarla yüzeyin taranması prensibiyle çalışmaktadır.

SEM cihazı başlıca üç kısımdan meydana gelir. Bunlar optik kolon, örnek haznesi ve görüntüleme sistemi olarak adlandırılabilir. Optik kolon, elektron tabancası adı verilen ve incelemesi yapılacak örnek üzerine gönderilecek olan elektron ışınının üretildiği kısımdır. Örnek haznesinde ise incelenmek üzere hazırlanan materyal bulunur. Görüntünün elde edilmesi ise gelen elektron ışınlarının örnek yüzeyinden yansması sonucunda değerlendirilmesiyle olmaktadır.

SEM tekniği ile bir görüntü elde etmek için numunenin yüzeyine çok iyi odaklanmış bir elektron demeti düşürülür. Bir elektronik mikroskopik görüntü elde edilirken, katı numunenin yüzeyi, ince odaklanmış bir elektron demetiyle raster desende süpürülmektedir. Raster, bir elektron demetinin bir yüzey boyunca düz bir çizgide taranmasıyla, başlangıç konumuna geri döndüğü ve aşağıya standart bir artışla kaydırıldığı bir tarama kalıbıdır. Bu işleme, yüzeyin istenen bir alanı taranana kadar devam edilir. Birkaç çeşit sinyal, enerjik bir elektron demeti tarandığında bir yüzeyden üretilir. Bu sinyaller geri saçılmış, sekonder ve Auger elektronlarını içermektedir; X-ışını floresanı; ve çeşitli enerjilerin diğer protonları sayılabilir. Bütün bu sinyaller yüzey çalışmaları için kullanılır ancak bunlardan en yaygın olanı geri saçılmış ve ikincil elektronlardır. Bu elektronlar taramalı elektron mikroskopisinin temelini oluşturmaktadır.

3.6. Standart Ekleme Yöntemi

Numune matrisine benzetimin çok zor veya imkânsız olduğu durumlarda standart ekleme yöntemi kullanılır. Genellikle analitin standart çözeltisinden bilinen miktar veya miktarlarda ekleme yapılarak numunedeki analit derişiminin arttırılması sağlanır. Tek nokta standart ekleme metodunda numuneden iki kısım alınır ve bir kısım üzerinde doğrudan ölçme yapılırken ikincisine ise belli miktarda analit çözeltisi eklenip daha sonra ölçmeye geçilir. Her iki işlem için de bulunan sinyallerin kullanılmasıyla bilinmeyen derişim hesaplanır. Çoklu ekleme yöntemi ise numuneden alınan çok sayıda kısım üzerine, bilinen ama farklı miktarlarda standart analit çözeltileri eklenir ve bu eklemelerden bir kalibrasyon grafiği oluşturulur. Çoklu ekleme yöntemi analit derişimi ile sinyal arasındaki ilişkinin anlaşılması için de ipucu verir. Standart ekleme yönteminde sinyalin derişimle doğrusal olarak değiştiği

varsayılmaktadır. Bu varsayımın doğruluğunun her zaman kontrol edilmesi gerekir ve bu doğrusallığın görülmesi için de çoklu ekleme yöntemi kullanılmalıdır.

Standart ekleme yöntemi doğru kullanılırsa oldukça yararlı bir yöntemdir. Her şeyden önce birincisi, yabancı türlerin analitik sinyale katkı yapmaması için iyi bir tanık ölçümü bulunmalıdır. İkincisi ise numune matrisinde analit kalibrasyon grafiğinin doğrusal olması gerekir. Çoklu ekleme yöntemi bu varsayımın kontrolünü sağlamaktadır. Bu yöntemin temel üstünlüğü analizcinin önceden bilemeyeceği karmaşık girişimlerden kaynaklanan hataları büyük ölçüde telafi eder. Eklemeler ve ölçmeler için fazladan zaman gerektirmesi, çoklu ekleme yönteminin dezavantajıdır.

3.7. Referans Elektrotlar

Bir referans elektrot tam olarak bilinen, sabit ve incelenen çözeltinin bileşiminden hiç etkilenmeyen bir potansiyele sahip olmalıdır. Bunlardan ayrı olarak bir referans elektrotun kolay hazırlanabilmesi ve dayanıklı olmasıyla birlikte hücreden küçük akımlar geçerken bile sabit olan potansiyelini belli bir düzeyde koruması gerekmektedir.

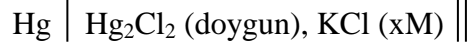
İyi bir referans elektrot;

- Tersinirdir ve Nernst eşitliğine uyar.
- Zamanla değişmeyen bir potansiyeli vardır.
- Küçük bir akıma maruz kaldıktan sonra orijinal potansiyeline geri döner.
- Sıcaklık değişimine ufak bir etki gösterir (Skoog ve ark.,1998).

Referans elektrot kullanımında dikkat edilmesi gereken nokta ise çözeltinin kirlenmesini ve iç çözeltiden gelen gümüş veya cıva(I) iyonları ile analit çözeltisinin reaksiyonundan dolayı temasın tıkanmasını önlemek için içteki sıvının seviyesi, numune çözeltisinin seviyesinin üstünde tutulmalıdır. Temas tıkanması, muhtemelen potansiyometrik ölçümlerde hatalı hücre davranışının (gürültü) en temel nedeni olarak sayılabilir. Bunları önlemek için de referans elektrot ile analit çözeltisi arasında iyi bir temas sağlamak için çeşitli düzenlemeler yapılabilir.(Skoog ve ark.,1998)

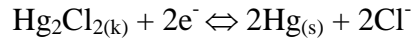
3.7.1. Kalomel Elektrotlar

Kalomel referans elektrotlar cıva(I) klorür bakımından doymuş bir çözelti ile temasta olan cıvadan oluşur ve farklı olarak belli derişimde potasyum klorür içerir. Yarı hücre ise aşağıdaki gibi gösterilir:



x, çözeltideki potasyum klorürün molar derişimi olarak ifade edilir.

Bu yarı hücrenin elektrot potansiyeli ise;

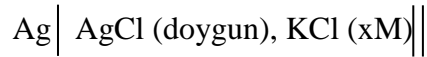


Bu potansiyel, x ile gösterilen klorür derişimine bağlıdır bu nedenle bu elektrotu tanımlarken KCl derişiminin belirtilmesi gerekmektedir.

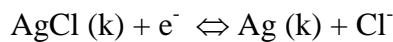
Doymun kalomel elektrot (DKE), kolay hazırlanması sebebiyle analitik kimyacılar tarafından yaygın kullanım alanına sahiptir. Ancak diğer kalomel elektrotlar ile karşılaştırılma yapıldığında dezavantaj olarak, sıcaklık sabitinin önemli ölçüde büyük olduğu görülür. Başka bir dezavantaj olarak da sıcaklık değıştiğinde potansiyelin yeni bir değere, potasyum klorür ile kalomelin çözünürlük dengesinin yeniden kurulmasının gerektirdiği zaman nedeniyle, çok yavaş ulaşması sayılabilir. Doymun kalomel elektrotun, 25 °C'daki potansiyeli 0.2444 V olarak bilinir (Skoog ve ark., 1998).

3.7.2. Gümüş- Gümüş Klorür Elektrotlar

En yaygın olarak pazarlaması yapılan referans elektrot sistemleri, gümüş klorür ile doyurulmuş potasyum klorür çözeltisine bir gümüş elektrotun batırılmasıyla elde edilmektedir:



Elektrot potansiyeli ise aşağıdaki yarı-hücre reaksiyonu tarafından belirlenir:



Normal şartlarda bu elektrot ya doymun ya da 3,5 M potasyum klorür çözeltisiyle hazırlanmaktadır.

Gümüş-gümüş klorür elektrotlar kalomel elektrotlardan farklı olarak 60°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda kullanılmaktadırlar. Diğer bir farklılık ise cıva(I) iyonları gümüş iyonlarına kıyasla daha az numune bileşeniyle reaksiyona girmektedir ve bu tür tepkimeler elektrotla analit çözeltisi arasında bulunan temasın tıkanmasına neden olabilir.

3.7.3. İndikatör Elektrotları

Referans elektroda bağlı olarak çalışan ve potansiyeli de analit derişimine bağlı olan elektroda indikatör elektrot, bir diğer deyişle çalışma elektrotu da denilmektedir.

3.8. Deneysel Kısım

3.8.1. Kullanılan Kimyasallar

Tiyonin asetat, K_2PdCl_4 , %34.5-36.5'lik hidrojen peroksit (H_2O_2) çözeltisi, sülfürik asit (H_2SO_4) Sigma-Aldrich'ten, fosfat tamponu hazırlanması için sodyum dihidrojen fosfat monohidrat ($NaH_2PO_4 \cdot H_2O$) ve sodyum hidrojen fosfat dihidrat ($Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$) J.T. Baker'den sağlanmış ve ekstra saflaştırma işlemine tabi tutulmadan kullanılmıştır.

3.8.2. Hazırlanan Çözeltiler

Çalışmaların yapıldığı sulu çözeltilerin hazırlanması için üç kere destile edilmiş saf su kullanılmıştır. Tiyonin çözeltisinin hazırlanması işlemi pH'sı 7 olan fosfat tamponunda gerçekleştirilmiştir ve bu çözeltinin içerisine destek elektrolit olarak H_2SO_4 eklenmiştir. K_2PdCl_4 çözeltisinin hazırlanması ise destile edilmiş saf su kullanılmış H_2O_2 çözeltisi ise pH'sı 7.4 olan fosfat tamponu kullanılarak hazırlanmıştır. Monomer çözeltisi haricinde kullanılan çözeltiler deneyler öncesinde saf azot gazı ile doyurularak çözünmüş oksijenin uzaklaşması sağlanmıştır.

3.8.3. Kullanılan Cihazlar

Elektrokimyasal deneylerin hepsi CHI 600E elektrokimyasal çalışma istasyonunda gerçekleştirilmiştir. Ayrıca elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) çalışması da IVIUM Pocketstat empedans analizörü ile kaydedilmiştir. Sensör sisteminin fiziksel karakterizasyonu Hitachi SU 1510 model Taramalı Elektron Mikroskobu

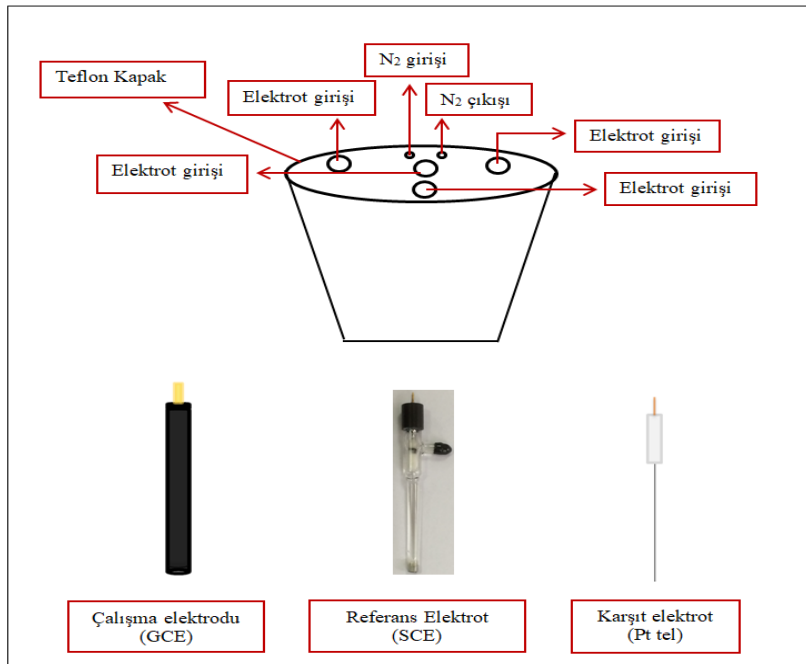
(SEM) ile yapılmıştır. Enerji Dağılımı X-Işınları Spektroskopisi (EDS) kullanılarak da biyosensör sisteminin Pd içeriğinin analizi gerçekleştirilmiştir. Elektrokimyasal çalışmalarda çalışma elektrotu olarak 2 mm çapında camsı karbon elektrot (GCE), karşıt elektrot olarak Pt tel, referans elektrot olarak da doygun kalomel elektrot (SCE) kullanılmıştır. SEM örneklerinin hazırlanması için çalışma elektrotu olarak kullanılan GCE yerine, onunla aynı yüzey alanına sahip kalem grafit elektrot (PGE) tercih edilmiştir. Kudos marka ultrasonik banyo cihazı çalışma elektrotunun temizliği için kullanılmıştır. Yapılan tüm deneyler oda koşullarında gerçekleştirilmiştir.

3.8.4. Çalışma Elektrotunun Temizliği ve Kullanıma Hazırlanması

Deney sırasında kullanılacak olan elektrotların temizliği sonuçların güvenilirliği ve doğruluğu yönünden oldukça önemli bir yer tutmaktadır. Bunun için öncelikle deneyde kullanılacak olan GCE sırasıyla 1.0 μm ve 0.05 μm boyutlara sahip alümina ile parlatılmış ve bir miktar saf su içeren beher içerisinde 10 dk boyunca sonikatör cihazında tutularak sonikasyon işlemine tabi tutulmuştur.

3.8.5. Elektrokimyasal Hücre

Deneyisel çalışmalar üçlü elektrot sistemi ile gerçekleştirilmiş ve kullanılan hücre Şekil 3.5'te şematik olarak gösterilmiştir.

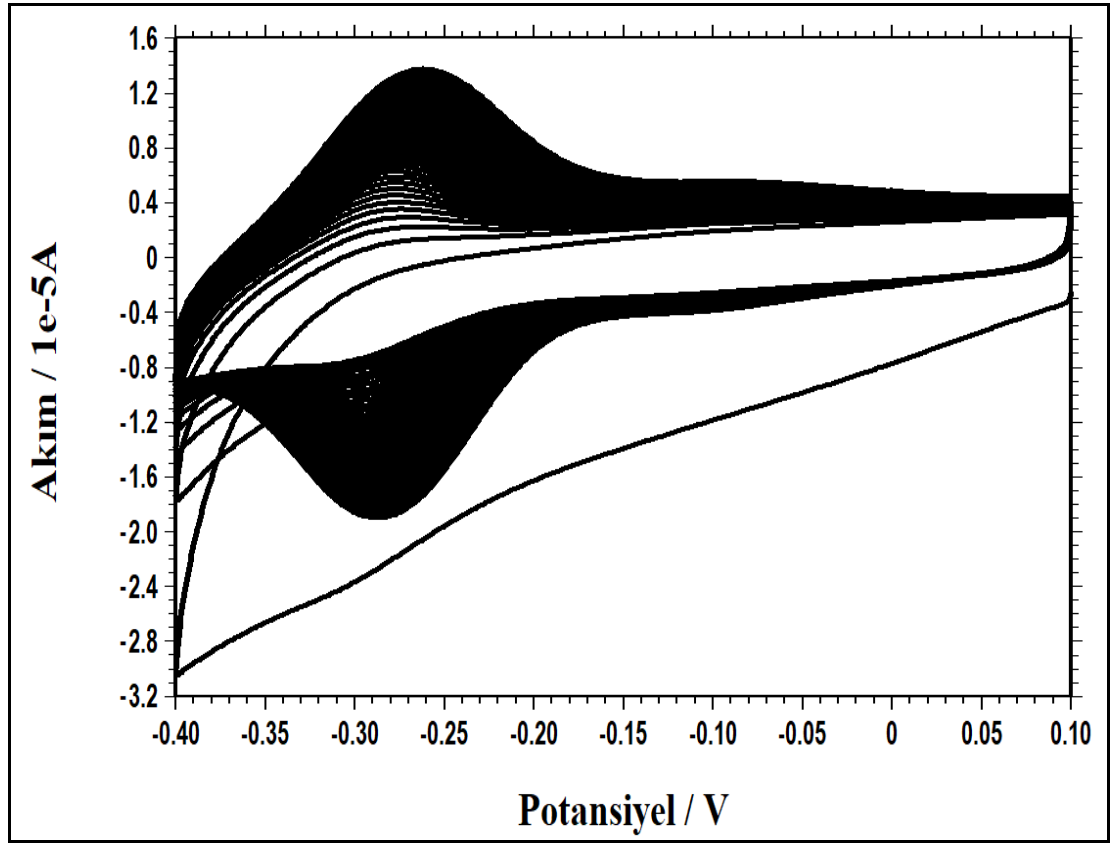


Şekil 3.5. Kullanılan elektrokimyasal hücre.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. Polimer Filminin Elektrot Yüzeyine Kaplanması

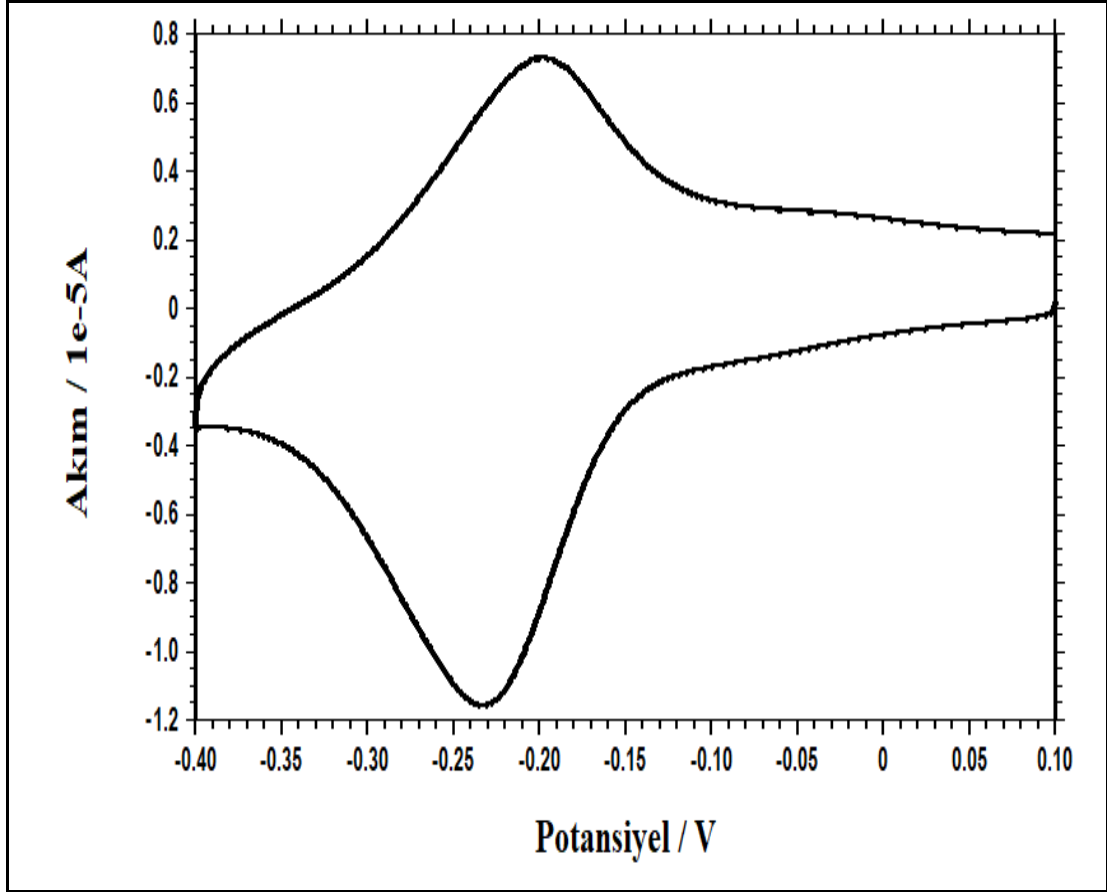
İletken politiyonin (PTH) filminin camısı karbon elektrot (GCE) yüzeyine elektropolimerizasyon ile kaplanması için dönüşümlü voltametri (CV) yöntemi kullanılmıştır. Elektropolimerizasyon işlemi öncesinde elektrot aktif hale getirilmiş olup aktivasyon için kaplanmamış elektrota 50 mM H₂SO₄ içeren 0.1 mM'lık tiyonin asetat çözeltisinde +1.5 V'da 5 dakika boyunca sabit potansiyelde elektroliz uygulanmıştır. Sonrasında -0.4 V ile + 0.1 V aralığında aynı çözelti içerisinde çok döngülü voltamogram alınarak elektrotun PTH ile kaplanması sağlanmıştır (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. PTH filminin GCE yüzeyine 0.5 M H₂SO₄ içeren 0.1 mM tiyonin asetat çözeltisinden dönüşümlü voltametri yöntemiyle kaplanması (Tarama hızı: 100 mVs⁻¹).

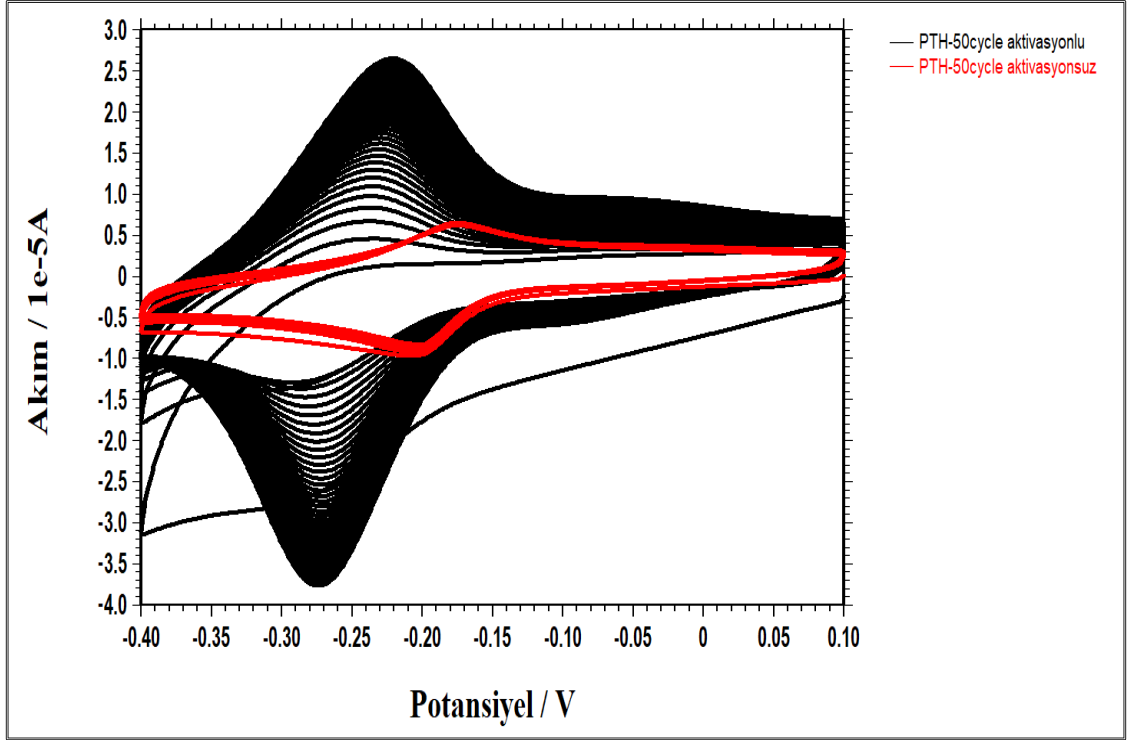
Şekil 4.2'de elektrot yüzeyine kaplanan polimer filmin 0.5 M H₂SO₄ çözeltisinde kaydedilen boş çözelti voltamogramı verilmiştir. Politiyoninin yükseltgenme ve

indirgenme piklerine bakıldığında elektrot yüzeyinde kaplamanın rahatlıkla gerçekleştiği görülmüştür.



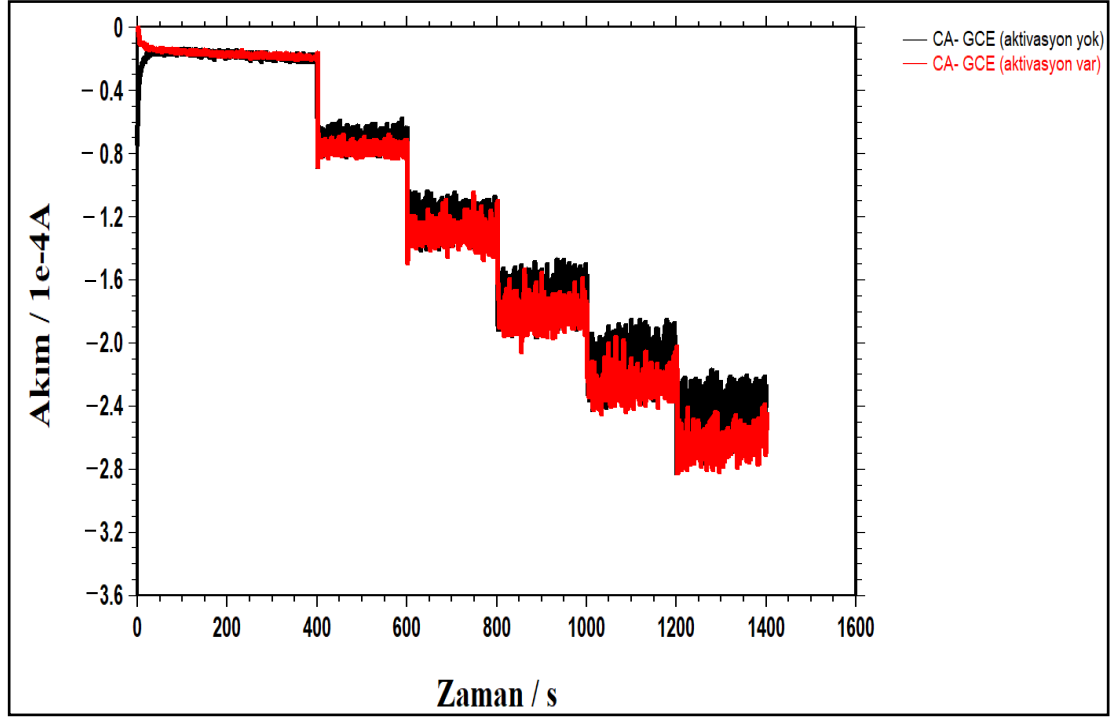
Şekil 4.2. Polimer filmin 0.5 M H₂SO₄ çözeltisindeki dönüşümlü voltamogramı (Tarama hızı: 100 mVs⁻¹).

Deneysel çalışmaların bu kısmında çalışma elektrotunun (GCE) polimer ile kaplanmadan önce sabit potansiyelde elektroliz yapılarak aktive edilmesinin etkisi incelenmiştir. Bu amaçla aktivasyon uygulanan ve uygulanmayan GCE kullanılarak iki farklı kaplama yapılmış ve polimerizasyon profilleri karşılaştırılmıştır (Şekil 4.3). Şekilden anlaşıldığı üzere, aktivasyon işlemi uygulandığı takdirde daha yüksek akımlara ulaşılmakta ve daha iyi bir polimerizasyon olduğu düşünülmektedir.



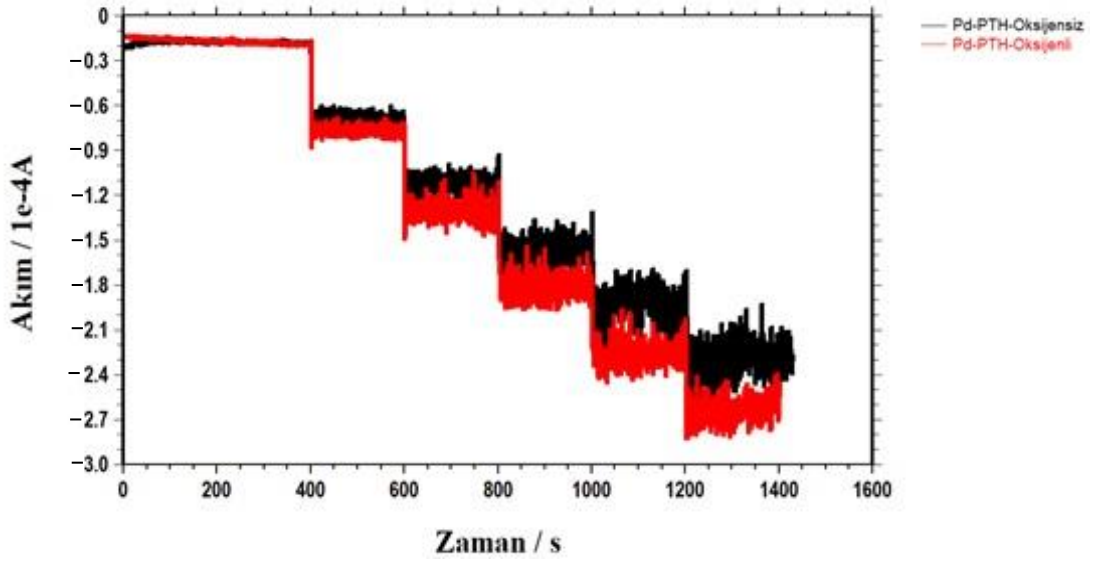
Şekil 4.3. PTH filminin aktivasyonlu (siyah) ve aktivasyonsuz (kırmızı) koşullarda GCE yüzeyine 0.5 M H₂SO₄ içeren 0.1 mM tiyonin asetat çözeltisinden dönüşümlü voltametri yöntemiyle kaplanması (Tarama hızı: 100 mVs⁻¹).

Varılan bu sonucun teyidi için ise aktivasyonlu ve aktivasyonsuz koşullarda GCE yüzeyine çevrim sayısı 50 olacak şekilde PTH filmi kaplanmış ve sonrasında 2.0 mM K₂PdCl₄ çözeltisinde 20 dakika boyunca -0.8 V'da elektroliz yapılarak polimer filmine Pd tanecikleri immobilize edilmek suretiyle Pd/PTH/GCE modifiye elektrotu hazırlanmıştır. Daha sonra ise aktivasyonlu ve aktivasyonsuz koşullarda hazırlanan modifiye elektrotlar ile kronoamperometrik koşullar altında 100 mM PBS çözeltisine (pH=7.0) H₂O₂ stok çözeltisinden eklemeler yapılarak elde edilen akım artışları karşılaştırılmıştır (Şekil 4.4). Elde edilen kronoamperometri eğrileri karşılaştırıldığında aktivasyon yapıldığı durumda daha yüksek akımlara ulaşıldığı için, deneysel çalışmaların bundan sonraki kısmında polimerizasyon öncesinde çalışma elektrotuna aktivasyon işlemi uygulanmıştır.



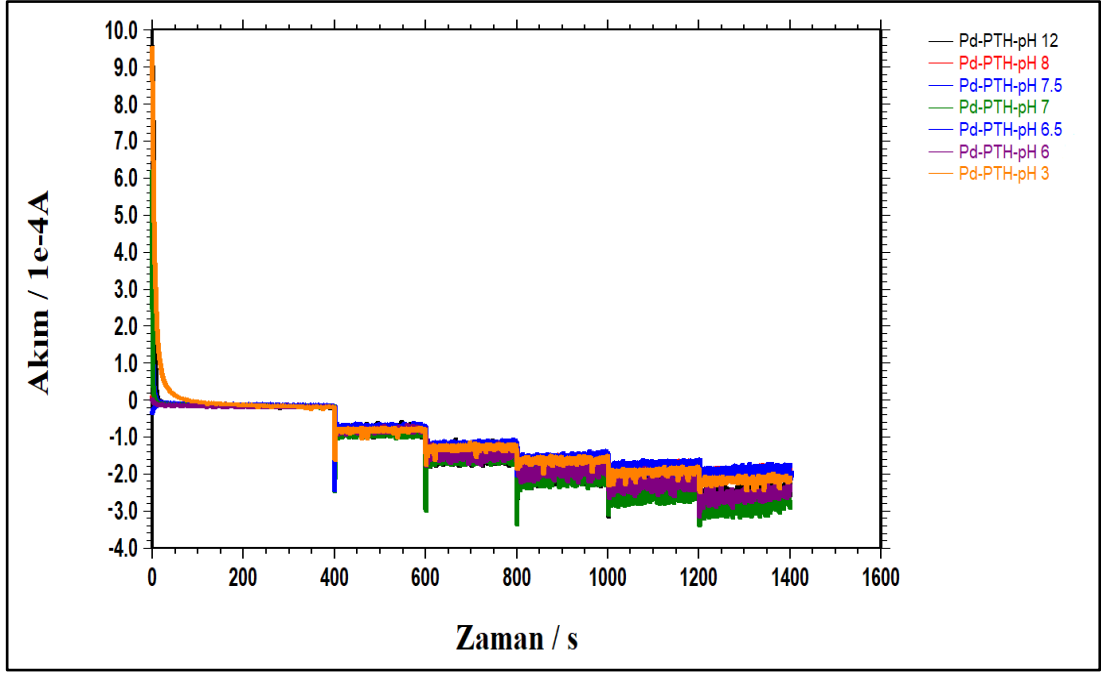
Şekil 4.4. Pd/PTH/GCE modifiye elektrotu ile aktivasyonlu (kırmızı) ve aktivasyonsuz (siyah) koşullarda 100 mM, pH=7.0 PBS çözeltisine H₂O₂ eklenmesiyle elde edilen akım-zaman eğrisi (V = 0.1 V vs. SCE).

Polimerizasyon işlemi sırasında monomer çözeltisinde çözülmüş halde bulunan oksijen gazının bozucu bir etkisi olup olmadığını araştırılması için iki seri deney tasarlanmıştır. Bunlardan birinde Pd/PTH/GCE modifiye elektrotunun hazırlanması için yapılan polimer kaplama işlemi saf azot gazı geçirmek suretiyle oksijeni uzaklaştırılmış monomer çözeltisinde gerçekleştirilmiş, diğerinde ise herhangi bir ön işlem uygulanmamıştır. İki şekilde hazırlanan modifiye elektrot sistemi ile kaydedilen kronoamperometri eğrileri karşılaştırıldığında, oksijeni uzaklaştırılmamış monomer çözeltisi ile hazırlanan modifiye elektrot sisteminin daha iyi sonuç verdiği gözlenmiştir (Şekil 4.5).



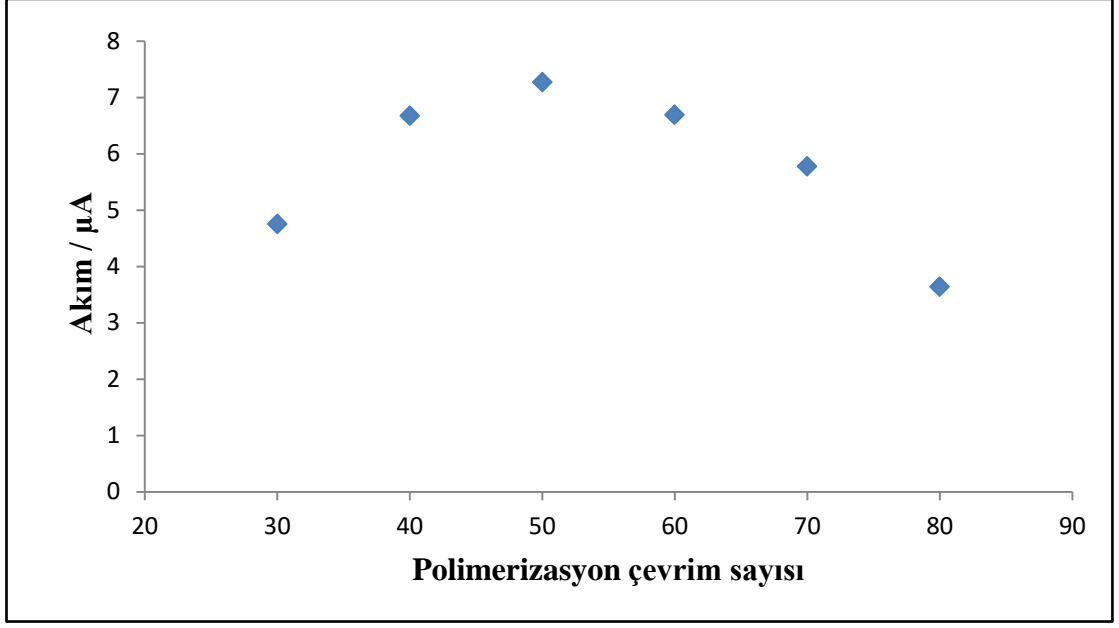
Şekil 4.5. Oksijenli (kırmızı) ve oksijensiz (siyah) monomer çözeltisi ile hazırlanmış Pd/PTH/GCE modifiye elektrotu ile 100 mM, pH=7.0 PBS çözeltisine H_2O_2 eklenmesiyle elde edilen akım-zaman eğrisi ($V = 0.1$ V vs. SCE).

Modifiye elektrot sisteminin hazırlanması için uygulanacak önemli deneysel parametrelerden biri de monomer çözeltisinin pH değeridir. Optimum monomer pH'sının tespit edilmesi için farklı pH değerine sahip PBS çözeltileri ile hazırlanmış tiyoin asetat çözeltilerinde polimerizasyon işlemi gerçekleştirilmiş ve elde edilen filmlerle hazırlanan Pd/PTH/GCE katalizör sistemleri karşılaştırılmıştır. Şekil 4.6'da açıkça görüldüğü üzere, polimerizasyon işlemi nötral pH'da gerçekleştirildiğinde, H_2O_2 için en yüksek indirgenme pik akımına ulaşılmıştır.



Şekil 4.6. Polimerizasyon sırasında kullanılan monomer çözeltisinin pH'sının CA pik akımlarına etkisi.

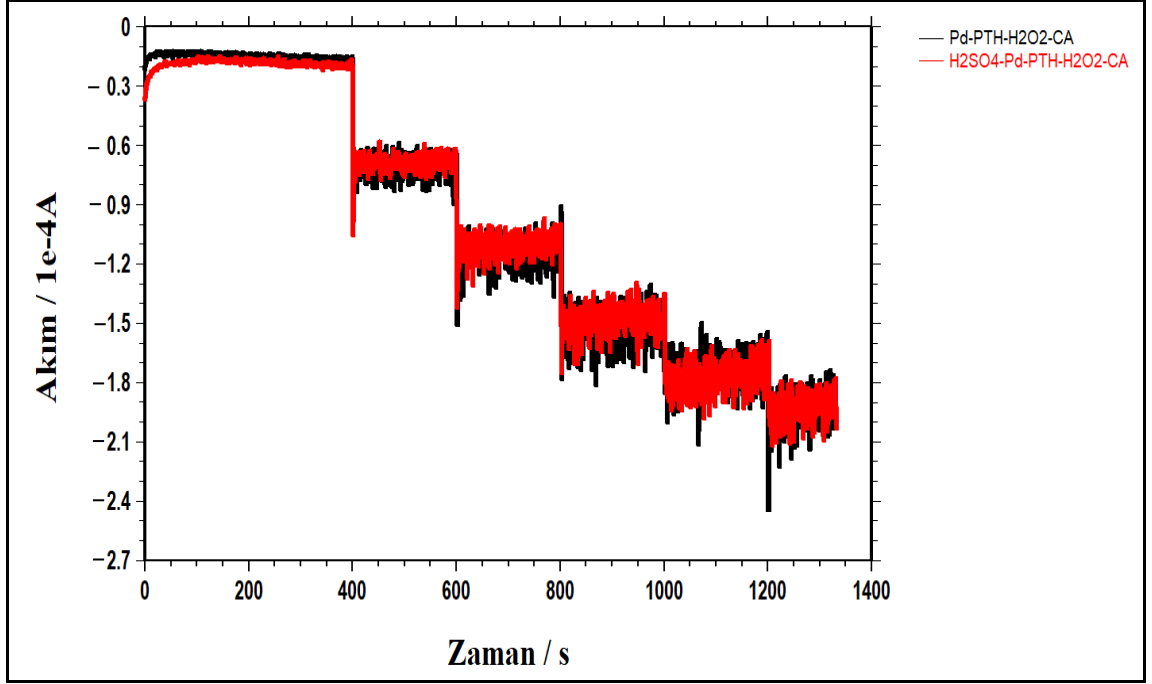
Geliştirilen modifiye elektrot sisteminden en yüksek verimin alınması için en önemli parametrelerden biri de şüphesiz ki polimer film kalınlığıdır. Polimer film kalınlığının kontrol edilmesi için polimerizasyon işlemi sırasında uygulanan çevrim sayısı kullanılmıştır. CV yöntemiyle farklı kalınlıkta filmler ile elde edilen CA pik akımları grafiğe geçirildiğinde maksimum sensör performansının 50 çevrim kullanılarak hazırlanan polimer filmi ile elde edildiği açıkça görülmektedir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Polimer film kalınlığının (polimerizasyon sırasında uygulanan çevrim sayısının) H_2O_2 pik akımına etkisi.

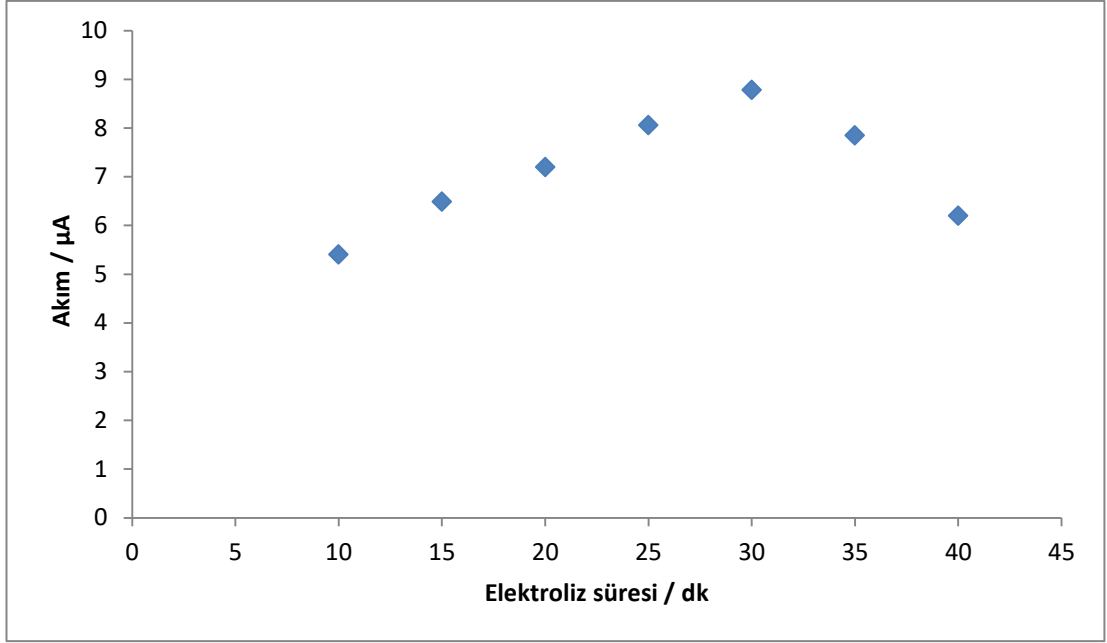
4.2. Pd Partiküllerinin Polimer Filmine İmmobilizasyonu

Pd partiküllerinin polimer filmine immobilize edilmesi için kaynak olarak K_2PdCl_4 çözeltisi kullanılmıştır. Bu amaçla, destek elektrolit içermeyen, sulu 2.0 mM K_2PdCl_4 çözeltisi içerisine PTH kaplı çalışma elektrotu daldırılmış ve -0.8 V sabit potansiyelde elektroliz yapılarak Pd partiküllerinin doğrudan polimer filmi matrisine indirgenmesi sağlanmış; ayrıca bir indirgenme uygulanmamıştır. Dahası, Pd kaynağı olarak kullanılan K_2PdCl_4 çözeltisinde destek elektrolit olarak H_2SO_4 olup olmasının deney sonuçlarına yapacağı etki de araştırılmış; hem H_2SO_4 içeren hem de içermeyen çözelti ile hazırlanan modifiye elektrotlar ile elde edilen kronoamperometri eğrileri karşılaştırılmıştır. Şekil 4.8’de görüldüğü üzere, destek elektrolit olarak ortama H_2SO_4 eklenmesi herhangi bir katkı sağlamadığı için Pd kaynağı olarak destek elektrolit içermeyen K_2PdCl_4 çözeltisi kullanılmıştır.



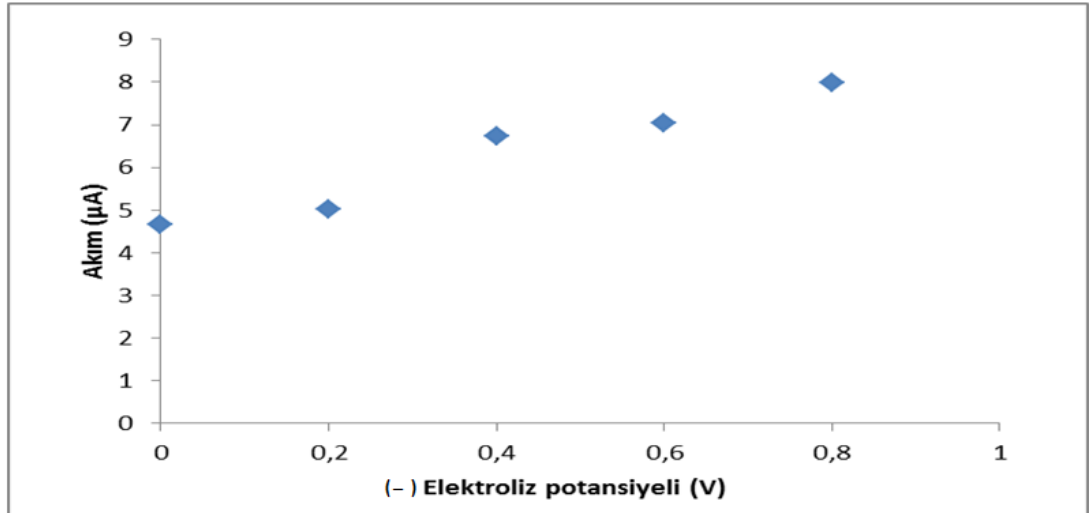
Şekil 4.8. Destek elektrolit içeren (kırmızı) ve içermeyen (siyah) K_2PdCl_4 çözeltisi ile hazırlanmış Pd/PTH/GCE modifiye elektrotu ile 100 mM, pH=7.0 PBS çözeltisine H_2O_2 eklenmesiyle elde edilen akım-zaman eğrisi ($V = 0.1$ V vs. SCE).

Modifiye elektrot yapısındaki Pd miktarının kontrol edilmesi için elektroliz süresi kullanılmıştır. Farklı miktarlarda Pd içeren modifiye elektrot sistemleri ile kaydedilen kronoamperometri eğrileri karşılaştırıldığında, -0.8 V'da 30 dakika boyunca elektroliz yapıldığında sensörün maksimum verim ortaya koyduğu gözlenmiştir (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. K_2PdCl_4 çözeltisinde uygulanan elektroliz süresinin H_2O_2 pik akımına etkisi.

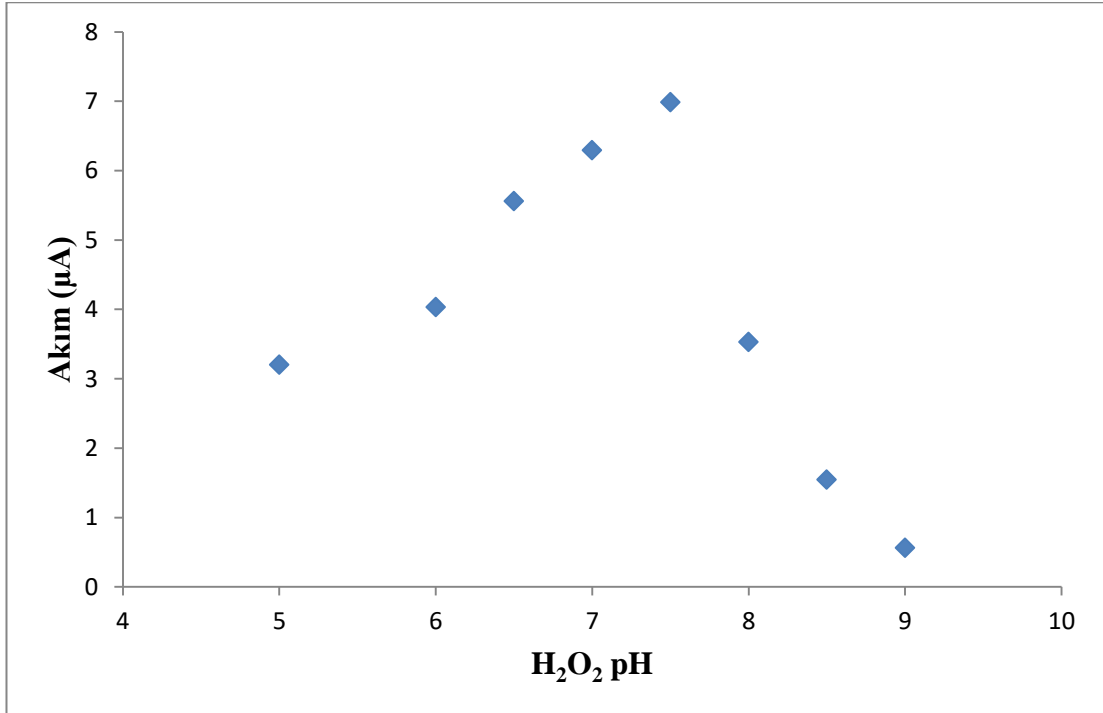
Pd partiküllerinin polimer film yapısına immobilize edilmesi işlemi için uygulanan elektroliz gerilimi de çalışılmış ve en yüksek H_2O_2 indirgenme pik akımının -0.8 V potansiyel kullanılarak hazırlanan modifiye elektrot sistemi ile elde edildiği sonucuna varılmıştır (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. K_2PdCl_4 çözeltisinde uygulanan elektroliz potansiyelinin H_2O_2 pik akımına etkisi.

4.3. H₂O₂ Çözelti pH'sının İndirgenme Pik Akımlarına Etkisi

Tez kapsamında hazırlanan modifiye elektrot sisteminden maksimum elektrokatalitik aktivite elde etmek için optimize edilmesi gereken en önemli parametrelerden biri de analiz edilen H₂O₂ çözeltisinin pH'sıdır. Bu nedenle çalışmanın bu aşamasında H₂O₂ çözelti pH'ının indirgenme pik akımlarına etkisi incelenmiş ve bu amaçla optimum koşullarda hazırlanan Pd/PTH/GCE elektrot sistemi ile farklı pH değerlerinde fosfat tamponunda hazırlanan H₂O₂ çözeltileri için kaydedilen kronoamperometri pik akımları grafiğe geçirilmiştir (Şekil 4.11). Şekilden görüldüğü üzere en yüksek indirgenme pik akımı pH=7.5'da elde edilmekte, hazırlanan modifiye elektrotunun fizyolojik pH olan 7.4'de yüksek katalitik aktivite gösterdiği anlaşılmaktadır.

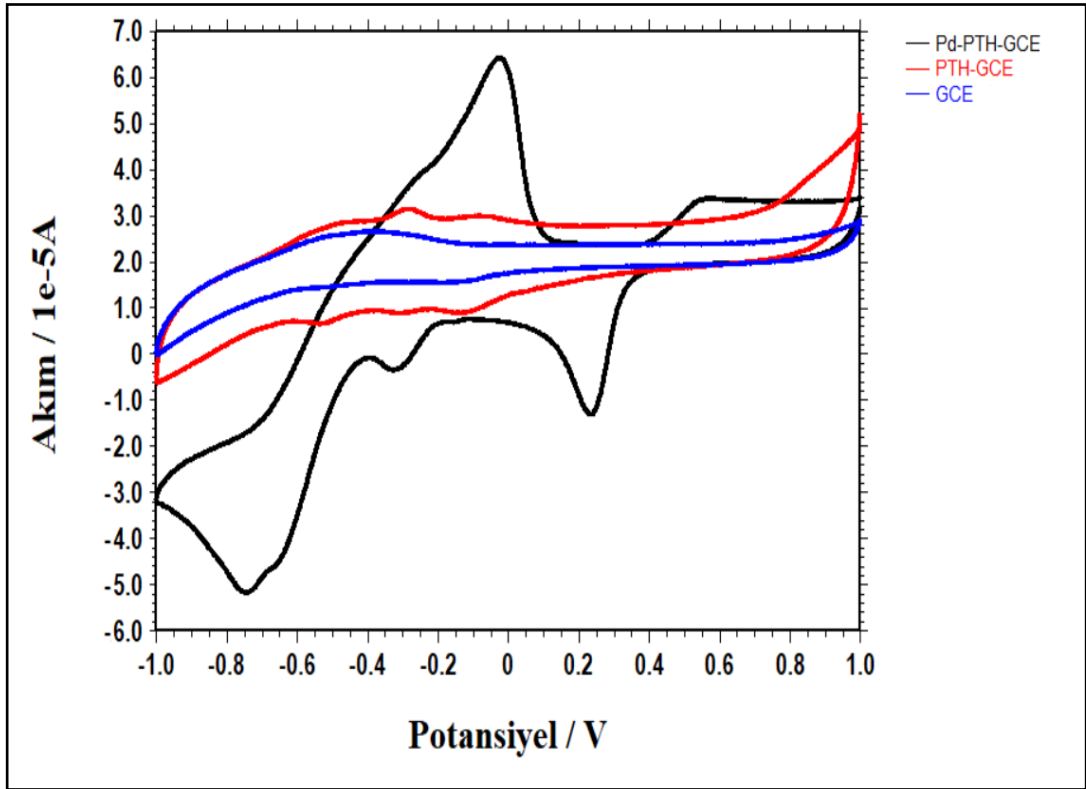


Şekil 4.11. H₂O₂ çözelti pH'sının kronoamperometri akımlarına etkisi.

4.4. Optimum Koşullarda Hazırlanan Pd/PTH/GCE Modifiye Elektrot Sisteminin Elektrokimyasal Karakterizasyonu

Tez kapsamında geliştirilen Pd/PTH/GCE modifiye elektrot sisteminin elektrokimyasal karakterizasyonu dönüşümlü voltametri ve kronoamperometri yöntemleri ile gerçekleştirilmiştir.

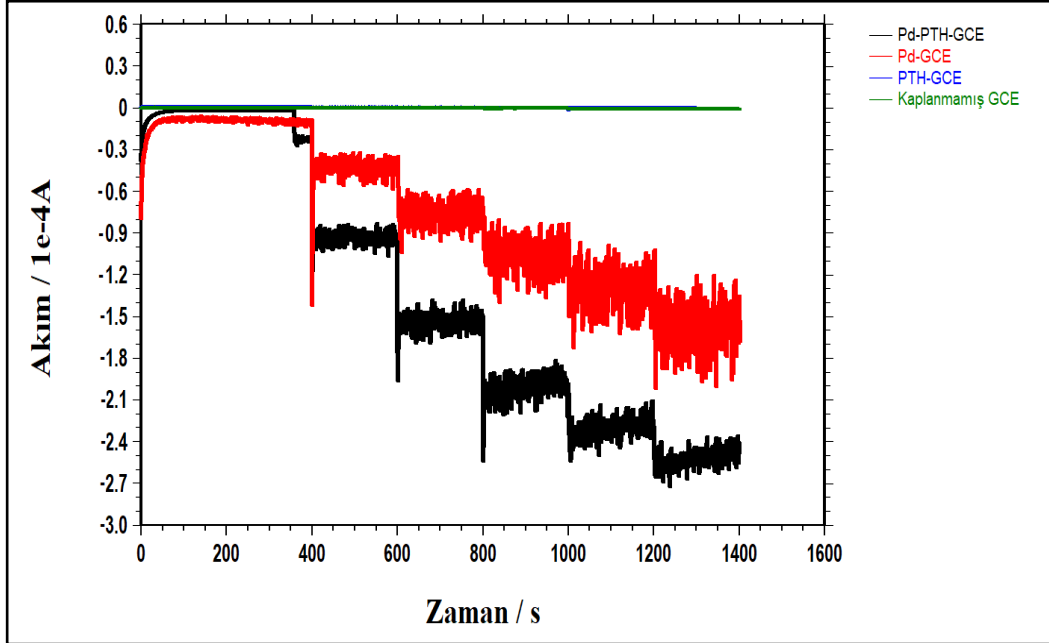
Şekil 4.12’de kaplanmamış GCE, PTH kaplı GCE ve Pd/PTH/GCE modifiye elektrot sistemine ait boş çözelti voltamogramları verilmiştir. Şekilden anlaşıldığı üzere Pd tanecikleri elektrot yüzeyinde tutunmakta ve karakteristik yükseltgenme ve indirgenme pikleri açıkça görülmektedir.



Şekil 4.12. Kaplanmamış GCE (mavi), PTH kaplı GCE (kırmızı) ve Pd/PTH/GCE (siyah) modifiye elektrot sisteminin 0.5 M H₂SO₄ çözeltisinde kaydedilen dönüşümlü voltamogramları (Tarama hızı:100 mVs⁻¹).

Şekil 4.13’ de ise kaplanmamış GCE, PTH ile kaplanmış GCE, Pd nanopartikülleri ile modifiye edilmiş GCE ve Pd/PTH/GCE modifiye elektrot sistemi ile kaydedilen kronoamperometri eğrileri karşılaştırılmıştır. Elektrotun sadece PTH ile modifiye edilmesinin H₂O₂ indirgenmesine karşı herhangi bir katalitik aktivite göstermediği açıktır. Diğer taraftan GCE sadece Pd ile modifiye edildiğinde bir miktar katalitik aktivite elde edilmektedir. Ancak GCE hem PTH hem de Pd nanopartikülleri ile

modifiye edildiğinde elde edilen H_2O_2 indirgeme akımlarında önemli oranda artış gözlenmekte, bu da Pd ile PTH'nin bir araya gelmesiyle ortaya çıkan sinerjik etkiyi açıkça göstermektedir.

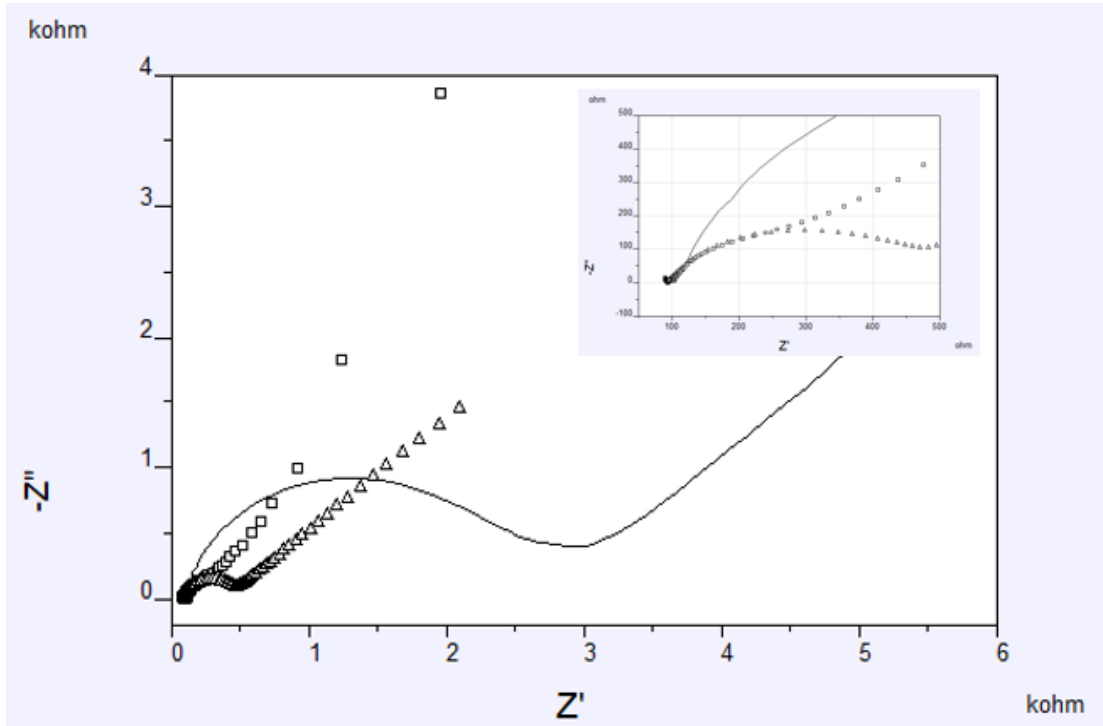


Şekil 4.13. Kaplanmamış GCE (yeşil), PTH ile kaplanmış GCE (mavi), Pd nanopartikülleri ile modifiye edilmiş GCE (kırmızı) ve Pd/PTH/GCE modifiye elektrotu (siyah) ile 100 mM, pH=7.0 PBS çözeltisine H_2O_2 eklenmesiyle elde edilen akım-zaman eğrileri ($V = 0.1$ V vs. SCE).

4.5. Optimum Koşullarda Hazırlanan Pd/PTH/GCE Modifiye Elektrot Sisteminin Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi (EIS) ile Karakterizasyonu

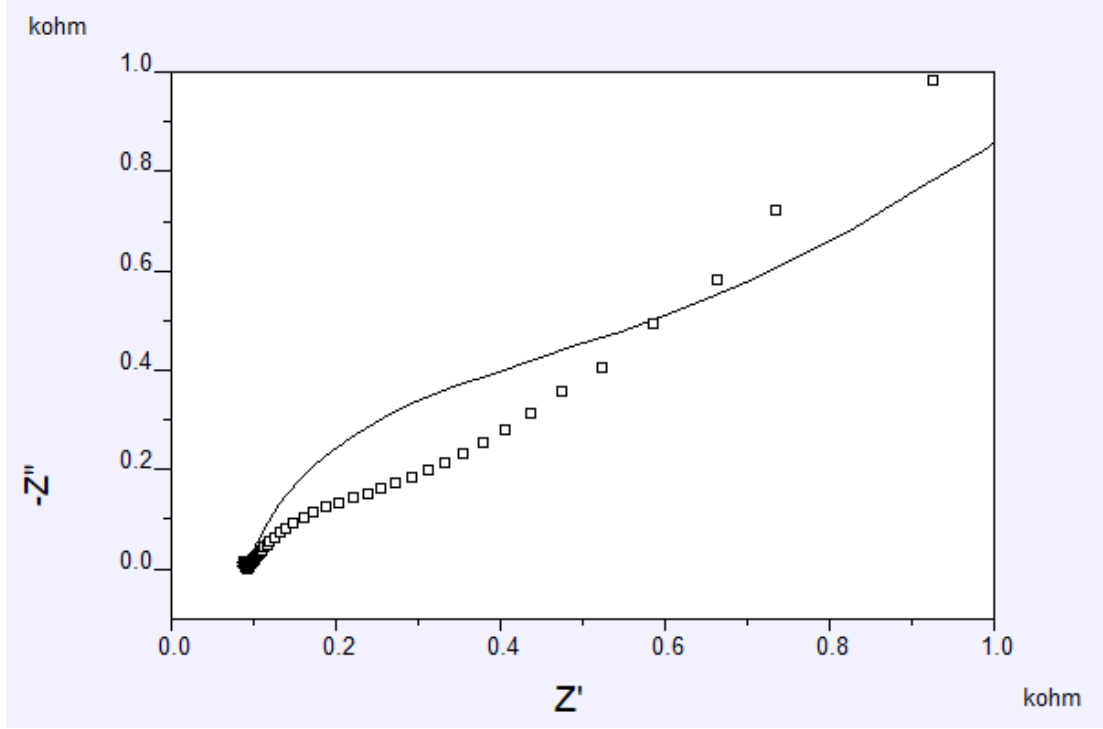
Yüzey modifikasyonlarını karakterize etmek için son yıllarda oldukça sık kullanılan yöntemlerden biri olan Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi sayesinde modifiye elektrot sistemlerinde elektron transfer kinetiği ve difüzyon özellikleri ile ilgili önemli veriler elde edilebilir (Xiao ve ark., 2015, Lasia. 2014). Şekil 4.14'de kaplanmamış GCE, PTH kaplanmış GCE ve optimum koşullarda hazırlanmış Pd/PTH/GCE modifiye elektrot sistemi ile 0.1 M KCl içeren 5.0 mM $Fe(CN)_6^{3-/4-}$ çözeltisinde 0.01-10⁵ Hz frekans aralığında (genlik=10mV, açık devre potansiyeli) kaydedilmiş Nyquist grafikleri verilmiştir. Nyquist grafikleri bir yarı-dairesel ve bir de doğrusal kısım içerir. Yüksek frekanslarda yer alan yarı-dairesel kısım elektron transfer kontrollü süreçleri temsil ederken, düşük frekanslarda yer alan doğrusal

kısım difüzyon kontrollü süreçlerle ilgilidir (Erden ve ark., 2015). Spektrumda elde edilen yarı-dairenin çapı elektrot yüzeyindeki yük-transfer direncine (R_{ct}) karşılık gelmektedir ve bu değerin azalması, filmin iletkenliğinin arttığını ve film içerisinde elektron transferinin daha kolay gerçekleştiğini gösterir (Kuralay ve ark., 2013 ; Liu ve ark., 2013). Şekil 4.14'den anlaşıldığı üzere camsı karbon elektrot Pd ve PTH ile modifiye edildiğinde yüzeye ait R_{ct} değerleri önemli oranda azalmakta, bu da modifikasyon sonucunda iletkenliğin önemli ölçüde arttığını ortaya koymaktadır.



Şekil 4.14. Kaplanmamış GCE(—) , PTH kaplı GCE (Δ) ve Pd/PTHGCE ile modifiye elektrotu (\square) için 5.0 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ çözeltisinde kaydedilmiş Nyquist diyagramları.

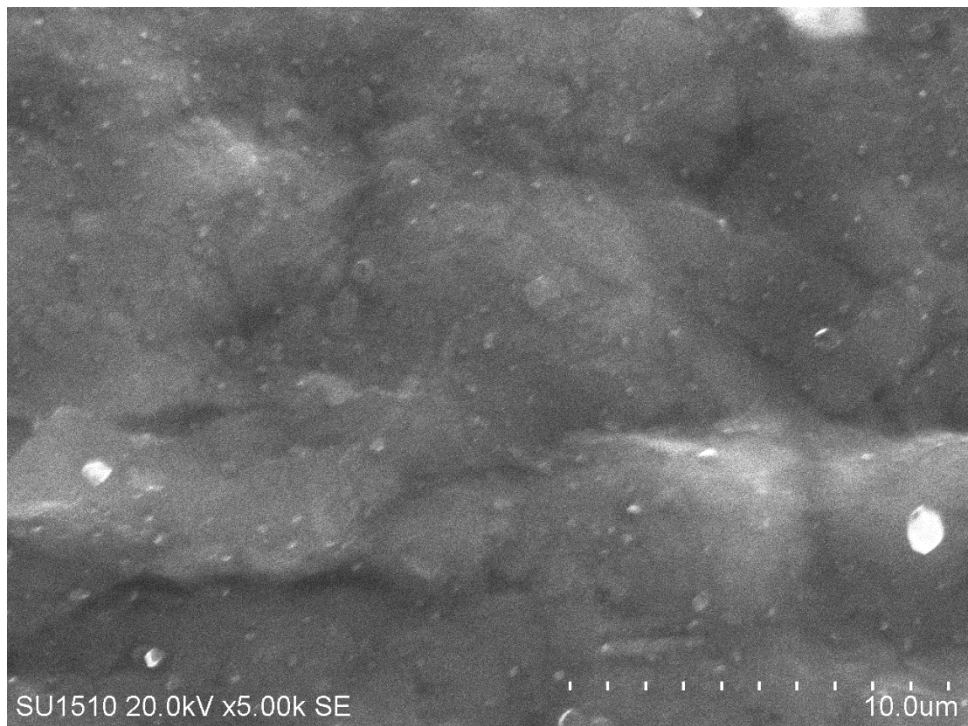
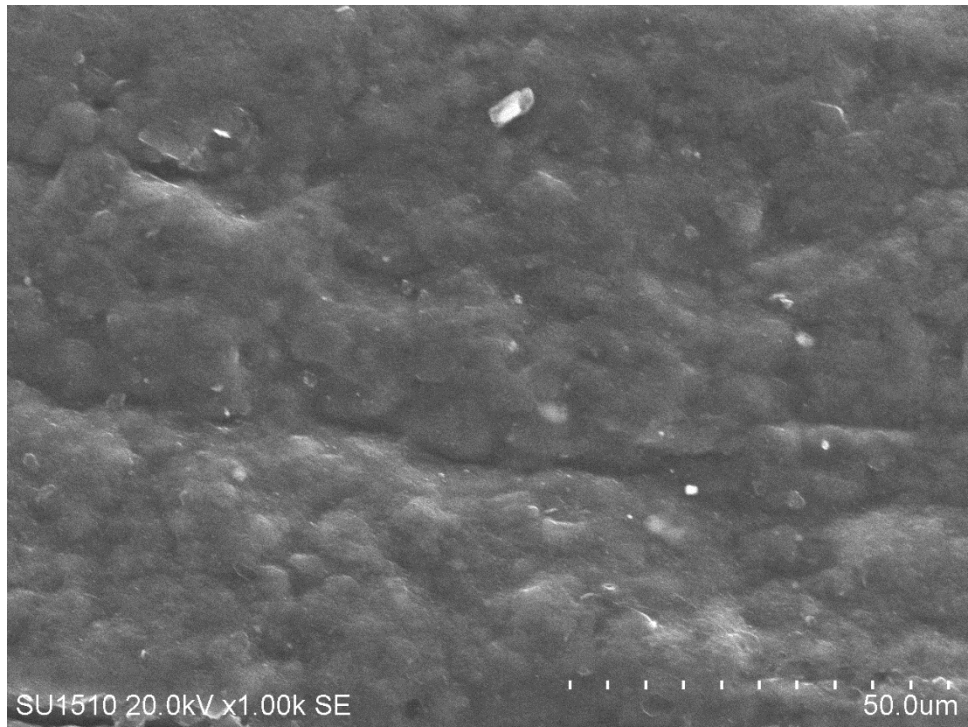
Şekil 4.15'de ise sadece PTH kaplanmaksızın Pd ile modifiye edilmiş GCE ile ve Pd/PTH/GCE modifiye elektrot sistemi ile kaydedilen empedans spektrumları karşılaştırılmıştır. Görüldüğü üzere, Pd nanopartikülleri için destek malzemesi olarak PTH iletken polimerinin kullanılması filmin iletkenlik özelliklerinin önemli ölçüde arttırmakta ve ferrisiyanür iyonlarının elektrot yüzeyine difüzyonunu belirgin oranda kolaylaştırmaktadır.

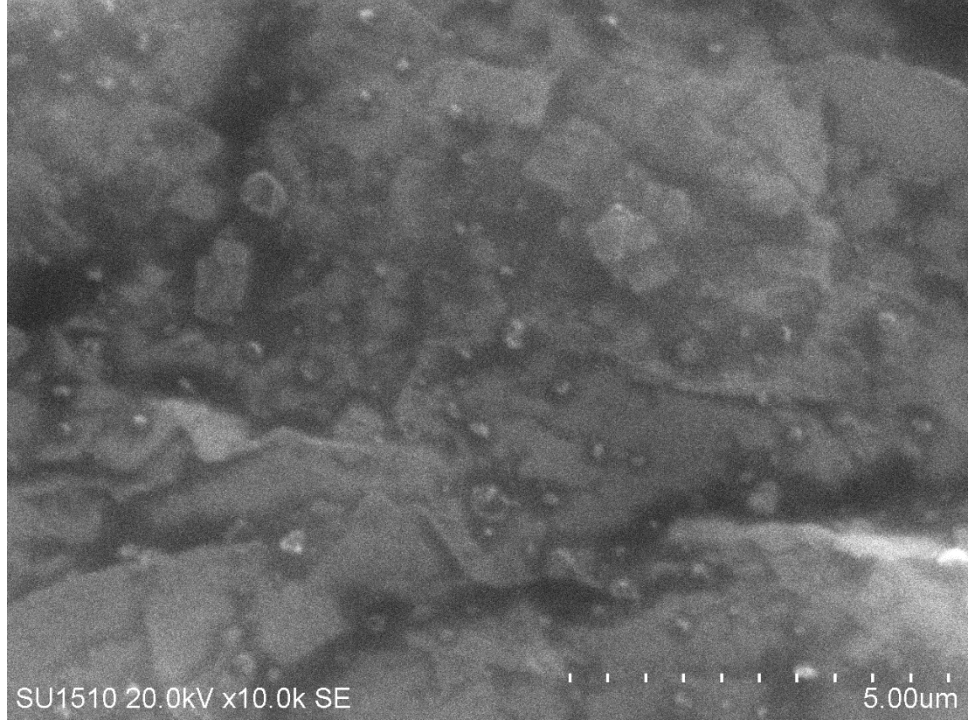


Şekil 4.15. Pd ile modifiye edilmiş GCE ve Pd/PTH ile modifiye edilmiş GCE için 5.0 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ çözeltisinde kaydedilmiş Nyquist diyagramları.

4.6. Optimum Koşullarda Hazırlanan Pd/PTH/GCE H_2O_2 Biyosensör Sisteminin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Fiziksel Karakterizasyonu

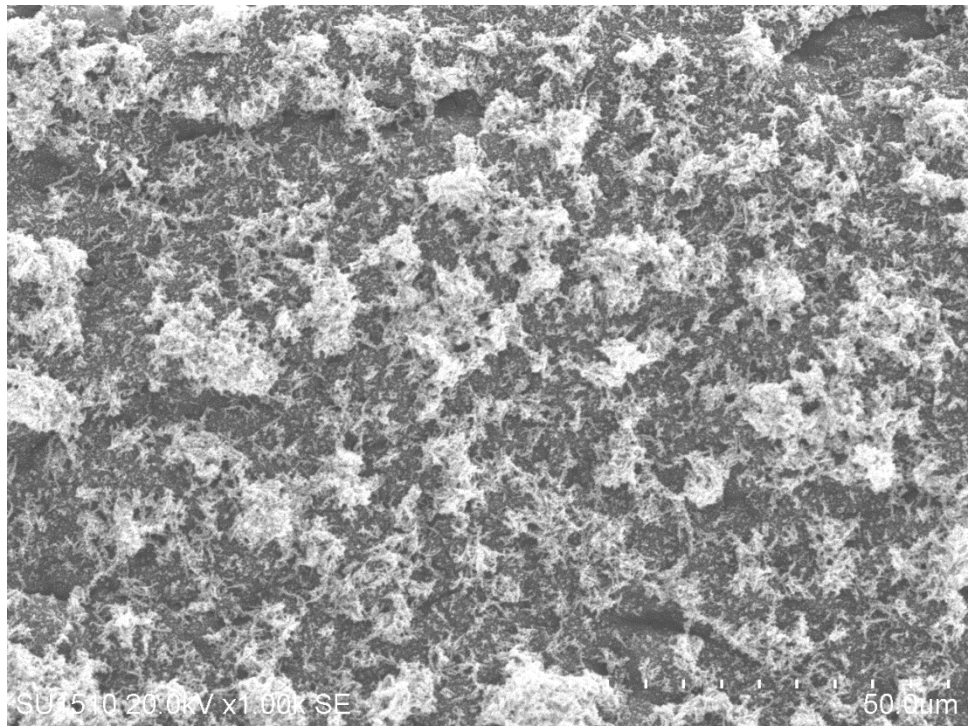
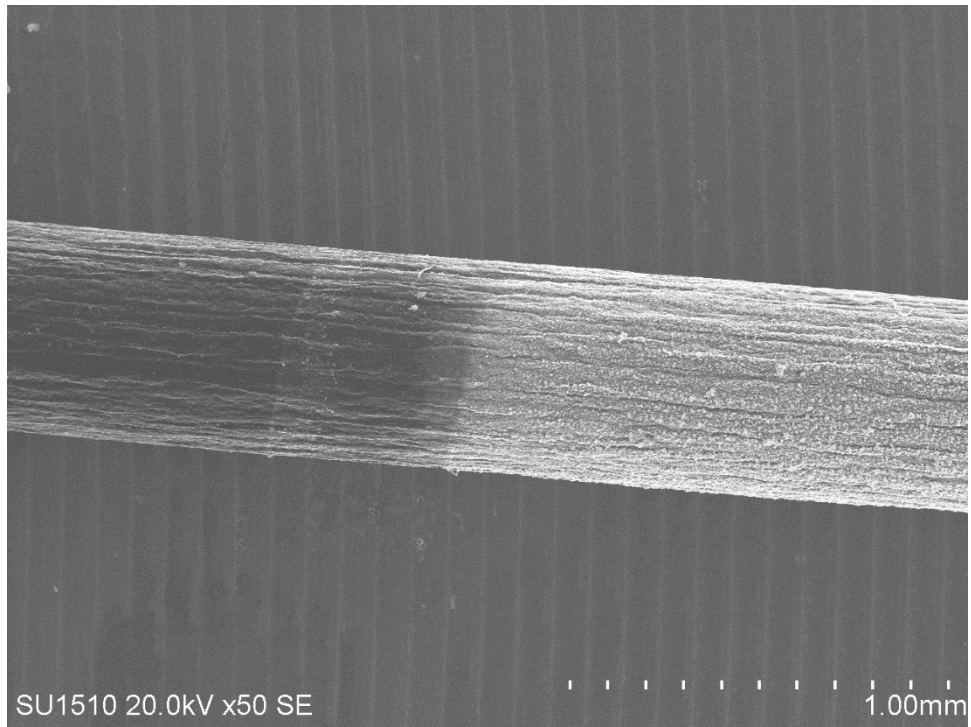
Pd/PTH/GCE biyosensör sisteminin hazırlanması için optimum deney koşulları saptandıktan sonra modifiye elektrot sisteminin fiziksel karakterizasyonu için SEM yöntemi kullanılmıştır. SEM görüntülerinin kaydedilmesi için kullanılan GCE ile aynı yüzey alanına sahip kalem grafit elektrot (PGE) kullanılmış olup kaplanmamış PGE için elde edilen SEM görüntüleri Şekil 4.16'da verilmiştir.

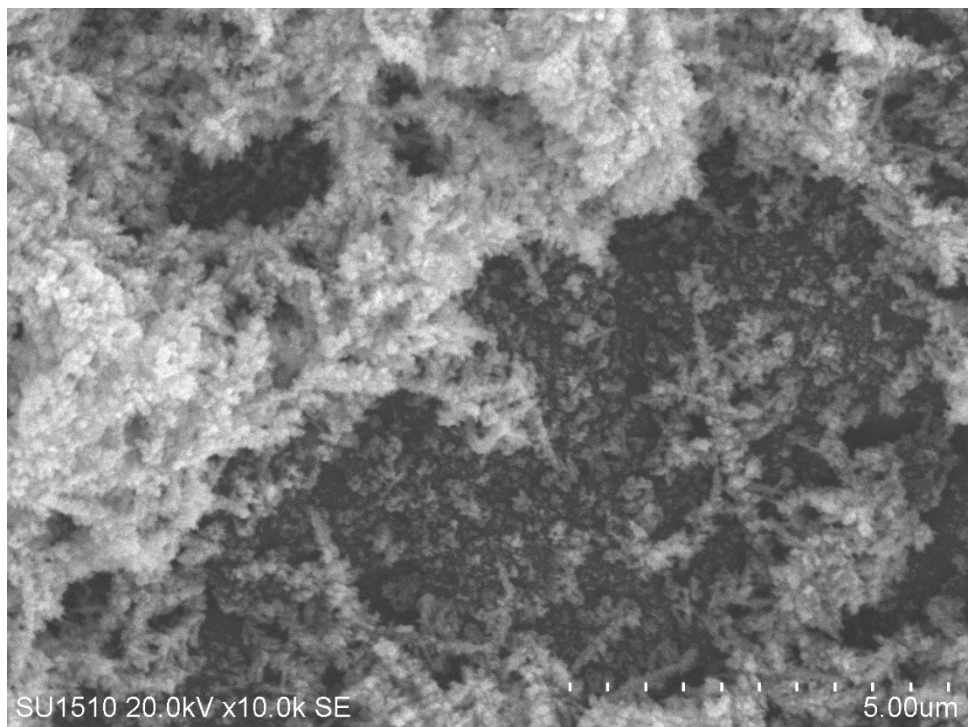
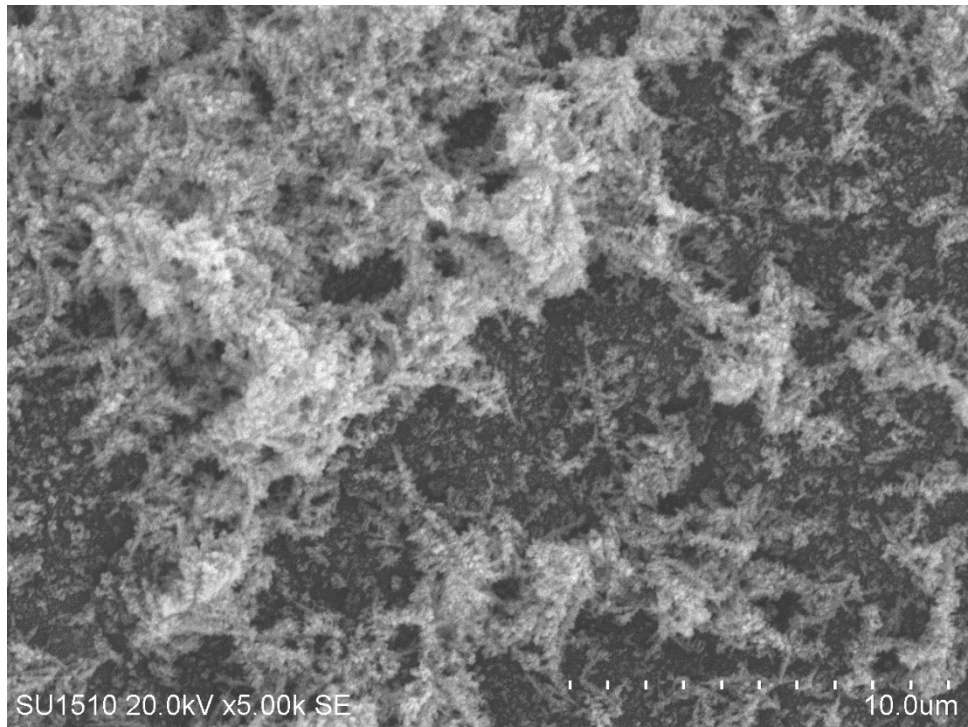


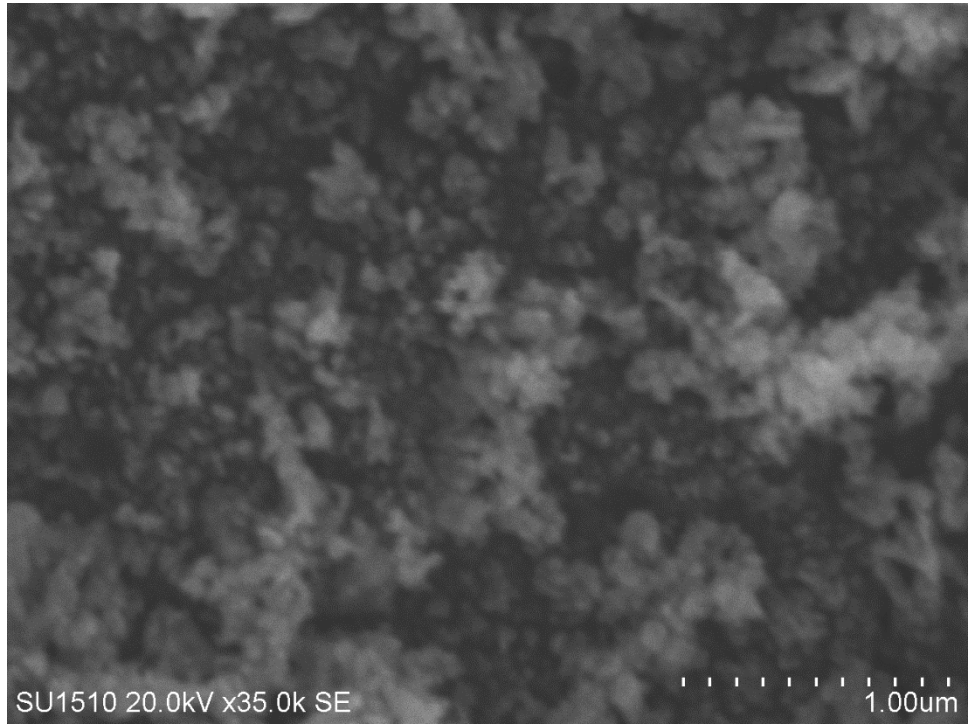
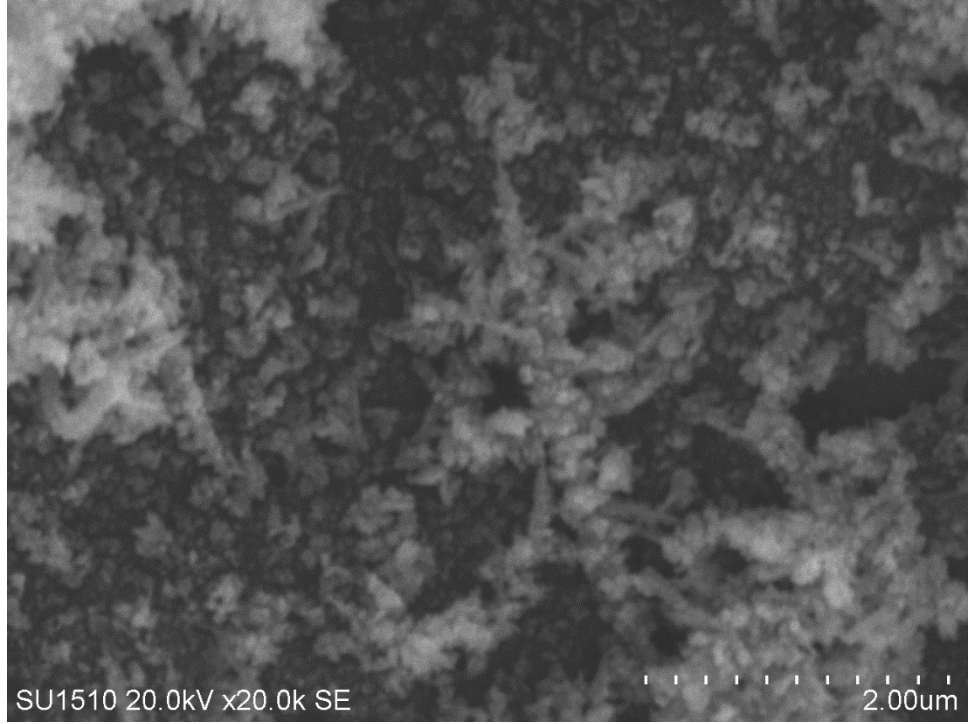


Şekil 4.16. Kaplanmamış PGE ile farklı magnifikasyonlarda kaydedilen SEM görüntüleri.

Şekil 4.17’de ise Pd/PTH ile modifiye edilmiş PGE ile kaydedilen SEM görüntüleri verilmiştir. Görüldüğü üzere elektrot yüzeyine uygulanan polimer/metal nanopartikül sistemi homojen olarak yüzeye dağılmış olup istendiği gibi gözenekli ve yüzey alanı geniş bir kaplama elde edilmiştir.



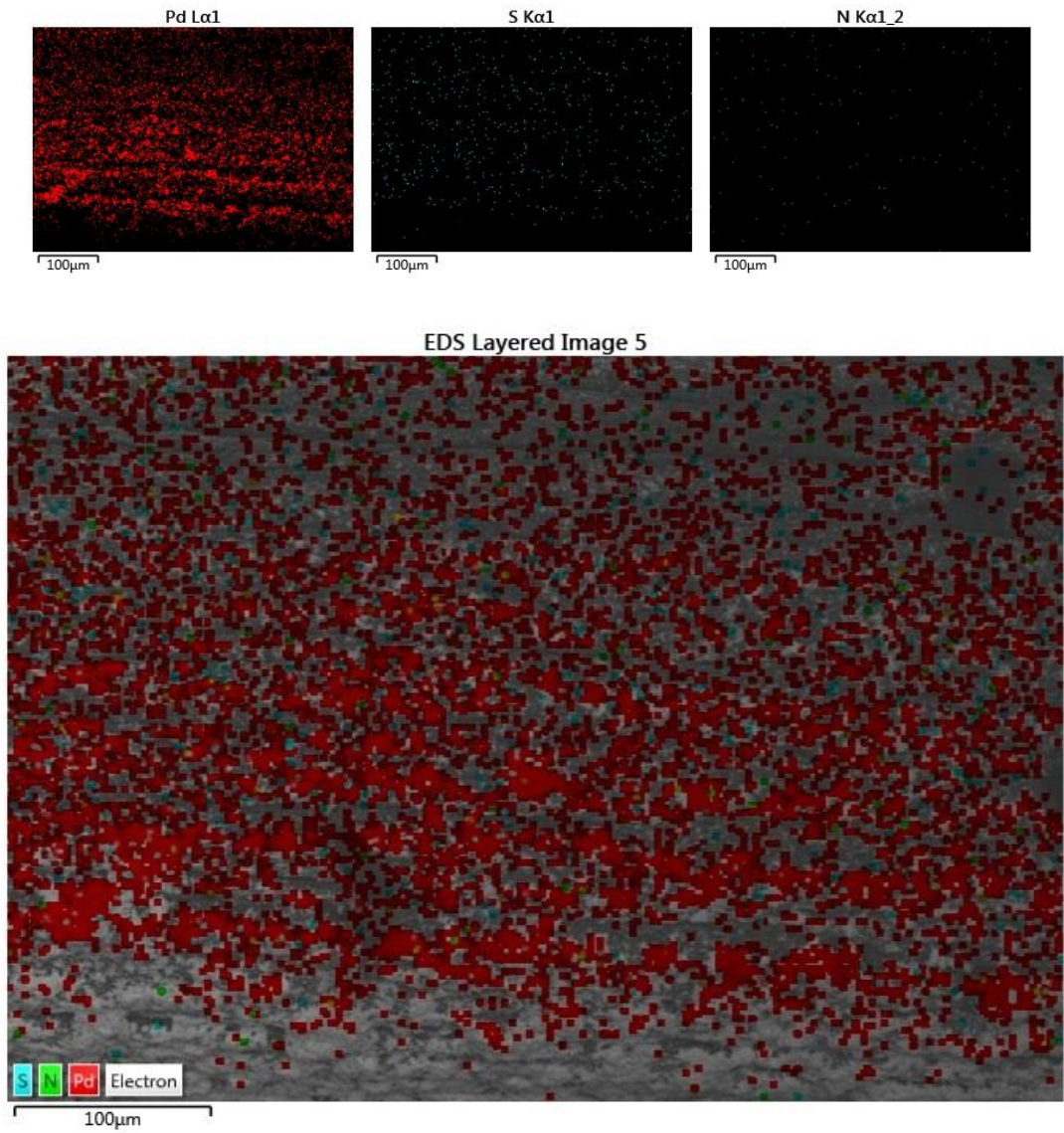




Şekil 4.17. Pd/PTH ile modifiye edilmiş PGE ile farklı magnifikasyonlarda kaydedilen SEM görüntüleri.

4.7. Enerji Dağılımlı X-Işınları Spektroskopisi (EDS) Bulguları

SEM görüntüleri kaydedilen Pd/PTH/GCE biyosensör sisteminin bileşiminin saptanması için enerji dağılımlı X-ışınları spektroskopisi (EDS) yöntemi kullanılmıştır. Şekil 4.18’de optimum koşullarda hazırlanan biyosensör sistemi için kaydedilen elementel haritalama verilmektedir. Her bir element için elde edilen dağılımlar incelendiğinde hazırlanan biyosensör sisteminin homojen yapıda olduğu saptaması desteklenmekte, Pd nanopartiküllerinin ve polimer kompozit filmine immobilize edildiği de haritalama sisteminden anlaşılmaktadır.



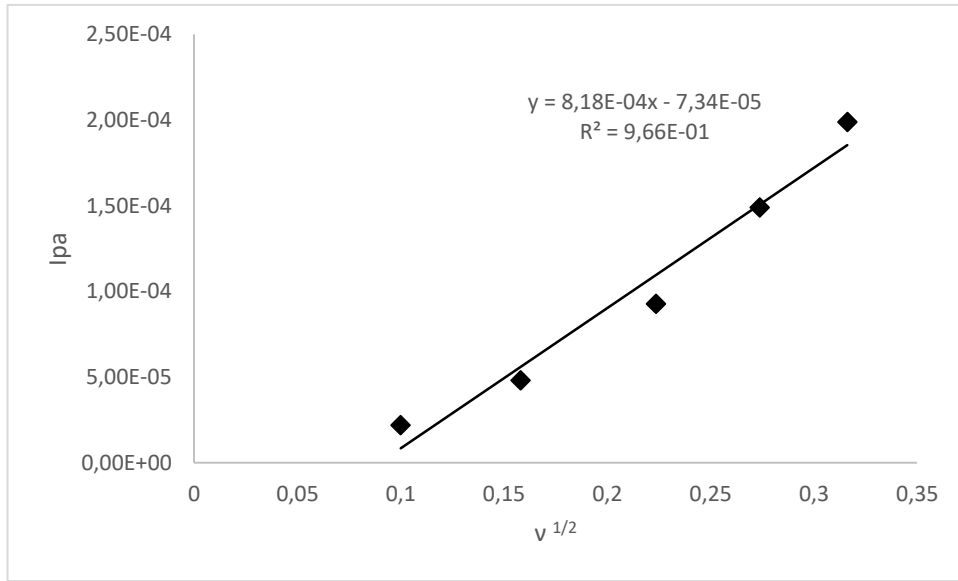
Şekil 4.18. Optimum koşullarda hazırlanan Pd/PTH/GCE biyosensör sisteminin elementel haritalaması.

4.8. Optimum Koşullarda Hazırlanan Modifiye Elektrot Sisteminin Yüzey Alanının Hesaplanması

Hazırlanan modifiye elektrot sisteminin aktif yüzey alanını hesaplamak için 1.0 mM K_3FeCN_6 çözeltisinin farklı tarama hızlarında ($10-100 \text{ mVs}^{-1}$) dönüşümlü voltamogramları kaydedilmiş ve tarama hızının kareköküne karşı anodik pik akımları grafiğe geçirilmiştir (Şekil 4.19). Yüzey alanının hesaplanması için aşağıdaki eşitlik kullanılmış ve $K_3[Fe(CN)_6]$ için difüzyon katsayısı 7.6×10^{-6} alındığında Pd/PTH modifiye GCE için aktif yüzey alanı 1.103 cm^2 olarak hesaplanmıştır (Bard ve ark., 2000 ; Myokong ve ark., 2006):

$$I_{pa} = (2.69 \times 10^5) n^{2/3} A D^{1/2} v^{1/2} C_0$$

(n =aktarılan elektron sayısı, A =yüzey alanı, D =difüzyon katsayısı, v =tarama hızı, C_0 =analit konsantrasyonu).

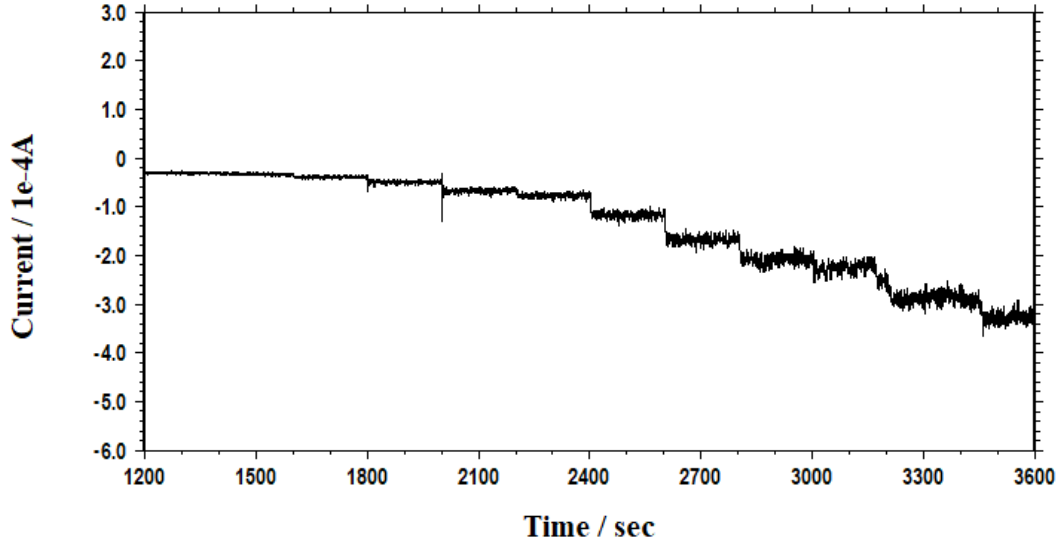


Şekil 4.19. Optimum koşullarda hazırlanan Pd/PTH/GCE elektrotu ile 1.0 mM K_3FeCN_6 çözeltisinde kaydedilen CVler için tarama hızının kareköküne karşı anodik pik akımları.

4.9. Optimum Koşullarda Hazırlanan Modifiye Elektrot ile H_2O_2 İçin Kalibrasyon Doğrusu Elde Edilmesi

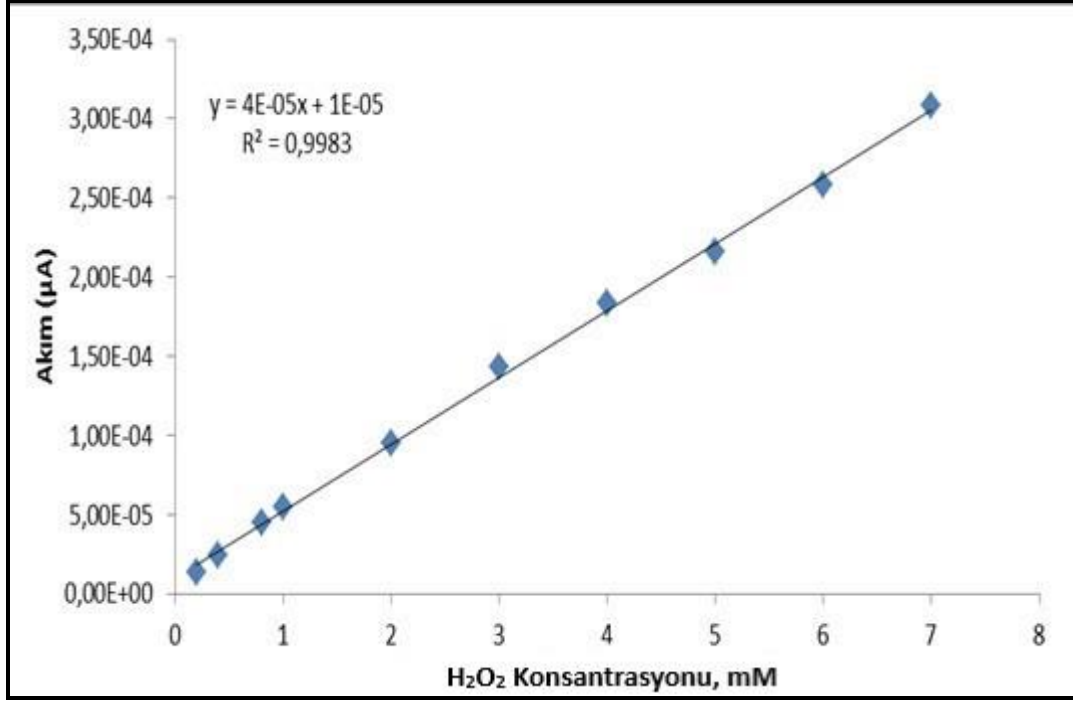
Gerçekleştirilen çalışmanın nihai hedefi hazırlanan Pd/PTH modifiye elektrot sistemi ile H_2O_2 'nin amperometrik tayininin gerçekleştirilmesi ve duyarlı, seçici ve düşük tayin sınırına sahip bir H_2O_2 sensörü geliştirilmesidir. Bu amaçla kronoamperometrik koşullarda Pd/PTH sistemi ile modifiye edilmiş GCE, 50 mM, pH=7.4 (fizyolojik

pH) PBS çözeltisinde 0.1 V potansiyelde dengeye getirildikten sonra derişimi bilinen H₂O₂ çözeltisinden eklemeler yapılarak akımda oluşan değişimler kaydedilmiştir (Şekil 4.20). Yapılan deneysel çalışmalar sonucunda hazırlanan sensörün cevap süresinin 5s gibi oldukça kısa bir süre olduğu ve geniş bir derişim aralığında H₂O₂ eklemelerine karşı duyarlı olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.20. Pd/PTH/ GCE modifiye elektrotu ile 100 mM, pH=7.4 PBS çözeltisine H₂O₂ eklenmesiyle elde edilen akım-zaman eğrisi (V = 0.1 V vs. SCE).

Optimum koşullarda hazırlanan modifiye elektrot sistemi ile kronoamperometrik koşullarda elde edilen akım değerlerinin grafiğe geçirilmesiyle elde edilen kalibrasyon doğrusu ise Şekil 4.21’de verilmiştir.



Şekil 4.21. Optimum koşullarda hazırlanmış Pd/PTH/GCE modifiye elektrot sistemi ile elde edilen kalibrasyon doğrusu.

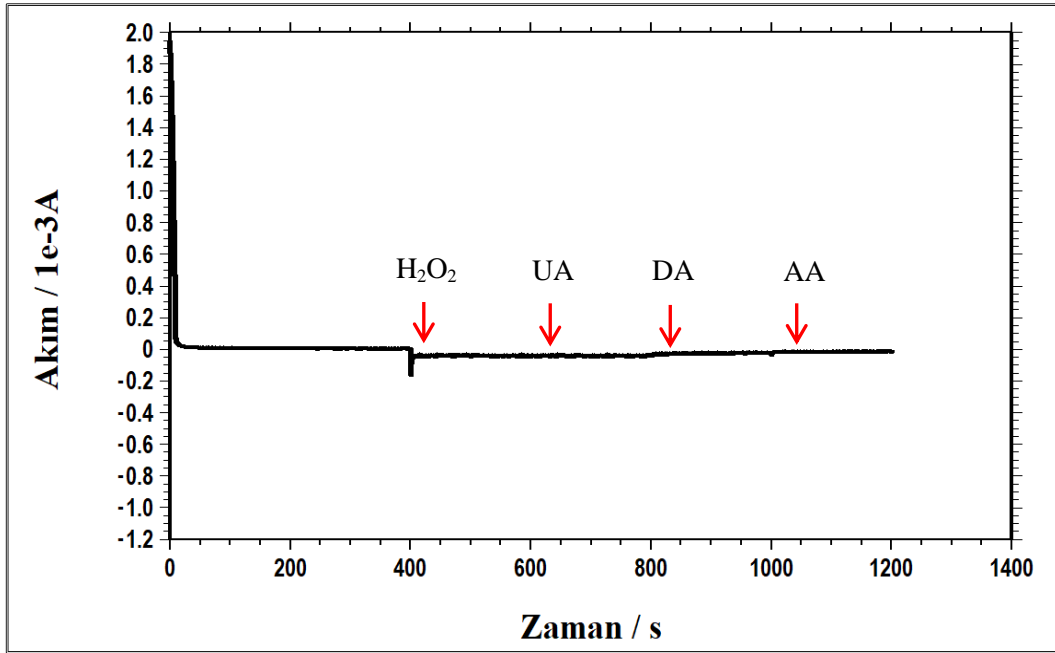
Kalibrasyon doğrusundan elde edilen veriler ışığında geliştirilen H₂O₂ sensörünün doğrusal çalışma aralığı 0.2 mM – 7.0 mM ve hassasiyeti 40.0 µA mM⁻¹ olarak belirlenmiştir. Sensörün tayin sınırı (LOD) ise aşağıdaki formüle göre hesaplanmış (Borgmann ve ark., 2011) ve sinyal/gürültü oranı (S/N) 3 olarak alındığında 12.3 µM (N=6) bulunmuştur:

$$\text{LOD} = 3 \times \text{Sb} \quad (\text{Sb: K r (blank) değerlerin standart sapması})$$

4.10. Ürik Asit (UA), Askorbik Asit (AA) ve Dopamin (DA) Moleküllerinin Girişim Etkisinin İncelenmesi

Tez alışmaları kapsamında hazırlanan amperometrik H₂O₂ sensörünün başarılı sayılabilmesi için gerekli en önemli koşullardan birisi biyolojik örneklerdeki diğer elektroaktif türlerin H₂O₂ piklerine girişim yapmamasıdır. Tezin son aşamasında gerçek örneklerde bulunabilecek ürik asit (UA), askorbik asit (AA) ve dopamin (DA) moleküllerinin fizyolojik seviyede H₂O₂ sinyaline girişim yapıp yapmadığı incelenmiştir. Bu amaçla kronoamperometrik koşullarda Pd/PTH sistemi ile modifiye edilmiş GCE, 100 mM pH=7.4 PBS  zeltisinde 0.1 V potansiyelde dengeye getirildikten sonra; önce 0.5 mM H₂O₂, ardından her biri 0.1 mM olacak şekilde UA,

AA ve DA eklemeleri yapılmış ve bu moleküllerin H₂O₂ sinyaline belirgin bir girişim yapmadığı gözlenmiştir (Şekil 4.22).



Şekil 4.22. Pd/PTH/GCE modifiye elektrotu ile 100 mM, pH=7.4 PBS çözeltisine H₂O₂, UA, DA ve AA eklenmesiyle elde edilen akım-zaman eğrisi (V = 0.1 V vs. SCE).

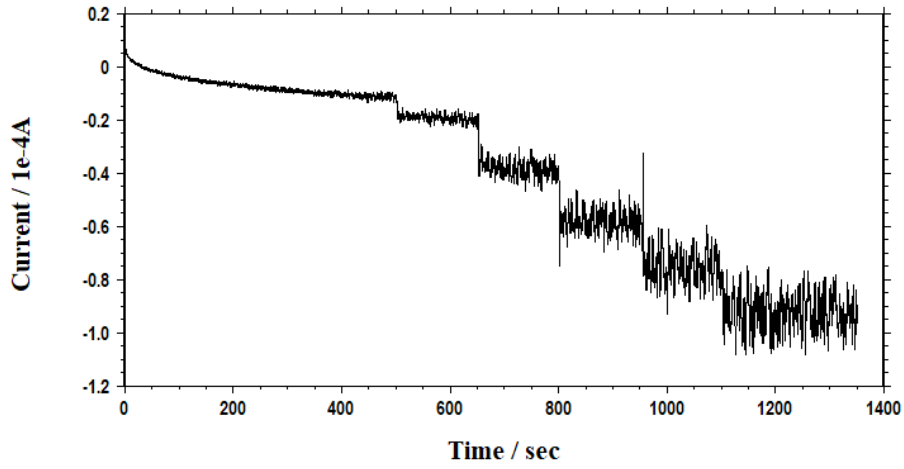
4.11. Gerçek Örnek Analizi

Geliştirilen sensör sisteminin gerçek örneklerin analizi için uygun olup olmadığını test etmek için optimum koşullarda hazırlanan Pd/PTH kaplı GCE ile çeşme suyu ve oksidan saç kremi örneklerinde standart eklemi yöntemi kullanılarak H₂O₂ analizi yapılmıştır. Çeşme suları normal koşullarda H₂O₂ içermemekte olup, sentetik olarak hazırlanan örneklerde analiz gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla çeşme suyu kullanılarak 5.00 mM H₂O₂ çözeltisi hazırlanmış ve çözeltinin H₂O₂ içeriği Pd/PTH sensör sistemi ile amperometrik koşullarda analiz edildiğinde 5.05 mM olarak hesaplanmıştır. Oksidan saç kremi örneklerinin analizi ise etiket bilgilerinde %9 (h/h) H₂O₂ içerdiği belirtilen ticari bir numune ile gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla krem örneğinden 3.0 mL alınarak 100 mL'ye seyreltilmiş ve bu çözelti seyreltilerek 1.0 mM H₂O₂ çözeltisi hazırlanmıştır. 3 tekrarlı yapılan analiz sonrasında çözeltinin H₂O₂ derişimi 1.08 mM bulunmuş olup her iki gerçek örnek analiz sonuçları Tablo 4.1'de verilmiştir. Çeşme suyu ve oksidan saç kremi örneklerinde standart ekleme yöntemi kullanılarak kaydedilen akım-zaman eğrileri sırasıyla Şekil 4.23 ve Şekil

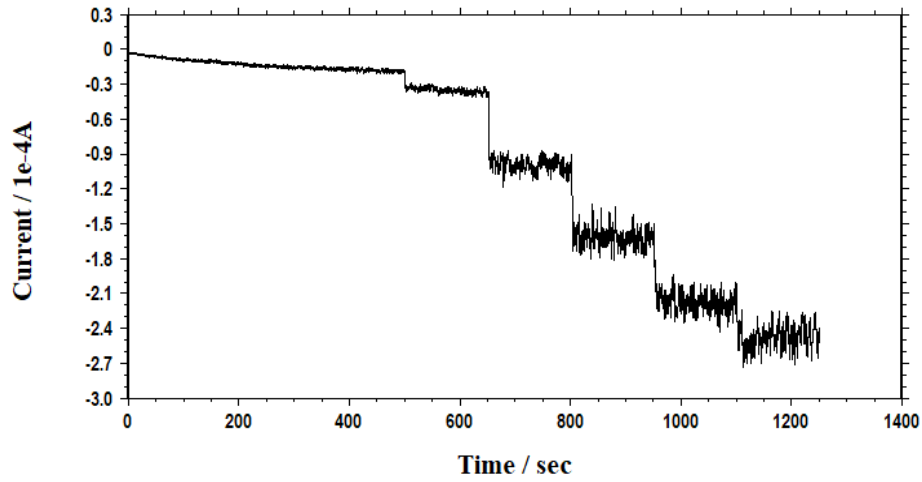
4.24'de verilmektedir. Tüm bu verilerin ışığında, geliştirilen Pd/PTH/GCE modifiye elektrot sisteminin H₂O₂'nin gerçek örneklerde analizi için uygun olduğu sonucuna varılmıştır.

Tablo 4.1. Gerçek örneklerde H₂O₂ için analiz sonuçları

Örnek	Eklenen (mM)	Bulunan (mM)	% Geri kazanım	BSS (% ,n=3)
Çeşme suyu	5.00	5.05	101.0	2.7
Oksidan saç kremi	1.00	1.08	108.0	5.6



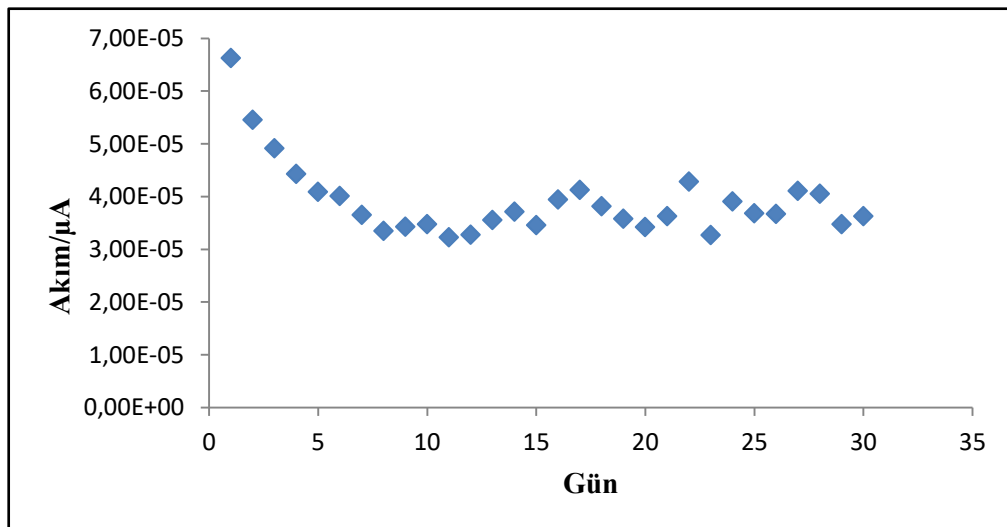
Şekil 4.23. Hazırlanan Pd/PTH/GCE modifiye elektrot sistemi ile çeşme suyunda standart ekleme yöntemi kullanılarak kaydedilen akım-zaman eğrisi.



Şekil 4.24. Hazırlanan Pd/PTH/GCE modifiye elektrot sistemi ile oksidan saç kreminde standart ekleme yöntemi kullanılarak kaydedilen akım-zaman eğrisi.

4.12. Optimum Koşullarda Hazırlanan Modifiye Elektrot Sisteminin Kararlılığı

Optimum koşullarda hazırlanan modifiye elektrot sisteminin kararlılığını test etmek için Pd/PTH/GCE modifiye hazırlanmış ve kullanılmadığı zaman +4 °C’de muhafaza edilmiştir. Aynı kaplama kullanılarak bir ay boyunca 1.0mM H₂O₂ çözeltisi ile elde edilen kronoamperometri akım değerleri grafiğe geçirilmiştir (Şekil 4.25). Şekilden görüldüğü üzere modifiye elektrot bir ay boyunca H₂O₂ tayini için sonuç vermiş ve 30 gün sonunda elde edilen akım, başlangıç akımının %54.8’i olarak kaydedilmiştir.



Şekil 4.25. Optimum koşullarda hazırlanan Pd/PTH/GCE elektrotu ile 30 gün boyunca 1.0 mM H₂O₂ çözeltisi için kronoamperometri ile kaydedilen akımları.

5. SONUÇLAR

- Önerilen tez kapsamında H_2O_2 tayini için basit, düşük maliyetli ve hızlı bir amperometrik sensör geliştirilmiştir.
- Sensörün hazırlanma süreci iki adet çok basit aşamada gerçekleştirilmiştir: (i) Elektrodun polimer filmiyle kaplanması, (ii) Pd nanopartiküllerinin polimer yapısına immobilize edilmesi.
- Modifiye elektrodun hazırlanma koşullarının optimize edilmesi için kronoamperometri yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla modifiye elektrot sistemi pH=7.0 fosfat tamponunda (PBS) kronoamperometrik (CA) koşullarda dengeye getirildikten sonra stok H_2O_2 çözeltisinden eklemeler yapılarak elde edilen akım artışları kaydedilmiş ve en yüksek akımın sağlandığı deneysel koşul optimum koşul olarak kabul edilmiştir.
- Elde edilen sensörün hazırlanması kolay, ekonomik, seçiciliği yüksek ve hassas bir sensör olduğu ve hızlı bir cevap süresine sahip olduğu deneysel çalışmalarla ortaya konmuştur.
- Ürik asit, askorbik asit ve dopamin moleküllerinin H_2O_2 sinyaline girişim etkisi incelenmiş ve bu moleküllerin fizyolojik seviyelerde sensöre girişim yapmadığı gözlenmiştir.
- Optimum koşullarda hazırlanan modifiye elektrot sistemi dönüşümlü voltametri, elektrokimyasal empedans spektroskopisi ve taramalı elektron mikroskobu ile görüntüleme yöntemleri kullanılarak elektrokimyasal ve fiziksel olarak karakterize edilmiştir.

6. KAYNAKLAR

- Aiken, J.D., Lin, Y. ve Finke, R.G. 1996. A perspective on nanocluster catalysis: Polyoxoanion and (n-C₄H₉N⁺ stabilized Ir(O) (similar to 300) nanocluster 'soluble heterogeneous catalysts.' *Journal of Molecular Catalysis A-Chemical*, 114: 29-51.
- Balint, R., Cassidy, N.J., Cartmell, S.H. 2014. Conductive polymers: Towards a smart biomaterial for tissue engineering. *Acta Biomaterialia*, 10: 2341-2353.
- Bard, A.J., Faulkner, L.R. 2000. *Electrochemical methods: fundamentals and applications*. John Wiley&Sons, INC. 850p.
- Bhushan, B. 2007. Nanotribology and nanomechanics of MEMS/ NEMS and BioMEMS/BioNEMS Materials and Devices. *Microelectronic Engineering*, 84: 387-412.
- Borgmann S.; Schulte A.; Neugebauer S.; Schuhmann W. 2011. *Advances in Electrochemical Science and Engineering*; Wiley-VCH, Weinheim, Germany.
- Brown, A., Koval, P., Anson, C., F. C. 1976. Illustrative electrochemical behavior of reactants irreversibly adsorbed on graphite electrode surfaces. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, 72: 379387.
- Bulut, Y. 2011. *Biyosensörlerin Tanımı ve Biyosensörlere Genel Bakış*. 6 th. International Advanced Technologies Symposium (IATS'11), 16-18 Mayıs 2011, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim dalı, Elazığ.
- Chang, G., Oyama, M., Hirao, K. 2006. In situ chemical reductive growth of platinum nanoparticles on indium tin oxide surfaces and their electrochemical applications. *The Journal of Physical Chemistry B*. 110 (4), pp. 1860-1865.
- Chaubey, A., Malhotra, B.D. 2002. Mediated Biosensors. *Biosensors and Bioelectronics*, 17: 441-456.
- Chen, H-Y., Ju, H-X., Xiao, Y. 1999. "Hydrogen peroxide sensor based on horseradish peroxidase-labeled Au colloids immobilized on gold electrode surface by cystamine monolayer", *Analytica Chimica Acta*, 301:73-82.
- Chen, W., Cai, S., Ren, Q-Q., Wen, W., Zhao, Y-D. 2012. "Recent advances in electrochemical sensing for hydrogen peroxide: a review", *Analyst*, 137: 49-58.
- Chen, S., Yuan, R., Chai, Y., Hu, F. 2013. "Electrochemical sensing of hydrogen peroxide using metal nanoparticles: a review", *Microchimica Acta*, 180: 15-32.
- Chen, X-m., Cai, Z-x., Huang, Z-y., Oyama, M., Jiang, Y-q., Chen, X. 2013. "Ultrafine palladium nanoparticles grown on graphene nanosheets for enhanced electrochemical sensing of hydrogen peroxide", *Electrochimica Acta*, 97: 398-403.
- Çelikkan, H. 2001. Polipirol ile modifiye edilmiş karbon elektrot kullanılarak ASV yöntemiyle Pb ve Cu tayini. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye, 88.

- Dago, A., Navarro, J., Arino, C., Diaz- Cruz, J. M., Esteban, M. 2015. Carbon nanotubes and graphene modified screen-printed carbon electrodes as sensitive sensors for the determination of phytochelatins in plants using liquid chromatography with amperometric detection. *Journal of Chromatography A*, 1409 : 210-217.
- Dinçkaya, E. 1999. Enzim Sensörleri. Biyokimya Lisansüstü Yaz Okulu, 81142. Editörler : Blum , L.J., Coutlet , P.R., Marcel Dekker Inc., New York, pp : 1-6 Editörler : Kılıç, E., Köseoğlu, F., Yılmaz, H., Türkiye, s : 564-565. Editörler: Axel Munack. St. Joseph, Michigan., ASABE. Copyright American Society of Agricultural Engineers, USA, pp: 52-93.
- Erden, P.E., Kaçar, C., Öztürk, F., Kılıç, E. 2015. Amperometric uric acid biosensor based on poly(vinylferrocene)-gelatin-carboxylated multiwalled carbon nanotube modified glassy carbon electrode. *Talanta*, 134: 488-495.
- Farre, M., Kantiani, L., Perez, S., Barcelo, D. 2009. Sensors and biosensors in support of EU Directives. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 28: 170-185.
- Gerard, M., Chaubey, A., Malhotra, B.D. 2001 . Application of conducting polymers to biosensors. *Biosensors and Bioelectronics*, 17: 345359. Glassy carbon paste electrode. *Electrochemistry Communications*, 6: 913-916.
- Gooding, J.J. 2006. Biosensor technology for detecting biological warfare agents: Recent progress and future trends. *Analytica Chimica Acta*, 559: 137-151.
- Guimard, N.K., Gomez, N., Schmidt, C.E. 2007. Conducting polymers in biomedical engineering . *Progress in Polymer Science*, 32: 876-921.
- Hall, E.A.H. 1990. Biosensors, Ch. 1: Biosensors in context, Open University Press, İngiltere, 3-30.
- Halliwel, B., Clement, M., Longa, L. 2000. Hydrogen peroxide in the human body *FEBS Letters*, p 10-13.
- Hierlemann, A. Baltes, H. 2003. CMOS- based chemical microsensors. *The Analyst*, 128 (1) :15-28.
- Hosseini, H., Rezaei, S.J.T., Rahmani, P., Sharifi, R., Nabid, M.R., Bagheri, A. 2014. “Nonenzymatic glucose and hydrogen peroxide sensors based on catalytic properties of palladium nanoparticles/poly(3,4-ethylenedioxythiophene) nanofibers”, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 195: 85-91.
- Junhui, Z., Hong, C., Ruifu, Y. 1997. DNA based biosensors. *Biotechnology Advances*, 15: 43-58.
- Kuralay, F., Erdem, A., Abacı, S., Özyörük, H. 2013. Electrochemical characterization of redox polymer modified electrode developed for monitoring of adenine, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 105:1-6.
- Lasia, A. 2014. *Electrochemical Impedance spectroscopy and its applications*. Springer. New York, USA, 367p.
- Li, Y. 2006. Section 2.3 Biosensors, of Chapter 2 Hardware, in *CIGR Handbook of Agricultural Engineering Information Technology*, 6:52-93.

- Li, X., Liu, X., Wang, W., Li, L., Lu, X. 2014. "High loading Pt nanoparticles on functionalization of carbon nanotubes for fabricating nonenzyme hydrogen peroxide sensor", *Biosensors and Bioelectronics*, 2014: 221-226.
- Li, Z., Wen, Z., Shi, Y., Zhang, Y., Sun, Y., Xu, F. 2011. Graphene-Pt nanocomposite for nonenzymatic detection of hydrogen peroxide with enhanced sensitivity, *Electrochemistry Communications*, 13: 1131-1134.
- Liu, X., Li, X., Wang, W., Li, L., Lu, X. 2014. High loading Pt nanoparticles on functionalization of carbon nanotubes for fabricating nonenzyme hydrogen peroxide sensor. *Biosensors and Bioelectronics*, 59, 221-226.
- Liu, J., Lin, H., Yang, J., Huang, Y., Xiao, J., Zhang, X. 2013. Properties of Pd nanoparticles-embedded polyaniline multilayer film and its electrocatalytic activity for hydrazine oxidation. *Electrochimica Acta*, 90: 382-392.
- Nyokong, T., Ozoemena, K., Siswana, M.P. 2006. Electrocatalysis of asulam on cobalt phthalocyanine modified multi-walled carbon nanotubes immobilized on a basal plane pyrolytic graphite electrode. *Electrochimica Acta*, 52: 114-122.
- Plata, M.R., Contento, A.M., Rios, A. 2010. State-of-the-Art of (Bio) Chemical Sensor Developments in Analytical Spanish Groups. *Sensors*, 10: 2511-2576.
- Sağbaşı, B., Durakbaşı, N. 2009. Tıbbi ölçüm ve analizlerde kullanılan biyosensörler. III. Ulusal Tıbbi Cihazlar İmalatı Sanayi Kongresi, 6-7 Kasım 2009, Makine mühendisleri odası, Samsun.
- Scheller, F., Schubert, F., Pfeiffer, D., Hintsche, R., Dransfeld, I., Renneberg, R. 1989. Research and Development of Biosensors. *Analyst*, 114: 653662.
- Scheauer, C., Wimmer, B., Bischof, H., Nguyen, L., Maguhn, J., Spitzauer, P., Kettrup, A., Wabner, D. 1995, Oxidative Decomposition of Organic Water Pollutants with UV-Activated Hydrogen Peroxide Determination of Anionic Products by Ion Chromatography, *Journal of Chromatography A*, 706 (1-2), p 253258.
- Shin, J. H., Yoon, S.Y., Yoon, I.J., Choi, S.H., Lee, S.D., Nam, H., Cha, G.S. 1998. Potentiometric Biosensors Using Immobilized Enzyme Layers Mixed With Hydrophilic Polyurethane. *Sensors and Actuators B*, 50: 19-26.
- Skoog, D.A., Holler, F.J., Nieman, T.A. 1998. *Elektroanalitik Kimyaya Giriş : Enstrümantal Analiz*, Editörler : Kılıç, E., Köseoğlu, F., Yılmaz, H. Bilim Kitap Kırtasiye LTD. ŞTİ. Ankara, 639-673.
- Skoog, D.A., West, D.M., Holler, F.J., Crouch, S.R., *Analitik Kimyanın Temelleri, Çeviri editörleri; Prof. Dr. Esmâ Kılıç, Prof. Dr. Hamza Yılmaz, (2007), Bilim Yayıncılık, 8. Baskı, 665-704.*
- Spencer, J.P., Jenner, A., Chimel, K., Aruoma, O.I., Cross, C.E., Wu, R., Halliwell, B. 1995. DNA strand breakage and base modification induced by hydrogen peroxide treatment of human respiratory tract epithelial cells, *FEBS Letter*, p 233-236.
- Stanciu, L-A., Won, Y-H., Huh, K. 2011. Au nanospheres and nanorods for enzyme-free electrochemical biosensor applications. *Biosensors and Bioelectronics*, 26: 4514-4519.

- Topçu, E. 2011. Poli(tiyonin) ince filmlerinin elektrokimyasal sentezi ve film oluşumuna etki eden faktörlerin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Wang, M.Y., Shen, T., Wang, M., Zhang, D., Chen, J. 2013. "One-pot green synthesis of Ag nanoparticles-decorated reduced graphene oxide for efficient nonenzymatic H₂O₂ biosensor", *Materials Letters*, 107: 311-314.
- Wood, A., Leslie, B., Karplus, A. 1989. *Peroxiredoxin Evolution and the Regulation of Hydrogen Peroxide Signaling*
- Won, Y.H., Huh, K., Stanciu, L.A. 2011. "Au nanospheres and nano-rods for enzyme-free electrochemical biosensor applications", *Biosensors and Bioelectronics*, 26: 4514-4519.
- Xiao, M., Liang, X., Li, W., Yang, Y., Miao, Y. 2015. Synthesis of ultrafine Pt/Pd bimetallic nanoparticles and their decoration on MWCNTs for hydrogen evolution, *Journal of The Electrochemical Society*, 162 (6) H415-H418.
- Xiao, Y., Ju, H.X., Chen, H.Y. 1999. "Hydrogen peroxide sensor based on horseradish peroxidase-labeled Au colloids immobilized on gold electrode surface by cysteine amine monolayer", *Analytica Chimica Acta*, 391: 73-82.
- Xu, F., Sun, Y., Zhang, Y., Shi, Y., Wen, Z., Li, Z. 2011. "Graphene-Pt nanocomposite for nonenzymatic detection of hydrogen peroxide with enhanced sensitivity", *Electrochemistry Communications*, 13: 1131-1134.
- Yıldız, A., Genç, Ö. 1993. *Enstrümental Analiz*. No: A- 64, Ankara, 289-384s.
- Zhang, K., Mao, L., Cai, R. 2000. Stopped-flow spectrophotometric determination of hydrogen peroxide with hemoglobin as catalyst, *Talanta*, p 179-186.
- Zheng, Y.F., Zheng, W., Li, J. 2008. An amperometric biosensor based on hemoglobin immobilized in poly(caprolactone) film and its application, *Biosensors and Bioelectronics*, 23 p 1562-1566.
- Zurawski, D., Rice, L., Hourani, M. 1987. The in-situ preparation of well defined, single crystal electrodes. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 107-211.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Songül KIRLAK
Doğum Yeri : Altındağ
Doğum Tarihi : 19/04/1991
Yabancı Dili : İngilizce
E-mail : songulkirlak@gmail.com
İletişim Bilgileri : Ordu Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi

Öğrenim Durumu :

Derece	Bölüm/ Program	Üniversite	Yıl
Lisans	KİMYA	ORDU ÜNİVERSİTESİ	2010
Y. Lisans	ANALİTİK KİMYA	ORDU ÜNİVERSİTESİ	2015

İş Deneyimi :

Görev	Görev Yeri	Yıl
TÜBİTAK (Bursiyer Öğrenci)	Ordu Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya/Polimer Kimyası	2017- 2018

Kongrelerde Sunulan Tebliğler

- **Songül Kırlak**, Mutlu Sönmez Çelebi, "Preparation of Poly(thionine) Supported Palladium Nanoparticles For Biosensing Applications" 3rdInternational Congress on Biosensors, 5-7 Ekim 2016, Ankara, Türkiye.
- **Songül Kırlak**, Mutlu Sönmez Çelebi, Elvan Üstün, "Electrochemical Monitoring Of Carbon Monoxide Using Myoglobin - Nafion Films Deposited On Glassy Carbon Electrode" International Congress on Semiconductor Materials and Devices (ICSMD-2017), 17-19 Ağustos 2017, Konya, Türkiye.
- Efkan ÇATIKER¹, Ayçanur BEDİR¹, **Songül KIRLAK**¹, Mehmet ATAKAY², Bekir SALİH², "Poli(2-Metil-3-Hidroksi Propionat) Sentezi Ve Karakterizasyonu" Uluslararası Katılımlı VII. Polimer Bilim ve Teknoloji Kongresi (Polimer 2018), 09-12 Eylül 2018, Eskişehir, Türkiye.

- Elvan ÜSTÜN^{1*}, Mutlu SÖNMEZ ÇELEBİ¹, Melek ÇOL AYVAZ¹, **Songül KIRLAK**¹, Serkan GÜNEY² “Electrochemical Characterization, DFT/TDDFT Calculation and Antioxidant Activity of *trans*-[Cu(sac)₂(aeppz)₂]” 1. International Technological Sciences and Design Symposium, 27-29 June 2018, Giresun, Türkiye.
- Elvan ÜSTÜN, **Songül KIRLAK**, Mutlu SÖNMEZ ÇELEBİ “Co-Releasing Properties and Electrochemical Characterization of Bioactive Manganese Carbonyl Complexes” 2nd Japon-Turkey International Symposium on Pharmaceutical and Biomedical Sciences (JATUSPAB-2), Semtember 11-12, Trabzon-Turkey.
- Mutlu Sönmez Çelebi*, Elvan Üstün, **Songül KIRLAK** “Electrochemical Characterization of CO-Releasing Manganese-Imidazole Complexes” 1. International Technological Sciences and Design Symposium, 27-29 June 2018, Giresun, Türkiye.
- **Songül KIRLAK**, Mutlu SÖNMEZ ÇELEBİ “Determination of Hydrogen Peroxide by An Amperometric Biosensor Based on Palladium Decotared Poly(thionine) (Pd@PTH) Bioelectrode” 2nd Japon-Turkey International Symposium on Pharmaceutical and Biomedical Sciences (JATUSPAB-2), Semtember 11-12, Trabzon-Turkey.
- Mutlu SÖNMEZ ÇELEBİ^{1*}, Elvan ÜSTÜN¹, Melek ÇOL AYVAZ¹, **Songül KIRLAK**¹, Serkan GÜNEY² “*Trans*-[Ni(sac)₂(aeppz)₂]: Electrochemical Characterization, DFT/TDDFT Calculation and Antioxidant Activity” International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem 2018),26-27 April 2018, Ankara-Turkey.
- Elvan ÜSTÜN*, Mutlu SÖNMEZ ÇELEBİ, **Songül KIRLAK** “Carbon Monoxide: A New Class of Pharmaceuticals?” International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem 2018),26-27 April 2018, Ankara-Turkey.
- Mutlu SÖNMEZ ÇELEBİ^{1*}, Elvan ÜSTÜN¹, Melek ÇOL AYVAZ¹, **Songül KIRLAK**¹, Serkan GÜNEY² “Characterization of *Trans*-[Cd(sac)₂(aeppz)₂] Complex: Cyclic Voltammetry, DFT/TDDFT Calculation and Antioxidant Activity” 1. International Technological Sciences and Design Symposium, 27-29 June 2018, Giresun, Türkiye.
- Elvan ÜSTÜN^{1*}, Mutlu SÖNMEZ ÇELEBİ¹, **Songül KIRLAK**¹ “[Mn(CO)₃(bpy)L]PF₆ Type New CO-Releasing Molecules with Benzimidazole Derivative Ligands” 1. International Technological Sciences and Design Symposium, 27-29 June 2018, Giresun, Türkiye.